

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE QUÍMICA
CURSO DE LICENCIATURA EM QUÍMICA

ANA PAULA SOARES CARRARA RODRIGUES



**O USO DE MAPAS CONCEITUAIS E
ABORDAGEM TEMÁTICA SOBRE MEDICAMENTOS NO ENSINO DE
HPLC**

RIO DE JANEIRO
2017

ANA PAULA SOARES CARRARA RODRIGUES

**O USO DE MAPAS CONCEITUAIS E
ABORDAGEM TEMÁTICA SOBRE MEDICAMENTOS NO ENSINO DE
HPLC**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Instituto de Química da
Universidade Federal do Rio de
Janeiro, como parte dos requisitos
necessários à obtenção do grau de
licenciado em Química.

Orientador:
Professor Joaquim Fernando Mendes da
Silva

RIO DE JANEIRO
2017

ANA PAULA SOARES CARRARA RODRIGUES

**O USO DE MAPAS CONCEITUAIS E
ABORDAGEM TEMÁTICA SOBRE MEDICAMENTOS NO ENSINO DE
HPLC**

BANCA EXAMINADORA:

Joaquim Fernando Mendes da Silva (Orientador)

Instituição: IQ - UFRJ

Rio de Janeiro, de de 2017.

AGRADECIMENTOS

Agradeço, em primeiro lugar, a Deus.

À minha mãe, Maria da conceição, pelo cuidado, carinho e incentivo em todos os momentos.

Ao meu pai Adir "in memoriam".

Ao meu querido irmão Adir Júnior.

Aos meus amigos, em especial ao professor Francesco Nosedá (IM-UFRJ), que me estimularam e me ajudaram muito durante o curso.

E, ao professor orientador, Joaquim Fernando Mendes da Silva, pelo tempo dedicado e pela ajuda prestada para elaboração desta monografia.

Agradeço a todos por esta conquista.

RESUMO

Com todo o avanço tecnológico atual, é necessário que o aluno esteja preparado para enfrentar desafios e escolhas, tomando decisões com responsabilidade. O ensino deve servir, então, de suporte para o desenvolvimento do estudante, através de metodologias que fomentem a estrutura cognitiva e participativa, ao invés de conteúdos adquiridos sem significação. Diante disso, este projeto final de curso tem como objetivo propor a aplicação de uma metodologia alternativa ao ensino tradicional, os mapas conceituais, para o ensino de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), em inglês, *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC), que permite ao professor do curso técnico trabalhar o tópico interações intermoleculares em conjunto com o tema químico-social, medicamentos. Durante a pesquisa bibliográfica em livros e artigos, foi observada a repetição de que o ensino de determinados conteúdos, não somente os químicos, é dito como abstrato e de difícil compreensão pelos alunos. Tanto a assimilação quanto a externalização desses conceitos se tornam, então, deficientes. Este tipo de ponderação é importante para a melhoria do ensino e da aprendizagem e mostra que há uma necessidade de que o processo de ensino-aprendizagem seja renovado. Como contribuição, a abordagem sugerida visa uma nova proposta de aula para integrar temas sociais do cotidiano aos conceitos químicos estudados. Em relação à cromatografia líquida de alta eficiência, foi dado ênfase em colunas cromatográficas, visto que é a parte principal do equipamento, onde ocorre a separação dos compostos e a influência das interações intermoleculares se faz presente. Em relação aos mapas conceituais, foram expostos, resumidamente, três artigos pesquisados que utilizam essa ferramenta didática em áreas distintas, destacando o seu multiuso. O tema químico social em questão pôde ser contextualizado em diversas áreas, pois tem caráter multidisciplinar e valor social, podendo ser abordado em química, biologia, bioquímica, ecologia e economia. Além disso, são oferecidos conceitos introdutórios relacionados ao cotidiano do laboratório para a familiarização do futuro profissional ao mercado de trabalho. Por fim, é apresentado ao professor, como sugestão, três planos de aula elaborados contendo revisão sobre interações intermoleculares, conteúdo sobre HPLC e o emprego dos mapas conceituais. Baseado nos resultados obtidos através da pesquisa em experimentação, da investigação, das experiências em sala de aula e da parte teórica, contidos nos livros e nos materiais examinados, o uso de mapas conceituais e a contextualização tendem a facilitar e integrar o conhecimento, com o objetivo de contribuir para a evolução cognitiva do aluno, ajudando na promoção, natural e gradual, da postura de docentes e discentes frente ao processo de ensino-aprendizagem.

Palavras-Chave: Interações intermoleculares. HPLC. Medicamentos. Mapas conceituais.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	6
1.1 A EDUCAÇÃO NO BRASIL – UM BREVE HISTÓRICO	6
1.2 O ENSINO E A APRENDIZAGEM.....	10
1.3 CONTEXTUALIZAÇÃO DE TEMAS NO ENSINO DE QUÍMICA	12
1.4 SOBRE O TEMA PROPOSTO.....	14
1.4.1 A justificativa da proposta educacional.....	14
1.4.2 Metodologia da pesquisa	15
1.5 OBJETIVO	15
1.5.1 Objetivo geral.....	15
1.5.2 Objetivo específico.....	15
2 REVISÃO DA LITERATURA	17
2.1 INTERAÇÕES INTERMOLECULARES	17
2.2 CROMATOGRAFIA	23
2.2.1 Um breve histórico	23
2.2.2 A química analítica	26
2.2.3 Classificação das técnicas cromatográficas.....	27
2.2.4 Cromatografia líquida de alta eficiência	28
2.2.5 O processo cromatográfico	32
2.2.6 Mecanismos de separação	34
2.2.7 A cromatografia na análise de medicamentos	45
2.3 MAPAS CONCEITUAIS.....	48
3 PROPOSTA DE AULA	52
4 CONSIDERAÇÕES FINAIS	64
REFERÊNCIAS	65

1 INTRODUÇÃO

1.1 A EDUCAÇÃO NO BRASIL – UM BREVE HISTÓRICO

Neste tópico delinea-se, de forma resumida, a trajetória da educação brasileira, com início na colonização do Brasil, na qual se mostrou deficiente e até com certo descaso por um longo tempo. Alguns fatos relevantes foram considerados sob o contexto político no percurso do processo educativo. Uma reflexão crítica sobre o passado, pertinente a qualquer tema, pode, e deve, sinalizar, referenciar e orientar a direção do caminho a ser trilhado.

Durante a colonização portuguesa no Brasil, com a vinda da Companhia de Jesus (a partir de 1549), os jesuítas, através de ações educativas missionárias com adultos, iniciaram o processo educacional. A fim de catequizar os nativos e promover a educação dos homens brancos, principalmente os mais ricos, ergueram suas escolas, colégios e seminários. Com a expulsão dos jesuítas em 1759, por um longo tempo não havia quem pudesse continuar este processo devido à falta de professores e recursos (AZANHA, 1993).

Com a vinda da família real ao Brasil, em 1808, o ensino foi fomentado, porém, somente em relação ao ensino superior para a formação de quadros profissionais. O ensino para a população continuou no esquecimento. Durante o Império, o Ato Adicional de 1834 desvinculou as responsabilidades que antes eram centralizadas, passando o ensino popular às províncias e o ensino médio e superior, à Corte. Mesmo assim, poucos cursos e instituições regulares foram formados, como por exemplo, o colégio Pedro II e o Liceu, e o curso normal (AZANHA, 1993). A escravidão no Brasil também contribuiu de forma intensa para o atraso do sistema educacional brasileiro, visto que o país foi o último a abolir a escravatura no hemisfério ocidental e que a maioria da população era escrava, descendente de escravos ou ex-escrava (GOLDEMBERG, 1993). Havia um descaso e certa rejeição por parte da elite em incorporá-los à sociedade e dar-lhes o direito à cidadania: a lei 1333-A de 1854 excluía nitidamente os escravos da inclusão escolar. Somente a população livre e não portadora de doenças contagiosas teriam acesso ao ensino primário e secundário, apesar da constituição outorgada de 1824 garantir a todos os cidadãos o direito ao ensino primário gratuito. Porém, o nível primário era considerado como suficiente à população em geral (SCHUELER, 1999). As políticas públicas não contemplavam a educação como um todo, de forma universal, o que tornava complicado e difícil o processo da escolarização brasileira. Todavia, nesta mesma época, o nível de abrangência em relação à educação básica e à cidadania já era eminente nos países desenvolvidos, assim como a industrialização. A escravidão, assim como a manutenção de uma economia de subsistência, dentre outros fatores, retardaram o processo de

industrialização no Brasil e desta forma, não se achava necessária a escolarização para tal população de trabalhadores (GOLDEMBERG, 1993). O descaso com o ensino continuava.

Em 1874, uma comissão de professores de escolas públicas formada por Philippe da Motta Correa de Azevedo, José Manuel Garcia e João Rodrigues da Fonseca Jordão apresentou às autoridades do império um manifesto sobre más condições de ensino como a falta de materiais escolares, o conteúdo didático a ser ensinado e a presença irregular dos alunos, relatando e opinando sobre tais abordagens (SCHUELER, 1999).

Com a troca de regime em 1889 para a República e a escravidão recém abolida, o Estado estava se reestruturando. A preocupação com o combate à criminalidade das crianças e dos jovens levou a intensos debates sobre educação (SCHUELER, 1999).

Entretanto, somente nos anos 20 o ensino no Brasil passou a ser encarado como um problema real a nível nacional e, portanto, seria necessário resolvê-lo frente às tantas situações e mudanças no campo político, social e econômico do país, como a crise do café, o início da industrialização, urbanização, imigração... (AZANHA, 1993).

Na década de 30, um grupo de educadores e de intelectuais insatisfeitos com a situação educacional vigente na época fez um manifesto ao povo e ao governo, conhecido como o “Manifesto dos Pioneiros da educação nova”, escrito por Fernando de Azevedo. O documento explicitava os problemas e ao mesmo tempo propunha uma nova política e implantação de um planejamento para a educação, defendia o ensino público e obrigatório. Alguns classificaram o conteúdo do ato como entusiástico. Contudo, a idéia de um plano nacional de educação foi lançada, então. Tempos depois, as reivindicações mais importantes deste manifesto foram aceitas e inseridas na Constituição de 1934 (AZANHA, 1993).

O ensino tecnológico no Brasil começou na era Vargas com a iniciativa inovadora do setor privado empresarial em criar as instituições SENAI (Serviço Nacional de Aprendizagem Industrial, 1942) e SENAC (Serviço Nacional de Aprendizagem Comercial, 1946) visando a formação técnica e conseqüentemente a qualificação da classe trabalhadora para o setor industrial e comercial, respectivamente, visto que o setor público não dera a atenção necessária. Com isso, o Ministério da Educação (MEC), por sua vez, criou escolas técnicas e agrotécnicas de 1º grau; escolas técnicas federais no nível de ensino médio; e Centros Federais de Educação Tecnológicos que atendem no nível médio e superior (GOLDEMBERG, 1993).

A atenção em relação às avaliações escolares teve maior expressão a partir dos anos 60. A Fundação Getúlio Vargas-RJ desenvolveu estudos sobre testes educativos e material avaliativo para o ensino médio com provas das áreas de ciências, estudos sociais, linguagem e matemática. Esta análise sobre currículos escolares contribuiu para posterior elaboração dos

Parâmetros Curriculares Nacionais, os PCN's, em conjunto com propostas curriculares de Estados e Municípios, além de dados relativos à educação estrangeira (BRASIL, 1997).

Entre 1964 e 1984, a situação do país foi sendo modificada a nível político, econômico e social e o regime estabelecido no Brasil tinha como princípio a democracia e anticomunismo. Entretanto, o regime militar, estabelecido de forma ditatorial interferiu em várias áreas, inclusive na educação. Foi um período conturbado, de grande repressão e restrição da liberdade de expressão. Por meio da criação do Decreto-Lei 477 de 1969, foram declarados como infratores professores, alunos e funcionários de universidades que praticassem ou participassem de qualquer movimento não autorizado pelo regime, assim como também foram definidos os tipos de infrações e suas respectivas punições (QUEIROZ, 2015). Por outro lado, a Lei 5692 promulgada em 1971 (que reformou a Lei 4024/61) definiu um currículo comum a nível nacional e de forma geral para o ensino fundamental e médio, dando margem a variâncias locais para organização dos currículos. Regulamentou, ainda, uma reforma onde o ensino primário e ginásial foi unificado e denominado ensino de primeiro grau e, o antigo colegial, depois chamado de segundo grau, tornou obrigatório o caráter profissionalizante desse segmento (BRASIL, 1997). Com isso, optou-se pela formação de professores habilitados a preparar e qualificar os alunos para o mercado de trabalho, devido às exigências do setor industrial e tecnológico, que possui um valor agregado no que tange à economia, à modernização de um país e à uma sociedade mais urbana. Esse modelo dito tecnicista definia claramente a relação professor-aluno: o professor deve organizar e executar adequadamente o controle do ensino de forma programada; é o responsável pela transferência de conhecimento científico e instrumental de forma eficaz e eficiente ao aluno e este, por sua vez, recebe a informação de modo passivo, por treinamento de como “aprender a fazer” (QUEIROZ, 2015).

Na década de 80, período de abertura política, as propostas curriculares foram, em sua maioria, reformuladas de acordo com a nova tendência na linha de ensino e frente à necessidade de um profissional com visão ampla no aspecto social-político, de forma participativa, podendo interferir e transformar a relação entre escola, educação e sociedade e, não mais tecnicista como até então (QUEIROZ, 2015).

Os anos 90, apesar de prevalecer a continuidade da centralização no conteúdo da escola, conseqüentemente, do professor e da sala de aula, foram caracterizados como a “Década da Educação”, onde políticas educacionais neoliberais foram inseridas para aprimorar a qualidade da educação brasileira, com destaque para o governo de Fernando Henrique Cardoso. Em seu governo, um dos itens da reforma educacional foi a reforma curricular, a criação do Sistema Nacional de Educação a Distância e a efetivação do sistema de avaliação da qualidade do ensino

possibilitando a sua medição, o que representou uma mudança na política educacional nacional. Em 1998, foi criado o Exame Nacional do Ensino Médio (ENEM) para avaliar o desempenho dos alunos com o nível médio concluído ou em fase de conclusão. Nas últimas décadas, intensos debates sobre o ensino médio ocorreram diante da realidade do ensino no país. (FREITAS, 2002).

No intervalo entre os anos 2003 e 2011, o Brasil sofreu um período de reformas no ensino. O governo Lula contribuiu com políticas públicas educacionais como o ProUni e o Reuni, à nível superior, que visavam expandir a rede pública federal e as vagas da rede privada. Projetos foram instituídos como o Projovem, que visava integrar o ensino fundamental e a qualificação profissional, e o Programa de Integração da Educação Profissional ao Ensino Médio na Modalidade de Educação de Jovens e adultos (PROEJA) (FRIGOTTO, 2005).

Segundo BENITES (2016), o governo considera que o ensino médio no Brasil está em estado de falência, baseado no Índice de Desenvolvimento da Educação Básica (IDEB) de 2011, visível pelo alto número de jovens na faixa de 17 anos fora da escola ou que deveriam estar no terceiro ano do ensino médio, ou ainda, que simplesmente não estudam e também não trabalham (BENITES, 2016). Diante disso, após anos de reflexão sobre o assunto, a reforma do ensino médio brasileiro foi instituída por meio da Medida Provisória 746/2016, apresentada em 23/09/2016, aprovada pelo Senado Federal em 8 de fevereiro de 2017, sancionada pelo Presidente da República Michel Temer dias depois, em 16 de fevereiro e transformada na Lei Ordinária 13415/2017. A Medida Provisória foi baseada no Projeto de Lei, em 2013, do deputado petista Reginaldo Lopes, e este projeto foi discutido no Ministério da Educação na gestão do então ministro Aloízio Mercadante, no governo Dilma. Contudo, a Medida Provisória teve caráter urgente e sem debate com o Congresso Nacional e com a sociedade, pois, segundo o ministro da Educação Mendonça Filho, além da péssima situação em que se encontra o ensino médio, também estava em pauta a proposta de emenda constitucional (PEC) do teto dos gastos públicos, a reforma previdenciária e trabalhista (BENITES, 2016).

De acordo com BENITES (2016), os objetivos da reforma do ensino médio são atrair e manter os jovens na escola, diminuindo a evasão escolar, preparar os jovens para o mercado de trabalho, melhorar a gestão e a educação. Para tal, a reformulação do ensino médio destaca a flexibilização da grade curricular, onde haverá disciplinas obrigatórias e comuns a todas as escolas do país, da rede pública e da rede particular, e as disciplinas flexíveis também chamadas como itinerário formativo ou como optativas. As disciplinas do currículo comum continuarão a existir, mas compreenderão a língua portuguesa, a língua inglesa e a matemática, que serão obrigatórias durante os três anos. A língua inglesa, que antes não era obrigatória, passou a ser

desde o sexto ano do ensino fundamental. Se o ensino de outra língua estrangeira for contemplado deverá ser, preferencialmente, pela língua espanhola. Também serão obrigatórios os estudos e práticas de educação física, arte, sociologia e filosofia. O aluno poderá escolher as disciplinas optativas entre as cinco áreas de atuação que mais se identificar, formar a grade adequada de acordo com a sua perspectiva e aprofundar seus conhecimentos. As áreas são: linguagens e suas tecnologias; matemática e suas tecnologias; ciências da natureza e suas tecnologias; ciências humanas e sociais aplicadas; e formação técnica e profissional. O aluno que optar pelo itinerário da parte flexibilizada formação técnica e profissional terá a grade contida no ensino médio. Os Estados terão autonomia para formular os currículos relativos às áreas optativas de acordo com os fatores culturais, econômicos, sociais e ambientais da região. A carga horária será ampliada paulatinamente, de oitocentas horas para mil e quatrocentas horas anuais (BRASIL, 2016; BENITES, 2016).

1.2 O ENSINO E A APRENDIZAGEM

Diversos estudiosos discutem idéias, conceitos e considerações sobre o que é aprendizagem e como ocorre o processo do conhecimento humano, resultando em diversas abordagens teóricas e correntes de pensamento. Filósofos da Grécia antiga como, por exemplo, Aristóteles (384-322 a.C.) foi um dos primeiros a conceituar sobre aprendizagem. Para ele, a formação de idéias e pensamentos, a aprendizagem, se dava por semelhança, contraste e contigüidade dos mesmos. Com isso, não há um conceito apenas, mas sim um conjunto deles devido à sua amplitude e complexidade, estudados pela Psicologia da Educação (GAMEZ, 2014).

Mesmo diante de uma breve incursão histórica realizada neste trabalho no subitem anterior, pode-se observar que o ensino no Brasil sofreu mudanças importantes no contexto escolar com a ressignificação da escola e do papel do professor na sala de aula e que tais modificações conferem a intenção da formação de um cidadão cada vez mais crítico. O interesse no ensino e na aprendizagem passou a ser cada vez mais expressivo. Como exemplo, tem-se a concepção tecnicista dos anos 60 e 70 que explicitou o ensino como uma ciência aplicada, onde a questão se baseava no aprender a fazer. Discentes e docentes se encontravam submissos ao rígido planejamento da instrumentação técnica (QUEIROZ, 2015). Inicialmente, este processo foi priorizado em relação ao processo de aprendizagem. A partir desse ponto, a transição de um professor especialista para um professor educador crítico e político veio mudar o rumo da educação sob uma abordagem cognitivista e com o enfoque construtivista. (CHASSOT, 2004).

Entretanto, apesar de tantas medidas históricas já iniciadas pelos governos, dados recentes apontam uma grande evasão no ensino médio (BENITES, 2016), o que leva a crer que a escola e o ensino necessitam de maior atenção para que o jovem possa ser preparado para a vida e para o mercado de trabalho adequadamente (GAMEZ, 2014; CHASSOT, 2004).

A psicologia cognitivista contribuiu para o processo de ensino-aprendizagem. O cognitivismo se preocupa com o mecanismo de funcionamento, com as transformações que ocorrem com a estrutura cognitiva do indivíduo inserido no meio social. As principais teorias cognitivistas são (GAMEZ, 2014):

- Teoria Psicogenética, de Jean Piaget: a aprendizagem é gradual, onde o indivíduo responde aos estímulos do meio, interagindo de modo a construir e desenvolver o seu conhecimento (GAMEZ, 2014).

