

BIBLIOTECA FAC. DE QUIMICA

125

UNIVERSIDAD IBEROAMERICANA
INCORPORADA A LA UNAM

DETERMINACION DE AZUCARES
POR
CROMATOGRAFIA EN CAPA DELGADA

GRACIELA HEREDIA GARCIA LORENZANA
QUIMICO FARMACELITICO BIOLOGO

1967.





Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

UNIVERSIDAD IBEROAMERICANA

INCORPORADA A LA UNAM

DETERMINACION DE AZUCARES
POR
CROMATOGRAFIA EN CAPA DELGADA

GRACIELA HEREDIA GARCIA LORENZANA

QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

1967.

JURADO QUE REVISÓ Y APROBO LA PRESENTE TESIS

Presidente: ING. JOSE IGNACIO BOLIVAR GOYANO

Vocal: Q. F. B. MANUEL GOMEZ VIVES

Secretario: Q. F. B. AURELIA RIVAS GONZALEZ H.

SITIO EN DONDE SE DESARROLLO EL TEMA:

LABORATORIOS NACIONALES DE

FOMENTO INDUSTRIAL

SUSTENTANTE:

GRACIELA HEREDIA GARCIA LORENZANA

ASESOR DEL TEMA:

Q. F. B. MANUEL GOMEZ VIVES

SUPERVISOR TECNICO:

Q. F. B. ANA TERESA VITERBO ZAVALA

CAPITULO I

INTRODUCCION

Cada vez adquiere mayor importancia la cromatografía en el análisis cualitativo y cuantitativo de toda clase de compuestos. Continuamente se describen técnicas cromatográficas, que resuelven diversos problemas, y que plantean la interrogante de si son aplicables a la solución de otros.

Quisimos estudiar la posibilidad de aplicar la cromatografía en capa fina, a la identificación de azúcares por separado así como en mezclas de diversos productos, para poder disponer de un método cuya sencillez, sensibilidad y rapidez, lo conviertan en la forma más práctica de conocer los azúcares existentes en un compuesto, así como las modificaciones que sufren durante un proceso.

CAPITULO II

PARTE EXPERIMENTAL

ESTABLECIMIENTO DE CONDICIONES.—Los azúcares son un tema interesante de estudio, por su estructura que los hace reaccionar con compuestos de los más diferentes tipos, sus varios oxidrilos son los responsables de esta reactividad y son de gran interés en su estudio cromatográfico.

Estudiamos diferentes mezclas de distintos eluyentes, diferentes reactivos reveladores y después determinamos la sensibilidad del método.

A.—Como eluyentes empleamos distintas mezclas de alcoholes, ácidos, ésteres, cetonas, etc. que dieran diferentes polaridades, considerando que sería distinto el resultado para cada uno de los azúcares seleccionados en este estudio; en la tabla No. 1 aparece la fórmula de las mezclas usadas:

TABLA No. 1

Reactivos	Volumen en	P. E. en °C.
1.—	mililitros	
Acetato de etilo	26	77.0
Isopropanol	14	82.5
Agua	7	92.8

2.—

Alcohol butílico normal	48	117-118
Ac. acético glacial	23	118.0
Agua	31	92.8

3.—

Alcohol butílico normal	52	117-118
Alcohol etílico	32	78.5
Agua	15	92.8

4.—

Ac. fénico	30 g	182.0
Agua	20 ml	92.8

5.—

Alcohol butílico normal	50	117-118
Acetona	40	56.1
Agua	10	92.8

6.—

Alcohol butílico normal	50	117-118
Alcohol isopropílico	40	82.5
Agua	10	92.8

7.—

Alcohol isopropílico	60	82.5
Hidróxido de amonio	20	33.35
Agua	10	92.8

B.—Posteriormente se seleccionó el agente revelador, es decir, aquel que pusiera en evidencia el comportamiento del azúcar contra el eluyente, ya que la ausencia de color de los carbohidratos, hace necesaria la presencia de un agente de este tipo; en la Tabla No. 2 se indican las fórmulas de los agentes reveladores usados en nuestro estudio:

