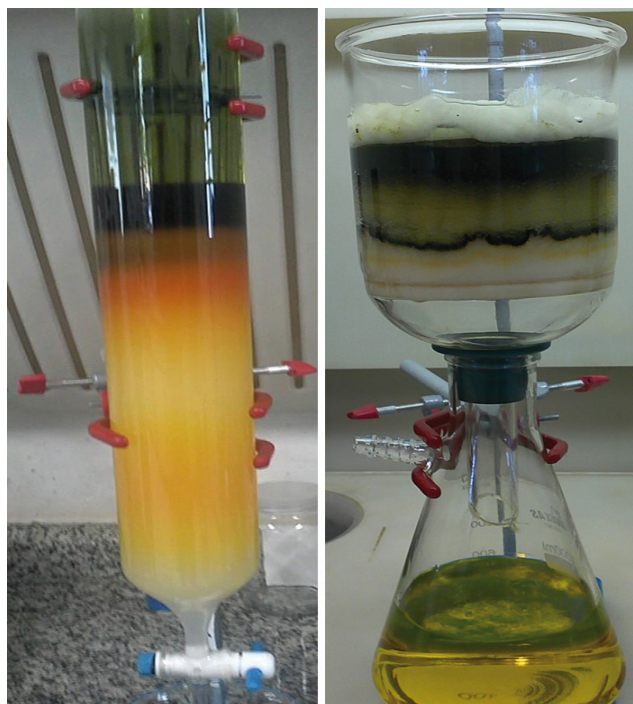


Fotos: João Oiano Neto



## Purificação do n-Hexano comercial para aplicação em investigações fitoquímicas

João Oiano Neto<sup>1</sup>  
Débora Natália Bonadio<sup>2</sup>  
Humberto Ribeiro Bizzo<sup>3</sup>  
Paola Ervatti Gama<sup>3</sup>

### 1. Introdução

#### 1.2. Aspectos Gerais

Laboratórios que desenvolvem estudos nas áreas de Fitoquímica e Química de Produtos Naturais têm por característica peculiar utilizar grandes quantidades de uma gama variada de solventes orgânicos; seja na etapa inicial de preparação dos extratos vegetais concentrados ou nas etapas subsequentes de purificação desses extratos através de técnicas cromatográficas distintas.

Neste processo, boa parte do tempo é consumida na otimização das condições cromatográficas de separação, principalmente no caso de misturas complexas como os extratos vegetais. Uma boa separação é obtida quando se leva em consideração fatores como a seletividade da fase móvel e da fase estacionária. No entanto, não podemos esquecer o papel fundamental exercido pela qualidade dos solventes utilizados neste processo.

A compra de solventes com elevado grau de pureza (p.ex.: grau HPLC ou UV-espectroscópico, etc.) pode inviabilizar tais atividades em função do alto custo desses produtos. Como alternativa, opta-se pela compra de solventes com menor grau de pureza e em maiores quantidades.

Entretanto, a utilização de solventes com baixo grau de pureza na preparação dos extratos vegetais, ou nas separações cromatográficas, invariavelmente, faz com que os contaminantes presentes nesses solventes sejam concentrados e incorporados às amostras, podendo comprometer inclusive a aplicação das mesmas em ensaios *in vitro* e *in vivo* para avaliação de uma atividade biológica de interesse.

<sup>1</sup>Pesquisador, Laboratório de Fitoquímica, Embrapa Pecuária Sudeste, São Carlos, SP; E-mail: joao.oiano@embrapa.br

<sup>2</sup>Graduanda, Tecnologia de Produção Sucoalcooleira, Universidade Federal de São Carlos – UFSCar, São Carlos, SP;

<sup>3</sup>Pesquisador, Laboratório de Cromatografia Gasosa, Embrapa Agroindústria de Alimentos, Rio de Janeiro, RJ;

<sup>4</sup>Analista, Laboratório de Cromatografia Gasosa, Embrapa Agroindústria de Alimentos, Rio de Janeiro, RJ.

Por outro lado, além dos gastos envolvidos com a compra dos solventes orgânicos, somas consideráveis de recursos devem ser aplicadas para dar uma destinação final adequada (p.ex.: incineração) aos resíduos gerados ao longo do estudo fitoquímico, ou mesmo para promover o descarte de solventes fora do prazo de validade especificado pelo fabricante.

Desta forma é fundamental que os laboratórios possuam metodologias simples, rápidas e baratas que lhes permitam tratar e recuperar os solventes orgânicos, sem que somas consideráveis de recursos sejam destinadas à compra de solventes com maior grau de pureza que serão aplicados, na maioria das vezes, em atividades de rotina.