- Teoria sobre o ensino, de Jerome Bruner: A preocupação com a estrutura e com a organização do conteúdo estudado, destacando-se o processo da descoberta, da investigação faz parte desta teoria (GAMEZ, 2014).

- Teoria sociointeracionista, de Lev Vygotsky: a aprendizagem se dá pela interação, ou seja, o indivíduo adquire conhecimento por meio da relação sócio-cultural (GAMEZ, 2014).

- Teoria da aprendizagem significativa, de David Ausubel: quando um conceito novo é adquirido e tem relação com o conhecimento prévio já solidificado pelo indivíduo, ocorre a aprendizagem com significado, isto é, a aprendizagem significativa, em oposição à aprendizagem mecânica ou memorista (MOREIRA, 1997).

Sobre a aprendizagem mecânica, Paulo Freire, em sua obra “Pedagogia da autonomia”, diz que a memorização mecânica não é o aprendizado verdadeiro e que o aluno recebe de forma passiva o conteúdo resultando em um mal aprendizado (FREIRE, 1996). No ensino tradicional o conhecimento acumulado ao longo do tempo é fragmentado para facilitar o ensino, onde é absorvido pelos alunos de forma passiva. As críticas ao ensino tradicional levaram a novas abordagens. A corrente teórica construtivista, que é uma nova postura em relação à obtenção do conteúdo, entende que a construção do conhecimento, no campo educacional, acontece pela interação professor-aluno em um processo de ensino-aprendizagem (GAMEZ, 2014; CHASSOT, 2004).

Segundo esta perspectiva, a questão do ensinar não é simplesmente transferir o conteúdo, a informação. O conhecimento deve ser construído não somente por docentes, mas por docentes e discentes, entre docentes e discentes em uma relação interpessoal. A troca de experiências do saber de forma interativa faz com que ambos, professor e aluno, sejam partes integrantes do processo educativo (GAMEZ, 2014; FREIRE, 1996).

Desta forma, o ato de ensinar é intrínseco ao de aprender, significando que a busca pelo conhecimento segue de forma gradual e continuada. É o que revela Paulo Freire, onde confere o termo “inacabamento do ser humano” à disposição permanente ao aprender e ao ensinar. Contudo, o professor deve despir-se da pretensão do poder e da centralidade do saber de forma reflexiva e crítica sobre a prática da docência e tornar-se autônomo, o que não significa e/ou justifica a perda ou falta de autoridade do professor em sala de aula (FREIRE, 1996).

A capacitação do saber deve caminhar ao lado da formação ética, considerando a autonomia intelectual, a curiosidade e a liberdade do educando. Faz parte deste conjunto de direitos a construção da cidadania (FREIRE, 1996). Diante disso, o uso de práticas metodológicas alternativas como, por exemplo, o uso de mapas conceituais desenvolvidos por Novak vem apoiar o processo de ensino-aprendizagem. Tal ferramenta pedagógica está baseada na teoria da aprendizagem significativa de David Ausubel (MOREIRA, 1997).

1.3 CONTEXTUALIZAÇÃO DE TEMAS NO ENSINO DE QUÍMICA

O processo de ensino-aprendizagem, no geral, apresenta alguns problemas, como por exemplo, a desmotivação de docentes e discentes pela deficiência na estruturação de conceitos, durante a internalização e, conseqüentemente, durante a externalização dos mesmos (CHASSOT, 2004; FREIRE, 1996).

Práticas pedagógicas com o objetivo de minimizar estes fatos são empregadas em diversos materiais, como livros, apostilas, dentre outros, e em algumas vezes, simplesmente com exemplificações à título de curiosidade (BRASIL, 2006). A falta da real conexão da disciplina com o mundo exterior ao do aluno pode acarretar em um ensino onde o conteúdo seja de difícil assimilação e entendimento, o que muitas vezes, resulta em memorização e em aprendizagem volátil ou de má qualidade (CHASSOT, 2004; FREIRE, 1996).

Attico Chassot, em sua obra ‘Para que(m) é útil o ensino?’, cita que há quem considere que a química, em conjunto com a matemática e a música, possam compor as três linguagens universais. Tal comentário é baseado em relação a equações químicas que podem ser interpretadas da mesma forma em qualquer livro escrito em qualquer idioma, por alguém que seja iniciado em química. Contudo, como qualquer linguagem, ela deve ser aprendida. É importante aproximar a linguagem química à linguagem do aluno, de modo a facilitar o entendimento, principalmente no que se refere ao seu cotidiano. Essa aproximação, de forma contextualizada, seja na esfera política, social, histórica, econômica, entre outras, passa a demonstrar o papel da química na sociedade de forma não mais tão abstrata (CHASSOT, 2004).

É preciso, de uma maneira sempre continuada, fazer a desmistificação da Química, que se apresenta vinculada a todos os momentos da vida, acessível a todas as idades nos caminhos que vão do cotidiano ao ensino formal, no ensino fundamental, no médio e no superior: processo sempre em transformação, porque tecido de saberes nunca definitivos.
(CHASSOT, 2004, p.50)

Esta conexão com o dia-a-dia do aluno está em conformidade com os Parâmetros Curriculares Nacionais (PCN's), que são referências para o Ensino Fundamental e o Ensino Médio em todo o país, e sugerem que o conteúdo ensinado nas escolas deve estar associado com questões sociais (BRASIL, 1997; GAMEZ, 2014; BRASIL, 2006).

Einstein (apud CHASSOT, 2004, p.80), em um diálogo com seus alunos, disse que “É tarefa essencial do professor despertar a alegria de trabalhar e conhecer.” Quando o professor traz à sala de aula, adequadamente, um tema químico social que faz referência ao cotidiano do aluno, possivelmente, haverá um novo olhar de curiosidade, talvez uma motivação maior da parte do aluno. Busca-se avaliar e reconstruir os conhecimentos químicos dos alunos utilizando a sua vivência, o seu cotidiano, a mídia e a vida escolar. É importante apresentar ao aluno algo concreto e/ou observável, pois os conceitos que o estudante traz para a sala de aula advêm principalmente de sua leitura do mundo (BRASIL, 1997).

Paulo Freire salienta essa atitude em que é preciso respeitar e considerar o conhecimento prévio do aluno e a sua identidade. Enfatiza ainda que a educação deva ser ética e coerente baseando-se no fato que a teoria deve ser posta em prática (FREIRE, 1996).

A atuação do professor é essencial ao processo de ensino-aprendizagem. A docência praticada de forma flexível e crítica permite ao docente ser o orientador e o instigador da curiosidade. Para tal, o professor deve oferecer condições para o desenvolvimento cognitivo do aluno, conduzindo a uma aprendizagem significativa e à amplitude do saber do discente e do próprio docente (FREIRE, 1996; ZABALA, 1998).

Além da atenção em relação à informação que o aluno já possui com o que será adquirido, a exposição de um conteúdo feito com abordagens diferentes considerando o nível de compressão do aluno é de grande importância para o processo de aprendizagem dos mesmos e deve ser de forma contínua e significativa. (BRASIL, 1997).

Portanto, a contextualização de temas pode ser abordada e explorada de forma didática para o conteúdo de Química, com atividades que possam ser elaboradas e utilizadas como ferramenta de ensino, envolvendo os professores e a participação ativa de alunos, em um processo de construção e reconstrução do conhecimento. Esta via serve como um alicerce para

o processo de ensino-aprendizagem tornando a aprendizagem mais significativa aos alunos, oferecendo a oportunidade do conhecimento através da linguagem cotidiana (BRASIL, 1997).

1.4 SOBRE O TEMA PROPOSTO

1.4.1 A justificativa da proposta educacional

A área química abrange um vasto mercado de trabalho e o profissional pode atuar em diversos segmentos, como o farmacêutico. Este setor, durante os últimos anos, vem demonstrando um expressivo crescimento devido ao maior consumo de medicamentos. Entre 2007 e 2013, o mercado brasileiro saltou da décima para sexta colocação no mercado farmacêutico mundial, isto é, o Brasil está entre os seis maiores mercados farmacêuticos do mundo. Atualmente, mesmo com a crise econômica, a estimativa é de que em 2017 o país chegue ao quarto lugar, ficando atrás somente de Estados Unidos, China e Japão (NOVATO, 2015).

Contudo, a abordagem do tema químico social medicamentos aos alunos deve ser realizada com cautela, pois o respectivo fomento pode estar associado à automedicação, à falta ou deficiência ao acesso a consultas médicas, à propaganda indutora e de forma excessiva e ao uso irregular do próprio.

O tema medicamentos tem caráter multidisciplinar, pode ser utilizado na química, biologia, bioquímica, ecologia e economia, por exemplo, podendo ser contextualizado, pois faz parte do saber do dia-a-dia do aluno e da sociedade. Ele foi escolhido como tema para este trabalho a partir da possibilidade de aproveitamento dessa proposta em cursos técnicos. Optamos por elaborar uma proposta para o ensino de técnicas cromatográficas, já que os testes analíticos, em especial a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE ou HPLC), são parte fundamental da garantia da qualidade dos produtos farmacêuticos.

Os métodos de análise atuais caminham para técnicas cada vez mais confiáveis, rastreáveis, de menor custo e menor impacto ambiental e a abordagem desta técnica cromatográfica pretende reforçar e ampliar o conhecimento sobre as mesmas para que a formação do profissional corresponda às expectativas do mercado, bem como leve à formação de um profissional mais consciente do papel social por ele desempenhado.

A escolha pelo uso de mapas conceituais como fator facilitador e integrador de conhecimentos foi perante a verificação de conteúdos cunhados como de difícil compreensão efetiva.

1.4.2 Metodologia da pesquisa

A pesquisa bibliográfica para elaboração deste trabalho foi realizada por meio de livros e materiais virtuais como artigos, revistas e trabalhos de conclusão de curso, relacionados no capítulo “REFERÊNCIAS”.

A proposta didática aqui apresentada está baseada em referenciais teóricos como Paulo Freire e Attico Chassot, sob uma abordagem cognitivista e a perspectiva progressista e construtivista. A teoria da aprendizagem significativa de David Ausubel também foi utilizada neste projeto como proposta pedagógica para o processo de ensino-aprendizagem, isto é, como apoio ao desenvolvimento das habilidades cognitivas, empregando, especialmente, os mapas conceituais formulados e desenvolvidos, inicialmente, por Joseph Novak.

1.4 OBJETIVO

1.5.1 Objetivo geral

Apresentar ao professor uma proposta alternativa, para o curso médio e áreas correlatas, utilizando mapas conceituais e uma abordagem contextualizada como facilitadores e integradores do entendimento sobre cromatografia líquida de alta eficiência, visando uma aprendizagem mais efetiva dessa técnica.

1.5.2 Objetivo específico

Baseado no objetivo geral declarado, os seguintes objetivos específicos foram determinados:

- Promover a interface entre a teoria e o uso aplicado do conhecimento adquirido.
- Utilizar a abordagem contextualizada sobre Medicamentos como tema do cotidiano do aluno visando tornar a aprendizagem mais compreensiva;
- Propor o uso de mapas conceituais como ferramenta cognitiva de apoio na organização, no entendimento, na motivação, na integração e no acompanhamento de idéias e do conhecimento pelo professor e pelo próprio aluno;

- Auxiliar no desenvolvimento de análise crítica para a formação técnica profissional, aproximando o futuro técnico em química do mercado de trabalho.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 INTERAÇÕES INTERMOLECULARES

São aquelas que ocorrem entre átomos, moléculas ou íons quando estes se aproximam uns dos outros, não havendo quebra ou formação de novas ligações químicas. As interações intermoleculares, ou interações não covalentes, são diferentes das reações químicas, onde os átomos, moléculas ou íons realizam novas ligações ou ocorre a quebra das existentes (ROCHA, 2001).

As interações entre moléculas (forças intermoleculares) determinam todas as propriedades físicas dos sólidos, líquidos e o comportamento não ideal dos gases, sendo mais fracas do que as ligações químicas. As propriedades dos estados da matéria podem ser compreendidas pelo estudo dessas atrações. Estas forças são responsáveis tanto pela atração das moléculas como, sob certa distância, pela repulsão entre elas, evitando um colapso (ROCHA, 2001).

As forças intermoleculares são menos pronunciadas nos gases, sendo praticamente desprezíveis devido às suas partículas estarem muito distantes uma das outras. No caso dos sólidos e dos líquidos, a distância entre as partículas são menores, sendo a atração entre elas mais forte. Além de considerar a distância entre as partículas, nos sólidos e líquidos, a estrutura molecular e a composição química fazem com que haja diferença de intensidades dessas forças (BRADY, 1986). A diferença na intensidade dessas interações pode ser observada, por exemplo, nos valores de ponto de ebulição de dentro de uma família de compostos, sendo que, quanto maior for o ponto de ebulição, maior será a força de atração das moléculas no líquido. O exemplo dado na figura 1 mostra que os hidrocarbonetos (cadeias com carbono e hidrogênio) se diferenciam pelo tamanho da cadeia e que tal aumento se relaciona com o aumento do ponto de ebulição e condiz com o estado físico dessas substâncias, CH_4 ser um gás e C_8H_{18} ser um líquido, devido à influência das interações intermoleculares (ROCHA, 2001).

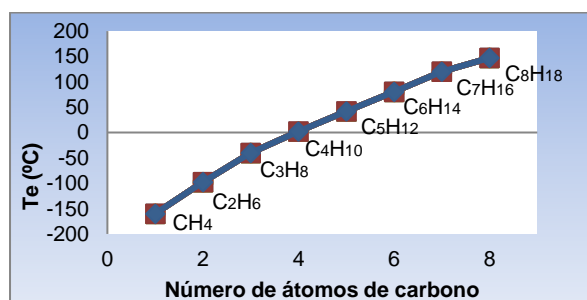


Figura 1: Variação da temperatura de ebulição em função do tamanho da cadeia carbônica para hidrocarbonetos lineares (adaptado de ROCHA, 2001).

As interações intermoleculares provêm de forças elementares, essencialmente elétricas, que atuam entre moléculas. Cientistas como Robert Boyle, Jacques Charles, Joseph-Louis Gay-Lussac e Johannes Diderik van der Waals foram os precursores no estudo dessas interações com sistemas químicos (ROCHA, 2001).

Em homenagem ao físico holandês Johannes Diderik van der Waals, ganhador do Prêmio Nobel em 1910, autor de uma das equações que descreve o comportamento dos gases e o primeiro a propor a existência das forças intermoleculares, todas essas forças foram chamadas de forças de van der Waals, exceto as relativas a íons (FLEMING, 2003). Na equação para os gases reais descrita abaixo, a e b são chamadas constantes de van der Waals e são dependentes da natureza do gás. Ele as interpretou como: constante a , uma força atrativa entre dois átomos; a constante b , o volume ocupado pelos átomos; Quanto maior as moléculas, maior o valor de b . A diferenciação no valor de a reflete as variações das interações intermoleculares (BRADY, 1986; FLEMING, 2003):

$$\left(p + \frac{a}{V^2}\right)(V - b) = RT ,$$

Para $a = b = 0$, as forças de interação elétrica são nulas e têm-se a equação dos gases ideais (BRADY, 1986):

$$PV = nRT$$

Há diferentes tipos de forças de van der Waals, denominadas, seguindo a ordem crescente de força: forças de dispersão de London, interações dipolo-dipolo e Ligação de hidrogênio (ROCHA, 2001).

Forças de van der Waals

➤ Forças de dispersão de London:

Também são conhecidas como forças de dispersão, forças de London, atrações dipolo instantâneo-dipolo induzido ou interações dipolo induzido-dipolo induzido (KOTZ, 2002).

O físico alemão Fritz London, em 1930, através de cálculos matemáticos, explicou que existe uma força geral de atração entre duas moléculas. Segundo o físico, os elétrons de todos os átomos e moléculas se movimentam de forma constante e se repelem, gerando alterações instantâneas em suas densidades eletrônicas, formando-se, então, dipolos instantâneos ou dipolos momentâneos, não permanentes. Esses dipolos instantâneos alteram a densidade eletrônica das partículas vizinhas, provocando um dipolo induzido nelas. Isto é, um momento de dipolo formado instantaneamente pode induzir outra molécula. Estas, induzidas, apresentam cargas parciais opostas, porém elas se desfazem muito rapidamente e se refazem, pois os

elétrons estão em constante movimento, formando um ciclo. Devido aos dipolos formados serem instantâneos, essas interações são relativamente fracas quando comparadas com as outras, mas suficientes e fortes para manter as partículas unidas. Diante disso, estão presentes em todas as interações moleculares, sendo as únicas atuantes entre moléculas apolares. Ex: Cl_2 (cloro) e CH_4 (metano) (BRADY, 1986; BRADY, 2012).

Outro exemplo refere-se também à figura 1, que apresenta a variação do ponto de ebulição em relação ao número de carbono de substâncias da mesma família. Os hidrocarbonetos são substâncias apolares, pois a diferença de eletronegatividade entre o carbono e o hidrogênio é pequena, portanto, o tipo de interação intermolecular atuante é a força de London. À medida que a cadeia cresce, o número de átomos em contato é maior tornando a interação intermolecular cada vez mais intensa, resultando em aumento do ponto de ebulição e estados físicos diferenciados (BRADY, 2012).

As lagartixas servem como exemplo desse tipo de interação intermolecular. O poder aderente e antiaderente de suas patas está na enorme quantidade de fios pequenos, compostos por substâncias apolares, propiciando interação em qualquer superfície, lisa ou rugosa, exceto em contato com politetrafluoroetileno (PTFE), que é fracamente polarizado. Estes filamentos, mostrados na figura 2, são suficientes para a sua aderência e sustentação do corpo (SHIGUEMATU, 2011).



Figura 2: Pata da lagartixa com destaque para os filamentos compostos por substâncias apolares. (YALO, 2007). Disponível em:

http://www.cienciahoje.org.br/noticia/v/ler/id/834/n/megafuturo_para_nanoestruturas.

Acesso em: 24 mar. 2017.

➤ Interações dipolo-dipolo:

Existem dois tipos de interações dipolo-dipolo:

- Interações dipolo permanente-dipolo induzido ou forças de Debye:

Os estudos do físico holandês Peter Debye determinaram que quando uma molécula polar se aproxima de uma molécula apolar há formação de dipolos. Isto acontece porque as moléculas polares, em função da diferença de eletronegatividade entre os seus átomos, apresentam regiões com cargas parciais opostas (positiva e negativa) podendo deslocar a nuvem

eletrônica das moléculas apolares, induzindo dipolos nas mesmas. Portanto, há interação entre um dipolo permanente e um dipolo induzido entre as moléculas envolvidas. Exemplo: Dissolução do iodo (I_2) sólido em água (FLEMING, 2003; BRADY, 2012).

- Interações dipolo permanente-dipolo permanente ou forças de Keesom:

Em 1921, o físico holandês Willem Keesom, por meio de cálculos matemáticos, concluiu que as interações entre moléculas polares se dão pela atração eletrostática entre suas cargas parciais devido à diferença de eletronegatividade, formando dipolos permanentes, por isso, é a mais forte das forças de van der Waals. Exemplo: HCl (ácido clorídrico) (FLEMING, 2003).

➤ Ligação de Hidrogênio

É um tipo especial de interação dipolo permanente-dipolo permanente e merece destaque pela sua intensidade mais forte. A intensidade da ligação de hidrogênio está relacionada com a natureza do átomo envolvido, pela diferença de eletronegatividade entre o hidrogênio e o átomo em questão. Pode ser observada acompanhando-se o valor do ponto de ebulição das substâncias compostas por estes átomos. Quando o átomo de hidrogênio se liga de forma covalente a um átomo dos grupos 14, 15, 16 ou 17, geralmente o ponto de ebulição de substâncias semelhantes aumenta conforme a massa molecular também aumenta. Contudo, algumas substâncias fogem a essa regra: os pontos de ebulição da amônia (NH_3), da água (H_2O) e do ácido fluorídrico (HF) são substancialmente mais altos do que o esperado baseando-se apenas na massa molecular, sinalizando uma força de maior intensidade. Em compostos que apresentam forças intermoleculares mais fortes, pode-se prever um ponto de fusão maior pela grande dificuldade em afastar as moléculas. A explicação para tal fato decorre da intensiva e particular interação entre os dipolos das moléculas com ligações polares tipo H-N, H-O e H-F, chamada ligação hidrogênio (anteriormente conhecida como ponte de hidrogênio). É interessante frisar que se trata de uma interação intermolecular, portanto, não deve ser confundida com ligação covalente (intramolecular) (ROCHA, 2001; KOTZ, 2002).