TABLA No. 2

Reactivos	Cantidades
1.—	
Alcohol etílico	49.0 ml
Ac. sulfúrico	2.0 ml
Agua	49.0 ml
2.—	
Anilina Q.P.	0.930 g
Anhidrido ftálico	1.523 g
Agua saturada con alcohol butílico	100.000 ml
3.—	
Ac. oxálico	3.50 g
Anilina Q.P.	2.25 ml
Ac. clorhídrico Q.P.	2.00 ml
Agua c.b.p.	250.00 ml
4.—	
Anilina Q.P.	0.930 g
Ac. ftálico	1.523 g
Alcohol butílico saturado con agua	100.000 ml
5.—	
Metaperyodato de sodio al 2%	4 partes
Permanganato de potasio al 1% en carbonato de sodio al 2%	1 parte
6.—	
Alcohol etílico	9.00 ml
Ac. sulfúrico	0.50 ml
Anisaldehido (Merck)	0.50 ml
7.—	
Naftoresorcinaol al 2% en alcohol etílico	10.00 ml
Ac. sulfúrico al 20%	10.00 ml

C.— Seleccionados los eluyentes y los agentes reveladores, procedimos a estudiar la sensibilidad adecuada del método, para cada uno de los azúcares estudiados: Arabinosa, celobiosa, maltosa, manosa, ramnosa y L-sorbosa.

De cada uno de estos azúcares se prepararon diferentes diluciones que corresponden a 0,5, 1, 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 120, 140, 160, 180, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500, 600, 700, 800, 900 y 1000 $\mu\text{g}/10 \mu\text{l}$.

Se prepararon placas de gel de sílice con acetato de sodio 0.02 M, en proporción de 30 g de gel por cada 60 ml de solución y colocamos muestras de cada una de las diluciones arriba mencionadas, lo cual llevamos a cabo en las siguientes condiciones:

- | | |
|-------------------------|---|
| 1.—Placas | Gel de sílice/Acetato de sodio (30/60) |
| 2.—Eluyente | Acetato de etilo/Isopropanol/Agua (#1) |
| 3.—Muestras | Arabinosa, Celobiosa, Maltosa, Manosa, L-Sorbosa y Ramnosa. |
| 4.—Concentración | Las mencionadas. |
| 5.—Agente revelador | Naftoresorcinol/Ac. sulfúrico (#7) |
| 6.—Tiempo en que corrió | 1 h |
| 7.—Distancia recorrida | 10 cm. |

Concluimos que la concentración menor de las usadas, o sea la de 0,5 $\mu\text{g}/10 \mu\text{l}$, no alcanza a ser detectada; el agente revelador comienza a hacer su efecto a partir de 1 $\mu\text{g}/10 \mu\text{l}$, de aquí hasta 100 $\mu\text{g}/10 \mu\text{l}$ la acción reveladora es estupenda, variando tan sólo la intensidad de las manchas; observamos que en la concentración de 120 $\mu\text{g}/10 \mu\text{l}$ comienza a barrerse un poco la mancha, incrementándose este efecto, proporcionalmente a la concentración; habiendo localizado el rango de sensibilidad, escogimos la segunda concentración apreciable, es decir, 5 $\mu\text{g}/10 \mu\text{l}$.

D.— Una vez establecidas las condiciones del método, procedimos a seleccionar la combinación adecuada de Placa-Solvente-Revelador, a fin de obtener las condiciones óptimas para este trabajo, es decir lograr simultáneamente, los valores de Rf máximos con la mayor separación de las muestras entre sí y efectos claros del agen-

te revelador; dichas experiencias fueron llevadas a cabo en la siguiente forma, para las placas hechas con gel de sílice:

1.—

a Placas	Gel de sílice/acetato de sodio 0.02 M (30/60)
b Eluyente	Acetato de etilo/Isopropanol/Agua (#1).
c Muestras	Arabinosa, Celobiosa, Maltosa, L-Sorbosa y Ramnosa.
d Tiempo en que corrió	1 h.
e Distancia recorrida	10 cm.
f Agente revelador	Ac. oxálico/Ac. clorhídrico/Agua (#3).