**Tabela 1.** Propriedades físico-químicas gerais do n-hexano.

Fórmula química	$C_6H_{14}$
Fórmula molecular	$CH_3(CH_2)_4CH_3$
Massa molecular	86,18g/mol
Número CAS	110-54-3
Densidade relativa	0,66g/mL
pH	7,0
Ponto de ebulição	+ 69°C
Ponto de fulgor ( <i>flash point</i> )	-26°C
Temperatura de auto-ignição	+ 234°C
Pressão de vapor	132mmHg a 20°C
<i>Threshold</i> de odor	64 a 244ppm
Inflamabilidade	Líquido altamente inflamável (Categoria II)
Limites de inflamabilidade no ar	Limite Superior: 7,7%; Limite Inferior: 1,2%
Aspecto	Líquido incolor
Miscibilidade em água	Imiscível
Estabilidade química	Estável
Incompatibilidade química	Agentes oxidantes, cloro, flúor e perclorato de magnésio
Toxicidade aguda (DL <sub>50</sub> oral – rato)	25.000mg/kg
Condições de armazenamento	Locais secos, arejados, ao abrigo da luz e fontes de ignição

Fonte: SIGMA-ALDRICH.

Em alguns casos, o n-hexano comercializado com menor grau pureza pode conter outros hidrocarbonetos alifáticos em concentrações minoritárias (Tabela 2). No entanto, levando-se em consideração a aplicação do n-hexano em separações cromatográficas, a

## 1.2. n-Hexano

O n-hexano é um hidrocarboneto volátil, inflamável e incompatível com oxidantes fortes (WINDHOLZ et. al., 1983), sendo o principal componente do éter de petróleo. É um solvente muito utilizado em separações cromatográficas em fase normal e na purificação de extratos vegetais para extração de compostos lipofílicos como lipídios, ceras epicuticulares, esteroides, ácidos graxos, etc. (Tabela 1).

presença desses hidrocarbonetos não interfere de forma significativa no processo de separação, por se tratar de compostos com constante dielétrica ( $\epsilon^\circ$ ) nula em relação à sílica, comumente utilizada como fase estacionária no modo normal.

**Tabela 2.** Ponto de ebulição dos hidrocarbonetos alifáticos minoritários presentes no n-hexano comercial.

HIDROCARBONETO	PONTO DE EBULIÇÃO (°C)
Isobutano	--
Butano	-0,50
Isopentano	+ 30
Pentano	+ 36,1
2,2-dimetilbutano (neohexano)	+ 50
Isohexano	+ 62
Metilciclopentano	+ 72
Ciclohexano	+ 80,7
3-metilhexano	+ 91
Heptano	+ 98,4

No entanto, outros compostos presentes no n-hexano comercial podem interferir de forma muito mais expressiva nas separações cromatográficas e nos ensaios biológicos com os extratos vegetais, pois ao ser evaporado, os contaminantes presentes no solvente ficam incorporados ao extrato vegetal.

No caso do n-hexano os ftalatos são os contaminantes principais, sendo provenientes dos plastificantes utilizados no revestimento das embalagens comerciais (p.ex.: bombonas de 20 L ou tambores de 200 L) nas quais esse solvente é comercializado. Juntamente com os ftalatos, outros contaminantes como hidrocarbonetos aromáticos e derivados de enxofre (p.ex.: tiofenos) estão presentes na maioria das vezes.

Os métodos de purificação de n-hexano descritos na literatura envolvem diferentes etapas como destilação azeotrópica, adsorção em sílica gel, adsorção em alumina básica, purificação com ácido clorosulfônico e agitação com ácido sulfúrico concentrado (MORITA; ASSUMPÇÃO, 2001; PERRIN; ARMAREGO, 1988).

A agitação com  $H_2SO_4$  concentrado tem por objetivo remover os hidrocarbonetos aromáticos (promovendo a sua sulfonação), graxas, derivados sulfurados e ftalatos.

Recomenda-se que a agitação seja realizada até o ácido permanecer incolor, seguido de neutralização com pastilhas de NaOH, lavagem com água, secagem com  $CaCl_2$  e destilação. O solvente destilado é então seco com sódio metálico ou pentóxido de fósforo ( $P_2O_5$ ) e passado através de coluna de sílica ou peneira molecular (MORITA; ASSUMPÇÃO, 2001; PERRIN; ARMAREGO, 1988).

O objetivo deste trabalho foi avaliar a eficiência de uma metodologia rápida e de fácil execução, com menos etapas quando comparado à literatura, para o tratamento de grandes quantidades de n-hexano comercial, capaz de produzir um solvente com qualidade suficiente para ser utilizado nos estudos fitoquímicos.