Quando átomos de uma molécula apresentam grande diferença de eletronegatividade, suas ligações são mais fortes e geram moléculas mais polares. O tamanho do átomo eletronegativo influencia neste tipo de interação. Quanto menor o átomo eletronegativo, maior a força de interação, tornando a distância entre elas menor (BRADY, 2012).

No caso dos elementos em questão (H, N, O e F), o nitrogênio, oxigênio e o flúor são átomos pequenos, de alta eletronegatividade e formam cargas parciais negativas. O hidrogênio

adquire forte carga parcial positiva, que fica concentrada em um pequeno volume, o que proporciona uma aproximação maior com os átomos de N, O e F. Um dipolo com intensa ligação polar é então formado e quando este se aproxima de outra extremidade da molécula vizinha, há forte atração, com o hidrogênio formando uma ‘ponte’ entre os átomos eletronegativos. Portanto, a ligação de hidrogênio acontece devido à formação de uma ligação fortemente polar entre os átomos da molécula (proveniente da grande diferença entre as polaridades) e à proximidade das cargas parciais (carga substancial em pequeno volume). Por estes motivos a interação se torna tão forte que recebe o nome de Ligação de hidrogênio (BRADY, 2012; KOTZ, 2002).

A ligação de hidrogênio é de suma importância em sistemas biológicos como, por exemplo, em proteínas, no RNA e na estrutura da hélice do DNA. O ácido desoxirribonucleico (DNA) e o ácido ribonucleico (RNA) estão presentes em todos os seres vivos e são responsáveis pela herança genética (herdabilidade), isto é, pela transferência da informação gênica aos seus descendentes. São formados por cadeias (sequência) de nucleotídeos (adenina, citosina, guanina, timina ou uracila) que são unidades básicas da molécula. O RNA é composto por uma fita contendo os nucleotídeos, somente substituindo-se a timina por uracila. Já a molécula de DNA é constituída por duas fitas compostas pelos quatro primeiros nucleotídeos citados acima e são ligadas por ligações de hidrogênio, chamada de pareamento. Na figura 3, pode-se observar que a adenina se liga à timina por duas ligações de hidrogênio, enquanto que, a citosina se liga à guanina por três ligações de hidrogênio. Este tipo de ligação forma e mantém a estrutura molecular tridimensional que é responsável pela atividade biológica desta molécula. Para que ocorra a duplicação e a transcrição de DNA, enzimas específicas são destinadas a quebrar estas ligações de hidrogênio (ROCHA, 2001; BRADY, 2012).

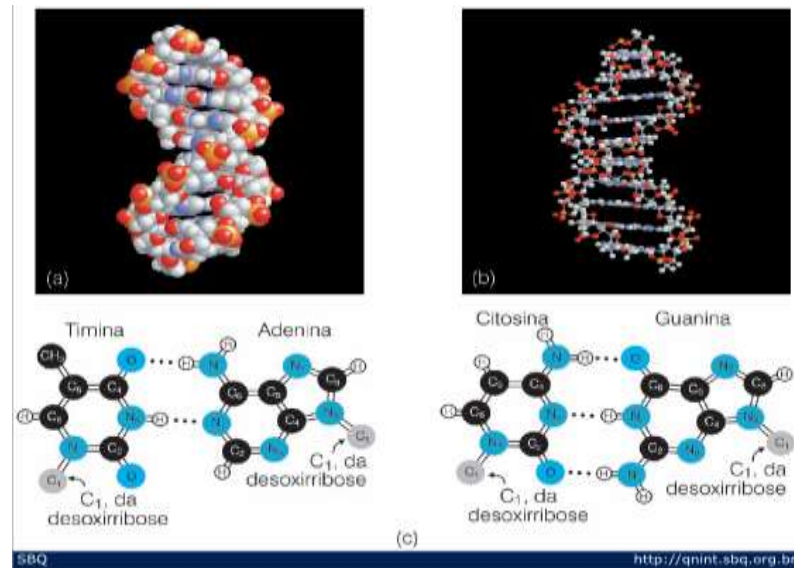


Figura 3: Estrutura tridimensional da molécula de DNA: (A) modelo de espaço preenchido. (B) modelo bola e vareta. (C) interação intermolecular específica (ligações de hidrogênio) entre os pares de bases (ROCHA, 2001).

Uma nota a ser lembrada é que nem toda molécula com ligação polar é uma molécula polar. Para compostos com mais de dois átomos deve-se considerar a geometria tridimensional e o momento dipolar (que decorre da diferença de eletronegatividade entre os átomos). Analisando em conjunto desses dois fatores e observando o direcionamento do momento dipolar (propriedades vetoriais), obtém-se um momento dipolar resultante. Se o momento de dipolo resultante for diferente de zero, a molécula é polar. Caso o momento dipolar resultante seja nulo, mesmo a molécula possuindo ligações polares, ela é considerada uma molécula apolar. Alguns exemplos deste caso são o dióxido de carbono (CO_2) e o trifluoreto de boro (BF_3), pois apresentam distribuição de cargas de tal forma que a resultante entre vetores é igual a zero (KOTZ, 2002).

A força de atração dipolo-dipolo varia rapidamente de acordo com a distância entre as partículas. Quanto maior a distância, menor a interação. Devido a isto, as moléculas de um gás comportam-se como se não houvesse atração entre elas (KOTZ, 2002).

A partir do entendimento da relação entre força e distância, pode-se obter a medida das forças atrativas, chamada entalpia de vaporização. A variação desta energia pode ser exemplificada no processo de evaporação de um líquido ou condensação de um gás. Para que moléculas do líquido sejam separadas, é necessária a adição de uma energia maior que a da atração intermolecular para que aconteça a evaporação. Em outras palavras, a energia necessária a ser adicionada ao sistema (entalpia de evaporação) para separar um par de dipolos é proporcional a $1/d^3$, onde d é distância. Desta forma, os compostos polares tendem a precisar

de um valor mais alto de energia de vaporização do que os apolares, pois quanto maior a interação intermolecular maior será a energia de evaporação requerida (KOTZ, 2002).

Interações ou ligações iônicas:

São interações eletrostáticas do tipo carga-carga, entre cátions e ânions, na ausência de moléculas polares. Atuam, geralmente, em compostos iônicos. Exemplo: $[\text{Na}]^+\text{Cl}^-$ (cloreto de sódio) e $[\text{CH}_3\text{CO}_2]^- \text{Na}^+$ (acetato de sódio) (ROCHA, 2001).

Forças de atração íon-dipolo:

Referem-se a interações entre íons e moléculas, presentes no estado líquido ou sólido. O íon atrai a extremidade carregada da molécula polar produzindo uma interação íon-dipolo. Esta interação está presente no processo de hidratação e solvatação de compostos. No caso de hidratos, os íons ficam envolvidos por moléculas de água orientadas. Na solvatação, outra substância participa da interação ao invés da água (BRADY, 2012).

2.2 CROMATOGRAFIA

2.2.1 Um breve histórico

O homem, como um ser sociável, de fato é parte integrante da sociedade. Uma participação ativa do indivíduo requer atitudes que resultam em mudanças e, mudanças, por vezes, são difíceis de tratar, mas não impossíveis. Sob constante transformação, a ciência como um todo tem participação no processo de desenvolvimento do indivíduo e da sociedade. Ao abordar referências históricas científicas, Attico Chassot diz: “Busca-se apenas mostrar a continuada (que não quer significar cumulativa) construção dos conhecimentos químicos e como ocorre a sua apropriação” (CHASSOT, 2004). Seguem abaixo alguns personagens que colaboraram /corroboraram para o início e avanço da cromatografia.

Nos anos de 77 a 79, o militar e historiador romano naturalista chamado Caio Plínio Segundo, o Velho, publicou a enciclopédia “*Naturalis Historia*” onde no capítulo 26 do livro de número 34 relata o procedimento para autenticar ou o sal *verdigris*, utilizado como pigmento verde e fungicida, desmascarando fraudes. O material em análise era colocado sobre folha de papiro embebido com um extrato vegetal. Caso o papiro tornasse preto, a identificação do sal seria positiva, isto é, não seria um caso de fraude do sal. Berzelius também fez uso da cromatografia ao observar e descrever a desmineralização da água salgada através de filtração por areia (PACHECO, 2015).

Runge foi o primeiro a separar pigmentos em papel de filtro e descrevê-los de modo analítico e reprodutivo. Em 1866, publicou um livro de grande valor histórico cromatográfico, localizado na biblioteca Beinecke, na Universidade de Yale. Segundo o relato de Runge em relação à separação dos pigmentos de tinta no papel de filtro “...devido a sua força de capilaridade, separa os componentes de uma gota colocada no centro...cria uma imagem com uma parte central escura e áreas ou anéis coloridos ou mesmo incolores” (PACHECO, 2015).

Já Goppelsroeder, publicou um livro em 1901 com relatos de suas experiências utilizando uma técnica chamada por ele de Análise Capilar. Contudo, seus experimentos não apresentaram boa resolução, as zonas se sobrepunham. Mesmo assim, muitos historiadores o declaram pai da cromatografia (PACHECO, 2015).

O botânico Mikhail Semenovitch Tswett, filho de russos, sempre gostou de estudar sobre a clorofila. Ao realizar testes de solubilidade em extratos de plantas observou que após secagem à vácuo do extrato de clorofila em papel de filtro houve uma extração seletiva envolvendo a adsorção e, que o aprofundamento nesta questão o levaria à uma nova técnica de separação física. Em 1903, publicou seu relatório onde utilizou do novo fenômeno de adsorção. Por estar em russo, língua inacessível a pesquisadores, não houve divulgação. Entretanto, este relatório é considerado o marco da invenção da cromatografia. Em 1906, publicou em alemão dois artigos onde no último consta sua famosa frase que cita a separação de uma mistura de pigmentos que podem ser analisados de forma qualitativa e quantitativa, denominando o resultado de cromatograma e a técnica de método cromatográfico. A palavra cromatografia em grego tem duas raízes: *chroma* (cor) e *graphein* (escrever) significando ‘escrita das cores’ devido a visualização das cores na coluna cromatográfica. Ou, ainda ‘escrita de Tswett’ pois Tswett em russo se escreve **цвѣт** e a sua tradução é cor. A origem da definição desta palavra não foi explicada (PACHECO, 2015).

Com auxílio de uma pêra de borracha aumentava a pressão do sistema para que o eluente percolasse de forma mais rápida entre o material adsorvente (fase estacionária). Ao término da análise, a coluna apresentava anéis coloridos (cromatograma). O adsorvente era retirado da coluna, separado fisicamente por cores e passava pelo processo de extração com solvente para obtenção das substâncias. Ele afirmava que a pureza destas substâncias era tal qual às obtidas por outros métodos como cristalização e destilação, por exemplo (PACHECO, 2015).

Ele escreveu sobre a correta seleção do solvente, a adição de outro solvente durante a análise ou a substituição do solvente após a primeira separação, ou seja, a atual eluição por gradiente. Também afirmou que a cromatografia poderia ser utilizada na separação de pigmentos e na separação de quaisquer outras substâncias, até as incolores, sendo o primeiro a

compreender e interpretar esse processo. E, também foi o primeiro a usar o termo cromatografia (LANÇAS, 2009). Foi indicado ao prêmio Nobel, mas Fritz Habel foi o vencedor. Tswett faleceu em 1919 (PACHECO, 2015).

Após Tswett, a cromatografia ficou um tanto esquecida por ter sido desacreditada por Willstätter, professor de química orgânica, premiado com o Nobel em 1915 pelo isolamento e identificação da clorofila por métodos clássicos, tornando-se referência. Devido a isto, poucos pesquisadores utilizaram a cromatografia durante aproximadamente 25 anos, até que o interesse em produtos naturais veio à tona e essa técnica foi aplicada e confirmada. Porém, pela robustez do uso da coluna aberta, pouco foi difundida. Surgiu, então, a primeira técnica microanalítica, a cromatografia de papel, por Martin. Devido à pequena velocidade de separação, surgiu outra técnica, na Rússia, a cromatografia de camada delgada (PACHECO, 2015).

Em 1941, Martin e Synge receberam o Nobel de Química pela invenção da cromatografia de partição. E, contribuíram com a previsão da CG (introduzida em 1952) para a separação das substâncias voláteis. Sugeriram que a fase móvel poderia ser um vapor ao invés de um líquido e que percolasse de forma constante uma coluna recheada de solvente não volátil e contendo gel (PACHECO, 2015).

Outros dois cientistas realizaram melhorias na separação cromatográfica, projetaram e construíram o primeiro sistema cromatográfico automatizado (PACHECO, 2015).

Por volta dos anos 50, as colunas na cromatografia líquida eram recheadas com partículas irregulares de 100-200 μm apresentando eficiência igual a 200 pratos/15 cm. Nos anos 60, as partículas passaram a ter dimensões de 40-50 μm com eficiência de 1000 pratos/15 cm, suportando pressão. A cromatografia passou a utilizar computadores para monitorar parâmetros e tratar dados experimentais. Nos anos 70, Snyder e Kirkland nomearam a cromatografia de 'cromatografia líquida moderna' pelas modificações da técnica, teoria, materias e equipamentos, pois trouxe velocidade, precisão e eficiência na separação de substâncias. As partículas possuíam diâmetro de 10 μm com 6000 pratos/15 cm, mas como não possuíam superfície uniforme, a reprodutibilidade no empacotamento era problemática. Devido a isto, por volta de 1980, o formato passou a ser esférico, com 5 μm e eficiência de 12000 pratos/15 cm, e depois, de 3-3,5 μm com cerca de 22000 pratos/15 cm. Como as colunas passaram a ser recheadas com pequenas partículas, os equipamentos precisaram operar a altas pressões para que a velocidade do eluente fosse adequada. O resultado desses avanços foi a obtenção de uma cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC, inicialmente chamada de alta pressão) e análises 30-50% mais rápidas, apresentando grande eficiência no desempenho. Com o desenvolvimento de detectores e a possibilidade do acoplamento com outras técnicas como o

espectrômetro de massas, as análises de amostras complexas que antes eram difíceis atualmente se tornaram de rotina e de fácil realização, com obtenção de dados mais precisos e rápidos. Portanto, o HPLC e o CG surgiram com o desenvolvimento da mecânica, eletrônica e informática, sendo realmente técnicas instrumentais (LANÇAS, 2009).

2.2.2 A química analítica

A Química Analítica é uma ciência empregada em diversas áreas como a engenharia, medicina, ciências (Química, Bioquímica, Biologia, Geologia e outras áreas) e na indústria, por todo o mundo. Divide-se em Química analítica Qualitativa e Química Analítica Quantitativa. A primeira refere-se à identificação dos elementos ou dos compostos de uma amostra. Já a Química Analítica Quantitativa quantifica elementos ou compostos de uma amostra. E seus cálculos quantitativos procedem de duas medidas: da massa ou volume da amostra em análise e da medida de alguma grandeza proporcional à quantidade do componente da amostra. Esta grandeza pode ser massa, volume, intensidade de luz ou carga elétrica (SKOOG, 2014).

Na Química Analítica, métodos instrumentais são empregados devido à maior sensibilidade e pelo uso menor de amostra necessária para a realização da análise em comparação com a análise clássica. Espectroscopia de absorção UV-VIS e infravermelho, polarimetria, refratometria, absorção atômica, HPLC, CG são exemplos de técnicas instrumentais. Geralmente, para identificar e/ou quantificar substâncias é necessário separar o componente a ser analisado das outras substâncias da amostra para minimizar erros analíticos. A escolha da técnica contempla determinar a(s) substância(s) de interesse de forma segura, rápida e com baixo custo. Para tal separação, uma das técnicas mais utilizadas é a cromatografia pela sua versatilidade, precisão, robustez, flexibilidade e pelo fator econômico. Pode ser utilizada sozinha ou em conjunto com outras técnicas instrumentais (GIL, 2010).

Existem vários sistemas cromatográficos que foram desenvolvidos conforme descobertos parâmetros cromatográficos e aperfeiçoamento de técnicas anteriores (GIL, 2010). No início do século XX, o sistema de separação inventado por Tswett, onde o próprio denominou de cromatografia pela primeira vez, possuía o mecanismo de separação por adsorção. A compreensão e interpretação cromatográfica feitas por ele são aceitas até o presente momento. Mas, com o decorrer do tempo, inovações na técnica e avanços tecnológicos foram desenvolvidos e a cromatografia de Tswett passou, então, a ser considerada e chamada de cromatografia clássica ou cromatografia líquida clássica (LC). Nos anos 70, a cromatografia líquida moderna, assim chamada por Snyder e Kirkland no sentido atemporal, prevalece até

hoje. Surgiu com modificações na teoria, técnica, materiais e equipamento, aprimorando o desempenho do sistema. As inovações nas áreas de mecânica, eletrônica e na informática com aquisição de software e hardware, automação e geração de relatórios de análises trouxeram rapidez, precisão, exatidão e eficiência (LANÇAS, 2009).

2.2.3 Classificação das técnicas cromatográficas

As técnicas cromatográficas podem ser classificadas de várias formas, de acordo com o autor da literatura. Elas podem ser categorizadas quanto ao (LANÇAS, 2009):

- Mecanismo de separação por meio físico, químico ou mecânico
- Técnica empregada
- Tipo de fase móvel ou fase estacionária utilizada

Os sistemas cromatográficos mais simples são a cromatografia planar (CPI) e a cromatografia líquida em coluna (CLC), classificadas pela forma física, em relação à geometria da superfície onde ocorre a separação (LANÇAS, 2009).

Na CPI, a superfície é plana, geralmente uma placa de vidro ou metal impregnado com fase estacionária, ou papel embebido em solvente adequado. A fase móvel (FM) elui através da fase estacionária (FE) por capilaridade ou pela gravidade (LANÇAS, 2009; SKOOG, 2014).

A CLC consiste em um tubo de vidro ou metal contendo a FE onde a FM passa através do tubo por gravidade ou sob pressão (LANÇAS, 2009; SKOOG, 2014).

Ambas as técnicas são manuais ou semi-automatizadas, não sendo consideradas instrumentais, mas possuem boa aceitação por terem aplicabilidade e baixo custo (GIL, 2010).

Outra classificação comum baseia-se no tipo de FM empregada: se a FM é um líquido, a cromatografia denomina-se cromatografia líquida (CL); se a FM é um gás, cromatografia gasosa (CG) e; se a FM é um fluido no estado supercrítico, cromatografia de fluido supercrítico (CS). Destas três classificações, somente a CL pode utilizar suporte plano, pois as outras necessitam de coluna cromatográfica. As técnicas de cromatografia gasosa (CG), cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) e cromatografia por fluido supercrítico (CFSC ou SFC) são técnicas instrumentais que surgiram com o avanço na tecnologia mecânica, eletrônica e na área de informática (GIL, 2010; SKOOG, 2014).

Podem-se classificar os sistemas cromatográficos também pelo tipo de FE (SKOOG, 2014; GIL, 2010):

- Na CL (FM líquida), quando a FE é recoberta por um líquido denomina-se cromatografia líquido-líquido. Quando a FE é um sólido, chama-se cromatografia líquido-sólido.

- Na CG (FM gasosa), a FE pode ser líquida e passa a ser chamada de cromatografia gás-líquido. No caso de a FE ser sólida, cromatografia gás-sólido.

Outra forma classificatória leva em consideração o mecanismo de separação dos componentes de uma amostra que acontece dentro da coluna cromatográfica (SKOOG, 2014; GIL, 2010):

- CL (clássica e moderna): cromatografia de adsorção; partição; troca iônica; exclusão por tamanho; por afinidade e; quiral.

- CG: cromatografia de adsorção e cromatografia de partição.

- CS: cromatografia de partição.