En esta serie de placas observamos que la arabinosa fue la que desarrolló el valor de R_f mayor, le siguieron los valores correspondientes a la L-Sorbosa y Ramnosa, siendo los más pequeños los pertenecientes a la Maltosa y Celobiosa, que fueron muy similares entre sí; dichos valores no se tomaron en cuenta debido a las defectuosidad de las placas, sin embargo pudimos observar que la intensidad de las manchas fue menor que la desarrollada por el agente revelador usado con anterioridad.

2.—

a Placas	Gel de sílice/Acetato de sodio 0.02 M (30/60)
b Eluyente	Butanol/Ac. acético/Agua (#2).
c Muestras	Arabinosa, Celobiosa, Dextrosa, Galactosa, Levulosa, Maltosa, Manosa, Ribosa, Sacarosa, trealosa y xilosa.
d Tiempo en que corrió	1 h.
e Distancia recorrida	10 cm.
f Agente revelador	Metaperyodato (#5) y Anisaldehído (#6).

Con este eluyente las muestras desarrollaron valores de R_f mínimos, con el revelador de metaperyodato, quedaron totalmente impregnadas las placas de un color oscuro, impidiendo con esto observar las posiciones de las muestras, con el revelador de anisalde-

hido que anteriormente habíamos usado con buenos resultados, pudimos apreciar la poca efectividad del eluyente usado.

3.—

a Placas	Gel de sílice/Acetato de sodio 0.02 M (30/60)
b Eluyente	Fenol/Agua (#4).
c Muestras	Arabinosa, Celobiosa, Dextrosa, Galactosa, levulosa, Maltosa, Manosa, Ribosa, Sacarosa, Trealosa y xilosa.
d Tiempo en que corrió	1 h.
e Distancia recorrida	10 cm.
f Agente revelador	Etanol/Sulfúrico (1) y Ac. oxálico (3).

Debido tal vez a que no se eliminó totalmente el eluyente no pudimos apreciar la acción de los agentes reveladores, razón por la que volvimos a probar dicho solvente, modificando un poco las condiciones.

4.—

a Placas	Gel de sílice/Agua (30/60).
b Eluyente	Fenol/Agua (#4).
c Muestras	Arabinosa, Maltosa, Manosa, L-Sorbosa y Ramnosa.
d Tiempo en que corrió	1.30 hs.
e Distancia recorrida	10 cm.
f Agente revelador	# 4 y # 5.

Observamos que al eliminar la solución amortiguadora en las placas, con el ítalato de anilina aparecen manchas muy tenues y valores de Rf muy cortos; el agente revelador de metaperyodato, volvió a actuar sin resultado. Las placas antes de ser reveladas fueron colocadas en la estufa y al aire libre por bastante tiempo y pudimos comprobar que aún en estas condiciones las placas siguientes impregnadas por el eluyente.

5.—

a Placas	Gel de sílice/Ac. Bórico (30/60), 0.1N.
b Eluyente	# 5.

- c Muestras Arabinosa, Celobiosa, Dextrosa, levulosa, Maltosa, Manosa, Sacarosa, Xilosa.
- d Tiempo en que corrió 45 min.
- e Distancia recorrida 10 cm.
- f Agente revelador # 4.