## 2. Materiais e Métodos

### 2.1. Solvente

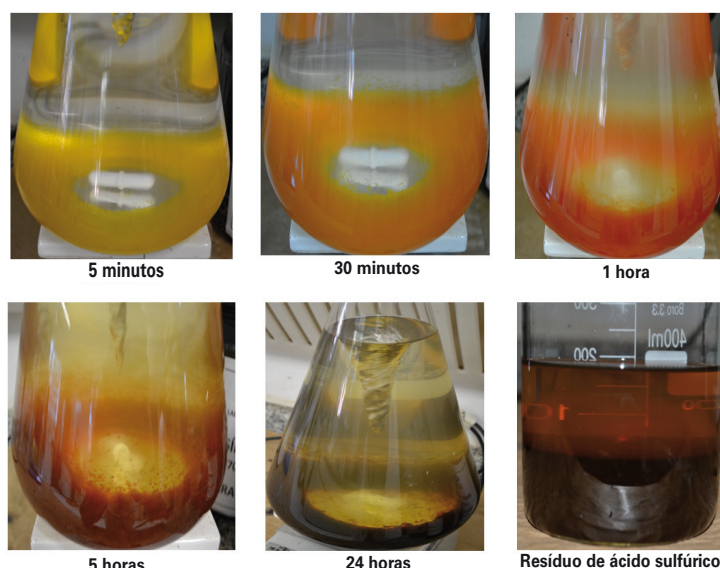
Utilizou-se o n-hexano grau P.A.-A.C.S. comercializado em bombonas de 20 L. No entanto, esta mesma metodologia pode ser aplicada para o n-hexano comercializado em embalagens de diferentes volumes, com diferentes graus de pureza; assim como para o n-hexano que estiver com o prazo de validade vencido.

Devido ao caráter inflamável do n-hexano, toda manipulação foi realizada em capela de exaustão e com a utilização de equipamentos de proteção individual (EPI) apropriados.

### 2.2. Etapas da purificação

Nesta etapa, seis litros de n-hexano grau P.A.-A.C.S. foram transferidos para um frasco erlenmeyer e adicionou-se 100mL de ácido sulfúrico concentrado grau P.A., resultando em uma razão 60:1 (v/v) n-hexano: ácido sulfúrico.

A mistura foi mantida sob intensa agitação por 24 horas e, ao final da agitação, o n-hexano foi transferido para outro erlenmeyer e o resíduo de ácido sulfúrico foi armazenado em frasco de vidro devidamente rotulado (Figura 1).



**Figura 1.** Mudanças de coloração do ácido sulfúrico concentrado durante o processo de tratamento do n-hexano comercial devido à presença de compostos sulfurados e hidrocarbonetos aromáticos.

Em seguida, adicionou-se ao n-hexano, novamente sob agitação, um litro de solução saturada de carbonato de cálcio P.A. ( $\text{CaCO}_3$ ), a fim de se neutralizar o ácido sulfúrico residual presente no solvente, e a mistura foi mantida sob agitação por uma hora. Nesta etapa a neutralização também pode ser feita utilizando-se solução saturada de bicarbonato de sódio ( $\text{NaHCO}_3$ ) ou solução de hidróxido de sódio ( $\text{NaOH}$ ) 2M.

Ao final da neutralização, a mistura foi transferida para um funil de separação, a solução de carbonato de cálcio (fase inferior) foi separada do n-hexano (fase superior) e descartada. O n-hexano foi transferido para outro erlenmeyer e seu pH medido para verificar a eventual presença de ácido sulfúrico residual.

Para isso fez-se uma partição na razão de 1:1 (v/v) n-hexano:água e o pH da fase aquosa foi medido com fita indicadora de pH (*Universalindikator* pH 0-14 Merck®). A ausência do ácido sulfúrico foi verificada pela observação visual da coloração da fita que indicou um valor de pH no intervalo de 5 a 6.

Em seguida, adicionou-se cloreto de cálcio anidro ( $\text{CaCl}_2$ ) ao n-hexano e manteve-se sob agitação por uma hora para remoção da água (etapa de secagem). Nesta etapa, o cloreto de cálcio foi adicionado até o ponto em que não se observou mais a formação de aglomerados e o sal permaneceu finamente granuloso.

Ao final da etapa de secagem, o n-hexano foi destilado em um evaporador rotativo a uma temperatura de 45 a 50°C e vácuo de 500 mmHg. Para aumentar a recuperação do solvente no processo de destilação, utilizou-se, na serpentina de condensação do evaporador rotativo, água refrigerada a 6°C.

Após a destilação, o n-hexano foi transferido para frascos âmbar contendo sulfato de sódio anidro (agente secante) e o resíduo presente no frasco de destilação foi descartado.