2.2.4 Cromatografia líquida de alta eficiência

Em inglês, *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC). Na língua portuguesa são aceitas as traduções: Cromatografia Líquida de Alto Desempenho ou Performance. A técnica em português é denominada como Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE). É utilizada em amostras líquidas ou sólidos iônicos ou covalentes de baixo e alto peso molecular, na separação de compostos que não sejam voláteis e não instáveis termicamente, isto é, onde a cromatografia gasosa não possa ser empregada. Sua aplicação é vasta, podendo ser utilizada nas áreas farmacêutica, alimentícia, clínica, de química, em geral, devido a sua versatilidade, alta resolução, tempo reduzido de análise e automação. Contudo, o equipamento requer um alto custo, assim como, a sua manutenção, e a experiência do operador deve ser considerada (ARGENTON, 2010; LANÇAS, 2009).

A parte instrumental da cromatografia líquida de alta eficiência é mais sofisticada do que a cromatografia clássica. É composta por módulos que podem ser adquiridos por diferentes fabricantes, de acordo com a necessidade e preferência do analista, assim como, fatores econômicos e ambientais devem ser considerados. Segue, na figura 4 e 5, a instrumentação básica de um cromatógrafo líquido moderno na sequência de utilização: reservatório de fase móvel, bomba, injetor, coluna cromatográfica (opcionalmente, com termostato acoplado), detector e aquisição de dados (LANÇAS, 2009).

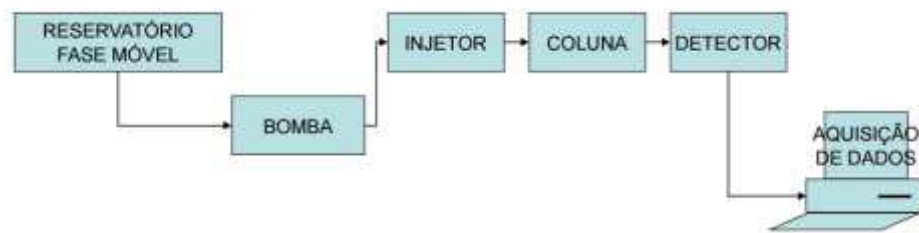


Figura 4: Componentes do equipamento de cromatografia líquida de alta resolução (ARGENTON, 2010).

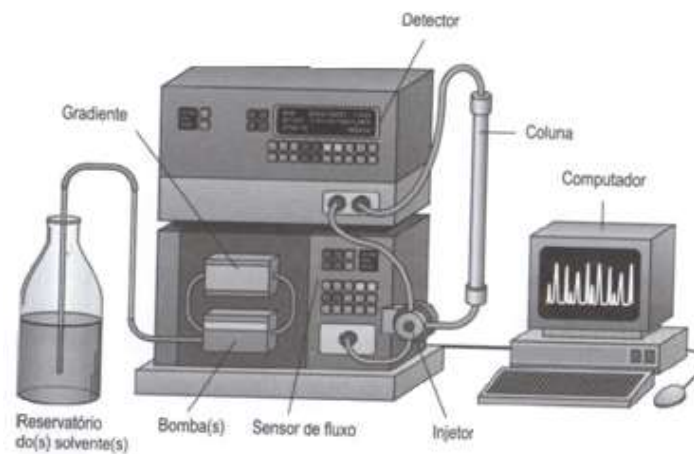


Figura 5: Componentes do equipamento de cromatografia líquida moderna (LANÇAS, 2009).

➤ Reservatório de fase móvel:

Este componente contém a fase móvel que carregará, mais a frente, a amostra.

A fase móvel deve possuir algumas características a serem respeitadas, como:

Dissolver a amostra sem decompor os componentes.

Não deve dissolver ou atacar a fase estacionária e esta não deve decompô-la, garantindo que os componentes da amostra sejam transportados sem interferência.

Conter solventes com alto grau de pureza, chamados grau HPLC, ou ser de fácil purificação, devendo ser filtrada antes da sua introdução no reservatório porque partículas sólidas presentes, como a poeira, podem bloquear ou danificar a bomba, o injetor e a coluna, assim como, as impurezas podem absorver e interferir na detecção do analito por ultra-violeta (UV), diminuindo a sensibilidade do detector. A degaseificação é necessária porque solventes polares tendem a dissolver gases como oxigênio e nitrogênio e podem formar bolhas que, ao passarem pelas bombas podem diminuir sua eficiência pela redução do fluxo do eluente, diminuindo a pressão, podendo até parar de funcionar. No caso das bolhas prosseguirem no equipamento, passam pela coluna e no detector podem ser reveladas no cromatograma com um

aumento no ruído da linha de base, alargamento ou o aparecimento de picos cromatográficos, interferindo na análise. A desgaseificação pode ser feita por meio de bomba de vácuo, ultrassom, purga com hélio, por exemplo (LANÇAS, 2009; ARGENTON, 2010).

Ser compatível com o detector utilizado; ter viscosidade e polaridade adequadas; alto ponto de ebulição e baixa toxicidade (LANÇAS, 2009; ARGENTON, 2010).

➤ Bomba:

Ao contrário da cromatografia líquida clássica, onde o eluente passa pela coluna sob a força da gravidade, na cromatografia líquida de alta eficiência, a fase móvel é pressurizada a altas pressões, de forma exata, precisa e constante, por uma ou mais bombas para permitir um fluxo mais rápido do eluente, vencendo a grande resistência da fase estacionária. Devem ser estáveis, seguras e fáceis de trocar de solvente. Podem ser classificadas como bombas de pressão constante, ou pneumáticas, e bombas de volume constante, ou mecânicas (LANÇAS, 2009; ARGENTON, 2010).

Quando a composição do eluente (um solvente ou mais) é constante, não é alterada durante a análise, é utilizada apenas uma bomba e a eluição é chamada isocrática. Mas, quando a separação dos compostos é difícil, de polaridades diferentes ou muito demorada, recorre-se a um sistema de bombas para que o emprego da fase móvel, com o fluxo constante, porém, de composição alterada ao longo da corrida cromatográfica, possa sanar este problema. A este processo denomina-se eluição por gradiente. A mistura dos solventes que compõem o eluente pode ser feita a baixa pressão ou a alta pressão (LANÇAS, 2009; ARGENTON, 2010).

No gradiente de baixa pressão, os solventes são selecionados por uma válvula com várias vias, são misturados a pressão ambiente e bombeados por uma bomba sob alta pressão até a coluna. No gradiente de alta pressão, cada solvente é bombeado em alta pressão por uma bomba específica até o local de mistura. (LANÇAS, 2009; ARGENTON, 2010)

➤ Injetor:

A amostra pode ser introduzida no injetor de forma manual com auxílio de seringa ou colocada em *vial* (recipiente) e programada para ser injetada através de *software*. O sistema de introdução de amostra ou injetor possui válvulas especiais que permitem a introdução de volume variado, preciso e exato da amostra, que é levada até a coluna cromatográfica (LANÇAS, 2009; ARGENTON, 2010).

➤ Coluna cromatográfica (opcionalmente, com termostato acoplado):

São tubos em aço resistentes a altas pressões que contém suporte (geralmente sílica ou óxido de silício) para a fase estacionária. A coluna cromatográfica é o cerne do sistema porque nela ocorre a separação dos componentes da amostra. Opcionalmente, colunas de guarda (*guard columns*) podem ser usadas para proteger a coluna contra contaminações químicas e aumentar a vida útil desta última. Mesmo tendo os cuidados recomendados com a fase móvel e amostra, é possível que algum contaminante com grande afinidade pela fase estacionária entre na coluna e não elua, contaminando a sua extremidade e causando uma retenção irreversível, produzindo cauda no pico e aumento da pressão. A vantagem do uso da coluna de guarda é que ela é mais barata que a coluna e ao sinal de contaminação, basta trocá-la, preservando a coluna. O controle da temperatura é importante para manter o tempo de retenção constante (LANÇAS, 2009; ARGENTON, 2010).

➤ Detector:

Quando cada componente da amostra sai da coluna, passa pelo detector para ser identificado e quantificado através da conversão e emissão de sinais elétricos. Estes são registrados na forma de picos, onde a área corresponde a quantidade de analito (LANÇAS, 2009; ARGENTON, 2010).

Deve ser seletivo, reprodutível, sensível, confiável, estável e operar em ampla faixa ou intervalo de concentração, insensível a mudanças de eluente e temperatura, fácil de operar, apresentar baixo nível de ruído. Existem diversos tipos de detectores (LANÇAS, 2009; ARGENTON, 2010):

Espectrofotometria por Ultravioleta-visível (UV-VIS): baseia-se na absorvância da luz pela substância ao passar pelo detector, por isso, é o mais usado em HPLC pois a maioria das substâncias absorvem nessa região (LANÇAS, 2009; ARGENTON, 2010).

Índice de refração: baseia-se na diferença entre o índice de refração da fase móvel e o do analito. Seu uso é para analitos que não absorvem na região do UV-VIS. Aplicado em análises de açúcares (LANÇAS, 2009; ARGENTON, 2010).

Fluorescência: baseia-se na excitação da luz produzindo fluorescência (LANÇAS, 2009; ARGENTON, 2010).

Eletroquímico: baseia-se na oxidação ou redução em um potencial fixo (LANÇAS, 2009; ARGENTON, 2010).

Espectrometria de massas: baseia-se na ionização da substância. Analisa baixas concentrações de compostos orgânicos em misturas complexas (LANÇAS, 2009; ARGENTON, 2010).

De acordo com as finalidades podem ser classificados de acordo com:

Tipo de resposta: sensíveis à concentração (UV e fluorescência) e ao fluxo de massa (eletroquímico, índice de refração) (LANÇAS, 2009; ARGENTON, 2010).

Propriedades medidas: detectam as propriedades do eluente (constante dielétrica) e detectam as propriedades do analito (fluorescência) (LANÇAS, 2009; ARGENTON, 2010).

A seletividade: detectores universais (índice de refração, espectrômetro de massas), seletivos (por UV-VIS e fluorescência) e específicos (LANÇAS, 2009; ARGENTON, 2010).

➤ Aquisição de dados:

Computadores contendo *softwares* podem controlar, todas ou em parte, as operações do cromatógrafo. Armazenam, registram e tratam de forma qualitativa e quantitativa os dados recebidos do detector na forma de cromatograma (LANÇAS, 2009; ARGENTON, 2010).

2.2.5 O processo cromatográfico

A cromatografia é uma técnica físico-química utilizada na separação dos componentes de uma mistura, com fins qualitativos e quantitativos e se baseia na distribuição do analito em duas fases. A amostra deve ser miscível na FM (eluente) e carregada por ela na mesma direção. Todos os componentes da amostra possuem a mesma velocidade na FM. Para que aja retardamento relativo em relação aos outros compostos é necessária a interação com outra fase, a FE, promovendo a separação dos componentes da amostra. Ou seja, o tempo de retenção de cada analito se torna diferenciado graças às interações (intermoleculares) em diferentes intensidades com a FE utilizada provocando uma diferença na velocidade de migração de cada componente da amostra. O resultado da operação cromatográfica pode ser visualizado e registrado em gráficos chamados de cromatogramas, exemplificado na figura 6 (GIL, 2010).

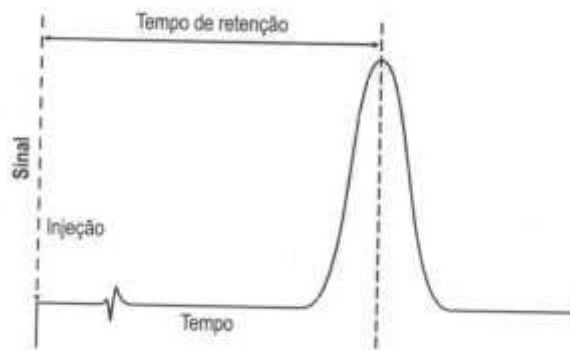


Figura 6: Cromatograma com destaque para o tempo de retenção (LANÇAS, 2009).

A coluna cromatográfica é a parte central do sistema porque é onde efetivamente acontece a separação. A escolha da coluna depende do objetivo da análise. Para amostras complexas como fármacos, dentre outros, é aconselhável realizar uma corrida cromatográfica utilizando colunas de diferentes polaridades (polar ou apolar) ou de mecanismos de separação distintos para averiguar uma possível coeluição. A coeluição consiste na eluição simultânea de duas ou mais substâncias, levando a um falso resultado. Porém, substâncias com estrutura química semelhantes, ainda assim, podem coeluir. Neste caso, pode optar-se pela utilização de detectores seletivos (LANÇAS, 2009).

De acordo com o tipo de FE contida na coluna cromatográfica poderá haver interações de diferentes intensidades entre ela e os componentes da amostra. Os analitos que possuem maior interação com a FE utilizada ficarão mais tempo retidos na mesma, se deslocarão mais vagarosamente através da coluna, promovendo o retardamento relativo e conseqüentemente a separação dos compostos, observado na figura 7 (LANÇAS, 2009).

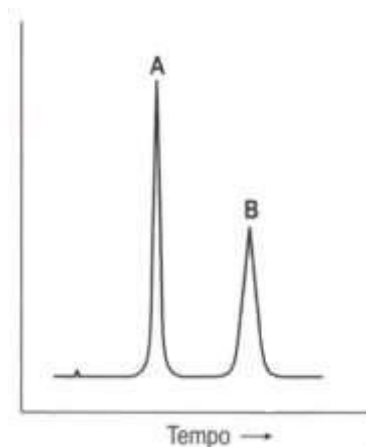


Figura 7: Separação dos componentes A e B de uma amostra (LANÇAS, 2009).

Para a escolha do sistema cromatográfico (condições para que ocorra a análise) e do mecanismo de separação, deve-se partir do objetivo e da necessidade da análise. Inicialmente, deve-se conhecer a natureza da amostra a ser analisada, como a sua solubilidade em meio orgânico e aquoso. Contudo, vários mecanismos paralelos podem atuar no processo de retenção, principalmente em amostras complexas, dificultando a escolha da marcha analítica (LANÇAS, 2009).

Para a escolha do processo de separação deve ser primordialmente considerada a estrutura e composição química da fase estacionária contida na coluna, assim como a disposição da fase sobre o suporte e o preparo do suporte (sílica). Existem graus diferentes de pureza da sílica (tipo A, B ou C). A sílica tipo A possui baixa porosidade, o tamanho das partículas é regular e a parede da sílica é grossa e firme. A do tipo B tem alta porosidade, os poros são

irregulares e as paredes são menos rígidas. E, o tipo C (sílica Hidreto) ainda é recente, não sendo popular como os outros tipos. É formada a partir da sílica tipo B que é convertida em hidreto de silício, podendo ser usada como fase normal. A sílica geralmente é usada porque apresenta boa resistência mecânica, estabilidade química e térmica e os grupos silanóis suportam posteriores modificações com reações químicas no preparo das fases estacionárias. Outros suportes também podem ser utilizados como o dióxido de zircônio (ZrO_2), dióxido de titânio (TiO_2) e óxido de alumínio (Al_2O_3). Outros fatores também devem ser observados como o comprimento, diâmetro interno, tamanho e forma das partículas para um bom desempenho (LANÇAS, 2009).

Independente do mecanismo e do sistema cromatográfico a serem escolhidos, as interações FM x FM, analito x FM, analito x FE e FM x FE devem ser consideradas também. O conhecimento da polaridade, do momento dipolar e da capacidade doadora de prótons da amostra, do solvente e do eluente ajudam no desenvolvimento da seletividade do sistema.

Baseado na classificação da natureza da FE empregada tem-se os seguintes tipos de cromatografia, descritos a seguir: cromatografia de adsorção; partição; troca iônica; exclusão por tamanho; por afinidade (LANÇAS, 2009; ARGENTON, 2010).

2.2.6 Mecanismos de separação

➤ Cromatografia líquida de adsorção

A cromatografia por adsorção ou líquido-sólida é dita cromatografia clássica, desenvolvida por Tswett no início do século passado, logo é o tipo de cromatografia mais antiga. Inicialmente, a FE era bastante polar (óxidos de metais como alumina, sílica, dentre outros) e a FM menos polar (geralmente um alcano com a presença de solventes mais polares). O mecanismo de separação regente era a adsorção (LANÇAS, 2009).

Nesta técnica, as FE, sólidas, utilizadas são a sílica (SiO_2) finamente dividida e alumina (Al_2O_3) (LANÇAS, 2009).

A FM deve ser apolar ou semi-polar (hexano, acetato de etila, diclorometano, por exemplo). Porém, podem ser adicionadas outras substâncias ao eluente chamadas de aditivos, moderadores ou moduladores com o objetivo de melhorar a atividade da FE, conseqüentemente, o resultado da análise. Solventes como acetonitrila, amina, álcool e acetato de etila são empregados em pequenas proporções. A adição destes geralmente altera a seletividade e a retenção dos compostos, aumentando a eficiência da coluna, diminuindo a cauda dos picos cromatográficos, proporcionando uma menor variação nos tempos de retenção entre várias

injeções. Estas vantagens vêm do fato de que os moderadores são preferencialmente adsorvidos pelos sítios da superfície da FE, formando uma nova superfície mais efetiva e homogênea. Já a adição da água, caso necessário, deve ser cuidadosamente controlada porque pode desativar a sílica da FE e deixar de cumprir adequadamente a sua finalidade que é a separação, diminuindo a seletividade (LANÇAS, 2009).

A figura 8 mostra os componentes da amostra e da FM sendo adsorvidos por algum tempo na FE, competindo pelos sítios de interação (LANÇAS, 2009).

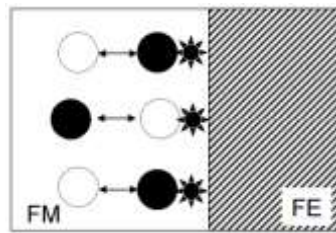


Figura 8: Mecanismo por adsorção (ARGENTON, 2010).

Esta distribuição entre as interfaces é bastante complexa porque considera a distância de separação dos sítios ativos em relação ao tamanho dos analitos, a orientação espacial das moléculas sorvidas no sólido, dentre outros, o que cooperam para a retenção das substâncias. A interação entre a superfície polar da FE e os compostos acontece de acordo com a polaridade e a geometria destes últimos. Fatores estereoquímicos podem definir a separação de moléculas semelhantes. Substâncias mais polares possuem maior adsorção na FE e ficam mais tempo retidas (LANÇAS, 2009).

Caso a amostra em análise seja altamente polar, poderá interagir fortemente com a fase estacionária através de ligações de hidrogênio e ficarão mais tempo retidos. Se a amostra contiver moléculas polarizáveis, a interação será do tipo dipolo-dipolo induzido, mais branda do que a anteriormente citada sendo, assim, também serão retidas (LANÇAS, 2009; GIL, 2010).

Existem dois modelos propostos por Snyder e Scott que explicam a retenção por adsorção, ou seja, as interações do analito em relação à FM e a competição dos mesmos pela FE. São o modelo do deslocamento ou da competição e o modelo da interação com o solvente, respectivamente. Esses modelos foram muito debatidos nas décadas de 80 e 90, sendo ambos aceitos e considerados equivalentes, atualmente. O mecanismo de separação da cromatografia por partição em fase normal se sobrepõe ao desta técnica. Por vezes, os processos de deslocamento na fase normal acontecem por adsorção (LANÇAS, 2009).

➤ Cromatografia de partição

No caso da CL, a base deste mecanismo é a partição (distribuição) dos componentes da amostra nas FM e FE, ambas líquidas, imiscíveis e que permanecem em contato constante, conforme é mostrado na figura 9. Essa partição acontece pela diferença de solubilidade dos solventes da amostra nas duas fases (LANÇAS, 2009).

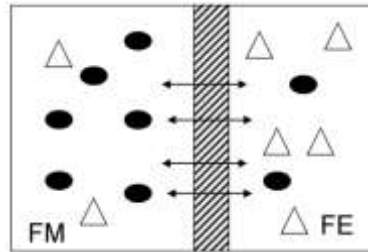


Figura 9: Mecanismo por partição (ARGENTON, 2010).

Subdivide-se em cromatografia líquido-líquido e cromatografia de líquido com fase ligada. Diferenciam-se pelo modo de deposição da FE líquida nas partículas de suporte do material de empacotamento da coluna (SKOOG, 2014).