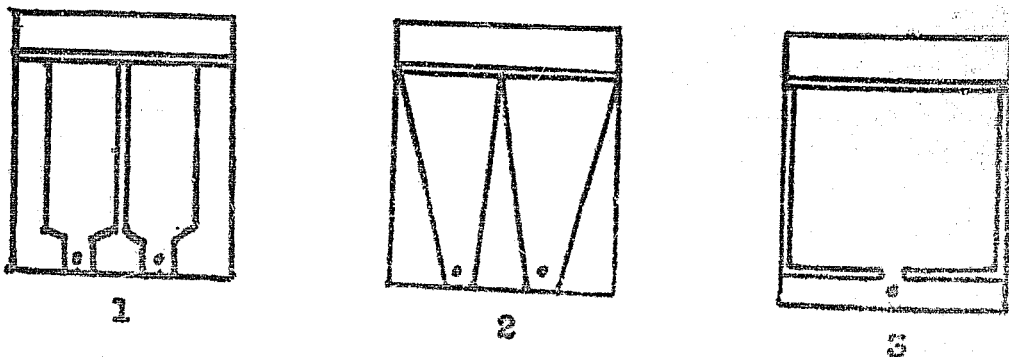
Los resultados obtenidos para esta serie de placas fueron bastante más satisfactorios que los anteriores y son los siguientes:

AZUCARES	Rf.	AZUCARES	Rf.
Manosa	0.220	Arabinosa	0.353
Celobiosa	0.310	Maltosa	0.357
levulosa	0.337	Xilosa	0.367
sacarosa	0.340	Dextrosa	0.380

Como se podrá observar no existe gran diferencia de los valores de R_f entre sí, pero ya son resultados que pueden tomarse en cuenta.

6.—

Hicimos nuevas placas de gel de sílice/Acetato de sodio 0.02 M, dibujando sobre las mismas, tres diferentes diagramas con el fin de ver si es posible aumentar los valores de R_f para cada azúcar, dichos diagramas fueron los siguientes:



En la placa del tipo No. 1 se colocaron muestras en la siguiente forma:

Arabinosa y una mezcla de dextrosa y levulosa.

Para la placa del tipo 2, las muestras se colocaron así:

Levulosa y una mezcla de dextrosa y arabinosa.

Para la placa del tipo No. 3, se usó una mezcla de los tres azúcares mencionados.

Las condiciones de trabajo fueron las siguientes:

a Placas	Gel de sílice/Acetato de sodio 0.02 M (30/60)
b Eluyente	# 1.
c Muestras	Arabinosa, dextrosa y levulosa.
d Tiempo en que corrió	1:45 hs.
e Distancia recorrida	10 cm.
f Agente revelador	# 7.

Los resultados no fueron buenos, pero a pesar de ello pudimos observar que hubo mejor desarrollo de los valores Rf. en las placas del tipo 1 y 2.

7.—

Se hizo una nueva serie de placas usando el solvente No. 1 sin agua.

a Placas	Gel de sílice/Acetato de sodio 0.02 M
b Eluyente	Acetato de etilo/Isopropanol (65/35)
c Muestras	Arabinosa, Dextrosa y Levulosa.
d Tiempo en que corrió	1:15 hs.
e Distancia recorrida	10 cm.
f Agente revelador	# 6.

Pusimos mezclas de: Arabinosa/Levulosa, Dextrosa/Arabinosa, Levulosa/Dextrosa, una mezcla de los tres azúcares y las tres muestras por separado, usamos diagramas de los tipos 1 y 2 y pudimos observar que el agente revelador no hizo su efecto en ninguna placa al utilizar este eluyente sin agua.

8.—

Volvimos a repetir esta serie de placas, siguiendo el sistema de trabajo anterior y usando el mismo eluyente pero con agua.

a Placas	Gel de sílice/Acetato de sodio 0.02 M.
b Eluyente	# 1.
c Muestras	Arabinosa, Dextrosa y Levulosa.
d Tiempo en que corrió	50 min.
e Distancia recorrida	10 cm.
f Agente revelador	# 6.

Las muestras corrieron bien, pero observamos que las manchas correspondientes a los azúcares abarcaban de un extremo a otro, el dibujo, por lo que no tomamos en cuenta los valores de Rf. En adelante se trató de aplicar la muestra en el espacio mínimo posible, con el fin de que al correr el cromatograma, dichas muestras no formen bandas.