### 2.3. Análise por CG-EM

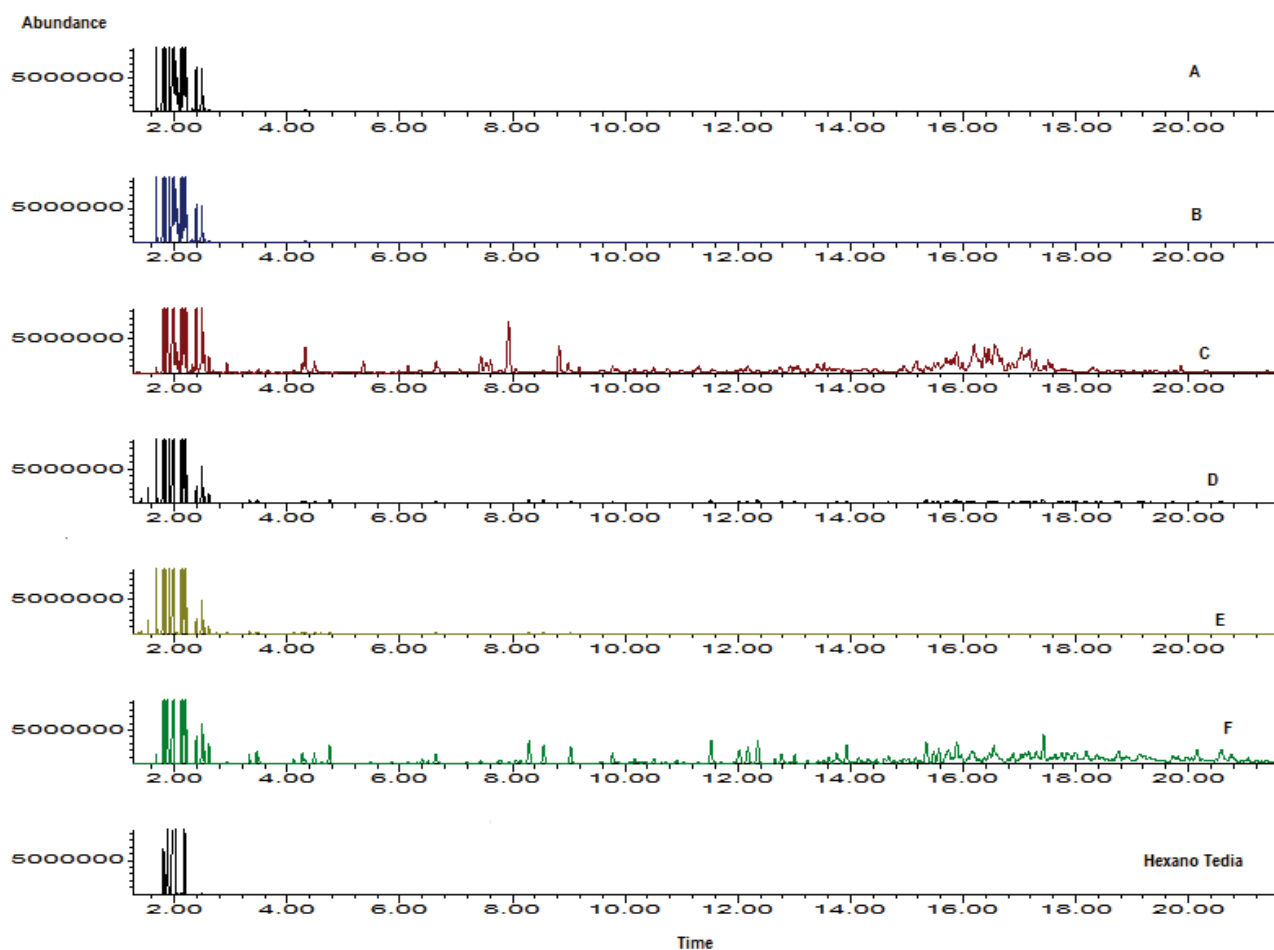
As amostras obtidas durante o tratamento do n-hexano foram submetidas à análise por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas. Utilizou-se um cromatógrafo a gás modelo Agilent® 6890 acoplado a um espectrômetro de massas Agilent® 5973N, com fonte de ionização eletrônica (EI) a 70eV.

Na análise cromatográfica, utilizou-se uma coluna HP5 MS (5%-fenil-95%-dimetilsilicone), comprimento de 30m, diâmetro interno de 0,25mm e 0,25 $\mu\text{m}$  de espessura de filme; volume de injeção de 0,2 $\mu\text{L}$  em modo *split* razão 1:100),  $T_{\text{injetor}}$  250°C,  $T_{\text{inicial}}$  40°C, gradiente de temperatura de 40 a 150°C a 5°C por minuto, e de 150 a 240°C a 20°C por minuto e hélio como gás de arraste com fluxo de 1,0mL/min.

Como a espectrometria de massas não é a técnica mais indicada para a diferenciação entre isômeros estruturais, isto é, isômeros de cadeia lineares e ramificados, os compostos foram reunidos em grupos em função da sua massa molecular (p.ex.:  $\text{C}_4$ ,  $\text{C}_5$ ,  $\text{C}_6$ , etc.), diferenciando-se apenas os compostos que apresentaram o anel benzênico na estrutura molecular (compostos aromáticos).