Na cromatografia líquido-líquido, inicialmente, a FE líquida era adsorvida fisicamente na superfície de um suporte através de processos de radiação (ultrassom, ultravioleta, gama) e temperatura, por exemplo. E, então, o conjunto era colocado dentro da coluna cromatográfica. As análises eram mais demoradas, pois requeriam tempo para atingir o equilíbrio entre as fases. Após, surgiram as colunas capilares que se mostraram mais eficientes. No entanto, limitadas, pois a deposição da FE, um filme líquido, era diretamente na parede interna da coluna e havia ocorrência de solubilização pela FM, danificando a coluna (LANÇAS, 2009).

A partir dessas limitações e de outros fatores, foram desenvolvidas fases quimicamente ligadas ao suporte (*bonded phases*) e a cromatografia líquido-líquido foi substituída pela cromatografia de líquido com fase ligada. O líquido estacionário é retido por meio de ligações químicas, tornando-se mais estável, insolúvel na FM e compatível com a técnica de eluição por gradiente. Atinge de forma rápida o equilíbrio com a FM. A sílica é quimicamente modificada através de reações químicas, onde os grupos silanóis (Si-OH) da sílica são substituídos por grupos funcionais polares ou apolares, como octadecilsilano ou C18 ou ODS (-C₁₈H₃₇), octilsilano ou C8 (-C₈H₁₇), fenil (-C₆H₅), ciano (CN), amino (NH₂), diol, dentre outros. A figura 10 contém a estrutura da sílica quimicamente ligada aos grupos octadecil, octil e fenil, respectivamente (LANÇAS, 2009).

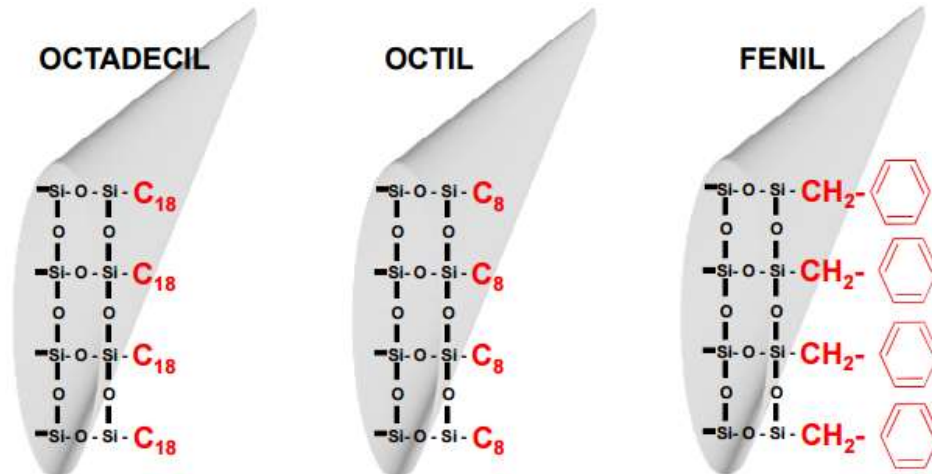
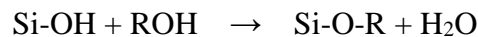


Figura 10: Sílicas quimicamente modificadas, apresentando os grupos: octadecil (C18 ou ODS), octil (C8) e fenil, respectivamente (ARGENTON, 2010).

A produção dessas fases quimicamente ligadas pode ser realizada através de quatro principais tipos de reações, para se obter diferentes fases: reação de esterificação, reação com aminas, reações de Grignard e reação de silanização (LANÇAS, 2009).

* Esterificação:

Formada por ligação entre o grupo silanol da sílica e um álcool. As ligações silício-oxigênio-carbono formadas apresentam pouca estabilidade, pois são facilmente hidrolisáveis (LANÇAS, 2009).



* Reações com aminas:

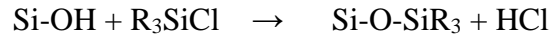
Apresentam estabilidade na estreita faixa de pH 5 a 7, não sendo muito bem aceita. A reação inicia com cloreto de tionila, depois com uma amina (LANÇAS, 2009).

* Reação de Grignard:

A ligação silício-carbono produzida é estável. O grupo silanol da sílica reage com o cloreto de tionila, seguido da reação de um composto de Grignard. A reação é bastante sensível à umidade, necessitando de aquecimento a 300° C para eliminação da água (LANÇAS, 2009).

* Reação de silanização:

Este material de empacotamento é bastante utilizado na maioria da fase ligada. A superfície da sílica é hidrolisada pelo aquecimento com HCl 0,1M e passa a conter grupos silanóis (-Si-OH) quimicamente reativos. Estes, por sua vez, reagem com um organoclorossilano (R₃SiCl) formando ligações silício-oxigênio-silício (Si-O-Si), chamadas siloxanos, bastante estáveis. Grupos funcionais orgânicos podem ser ligados às superfícies da sílica proporcionando grande variedade de polaridades (LANÇAS, 2009).



Pode acontecer de alguns silanóis ainda permanecerem ativos por não reagirem devidos a efeitos estéreos, conforme demonstrado na figura 11, produzindo certa polaridade indesejável, o que pode acarretar na formação de caudas no cromatograma (LANÇAS, 2009).

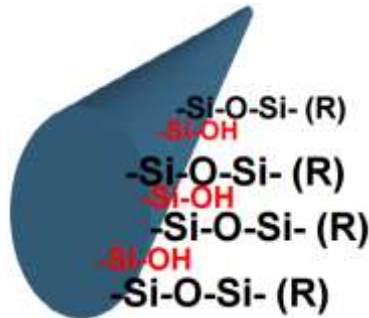


Figura 11: Sílica quimicamente modificada pela reação de silanização, apresentando os grupos silanol (-Si-OH) e siloxano (-Si-O-Si-R) (ARGENTON, 2010).

Para minimizar esse efeito caudal, um dos modos mais usados para tal é o capeamento da extremidade (*end-capping*). Consiste em uma posterior reação com o trimetilclorosilano (TMCS) ou o hexametildisilazano (HMDS) que devido ao seu pequeno tamanho tende a reagir com os silanóis que não reagiram (grupos residuais). O hidrogênio do grupo silanol é substituído pelo grupo trimetilsilício, por exemplo. Contudo, o capeamento não necessariamente exclui parcial ou totalmente os grupos silanóis residuais, o que proporciona uma variedade de superfícies da fase quimicamente ligada com diferentes densidades de silanóis. Além disso, outro fator importante a ser considerado é que colunas de mesmo tipo de fase ligada, mas de fabricantes diferentes, geralmente apresentam diferenças no tempo de retenção durante uma análise devido à diferentes tipos de sílica utilizados (LANÇAS, 2009).

Por convenção, ao se preparar uma fase quimicamente ligada com grupo polar é dito que a coluna opera em fase normal devido à mesma polaridade das FE e FM da cromatografia líquido-sólido ou adsorção (considerada normal, até então). Ao se utilizar grupo apolar para o preparo, diz-se que a coluna opera em fase reversa (polaridade contrária à fase normal). Porém, há autores que criticam esta classificação, pois alegam que não há razão científica para tal divisão no processo de partição em fase normal e reversa, visto que algumas FE podem ser operadas tanto em fase normal quanto em fase reversa e até mesmo em troca iônica, dependendo da FM em uso (LANÇAS, 2009).

Contudo, baseando-se na polaridade da FE e da FM, têm-se dois tipos de cromatografia: cromatografia de fase normal e cromatografia de fase reversa. Uma observação sobre as fases é importante, uma mesma fase pode ser considerada normal ou reversa dependendo do sistema químico utilizado (LANÇAS, 2009).

Fase Normal:

Na utilização da fase normal (*Normal Phase* ou NP), o grupo na estrutura do siloxano é polar (ciano, $-\text{C}_2\text{H}_4\text{CN}$; diol, $-\text{C}_3\text{H}_6\text{OCH}_2\text{CHOHCH}_2\text{OH}$; amino, $-\text{C}_3\text{H}_6\text{NH}_2$; dimetilamino, $-\text{C}_3\text{H}_6\text{N}(\text{CH}_3)_2$ e o eluente é relativamente apolar (*n*-hexano, éter etílico e clorofórmio). O grupo ciano apresenta menor polaridade, seguido dos dióis com polaridade intermediária e as amins mais polares. Durante a análise cromatográfica, o componente menos polar da amostra elui primeiramente. Se a polaridade da FM for aumentada, o tempo de eluição será diminuído. Na fase normal, as principais interações entre os grupos polares do analito e da FE são a ligação de hidrogênio e dipolo-dipolo (GIL, 2010).

Em relação à FM, os solventes mais utilizados são éter terc-butílico ou éter etílico, clorofórmio e diclorometano (GIL, 2010).

Fase Reversa:

Na fase reversa (*Reversed Phase* ou RP), os grupos apolares mais utilizados são os octadecilsilano (C18 ou ODS) e octilsilano (C8) porque possuem cadeias longas, com retenção maior, sendo utilizadas em análises de amostras maiores. A C18 é a primeira escolha pela grande cadeia do grupo alquila com 18 carbonos apresentando maior caráter e fase reversa, sendo praticamente universal. Contudo não existe uma coluna universal que seja apropriada para toda e qualquer tipo de separação (LANÇAS, 2009).

Para haver retenção, mesmo que minimamente, os compostos da amostra devem possuir pelo menos uma parte apolar em sua estrutura para solubilização parcial na FE. Logo, a retenção baseia-se principalmente na hidrofobicidade do soluto, quanto mais polar a amostra menor será a afinidade pela FE promovendo menor retenção da mesma (LANÇAS, 2009).

Em colunas de fase reversa tipo C8 e C18, a força de van der Waals atua na interação do analito com os grupos funcionais da sílica (Gil, 2010).

A FM é relativamente polar, geralmente uma solução aquosa ou hidroorgânica contendo um modificador orgânico como metanol e/ou acetonitrila e/ou THF (apresentam boa solubilidade em água), em determinadas proporções, para ajustar a força (polaridade) de solvente da água. A alteração dessas concentrações modifica o coeficiente de partição da amostra na FE, conseqüentemente, o tempo de retenção varia. A figura 12 mostra que o aumento na proporção de água remete a um aumento no tempo de retenção da amostra de compostos menos polares. A diminuição da proporção da água e um aumento da proporção do solvente orgânico levam à diminuição da retenção (LANÇAS, 2009; GIL, 2010).

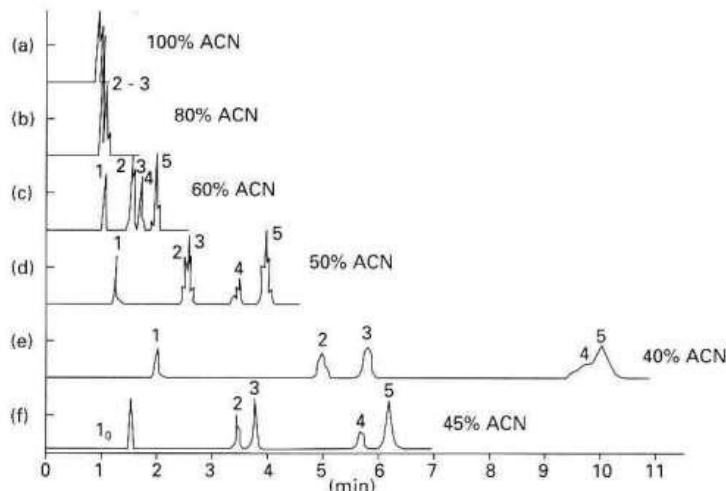


Figura 12: Exemplo genérico de separação cromatográfica através de ajustes na composição da fase móvel, utilizando os solventes acetonitrila (ACN) e água. Quanto maior a proporção de água, maior é o tempo de retenção, mas não necessariamente a melhor separação (ARGENTON, 2010).

Uma eventual adição de um sal, tampão, íon metálico ou outros elementos, por vezes, se faz necessária para controlar a força iônica visando o equilíbrio químico para uma melhor separação. O equilíbrio relativo à distribuição do soluto nas fases é chamada de equilíbrio primário e a sua alteração pelo incremento de elementos denomina-se equilíbrio químico secundário (LANÇAS, 2009; GIL, 2010).

A figura 13 sugere algumas ações para a escolha de um processo cromatográfico, partindo da fase móvel totalmente orgânica. A participação da água na composição do eluente traz vantagens, pois é um solvente atóxico, de baixo custo, transparente no UV e compatível com solutos biológicos. A água adequada deve possuir grau HPLC (água ultrapura). Dependendo do método de análise, geralmente, o metanol é a opção mais utilizada para alterar a força de eluição do solvente em RP por ser melhor solvente que a acetonitrila, mais barato, menos tóxico. A acetonitrila é mais cara que o metanol pela sua purificação mais complexa. Ela é mais bem empregada em análises que utilizam comprimentos de onda próximos a 200 nanômetros (nm), possuindo boa transparência no UV (LANÇAS, 2009).

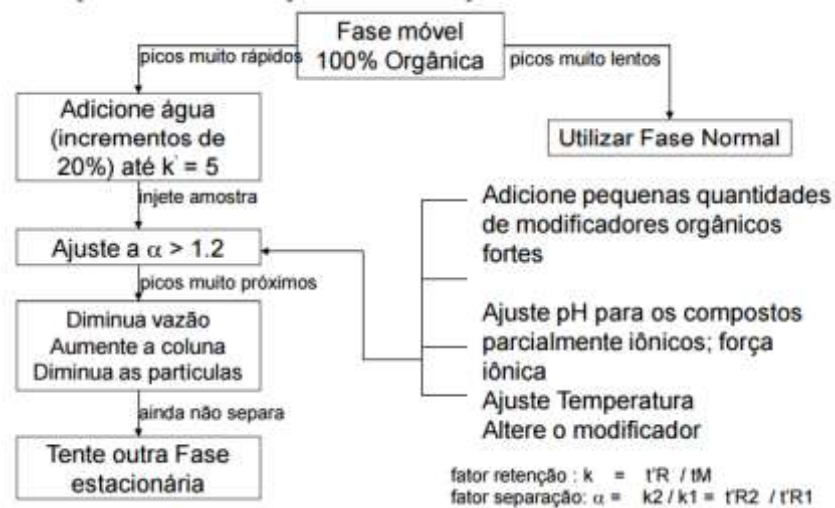


Figura 13: Orientação para a escolha adequada do processo de separação cromatográfica (ARGENTON, 2010).

➤ Cromatografia por exclusão

No final da década de 1950, o termo cromatografia de filtração em gel (GFC – *gel filtration chromatography*) era usado na área bioquímica, na separação de polímeros. O material de empacotamento consistia no gel de dextran e a FM, em soluções aquosas. Isto é, a FE é hidrofílica. Esta técnica é usada na separação de substâncias polares, de acordo com seu tamanho (LANÇAS, 2009).

No início da década de 1960, o nome cromatografia de filtração em gel (GPC - *gel permeation chromatography*) foi muito utilizado pelos químicos na separação de polímeros orgânicos. O material de empacotamento era o gel de poliestireno e a FM, soluções não aquosas. Isto é, a FE é hidrofóbica. Esta técnica é usada na separação de substâncias apolares, de acordo com seu tamanho (LANÇAS, 2009).

O nome cromatografia por exclusão ou cromatografia por exclusão por tamanho (SEC - *Size exclusion chromatography*) vem da unificação de dois tipos de cromatografia, a permeação em gel e a filtração em gel, que possuíam o mesmo mecanismo de separação. Atualmente, os termos GFC e GPC ainda são bastante utilizados (LANÇAS, 2009).

Na SEC, os analitos são separados de acordo com o tamanho das moléculas por exclusão e não devido à interações moleculares, químicas ou físicas com a FE, conforme as figuras 14 e 15. A presença dessas interações pode causar a diminuição da eficiência da coluna. A escolha adequada das condições cromatográficas oferece apenas a exclusão por tamanho, descartando mecanismos como adsorção e troca iônica. Por este motivo, o uso do eluente é importante porque ele deve dissolver por completo a amostra para que não haja interação com a FE, ocasionando pico caudal e atraso na eluição (LANÇAS, 2009).

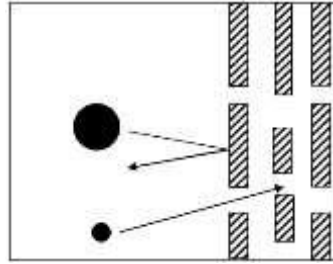


Figura 14: Cromatografia por exclusão de tamanho de partículas (ARGENTON, 2010).

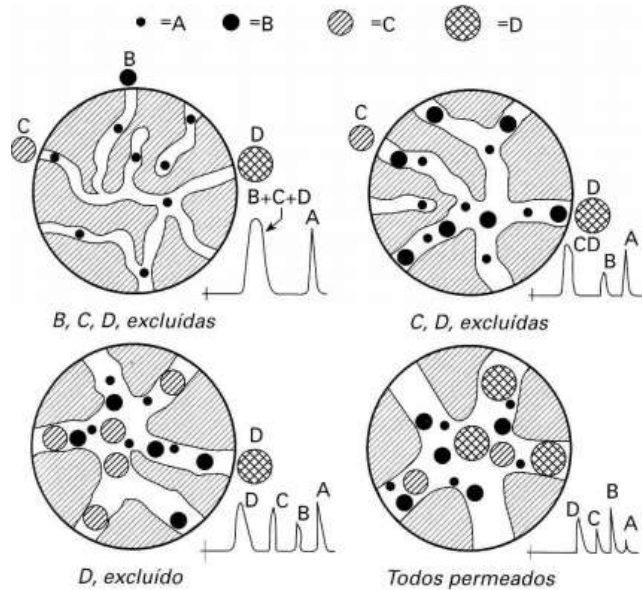


Figura 15: Exemplo genérico de mecanismo por exclusão envolvendo tamanhos variados de partículas (A, B, C e D) com a separação e identificação no cromatograma (ARGENTON, 2010).

A FE (sólida) é composta por esferas de polímero ou partículas de sílica gel, ambas com o tamanho variando de 5 a 10 μm . Com o uso da sílica pode se alcançar temperaturas e pressões mais altas por ser mais rígida e também dispor de um número maior de solventes para uso. Porém, a sílica pode reter compostos por adsorção, o que não é desejável nesta técnica (LANÇAS, 2009).

Este tipo de cromatografia se baseia na diferença de massa molecular dos componentes da amostra e é aplicada em substâncias de alta massa molecular, exceto amostras possuindo tamanho semelhante, por exemplo, isômeros. Com relação a isto, é aceitável uma diferença mínima na massa molecular de 10% para se ter resolução mediana entre os picos. Esta técnica apresenta boa detectabilidade observada através de picos estreitos e não sofre desativação da coluna porque não há interação do analito com a mesma. O mecanismo de separação consiste na partição (já explicada anteriormente) e peneiração (LANÇAS, 2009; SKOOG, 2014).

Cada tipo de recheio da FE tem um limite definido para o tamanho molecular a ser analisado: limite de exclusão, limite de permeação e permeação seletiva (GIL, 2010).

- limite de exclusão é o limite mínimo ou inferior do tamanho da molécula que pode ser selecionada durante a análise. Abaixo desse valor, moléculas pequenas permeiam totalmente os poros da FE, mas não há distinção entre elas, ou seja, separação. Desta forma, possuem o maior tempo de retenção (GIL, 2010).

- limite de permeação é o limite máximo ou superior de massa permitido. Acima desse valor, moléculas maiores do que os poros não penetram na FE, não ficam retidas e não há separação entre elas, permanecendo por todo o tempo na FM. Possuem o menor tempo de retenção, sendo eluídas (excluídas) primeiramente junto com a FM (GIL, 2010).

- permeação seletiva é a faixa entre o limite de exclusão e o limite de permeação. Moléculas de tamanho intermediário permeiam os poros, aprofundando-se neles de acordo com seu tamanho, em função da diferença das massas moleculares, ocorrendo separação entre elas (GIL, 2010).