9.—

Repetimos nuevamente esta serie de placas aplicando las muestras como indicamos arriba.

a Placas	Gel de sílice/Acetato de sodio 0.02 M.
b Eluyente	# 1.
c Muestras	Arabinosa, Dextrosa y Levulosa.
d Tiempo en que corrió	1 h.
e Distancia recorrida	10 cm.
f Agente revelador	# 6.

Para esta serie de placas incluimos diagramas del tipo 1 y 2 a la vez que placas lisas, colocando sobre las mismas, muestras solas y mezclas de dos y tres azúcares.

Los valores de Rf no fueron reproducibles para las placas con los diagramas indicados, ya que carecíamos de una plantilla especial para lograr dibujos idénticos, y a pesar de que hubo buen desarrollo de las muestras, sobre todo en las placas del tipo 2, los resultados con respecto a los valores de Rf, no superaron a los valores obtenidos con las placas de tipo liso.

10.—

Hicimos nuevas placas sin dibujo usando una concentración de 20 µg/2 ml. Las condiciones a seguir fueron las siguientes:

a Placas	Gel de sílice/Agua (30/60).
----------	-----------------------------

- b Eluyente # 7.
 c Muestras Dextrosa, Maltosa, Celobiosa, Xilosa y Sacarosa.
 d Tiempo en que corrió Variable para cada placa.
 e Distancia recorrida Especifica en cada placa.
 f Agente revelador # 7.

Los resultados obtenidos para esta serie de placas fueron los siguientes:

Placa # 1.—Distancia recorrida: 9.5 cm. Tiempo en que corrió: 1:45 hs.

AZUCARES	Rf.
Maltosa	0.2320
Sacarosa	0.2790
Glucosa/Xilosa	0.3209/0.4630
Glucosa	0.5210
Xilosa	0.4629

Placa # 2

Distancia recorrida: 13.8 cm.

Tiempo en que corrió: 3 hs.

Celobiosa	0.2200
Maltosa	0.2318
Sacarosa	0.2791
Glucosa	0.3202
Xilosa	0.4630

Placa No. 3

Distancia recorrida: 11.65 cm.

Tiempo en que corrió: 3 hs. con 30 min.

Maltosa	0.2319
Sacarosa	0.2790
Glucosa/Xilosa	0.3202/0.4631
Glucosa	0.3201
Xilosa	0.4630

Placa # 4.

Distancia recorrida: 11 cm.

Tiempo en que corrió: 3 hs.

AZUCARES

Rf.

Maltosa	0.2318
Sacarosa	0.2790
Glucosa/Sacarosa	0.3202/0.2791
Glucosa	0.3200
Xilosa	0.4631

Placa # 5.

Distancia recorrida: 11.9 cm.

Tiempo en que corrió: 4 hs.

Celobiosa	0.2210
Celobiosa/Glucosa	0.2200/0.3201
Maltosa	0.2318
Glucosa/Maltosa	0.3201/0.2317
Glucosa	0.3202

Placa # 6.

Distancia recorrida: 10.7 cm.

Tiempo en que corrió: 3 hs.

Maltosa	0.2318
Maltosa/Sacarosa	0.2317/0.2790
Sacarosa	/0.2790
Sacarosa/Xilosa	0.2789/0.4629
Xilosa	0.4630

Placa # 7.

Distancia recorrida: 14.2 cm.

Tiempo en que corrió: 5 hs.