## 3. Resultados e Discussão

A Figura 2 representa os cromatogramas de íons totais (TIC – *Total Ion Chromatogram*) para cada uma das amostras de n-hexano e dos resíduos do processo de purificação submetidas à análise por CG-EM.



**Figura 2.** Cromatograma de íons totais (TIC) obtidos na análise por CG-EM das amostras de n-hexano e dos resíduos das etapas de purificação: (A) n-hexano comercial grau P.A.-A.C.S, (B) n-hexano comercial grau P.A.-A.C.S apenas destilado no evaporador rotativo, (C) resíduo obtido após a destilação no evaporador rotativo de 1L do n-hexano comercial grau P.A.-A.C.S, (D) n-hexano comercial grau P.A.-A.C.S submetido ao tratamento com  $H_2SO_4$  concentrado e sem destilação no evaporador rotativo, (E) n-hexano comercial grau P.A.-A.C.S submetido ao tratamento com  $H_2SO_4$  concentrado e destilado no evaporador rotativo, (F) resíduo obtido de 1L do n-hexano comercial grau P.A.-A.C.S tratado com  $H_2SO_4$  concentrado e destilado no evaporador rotativo, (G) Padrão de comparação: n-hexano comercial Tedia<sup>®</sup> grau HPLC, pureza 99,5%.

Inicialmente, comparando-se o n-hexano comercial grau P.A. (A) com o n-hexano comercial grau HPLC Tedia<sup>®</sup> (G), pode-se observar que o primeiro apresenta uma mistura mais complexa de compostos (isômeros estruturais). A amostra de n-hexano submetida apenas à destilação no evaporador rotativo (B) não apresentou diferenças em relação ao n-hexano comercial (A) quanto à sua composição, o que não justificaria em primeiro momento realizar a etapa de destilação.

Entretanto, analisando o resíduo obtido após a destilação do n-hexano no evaporador rotativo (C), pode-se notar a presença de uma série de outros compostos que não foram inicialmente detectados no n-hexano comercial (A), provavelmente pelo fato de estarem em baixa concentração (Tabela 1).

Esses interferentes caracterizam-se principalmente por hidrocarbonetos alifáticos saturados e insaturados com tamanho de cadeia variando de  $C_7$  a  $C_{20}$ . Além disso, pode-se verificar a presença de hidrocarbonetos aromáticos como tolueno, *o*-xileno, *m*-xileno, cujo manuseio freqüente e em contato com a pele ou se inalados são altamente tóxicos.

A utilização direta do n-hexano comercial (A) no preparo dos extratos vegetais fará com que, após a remoção do solvente do extrato, todos esses hidrocarbonetos com maior ponto de ebulição que o n-hexano presentes no resíduo (C) sejam incorporados ao extrato vegetal causando a sua contaminação.

O n-hexano obtido após a purificação com  $H_2SO_4$  concentrado, mas sem a etapa de destilação, mostrou uma eliminação quase completa dos contaminantes aromáticos (D), porém outros hidrocarbonetos de cadeia longa ( $C_9$  a  $C_{12}$ ) ainda estão presentes no solvente. Somente o tratamento

químico com  $H_2SO_4$  concentrado seguido da destilação resultou na completa remoção dos contaminantes aromáticos e aqueles com maior massa molecular (E). Ao final do processo de purificação, o solvente obtido apresentou um teor mínimo de n-hexano de 93,2%.

**Tabela 1.** Composição química das diferentes amostras de n-hexano e dos resíduos obtidos nas diversas etapas do processo de purificação.