A separação ocorre conforme o raio molecular hidrodinâmico ou tamanho efetivo, isto é, o raio que o composto percorre no eluente, sendo dependente da geometria do polímero e da interação deste com o eluente e consigo mesmo. Por este motivo, podem-se utilizar homólogos com concentração conhecida para construir curvas de calibração para determinação de massas moleculares, sabendo que o tamanho efetivo está relacionado com massa molecular da amostra. Ao se analisar uma amostra fazendo uso do padrão da mesma substância, a massa molecular média é verdadeira. Caso contrário, a massa molecular é relativa (GIL, 2010).

➤ Cromatografia por afinidade

Esta técnica cromatográfica é aplicada em processos preparativos de purificação e isolamento rápido de biomoléculas, mas não é muito empregada no controle de qualidade (GIL, 2010).

O mecanismo de separação é bem próximo ao da cromatografia por adsorção, apresentando interações específicas ‘chave-fechadura’, conforme a figura 16 (GIL, 2010).

O suporte da FE é um sólido contendo um reagente ligado (imobilizado) por afinidade, sendo denominado ligante de afinidade. O suporte sólido é de agarose ou microesferas de vidro poroso. O ligante de afinidade são macromoléculas, geralmente anticorpo, antígeno, inibidor enzimático, proteína ou outras moléculas biológicas. Esta técnica é seletiva (GIL, 2010).

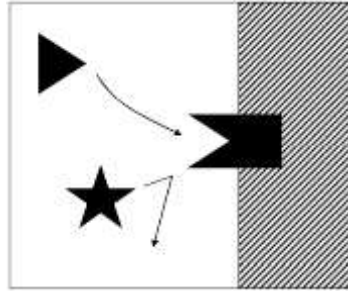


Figura 16: Cromatografia por afinidade: mecanismo chave-fechadura (ARGENTON, 2010).

Durante uma corrida cromatográfica, os componentes da amostra que não possuem interação (afinidade) com o ligante de afinidade eluem juntamente com a FM. As moléculas da amostra que possuem afinidade pelo ligante de afinidade são retidas de forma seletiva porque se ligam fortemente a esse ligante. Mas, esse tipo de ligação apesar de forte é reversível. Através da mudança no pH ou na força iônica do eluente, a interação entre o analito e o ligante de afinidade se torna mais fraca ou é anulada. Desta forma, as moléculas retidas podem ser removidas da FE. (SKOOG, 2014; GIL, 2010).

➤ Cromatografia de troca iônica

Inicialmente, a cromatografia de troca iônica participou da conexão entre a cromatografia clássica e a moderna. As análises de íons eram realizadas por meio da condutividade. A partir da década de 1970, amostras contendo misturas de ânions e cátions passaram a ser analisadas por HPLC, sendo uma técnica nova (LANÇAS, 2009).

A figura 17 refere-se ao mecanismo de cromatografia por troca iônica, onde a FE contém íons ativos e a FM, um contra-íon (íons de carga oposta) (GIL, 2010).

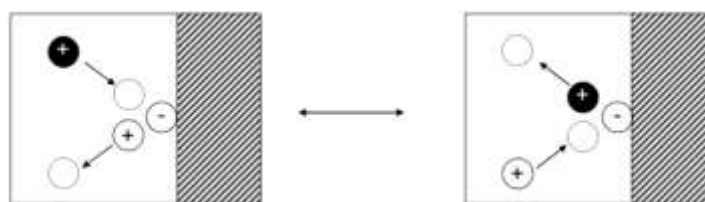
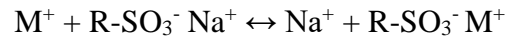


Figura 17: Mecanismo por troca iônica (ARGENTON, 2010).

Quando se tem uma amostra em que a forma não-iônica não prevalece, usa-se a cromatografia de troca iônica. É empregada em análises de íons ou substâncias ionizáveis como, por exemplo, íons inorgânicos e orgânicos, aminoácidos, proteínas, nucleotídeos,... (GIL, 2010).

O mecanismo de separação se baseia na interação eletrostática entre a amostra e a fase estacionária. Exemplo de amostra contendo um cátion genérico M^+ :



Os grupos quimicamente ligados atuantes na fase estacionária e suas intensidades são:

SO_3^- (trocares fortes de cátions)

CO_2^- (trocares fracos de cátions)

NR_3^+ (trocares fortes de ânions)

NH_2R^+ (trocares fracos de ânions) (ARGENTON, 2010).

Atualmente, os íons inorgânicos são analisados, em sua maioria, por uma técnica da troca iônica chamada de cromatografia de íons. Já, os compostos iônicos e ionizáveis estão sendo mais analisados pela cromatografia de fase reversa com a técnica de pares de íons porque se mostram mais estáveis e eficientes. A retenção se dá devido à atração eletrostática reversível entre a carga da FE e a carga do eluente (LANÇAS, 2009).

Atualmente, existem dois tipos de técnica com o mesmo objetivo de diminuir a condutividade do solvente eletrólito para que as espécies iônicas possam ser detectadas influência analisar: em supressores e em coluna única (LANÇAS, 2009).

A cromatografia de íons baseada em supressores trabalha com duas colunas. A primeira é uma coluna analítica, de separação. A segunda é uma coluna com resina de troca iônica que modifica os íons do solvente, resultando em substâncias moleculares. Atua no processo intermediário após a separação e antes da detecção para reter a condutividade do eluente proveniente da coluna analítica. Desta forma, o ruído é diminuído e somente os íons da amostra são detectados (LANÇAS, 2009).

A alternativa é utilizar somente uma coluna de troca iônica de capacidade baixa e FM com pequena condutividade contendo concentrações baixas dos íons. Esta técnica é simples, barata. Porém, possui limite de detecção menor, sendo menos sensível que a técnica que utiliza coluna supressora (LANÇAS, 2009).

2.2.7 A cromatografia na análise de medicamentos

Os medicamentos são constituídos por substâncias químicas que atuam para propiciar o bem-estar do usuário. A garantia da qualidade destes produtos pode ser atestada através de estudos e testes analíticos físico-químicos dos compostos, com utilização de métodos de análise manipulados por técnicos em química e em farmácia, farmacêuticos e químicos (GIL, 2010).

Análises do laboratório de controle de qualidade na área farmacêutica e em pesquisas empregam a técnica por HPLC que é largamente utilizada nos testes de impurezas orgânicas e doseamento (quantificação do teor dos componentes ativos de uma amostra) de matéria-prima

e produto por comparação com padrões. A razão para tal uso desta técnica é a boa sensibilidade e baixa vulnerabilidade a interferentes. Dentre as técnicas de cromatografia, possui aplicabilidade maior do que o CG e maior sensibilidade que a CCD (GIL, 2010).

Os testes de identificação (qualitativos) têm por objetivo confirmar a identidade da substância (princípio ativo, coadjuvantes e contaminantes), sendo específicos e confiáveis. Com isso, podem-se evitar fraudes e garantir a segurança do produto. Podem ser físicos ou químicos, instrumentais ou clássicos. Os métodos clássicos são reações químicas de grupos funcionais, de caráter eliminatório, portanto, menos sensíveis. Não necessitam de instrumentação o que traz baixo custo de análise; análises organolépticas (análise visual); solubilidade como complemento na identificação. Os métodos instrumentais de identificação são ensaios físicos, possuem alta sensibilidade e reprodutibilidade. Baseiam-se na interpretação de gráficos (espectros, cromatogramas) e/ou nas propriedades físico-químicas (ponto de fusão, densidade, rotação ótica, índice de refração,...). O custo varia com o equipamento. O uso do HPLC para a identificação não tem grande utilização devido a existências de técnicas com custo mais baixo e eficazes, em contra-partida com o gasto no uso de padrões e solventes grau HPLC/UV, o tempo de análise e manutenção de equipamentos. Porém, quando o teste de doseamento utiliza o HPLC, geralmente os cromatogramas são aproveitados para o teste (GIL, 2010). Neste caso, o tempo de retenção do composto (tempo em que passa pela coluna) em análise é observado e comparado com o tempo de retenção do seu respectivo padrão, nas mesmas condições cromatográficas. A figura 18 mostra a comparação entre o cromatograma do padrão (b) e o da amostra analisada (a). O resultado obtido é característico, a amostra deve conter a substância b, porém, não é exclusivo pelo fato de outras substâncias poderem ter o tempo de retenção idêntico ou bem próximo, nessas mesmas condições. Isto é, pode haver uma eluição simultânea (coeluição) (LANÇAS, 2009).

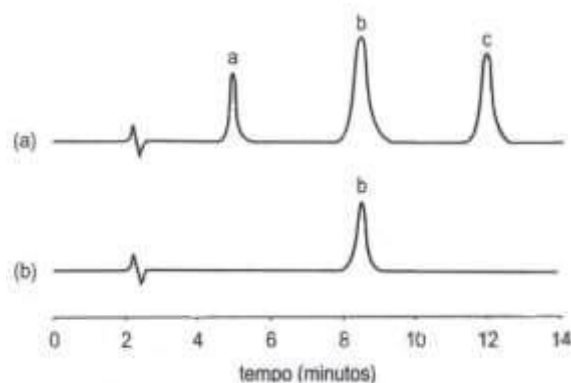


Figura 18: Comparação entre o cromatograma (a) correspondente a amostra e o cromatograma (b) referente ao padrão, identificando o componente b (LANÇAS, 2009).

Como o tempo de retenção pode ser influenciado pela mudança na temperatura da coluna e da sala, com a alteração do fluxo da fase móvel e com impurezas retidas na coluna, uma forma de tornar mais confiável o resultado na identificação é empregar a técnica *Spike* que consiste em adicionar quantidade conhecida do respectivo padrão à amostra em análise. No cromatograma da amostra é observado um aumento na área indicando uma possível confirmação da identidade do composto, exemplificado na figura 19. Porém, a possibilidade de coeluição não é descartada, mesmo eliminando os fatores que podem influenciar esta análise. Portanto, para tornar o teste de identificação pelo tempo de retenção mais seguro, a associação com outra técnica para obter informações complementares é mais indicada. Geralmente, as técnicas espectroscópicas UV-VIS, infravermelho por transformada de Fourier (FT-IR), espectroscopia por ressonância magnética nuclear (NMR), fluorescência e espectrometria de massa (MS) são utilizadas (LANÇAS, 2009).

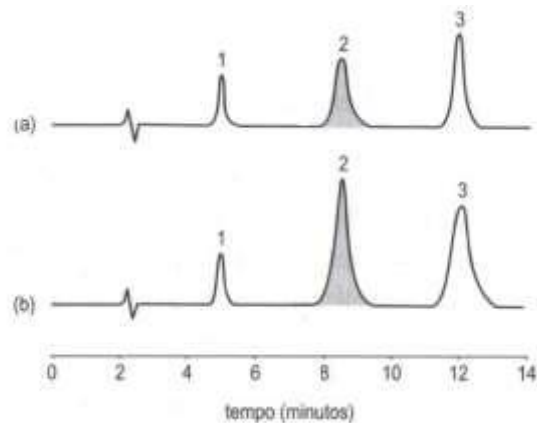


Figura 19: Método *Spike* (LANÇAS, 2009).

Todos os fármacos estão sujeitos a decomposição química ou física, porém, alguns são mais sensíveis a essas variações do que outros. A estabilidade de medicamentos depende de fatores como propriedades químicas e físicas dos seus componentes, assim como, a composição, a forma farmacêutica (líquida e sólida), o processo de fabricação e o tipo de embalagem. Fatores externos a produção dos fármacos também podem afetar sua integridade, como luz e umidade. A degradação química pode ser por hidrólise, oxidação, isomerização, fotoestabilidade e polimerização (GIL, 2010).

Hidrólise: afeta as formas líquidas. Pode ocorrer por catálise ácida ou básica, logo, o pH neutro oferece maior estabilidade. Sendo assim, a preferência para substâncias mais propícias a ser hidrolisadas, tais como ésteres, amidas,...., é dada a formas sólidas (GIL, 2010).

Oxidação: pode ocorrer em vitaminas, antibióticos, compostos fenólicos, esteróides,...., através do contato com o ar. O uso de antioxidantes contribui para a estabilidade (GIL, 2010).

Isomerização: conversão em isômeros ópticos ou geométricos (GIL, 2010).

Fotoestabilidade: a luz pode alterar a composição de substâncias fotossensíveis. Cuidados como a manipulação em baixa luz, frascos âmbar ou opacos e estocagem em ambiente escuro devem ser tomados (GIL, 2010).

Polimerização: Pode haver formação de dímeros ou polímeros (GIL, 2010).

Estudos e testes de estabilidade, qualitativos e quantitativos, em medicamentos são realizados para garantir a segurança e a eficácia dos produtos. Entre as técnicas de análise mais usuais destacam-se métodos cromatográficos com uso de detectores adequados, HPLC, CG, CCD, eletroforese capilar ou rotação ótica (GIL, 2010).

Portanto, impurezas orgânicas podem proceder de processos de decomposição, falhas no processo de purificação, contaminação ambiental ou são correlatas. As más condições de armazenamento doméstico em ambientes, como cozinha e dentro do carro são locais quentes, assim como o banheiro, por ser um local úmido, não são adequados para armazenar medicamentos (GIL, 2010).

Para o teste de doseamento ou potência, as multinacionais farmacêuticas, na sua totalidade, fazem uso das técnicas instrumentais cromatográficas por sua maior sensibilidade. A Farmacopeia Americana (USP) publica a maioria dos métodos (mais de 90%) por HPLC. O CG possui menor aplicação, pois se restringe a substâncias com estabilidade térmica e/ou alta volatilidade, apesar de ter grande resolução e sensibilidade. As outras farmacopeias indicam métodos alternativos. O CCD para este teste não apresenta precisão e sensibilidade adequados. Os métodos clássicos englobam a gravimetria e volumetria (GIL, 2010).

2.3 MAPAS CONCEITUAIS

Os mapas conceituais foram criados e desenvolvidos na década de 70 por Joseph Donald Novak e sua equipe, que tomaram como alicerce a teoria da aprendizagem significativa de David Ausubel. Segundo a teoria Ausubeliana, para que haja um aprendizado significativo, o novo conhecimento assimilado deve interagir com o conhecimento prévio que o indivíduo já possui, chamado de subsunção, que serve como apoio, base para ancoragem do novo conceito. O conhecimento, então, é organizado, hierarquizado e modificado cognitivamente. Este processo não é observado na aprendizagem mecânica, memorística ou automática, onde o aprendizado ocorre, mas sem interação com o conhecimento previamente adquirido pela pessoa e tampouco há alteração na estrutura cognitiva, resultando em aquisição de conhecimentos sem significado, apenas armazenados. Diante disso, a criação e /ou utilização de recursos didáticos

alternativos visando à aprendizagem significativa se faz necessário em contraponto ao ensino tradicional (MOREIRA, 1997; ZABALA, 1998).

Na aprendizagem significativa, o aprendizado pode ser conduzido pela evolução do conceito, do significado, do subsunçor, previamente concebido pela pessoa. Conceitos mais gerais e inclusivos, progressivamente, através de sucessivas interações, adquirem novos significados incorporando novas proposições e conceitos específicos e menos inclusivos, se diferenciando para que seja possível contemplar as diferenças entre os conceitos. A este processo denomina-se diferenciação progressiva de conceitos. Quando o novo conceito adquire novos significados, se integra com o subsunçor e as relações entre eles são criadas ou reformuladas, havendo reconciliação entre idéias, sejam elas semelhantes ou não, isto é, a reorganização ou recombinação entre conceitos ou proposições, a aprendizagem se dá por reconciliação integrativa. Se a aprendizagem acontecesse somente pela diferenciação dos significados, todos os conceitos seriam diferentes infinitivamente. Se ocorresse somente por reconciliação integrativa, o conhecimento seria percebido de forma igual. A aprendizagem significativa, portanto, acontece em ambos os casos e simultaneamente, onde a cognição se modifica e alcança novos significados. Mas, para que ocorra efetivamente, é necessário que o novo conceito seja potencialmente significativo e que o aluno deva querer aprender por alguma razão, estar pré-disposto a tal, para que a aprendizagem não se torne uma aprendizagem mecânica que não requer compreensão. Entretanto, a aprendizagem mecânica e a significativa não constituem uma dicotomia, isto é, não são opostas (MOREIRA, 1997; ZABALA, 1998).

Os mapas conceituais consistem em gráficos, em diagramas, porém, não devem ser confundidos com outros tipos de diagramas, pois não possuem relação temporal. Para a sua elaboração, em primeiro, identificam-se os conceitos, palavras ou símbolos (representando os conceitos) correlatos considerados mais importantes. Esses conceitos ou palavras são representados por substantivos que ficam dentro de caixas (figuras geométricas) no mapa conceitual. Sugere-se que os conceitos mais importantes e abrangentes devem estar evidenciados. O esforço cognitivo está no emprego da reflexão sobre a relação entre os conceitos. Estes devem ser interligados por frases de ligação usando as proposições (que são ideias declarativas, contidas e demonstradas na forma de conectores ou palavras-chave), as preposições ou os verbos, contidos ou não em setas ou segmentos de reta, tornando as informações mais acessíveis. Os mapas conceituais podem possuir estruturas simples, superficiais e pouco elaboradas ou possuir relações bem estruturadas entre subsunçores e conectores nomeados. Não há regras para a confecção de mapa conceitual, tampouco um mapa correto. Eles podem ser produzidos à mão ou com auxílio de *softwares* como o *Cmap Tools*,

onde *links*, *cross-links*, documentos, vídeos e imagens podem ser incluídos. Com isso, a produção do saber não se resume a sala de aula física, mas também ao ambiente virtual, à distância (MOREIRA, 1997).

Apesar de não ser uma técnica nova, o mapa conceitual é atual e pode ser aplicado em diversas áreas. No âmbito educacional, essa ferramenta pode ser utilizada tanto por alunos como por professores por ser organizadora, representadora e potencialmente facilitadora do conhecimento. Pode ser empregado como revisão bibliográfica, recurso didático, instrumento de análise de currículo, método avaliativo e no desenvolvimento e acompanhamento cognitivo (MOREIRA, 1997).

Em relação à avaliação, eles devem ser utilizados com cautela e de forma qualitativa porque cada mapa conceitual será diferente para cada pessoa e pode variar com o passar do tempo. O entendimento adquirido hoje pode sofrer reconciliação integrativa e diferenciação progressiva, tornando o processo gradual, pessoal e cada vez mais significativo. Com isso, professores e alunos podem acompanhar a evolução cognitiva do conteúdo abordado: o professor passa a ter mais um recurso a ser utilizado para o ensino e avaliação e o estudante, mais uma estratégia de organizar, representar, externalizar, discutir, reconstruir e monitorar o conhecimento (MOREIRA, 1997).

No ensino tradicional, o currículo é dado de forma progressiva, onde o conteúdo é ensinado e passado para o próximo conteúdo e, por vezes, lacunas são formadas durante a estruturação do saber. No processo de ensino-aprendizagem é importante oferecer ao aluno a possibilidade do ‘vai-e-vem’ de informações para uma visão global sobre o conteúdo estudado. O uso de mapas conceituais vem propiciar essa oportunidade, o aluno pode perceber com clareza onde estão suas dúvidas, pode descobrir onde está a sua dificuldade e os erros na estruturação ou na interpretação de um conceito podendo voltar e procurar por subsídios para saná-las. Então, ele pode voltar ao mapa e reestruturar o conhecimento. Esses possíveis equívocos que ele pode cometer devem ser visto apenas como uma etapa do processo de aprendizagem (MOREIRA, 1997).

Além da literatura pesquisada sobre mapas conceituais, pesquisas e trabalhos na área educacional sobre esta ferramenta foram dispostos neste presente projeto com o objetivo de auxiliar, relatar e validar a sua importância e aplicação. Foram exemplificados, aqui, três estudos nas áreas de física, com alunos de graduação; de química, com alunos do ensino médio; e de medicina com alunos de graduação; respectivamente. Tratam a problemática da dificuldade do entendimento significativo de novos conhecimentos. O primeiro artigo mostra os mapas conceituais como facilitadores em potencial da aprendizagem significativa sobre óptica física.

O segundo os trata como uma ferramenta avaliativa da aprendizagem. O terceiro, como um recurso metodológico de estudo.