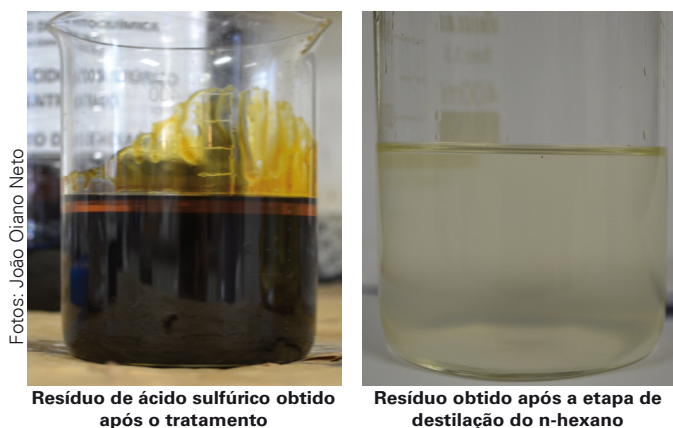
COMPOSTOS	ÁREA RELATIVA (%)						
	A	B	C	D	E	F	G
<b>C<sub>4</sub> saturado</b>	-	-	-	0,2	-	-	-
<b>C<sub>5</sub> saturado</b>	-	-	-	0,5	-	-	-
<b>C<sub>6</sub> saturado</b>	<b>65,9</b>	<b>66,4</b>	<b>25,6</b>	<b>64,1</b>	<b>70,0</b>	<b>29,5</b>	<b>22,0</b>
<b>C<sub>6</sub> saturado (n-hexano)</b>	<b>21,3</b>	<b>21,7</b>	<b>8,2</b>	<b>21,2</b>	<b>23,2</b>	<b>9,5</b>	<b>50,4</b>
<b>C<sub>6</sub> insaturado</b>	<b>6,0</b>	<b>6,2</b>	<b>1,7</b>	-	-	-	<b>27,5</b>
<b>C<sub>7</sub> saturado + C<sub>7</sub> insaturado</b>	0,8	0,6	1,2	1,5	1,3	2,2	-
<b>C<sub>7</sub> saturado cíclico (ciclohexano)</b>	2,9	2,6	3,1	3,1	3,1	2,5	0,1
<b>C<sub>7</sub> saturado (n-heptano)</b>	0,1	-	0,3	-	-	-	-
<b>C<sub>7</sub> aromático (tolueno)</b>	0,2	0,1	1,3	0,2	-	0,1	-
<b>C<sub>8</sub> saturado</b>	-	-	1,3	1,0	0,6	2,6	-
<b>C<sub>8</sub> saturado (n-octano)</b>	-	-	0,6	-	-	-	-
<b>C<sub>8</sub> aromático</b>	-	-	0,8	-	-	-	-
<b>C<sub>8</sub> aromático (o-xileno)</b>	-	-	3,7	-	-	-	-
<b>C<sub>8</sub> aromático (m-xileno)</b>	-	-	1,6	-	-	-	-
<b>C<sub>9</sub> saturado</b>	-	-	1,3	0,3	-	0,9	-
<b>C<sub>9</sub> saturado (n-nonano)</b>	-	-	0,3	-	-	-	-
<b>C<sub>9</sub> aromático</b>	-	-	0,6	0,6	-	2,9	-
<b>C<sub>10</sub> saturado</b>	-	-	0,5	0,5	-	2,2	-
<b>C<sub>11</sub> saturado</b>	-	-	1,3	0,3	-	1,7	-
<b>C<sub>11</sub> insaturado</b>	-	-	0,5	0,3	-	1,4	-
<b>C<sub>12</sub> saturado</b>	-	-	0,5	-	-	-	-
<b>C<sub>12</sub> saturado (n-dodecano)</b>	-	-	2,0	0,5	-	1,7	-
<b>C<sub>13</sub> a C<sub>20</sub> saturados</b>	-	-	4,2	-	-	1,5	-
<b>Não identificados</b>	2,8	2,4	36,6	5,2	1,3	41,3	-
<b>TOTAL</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>97,2</b>	<b>99,5</b>	<b>99,5</b>	<b>100</b>	<b>100</b>

(A) n-hexano comercial grau P.A.-A.C.S, (B) n-hexano comercial grau P.A.-A.C.S apenas destilado no evaporador rotativo, (C) resíduo obtido após a destilação de 1L do n-hexano comercial grau P.A.-A.C.S no evaporador rotativo, (D) n-hexano comercial grau P.A.-A.C.S submetido ao tratamento com  $H_2SO_4$  concentrado e sem destilação no evaporador rotativo, (E) n-hexano comercial grau P.A.-A.C.S submetido ao tratamento com  $H_2SO_4$  concentrado e destilado no evaporador rotativo, (F) resíduo obtido de 1L do n-hexano comercial grau P.A.-A.C.S tratado com  $H_2SO_4$  concentrado e destilado no evaporador rotativo, (G) Padrão de comparação: n-hexano comercial Tedia® grau HPLC, pureza 99,5%.

Após a etapa de agitação com ácido sulfúrico concentrado, o resíduo do ácido apresentou uma coloração castanho-avermelhada muito intensa, indicando tratar-se de um solvente com um teor elevado de impurezas, principalmente ftalatos, compostos sulfurados e hidrocarbonetos aromáticos (Figura 2).

Caso o usuário julgue necessário, a etapa de tratamento com o ácido sulfúrico concentrado pode ser repetida outras vezes, utilizando as proporções volumétricas definidas anteriormente, até que o ácido sulfúrico permaneça incolor ou com uma leve coloração amarelada.

Ao final do processo de destilação de todo o n-hexano no evaporador rotativo, obteve-se como resíduo um líquido viscoso, com aspecto oleoso e de coloração amarela (Figura 2).

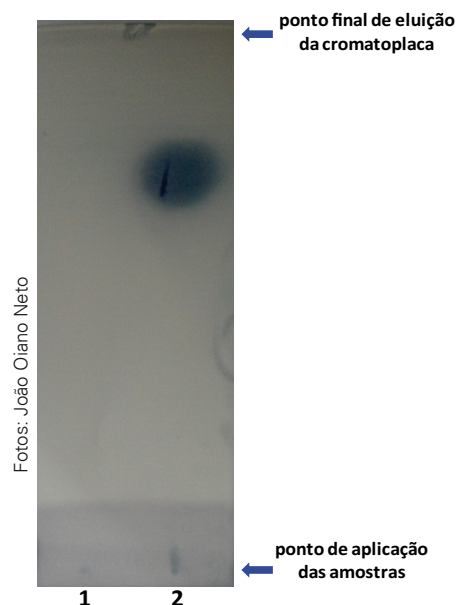


**Figura 3.** Resíduo de ácido sulfúrico com a coloração castanho-avermelhada característica obtido ao final da etapa de tratamento do n-hexano comercial e resíduo com coloração amarela obtido ao final da etapa de destilação.

O n-hexano obtido ao final do tratamento e o resíduo recuperado no processo de destilação foram analisados por cromatoplaça em camada delgada em cromatoplaças de sílica gel (*TLC Silica gel* 60 F<sub>254</sub> Merck®). Como fase móvel utilizou-se n-hexano comercial grau HPLC Caledon® e as placas de CCD foram reveladas com vanilina + ácido sulfúrico + ácido acético e aquecimento (Figura 3).

Dados os limites de detecção da técnica de CCD, não se observou na placa manchas indicativas da presença de contaminantes no n-hexano tratado. Por outro lado, o resíduo do processo de destilação apresentou uma única mancha com intensa coloração violácea.

A vanilina em mistura com ácido sulfúrico e ácido acético concentrados é utilizada como um agente de revelação específico para metabólitos de plantas com características terpenoídicas, pelo fato de reagir com os compostos presentes na amostra e promover o aparecimento de manchas com coloração azul-violácea característica.

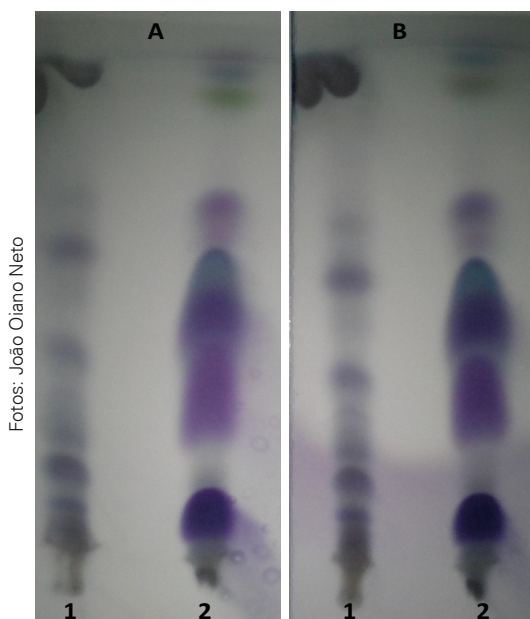


**Figura 4.** Cromatografia em camada delgada (CCD) de sílica gel 60 comparativa do n-hexano comercial obtido após o processo de purificação (1) e do resíduo obtido ao final do processo de destilação do n-hexano tratado (2). Fase móvel: 100% n-hexano comercial grau HPLC Caledon®. Agente de revelação: vanilina:ácido sulfúrico:ácido acético e aquecimento.

Neste caso, a presença de uma mancha intensa na amostra do resíduo, com esta coloração violácea característica, indica a presença de hidrocarbonetos com maior massa molecular e não voláteis, que permaneceram no resíduo após a destilação do n-hexano.

Em fitoquímica, trabalhando-se principalmente com cromatografia em coluna aberta e utilizando-se sílica gel como fase estacionária (cromatografia em fase normal), o controle dos teores de água no solvente orgânico é crucial para uma separação eficiente (alta seletividade e resolução cromatográfica), uma vez que a água “desativa” a sílica gel, impossibilitando uma separação cromatográfica adequada.

Desta forma, dois extratos vegetais concentrados, obtidos de matrizes vegetais distintas, foram avaliados em cromatoplaças de sílica gel 60 utilizando-se, como componente da fase móvel, o n-hexano obtido no processo de purificação e o n-hexano comercial grau HPLC Caledon® (Figura 4).



**Figura 5.** Análise comparativa do perfil químico dos extratos vegetais em cromatoplaças de sílica gel 60 eluídas com fase móvel composta pelo n-hexano comercial purificado (A) e pelo n-hexano comercial grau HPLC Caledon® (B). Fase móvel: 10:5:1 (v/v/v) n-hexano:diclorometano:metanol; agente de revelação: vanilina:ácido sulfúrico:ácido acético e aquecimento. Amostras: (1) fração acetato de etila do extrato hidroalcoólico da resina de *Pinus sp.*; (2) extrato metanólico dos frutos de *G. guidonia*.