No artigo ‘Mapas conceituais no auxílio à aprendizagem significativa de conceitos da óptica física’, de Almeida e Moreira, publicado na Revista Brasileira de Ensino de Física (2008), foi realizada uma pesquisa investigativa sobre a aprendizagem de óptica física em alunos de graduação do curso de física, com elaboração e discussão de mapas conceituais. Através de resultados qualitativos e quantitativos da pesquisa envolvendo estatística, foi observado que os alunos que usaram mapas conceituais obtiveram melhor resultado no estudo de óptica física. A ferramenta didática em questão, os mapas conceituais, foi creditada, então, como facilitadora em potencial da aprendizagem significativa e como auxiliadora aos docentes na identificação de lacunas e dificuldades dos alunos sobre o conteúdo exposto (ALMEIDA, 2008).

O artigo ‘Uso Combinado de Mapas Conceituais e Estratégias Diversificadas de Ensino: Uma Análise Inicial das Ligações Químicas’, de Trindade e Hartwing (2012), publicado na Revista Química Nova na Escola, utilizou recursos como vídeos, modelagem com plásticos e bexigas, e apostila para o ensino de ligações químicas, para alunos do ensino médio, com o objetivo de conduzir os alunos a aquisição e a compreensão do conteúdo para uma aprendizagem significativa. Os mapas conceituais como avaliação da aprendizagem baseada em mapas de referência. Foi observada neste artigo a aprovação do uso de mapas conceituais pelos alunos, porém, eles preferem o ensino tradicional. De acordo com os autores do artigo, este fato se dá pela dificuldade dos alunos em tornar-se artífices da sua formação, mesmo sob orientação do professor. O resultado foi a constatação de que os mapas conceituais evidenciam os limites e a potencialidade cognitiva do aluno, contribuindo para melhoria do processo de ensino-aprendizagem.

O último artigo exposto, ‘A Utilização de Mapas Conceituais como Recurso Didático para a Construção e Inter Relação de Conceitos’, produzido por Valter Carabetta Júnior (2013), trabalhou com alunos do curso de medicina. Destacou que a atitude dos professores de reproduzir ao invés de explorar e estruturar o conteúdo a ser ensinado, deve ser renovada com abordagens metodológicas em que possibilite ao aluno ser o autor da construção do próprio conhecimento, em conformidade com a teoria da aprendizagem significativa. Então, foi proposta a utilização dos mapas conceituais como um recurso metodológico e como uma atividade reflexiva, onde os alunos foram compreendendo as suas ações cognitivas.

3 PROPOSTA DE AULA

O plano de aula é um instrumento de trabalho, um material de apoio, uma tomada de decisões, onde o professor elabora previamente a metodologia que pretende utilizar em sala de aula, considerando as estruturas cognitivas dos alunos como um todo. Contudo, o professor pode intervir, caso necessário, para a melhoria do processo de ensino-aprendizagem. Deve conter o objetivo, os conteúdos, os procedimentos e as avaliações, isto é, deve conter de forma resumida, o que se quer ensinar e como ensinar, considerando o tempo de aula. O planejamento é importante porque resulta em maior segurança para o professor, assim como, organização, coordenação e adequação do conteúdo em relação ao tempo disponível para tal, no processo de ensino-aprendizagem. Além da elaboração e do desenvolvimento do plano de aula, a sequência didática também possui importância, pois é uma estratégia de planejamento de aula aplicada em uma sucessão de dias para organizar o conteúdo, aplicar o conhecimento e promover a aprendizagem (ZABALA, 1998).

A proposta de aula deste presente trabalho consiste em três aulas expositivas dialogadas, com duração de 90 minutos cada e utilização de projetor e quadro.

Partindo da premissa de que alunos estão acostumados com a memorização dos conteúdos para obtenção de notas altas ou suficientes para a avaliação tradicional (MOREIRA, 1997) e que eles tem o professor como figura principal do processo de ensino-aprendizagem, foi proposta uma sequência didática para três aulas, sem avaliação, para que possa ser desenvolvida a estratégia de aprendizagem oferecida e os alunos não se sintem pressionados, fazendo o uso da memorização e tampouco expectadores.

A revisão da literatura sobre interações intermoleculares foi indicada para anteceder ao conteúdo de cromatografia líquida de alta eficiência, pois ela tem influência no principal objetivo da cromatografia que é a separação dos componentes de uma amostra. Além disso, ela é vista por muitos alunos como algo abstrato e de difícil compreensão. Portanto, está disposto ao professor o plano de aula 1, que corresponde a revisão da literatura, pois se entende que ela pode servir como subsunção ao conteúdo de cromatografia.

Logo após, a aula sobre cromatografia líquida de alta eficiência com abordagem contextualizada em medicamentos está disposta no Plano de aula 2. Isto é, a articulação da teoria com algo do cotidiano e de interesse do aluno, auxiliando o desenvolvimento do fator motivação e o da pré-disposição ao aprender, visto que envolve o mercado de trabalho. Tal encadeamento didático se baseia na teoria da aprendizagem significativa de David Ausubel, onde o conhecimento prévio e consolidado é considerado como pré-requisito para uma

aprendizagem mais efetiva e eficaz. A ressignificação de conceitos é apropriada para que possíveis erros conceituais possam ser corrigidos evitando um efeito cumulativo, indesejável à vida escolar, acadêmica e profissional.

Prosseguindo com a sequência didática, a apresentação e o desenvolvimento de mapas conceituais são trabalhados no Plano de aula 3, que está embasado na sugestão de Marco Antonio Moreira, dada em seu artigo ‘Mapas conceituais e aprendizagem significativa’ sobre o uso de mapas conceituais após o contato do aluno com o conteúdo. Segundo ele, desta forma, o conteúdo torna-se potencialmente significativo, resultando em integração, reconciliação e diferenciação conceitual, promovendo uma reorganização cognitiva. Também, o professor pode verificar o nível de aprendizagem absorvida dos estudantes, tentar sanar possíveis dúvidas, erros de conceitos e mostrar a eles uma novo instrumento de estudo para aprender, monitorar e externalizar seus conhecimentos. A contextualização em conjunto com a aplicação dos mapas conceituais tendem a resultar em uma aprendizagem mais efetiva, apresentando um conteúdo mais articulado e menos fragmentado. O plano de aula está em conformidade com o objetivo geral proposto neste trabalho que é facilitar o entendimento sobre cromatografia líquida de alta eficiência sob um estímulo cognitivo. Como a produção de mapas conceituais é pessoal, o aluno é levado a julgar e tomar decisões. Desta forma, o aluno tem a oportunidade de adquirir uma postura reflexiva. O próprio estudante deve explicar o seu mapa conceitual, externalizando o entendimento, o aluno ‘aprende a aprender’, se tornando autor da sua aprendizagem, mesmo sem se dar conta. A construção do conhecimento se dá sob a perspectiva construtivista, onde a atuação do professor se faz necessário como orientador e mediador, auxiliando os discentes na compreensão e na estrutura da aprendizagem, que se tornam gradualmente efetivos. A atividade em grupo é sugerida por fomentar a ação cooperativa, social e cognitiva entre os alunos.

Plano de aula nº 1: Interações intermoleculares e Introdução à cromatografia

<p>Plano de aula</p> <p>Interações intermoleculares / Introdução à cromatografia</p>
--

Colégio/ Escola:

Série/ Turma:	Ano:
---------------	------

Disciplina:	Professor (a):
-------------	----------------

OBJETIVO:

- Revisar interações intermoleculares, de forma breve.
- Abordar, de maneira geral, a cromatografia.

METODOLOGIA:

Aula expositiva dialogada, assumindo a duração de 2 tempos com 45 minutos cada.

MATERIAIS:

Projeter e quadro

CONTEÚDO:

- Revisão de forças intermoleculares.
- Introdução à cromatografia.

PROCEDIMENTO:

- Revisar forças intermoleculares de forma breve (tempo: 30 min).
- Introduzir a cromatografia explicando, de forma simplificada, a criação da cromatografia, atribuída a Mikhail Tswett e o desenvolvimento da técnica (tempo: 15 min).
- Classificar as técnicas cromatográficas (tempo: 20 min).
- Conceituar cromatografia enfatizando que é uma técnica de separação de substâncias, através da distribuição da amostra em duas fases, de acordo com as condições adequadas empregadas na análise. Por meio desse processo, as substâncias podem ser identificadas e/ou quantificadas. Explicar a importância dos métodos instrumentais em relação ao fator econômico, vantagens e desvantagens, versatilidade, precisão e sensibilidade, por exemplo (tempo: 25 min).

AValiação:

Não se aplica.

Plano de aula nº 2: Cromatografia líquida de alta eficiência abordando medicamentos

<p>Plano de aula</p> <p>Cromatografia líquida de alta eficiência com abordagem em medicamentos</p>
--

Colégio/ Escola:

Série/ Turma:	Ano:
---------------	------

Disciplina:	Professor (a):
-------------	----------------

OBJETIVO:

- Dispor o conhecimento técnico básico sobre cromatografia de alta eficiência (HPLC).
- Contextualizar o tema ‘Medicamentos’ ao conteúdo de cromatografia.

METODOLOGIA:

Aula expositiva dialogada, assumindo a duração de 2 tempos com 45 minutos cada.

MATERIAIS:

Projeter e quadro

CONTEÚDO:

- Módulos do equipamento HPLC.
- Processo cromatográfico.
- Colunas cromatográficas.
- Aplicabilidade da cromatografia líquida de alta eficiência com ênfase na análise em medicamentos.

PROCEDIMENTO:

- Conceituar a técnica HPLC, apresentar a estrutura e a função de cada componente do equipamento (tempo: 15 min).
- Sinalizar a importância da coluna cromatográfica como sendo o cerne da operação e os tipos de coluna. Explicar sobre a influência das interações intermoleculares nos mecanismos de separação que ocorrem dentro das colunas cromatográficas (tempo: 30 min).
- Exemplificar a aplicabilidade do HPLC através do tema medicamentos. Explicar que estes são misturas de substâncias e, que, mesmo para uma substância que não está misturada (matéria-prima) e apresentando o teor $\pm 100\%$, pode haver presença de impureza ou

composto relacionado inerente, advindo de processo produtivo, etc; E que, essas substâncias também podem ser detectadas, quantificadas e registradas (tempo: 10 min).

- Apresentar e interpretar o cromatograma, destacando os eixos do gráfico, o início da corrida cromatográfica e o tempo de retenção do(s) composto(s), por exemplo. Comparar cromatogramas entre padrão e amostra para a identificação de uma substância pela observação do tempo de retenção. Atentar para o fato de que ajustes na FM, troca de coluna ou outras mudanças, caso necessário, podem permitir a escolha de uma condição cromatográfica mais adequada para evitar erros tais como, por exemplo, a coluição, ajudando a garantir a qualidade do produto (tempo: 20 min).
- Discutir a questão social do tema medicamentos, considerando fatores como automedicação, propaganda indutora e excessiva (tempo: 10 min).

AVALIAÇÃO:

Não se aplica.

Plano de aula nº 3: Mapas conceituais.

Plano de aula Mapas conceituais
--

Colégio/ Escola:	
Série/ Turma:	Ano:
Disciplina:	Professor (a):

OBJETIVO:

- Apresentar mapas conceituais como ferramenta cognitiva e organizadora do conhecimento, de modo a facilitar o entendimento sobre o conteúdo estudado.
- Incentivar a autonomia dos alunos através da produção de mapas conceituais.

METODOLOGIA:

Aula expositiva dialogada, assumindo a duração de 2 tempos com 45 minutos cada.

MATERIAIS:

Projektor, quadro e folhas de papel distribuídas

CONTEÚDO:

- Mapas conceituais.

PROCEDIMENTO:

- Explicar aos alunos que a aula será conduzida por atividades que envolvam e valorizem escolhas e desafios. A possibilidade do erro pode e deve ser encarada como uma etapa importante do processo de aprendizagem. E, que, esta proposta não terá caráter avaliativo e sim como apoio ao processo de aprendizagem (tempo: 5 min).
- Conceituar mapas conceituais, sua utilização, finalidades e fornecer exemplos. Enfatizar que podem ser utilizados como um recurso de aprendizagem e como um processo avaliativo qualitativo, do próprio aluno e do professor, por meio do monitoramento do saber, em diversas áreas (tempo: 35 min.).
- Logo após, formar grupos de alunos para melhor entendimento e ajuda acerca da produção dos mapas conceituais e para que, diante de diferentes pontos de vista, o desenvolvimento cognitivo possa ser trabalhado em conjunto. O número de alunos por grupo fica a critério

do professor diante da realidade de alunos em sala de aula. Distribuir folhas de papel em branco aos grupos (tempo: 5 min).

- Propor aos alunos a produção de mapas conceituais sobre: interações intermoleculares, medicamentos e cromatografia, interligados ou não. O professor deve orientá-los e discutir sobre idéias, conceitos e proposições importantes e adequadas e as relações entre eles. O aluno deve ser capaz de:
 - 1- Definir o tema a ser trabalhado.
 - 2- Estabelecer os conceitos e as palavras-chave.
 - 3- Criar o mapa conceitual estruturando, de forma visual, os conceitos ou palavras e relacionando-os por meio das palavras-chave.
- O material didático poderá ser consultado, visto que, este processo não tem caráter avaliativo tradicional. Os mapas deverão permanecer com os alunos. Sugerir que estes mapas não sejam descartados (tempo: 40 min).
- Como atividade extra, pedir aos alunos que realizem uma pesquisa mais profunda sobre o conteúdo escolhido por eles na produção dos mapas conceituais feitos em sala de aula. O objetivo é comparar e/ ou reformular o mapa anterior para que possam ser capazes de melhor gerenciar seus conhecimentos com o uso de mapas conceituais (tempo: 5 min).

AValiação:

Não se aplica.

Os mapas conceituais, relacionados aos planos de aula aqui citados, foram criados e desenvolvidos no programa *CMap Tools*, mostrados a seguir como opção de referência e/ ou orientação para possíveis novas produções dessa ferramenta didática aos professores. Foram formulados, individualmente, considerando os conteúdos sobre interações intermoleculares e sobre cromatografia líquida de alta eficiência. Outros dois mapas conceituais foram preparados, de forma geral, o primeiro, interligando os conteúdos como interações intermoleculares e mecanismos de separação cromatográfica por HPLC e, o segundo, conectando medicamentos e HPLC. Utilizaram-se recursos como figuras, gráficos, links, cores e formas geométricas variadas.

➤ O mapa conceitual ‘Interações intermoleculares’, figura 20, está relacionado ao conteúdo do plano de aula 1. Oferece ao professor a possibilidade do uso de mapas conceituais como organizador do conhecimento, onde as informações estão dispostas de forma mais acessível, colaborando para o entendimento do assunto.

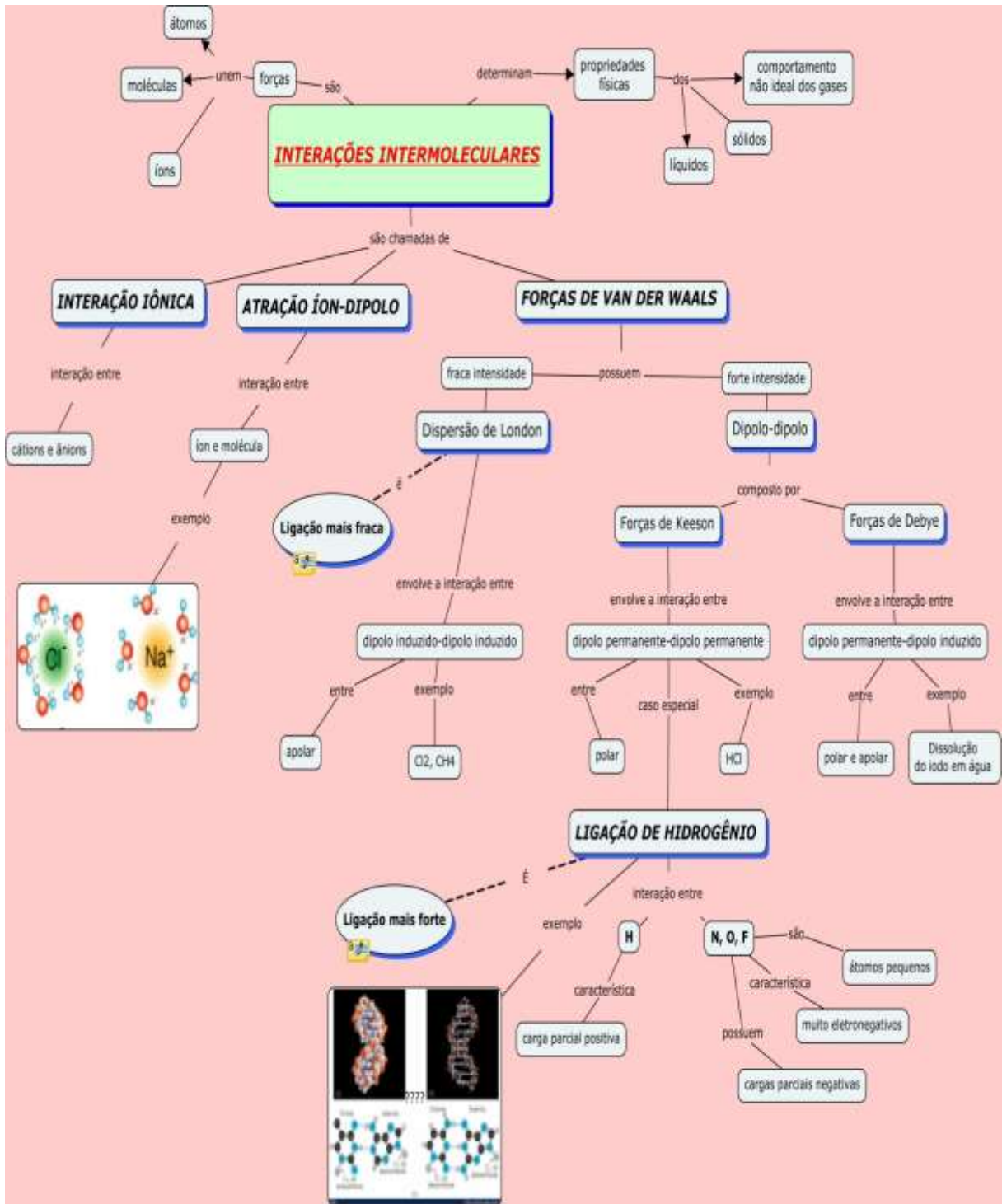


Figura 20: Mapa conceitual sobre interações intermoleculares

➤ O mapa conceitual da figura 21 interações intermoleculares e processo cromatográfico, mostra uma ponte cognitiva que pode ser observada na relação entre as interações intermoleculares, fase estacionária e fase móvel, nos mecanismos cromatográficos existentes na técnica por HPLC, resultando na separação cromatográfica dos componentes de uma amostra. A integração de conceitos pré-existentes (interações intermoleculares) com os novos conceitos (mecanismos de separação) pode ser observada neste modelo.