O n-hexano purificado apresentou o mesmo perfil cromatográfico (número de manchas na placa de CCD), valores de fator de retenção ( $R_f$ ) e seletividade ( $\alpha$ ) quando comparado ao n-hexano comercial grau HPLC Caledon® (Figura 4).

Além disso, a secagem do n-hexano com cloreto de cálcio, antes da etapa de destilação, e seu armazenamento em sulfato de sódio anidro produziu um solvente com teor de água residual incapaz de interferir na separação cromatográfica.

Desta forma, para os fins aqui descritos, não houve a necessidade de se utilizar outros agentes secantes como pentóxido de fósforo ( $P_2O_5$ ) ou sódio metálico ( $Na^0$ ) nas etapas de secagem e destilação como descrito na literatura (PERRIN & ARMAREGO, 1988). Essa mudança na metodologia de purificação contribui para a redução dos riscos de haver acidentes graves no laboratório durante o manuseio desses compostos dado o seu caráter pirofórico e explosivo.

Mesmo não sendo um método de purificação tão eficaz quanto a destilação fracionada, a destilação do solvente no evaporador rotativo, além de ser rápida e de fácil execução, apresentou uma

recuperação acima de 95% e permitiu obter o n-hexano com grau de pureza adequado para os estudos fitoquímicos.

Apesar de muito simples, a etapa de neutralização com solução saturada de carbonato ou hidróxido de sódio para remoção do ácido residual deve ser realizada com cuidado, pois a presença de resíduos de ácido no solvente, seja na etapa de produção dos extratos concentrados ou nas separações cromatográficas em coluna aberta, pode promover a degradação química de alguns metabólitos secundários gerando artefatos (compostos que não são oriundos do metabolismo secundário do vegetal).

Esses artefatos são produzidos em geral pela ocorrência de reações como hidrólise de ésteres e glicosídeos, O-metilação de derivados hidroxilados, clivagem de epóxidos, formação de acetonídeos, isomerização de alcenos e cetonas  $\alpha,\beta$ -insaturadas, formação de epímeros e adições intramoleculares, entre outras.

## 4. Conclusão

A metodologia adaptada neste trabalho mostrou-se rápida e de fácil execução, permitindo o tratamento e a recuperação de grandes quantidades de n-hexano comercial, com rendimentos superiores a 95% e qualidade adequada para a aplicação em diversas etapas da investigação fitoquímica.

Ao se trabalhar com um solvente de menor grau de pureza e reagentes comercialmente baratos esta metodologia permite que maiores quantidades de solvente sejam adquiridas por um custo menor, quando comparado aos gastos com a compra de solventes com pureza elevada.

Esta metodologia também pode ser aplicada na recuperação do n-hexano comercial com prazo de validade vencido, contribuindo para a redução dos custos com a compra de novos lotes de solvente; além de proporcionar uma significativa redução dos gastos referentes ao descarte (transporte e incineração) do n-hexano fora da validade.



## 5. Bibliografia

MORITA, T.; ASSUMPCÃO, R. M. V. **Manual de soluções, reagentes e solventes: padronização, preparação, purificação**. 11. ed. São Paulo: Ed. Edgard Blücher, 2001, p. 466.

PERRIN, D. D.; ARMAREGO, W. L. F. **Purification of laboratory chemicals**. 3 ed. New York: Pergamon Press, 1988, p. 369.

SIGMA-ALDRICH. **Material Safety Data Sheet and Product Information Sheet**. Product Number 296090 – n-hexane. Disponível em: <<http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sial/296090?lang=pt&region=BR>>. Acesso em: 19 de jun. de 2014.

WINDHOLZ, M.; BUDAVARI, S.; BLUMETTI, R. F.; OTTERBEIN, E. S. **The Merck Index**. New Jersey: Merck & Co., 1983, p. 10.

### Comunicado Técnico, 104

Embrapa Pecuária Sudeste  
Endereço: Rod. Washington Luiz, km 234,  
São Carlos, SP  
Fone: (16) 3411-5600  
Fax: (16) 3361-5754  
Home page: [www.embrapa.br/pecuaria-sudeste](http://www.embrapa.br/pecuaria-sudeste)

1ª edição on-line: (2014)

### Comitê de publicações

Presidente: *Alexandre Berndt*.  
Secretário-Executivo: *Simone Cristina Méo Niciura*.  
Membros: *Ane Lisy F.G. Silvestre, Maria Cristina Campanelli Brito, Milena Ambrosio Telles, Sônia Borges de Alencar*.

### Expediente

Editoração eletrônica: *Maria Cristina Campanelli Brito*.