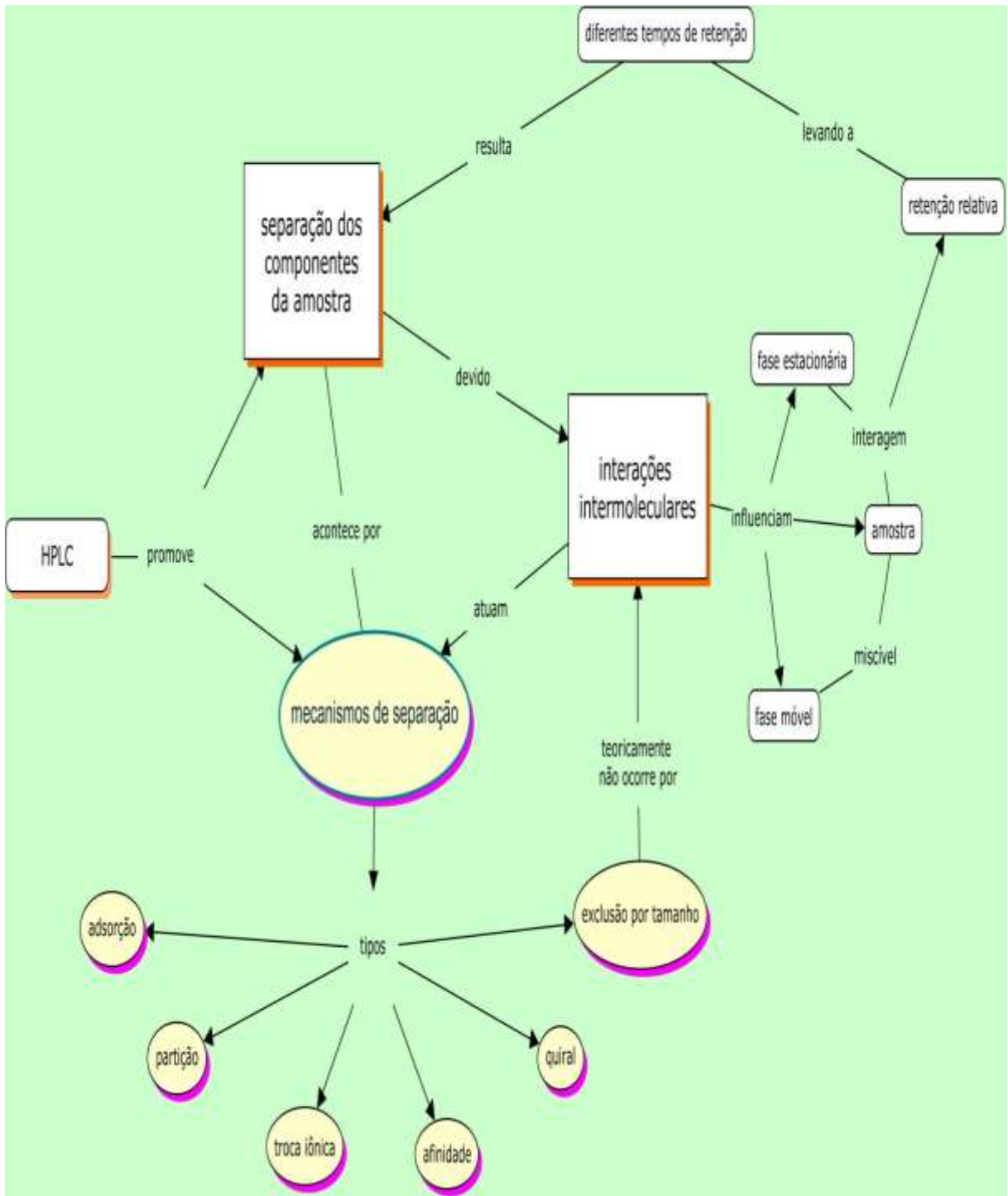


Figura 21: Mapa conceitual sobre interações intermoleculares e mecanismos de separação.

➤ Na figura 22, o mapa conceitual ‘Caminho da amostra nos módulos do HPLC’ corresponde ao caminho realizado pela amostra, como uma estrutura otimizadora seqüencial. Foram adicionadas, aos componentes do HPLC, informações ocultas que surgem com a aproximação do mouse, além da inserção de figura. O conteúdo deste mapa refere-se ao plano de aula 2.

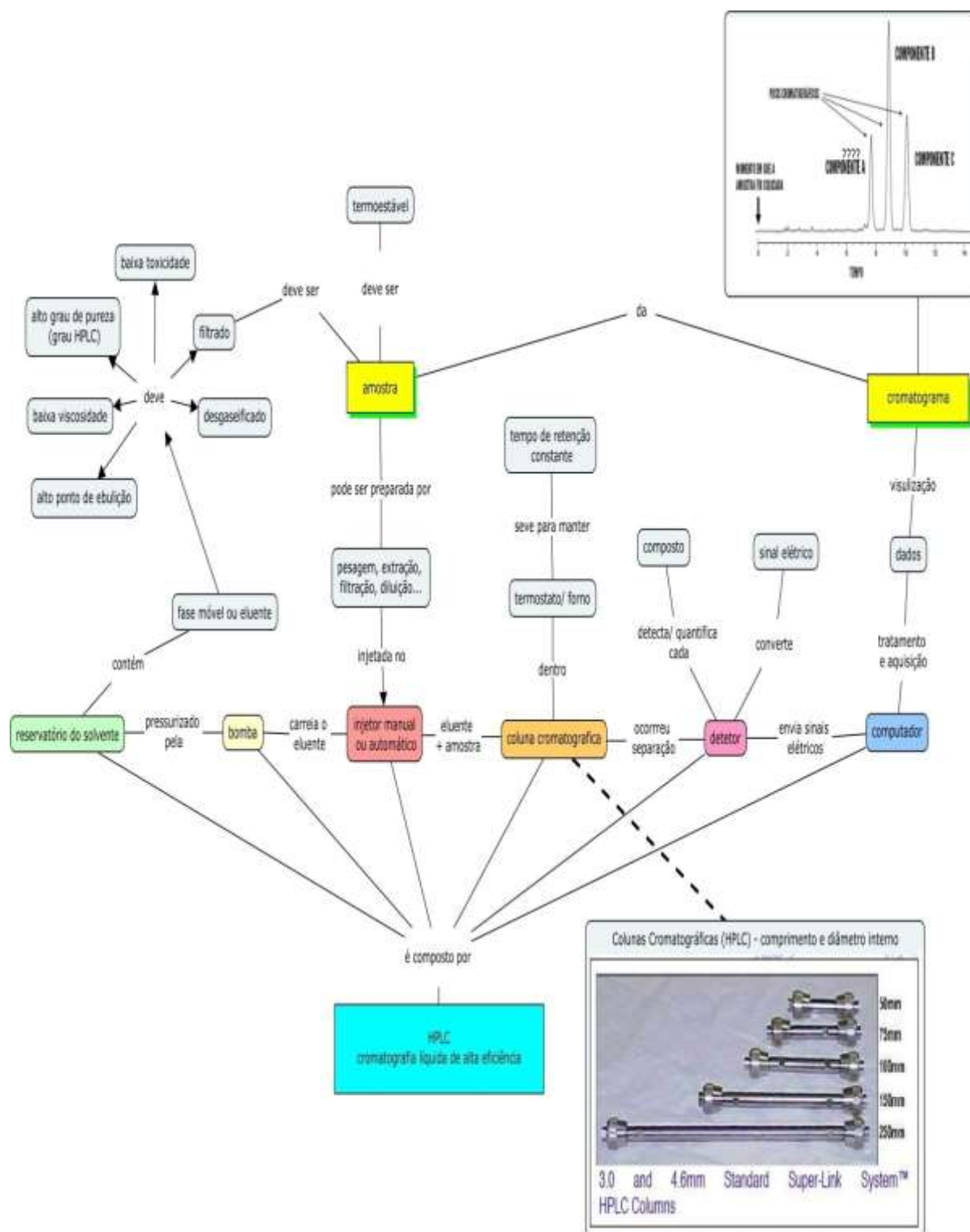


Figura 22: Mapa conceitual sobre os módulos do equipamento de HPLC.

➤ O mapa conceitual ‘Medicamentos e HPLC’, na figura 23, utiliza *links* incorporados à sua estrutura, que podem ser acessados pelos alunos. Integra conceitos como medicamentos e HPLC.

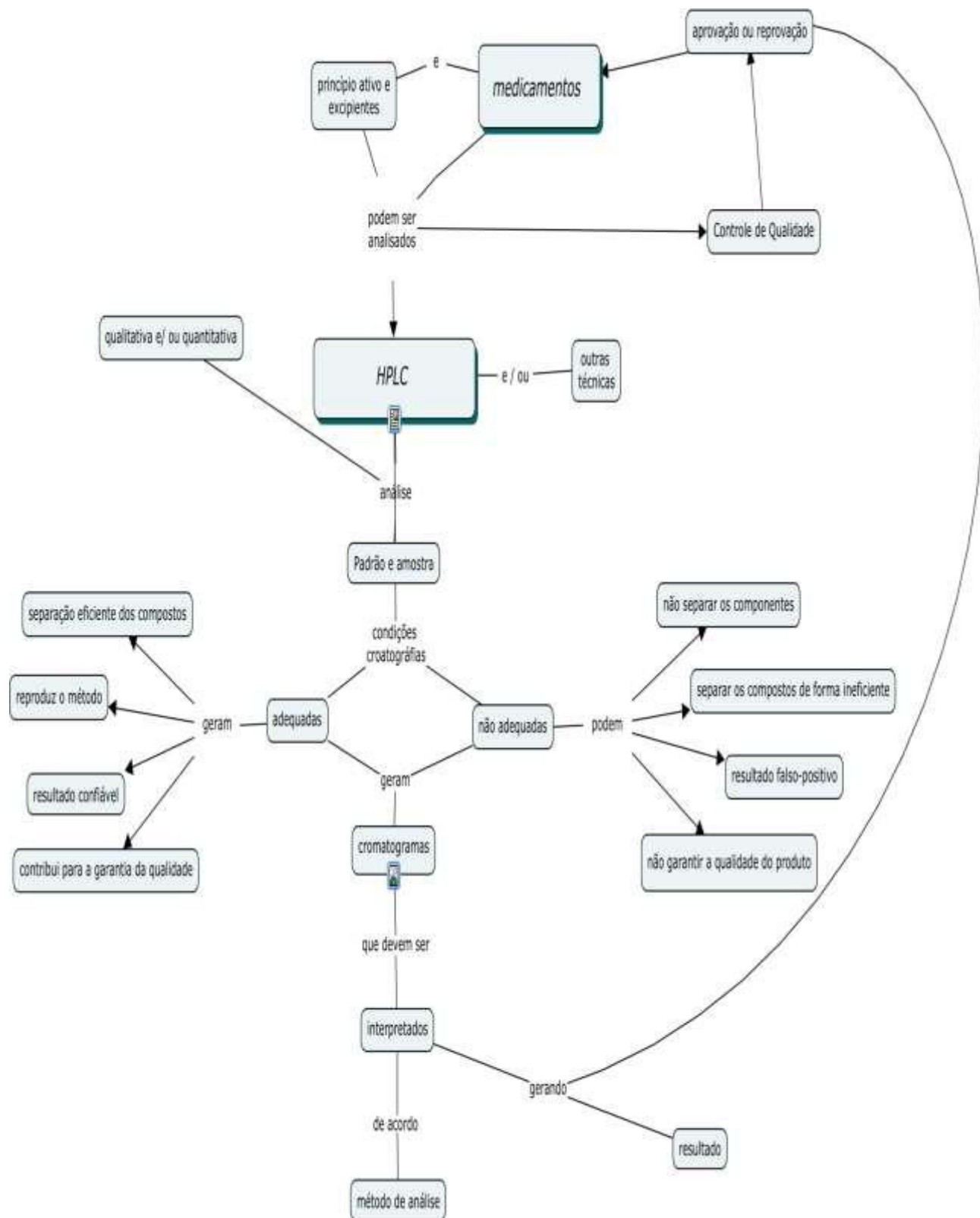


Figura 23: Mapa conceitual sobre HPLC com abordagem em medicamentos.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Por meio da pesquisa realizada para a produção deste trabalho constatou-se que o uso de mapas conceituais e da contextualização de temas do cotidiano do aluno contribuem para o entendimento mais efetivo do conhecimento. A proposta apresentada está respaldada nos referenciais teóricos consultados, como Paulo Freire, Attico Chassot, David Ausubel e Joseph Novak, assim como, nos artigos examinados sobre a aplicação da metodologia alternativa escolhida, mapas conceituais. Os Parâmetros Curriculares Nacionais, PCN's, também foram considerados no tocante à contextualização. As referências, em questão, contribuem e validam essas estratégias de ensino, mapas conceituais e contextualização, como ofertas aos professores para uma aprendizagem mais eficiente.

Diante disso, estas ferramentas metodológicas podem ser aplicadas ao conteúdo sobre cromatografia líquida de alta eficiência para melhor compreensão e integração cognitiva desta técnica. O uso de mapas conceituais e da temática sobre medicamentos se enquadra ao ensino técnico para os futuros profissionais na área química, visto que o desenvolvimento científico e tecnológico cada vez mais avançado requer um cidadão e um profissional mais críticos. Desta forma, o ambiente escolar deve proporcionar aos alunos caminhos em que o desenvolvimento cognitivo possa ser incentivado. Compreende-se que sob estas circunstâncias, gradualmente, a estrutura cognitiva do aluno deverá ser cada vez mais consciente e consolidada. O planejamento metodológico referente ao uso de mapas conceituais pode ser usado como facilitador, organizador e integrador de idéias e da estrutura do conhecimento, auxiliando a construção do conhecimento químico.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, V.O.; MOREIRA, M.A. **Mapas conceituais no auxílio à aprendizagem significativa de conceitos da óptica física**. São Paulo, 2008. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-47442008000400009>. Acesso em: 22 fev. 2017.

ARGENTON, A. **Minicursos 2010: Conceitos fundamentais de Cromatografia a Líquido de Alto Desempenho (HPLC)**. In: Conselho Regional de Química – IV Região, São Paulo, 2010. Disponível em: http://www.crq4.org.br/sms/files/file/conceitos_hplc_2010.pdf. Acesso em: 01mar. 2017.

AZANHA, J.M.P. **Política e Planos de Educação no Brasil: alguns pontos para reflexão**. São Paulo, 1993. Disponível em: <http://www.fcc.org.br/pesquisa/publicacoes/cp/arquivos/943.pdf>. Acesso em: 18 set. 2016.

BENITES, A.; ROSSI, M. Apresentado às pressas, plano de Temer para ensino médio acende debate entre especialistas. **El País**, Brasília / São Paulo, 23 set. 2016. Disponível em: http://brasil.elpais.com/brasil/2016/09/22/politica/1474579671_242939.html. Acesso em: 27 fev. 2017.

BRASIL. Ministério da Educação e da Cultura. Secretaria de Educação Fundamental. **Parâmetros Curriculares Nacionais: Introdução aos Parâmetros Curriculares Nacionais**. Brasília: MEC/SEF, 1997. Disponível em: <http://portal.mec.gov.br/seb/arquivos/pdf/livro01.pdf>. Acesso em: 27 nov. 2016.

BRASIL. Ministério da Educação e da Cultura. Secretaria de Educação Básica. **Orientações curriculares para o ensino médio: Ciências da natureza, matemática e suas tecnologias**. Brasília: MEC/SEB, 2006. Disponível em: http://portal.mec.gov.br/seb/arquivos/pdf/book_volume_02_internet.pdf. Acesso em: 31 jan. 2017.

BRASIL. Ministério da Educação e da Cultura. Assessoria de Comunicação Social. **Governo lança Novo Ensino Médio, com Escolas em Tempo Integral e nova proposta curricular**. 22 set. 2016. Disponível em: <http://portal.mec.gov.br/component/content/article?id=39571:proposta-preve-flexibilizacao-e-r-1-5-bilhao-em-investimentos-em-escolas-de-tempo-integral>. Acesso em: 27 fev. 2017.

BRADY, J.; HUMISTON, G. E. **Química Geral**. 2.ed. Rio de Janeiro: LTC – Livros Técnicos e Científicos Editora Ltda., 1986.

BRADY, J.; SENESE, F. **Química: a Matéria e Suas Transformações**. 5.ed. Rio de Janeiro: LTC – Livros Técnicos e Científicos Editora Ltda., 2012.

CHASSOT, Attico. **Para que(m) é útil o ensino?** 2.ed. Canoas: Ed. ULBRA, 2004.

FLEMING, Henrique. **Forças de van der waals**. In: Física moderna. Centro de Ensino e Pesquisa Aplicada, Ensino de física online, 2003. Disponível em: http://efisica.if.usp.br/moderna/mq/sistemas_compostos/. Acessado em: 27 fev. 2017.

FREIRE, Paulo. **Pedagogia da autonomia: saberes necessários à prática educativa**. São Paulo: Paz e Terra, 1996.

FREITAS, H.C.L. **Formação de Professores no Brasil: 10 Anos de Embate entre Projetos de Formação**. Campinas, 2002. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-73302002008000009. Acesso em: 10 dez. 2016.

FRIGOTTO, G.; CIAVATTA, M.; RAMOS, M. **A política de educação profissional no Governo Lula: um percurso histórico controverso**. Campinas, 2005. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0101-73302005000300017&script=sci_arttext. Acesso em: 27 fev. 2017.

GAMEZ, Luciano. **Psicologia da educação**. Rio de Janeiro: LTC, 2014.

GIL, Eric de Souza. **Controle físico-químico de qualidade de medicamentos**. 3.ed. São Paulo: Pharmabooks, 2010.

GOLDEMBERG, J. **O repensar da educação no Brasil**. São Paulo, 1993. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-40141993000200004. Acesso em: 23 set. 2016.

JÚNIOR, V.C. **A Utilização de Mapas Conceituais como Recurso Didático para a Construção e Inter-Relação de Conceitos**. Revista Brasileira de Educação Médica, 2013. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/rbem/v37n3/17.pdf> . Acesso em: 22 fev. 2017.

KOTZ, J.C.; TREICHEL, P.M.; WEAVER, G.C. **Química e reações químicas**. 4.ed. Rio de Janeiro: LTC – Livros Técnicos e Científicos Editora Ltda., 2002.

LANÇAS, Fernando M. **Cromatografia líquida moderna: HPLC/ CLAE**. Campinas, SP: Editora Átomo, 2009.

MOREIRA, M.A. **Mapas conceituais e aprendizagem significativa**. 1997. Disponível em: [HTTP://moreira.if.ufrgs.br](http://moreira.if.ufrgs.br). Acesso em: 31 jan. 2017.

NOVATO, R. **O Consumo de Medicamentos no Brasil: a tênue linha entre o remédio e o veneno**. 21 jan. 2015. Disponível em: <http://fenafar.org.br/fenafar/index.php/component/k2/item/7966-o-consumo-de-medicamentos-no-brasil-a-t%C3%AAnue-linha-entre-o-rem%C3%A9dio-e-o-veneno-por-rilke-novato>* Acesso em: 31 jan.2017.

PACHECO, S. *et al.* **História da Cromatografia Líquida**. *Revista Virtual de Química*, 2015. Disponível em: <http://rvqsub.sbgq.org.br/index.php/rvq/article/viewArticle/869>. Acesso em: 02 jun. 2016.

QUEIROZ, D.R. *et al.* **Saberes docentes nas décadas de 70 e 80**. 2015. Disponível em: <http://www.fucamp.edu.br/editora/index.php/cadernos/article/viewFile/538/393>. Acesso em: 27 nov. 2016.

ROCHA, W.R. **Interações intermoleculares**. Cadernos temáticos de Química Nova na Escola, 2001. Disponível em: <http://qnesc.sbgq.org.br/online/cadernos/04/interac.pdf>. Acesso em: 04 jun. 2016.

SCHUELER, A.F.M. **Crianças e Escolas na Passagem do Império para a República**. São Paulo, 1999. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-01881999000100004. Acesso em: 25 set. 2016.

SHIGUEMATU, C.A.N. **Fazendo conexões com o mundo real: uso de conceitos e modelos da física no contexto da zoologia**. São Paulo, 2011. 103 f. Trabalho de conclusão de Curso em Licenciatura em Física - Curso de Licenciatura em Física, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, 2011. Disponível em: http://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/121140/shiguematu_can_tc_c_rcla.pdf?sequence=1&isAllowed=y. Acesso em: 24 mar. 2017.

SKOOG, D.A.; HOLLER, F.J.; CROUCH, S.R. **Fundamentos de Química Analítica**. 9ed. São Paulo: Cengage Learning, 2014.

YANO, C. **Mega futuro para nanoestruturas**. Instituto Ciência Hoje. 2007. Disponível em: http://www.cienciahoje.org.br/noticia/v/ler/id/834/n/megafuturo_para_nanoestruturas. Acesso em: 24 mar. 2017

TRINDADE, J. O. da; HARTWIG, D. R. **Uso Combinado de Mapas Conceituais e Estratégias Diversificadas de Ensino: Uma Análise Inicial das Ligações Químicas.** Química nova na escola, 2012. Disponível em: http://qnesc.s bq.org.br/online/qnesc34_2/06-PE-70-11.pdf?agreq=mapas%20conceituais&agrep=jbcs,qn,qnesc,qnint,rvq. Acesso em: 18 fev. 2017.

ZABALA, Antoni. **A prática educativa: como ensinar.** Porto Alegre: ArtMed, 1998.