Celobiosa/Xilosa	0.2200/0.4629
Celobiosa	0.2200
Glucosa/Maltosa	0.3201/0.2317
Maltosa/Sacarosa/Glucosa	0.2317/0.2778/0.3202
Maltosa/Sacarosa/Xilosa	0.2317/0.2778/0.4629

Se podrá observar que se ha logrado una reproducción casi exacta de los valores de R_f , teniendo variaciones en la tercera y cuarta cifra solamente. Una vez establecidas las condiciones de trabajo para las placas hechas con gel de sílice, procedimos a efectuar ensayos con placas hechas de Kieselguhr de la forma siguiente:

1.—

a Placas	Kieselguhr/Acetato de sodio 0.02 M (30/60)
b Eluyente	# 1.
c Muestras	Arabinosa, celobiosa, dextrosa, galactosa, levulosa, maltosa, manosa, ribosa, sacarosa, trealosa y xilosa.
d Tiempo en que corrió	30 min.
e Distancia recorrida	10 cm.
f Agente revelador	# 6.

Esta serie de placas resultó defectuosa por lo que respecta al material adsorbente, por lo que no se tomaron en cuenta los valores de R_f , aunque a pesar de ello advertimos una buena separación de las muestras entre sí; así como buenos resultados en la acción reveladora, obteniéndose manchas en diferentes tonalidades de azul verde sobre fondo violeta.

2.—

a Placas	Kieselguhr/Acetato de sodio 0.02 M (30/60)
b Eluyente	# 1 y # 3.
c Muestras	Arabinosa, maltosa, manosa, L-sorbosa y Ramnosa.
d Tiempo en que corrió	1:15 hs.
e Distancia recorrida	10 cm.
f Agente revelador	# 1, # 2 y # 3.

El agente revelador # 1 no dio resultado alguno; el # 2 dio mejores resultados en las placas corridas con el eluyente # 3, ya que con el # 1 las manchas aparecieron bastante difusas; la arabinosa y manosa aparecieron a las 24 hs. de aplicado el agente revelador y la maltosa a las 48 hs., la L-sorbosa y la ramnosa aparecieron de inmediato.

El revelador # 3 se usó en placas corridas con ambos eluyentes, obteniéndose en los dos casos, manchas demasiado difusas.

Las mejores placas fueron las corridas con el eluyente # 3 y reveladas con el reactivo # 2, sin embargo los resultados no fueron reproducibles. Hicimos una experiencia con el eluyente y el agente revelador que dieron mejores resultados, corriendo los cromatogramas sobre placas de gel de sílice/agua (30/60) y observamos que el eluyente tardó menos tiempo en recorrer los 10 cm. que cuando se usó la solución amortiguadora de acetato de sodio 0.02 M, y el agente revelador tardó también menos tiempo en hacer su efecto; el azúcar que obtuvo el valor de Rf mayor en esta experiencia fue la L-sorbose, siguiéndole la ramnosa y manosa con un valor semejante, después la arabinosa y por último la maltosa; las manchas correspondientes a la maltosa aparecen de un color café rojizo y para los demás azúcares se obtienen manchas en diversas tonalidades de café amarillento, la mancha que aparece más clara y definida corresponde a la arabinosa, siguiendo la maltosa, manosa, L-sorbose y ramnosa.

3.—

a Placas	Kieselguhr/Acetato de sodio 0.02 M (30/60)
b Eluyente	# 1 y # 5.
c Muestras	Arabinosa, celobiosa, dextrosa, galactosa, levulosa, maltosa, manosa, ribosa, sacarosa, trealosa y xilosa.
d Tiempo en que corrió	30 y 35 min. respectivamente.
e Distancia recorrida	10 cm.
f Agente revelador	# 6.

Los resultados obtenidos para esta serie de placas fueron los siguientes:

Azúcares	Rf	Rf
	Eluyente # 1	Eluyente # 5
Sacarosa	0.180	0.755
Maltosa	0.230	0.685
Trealosa	0.250	NO REVELO
Dextrosa	0.330	0.580

Ribosa	0.380	0.855
Levulosa	0.560	0.790
Manosa	0.580	0.800
Celobiosa	0.720	0.115
Galactosa	0.785	NO REVELO
Arabinosa	0.820	0.415
Xilosa	0.835	NO REVELO

El eluyente # 1 desarrolla valores Rf menores pero con mayor separación de las muestras entre sí; en cambio con el eluyente # 5 a pesar de que los valores de Rf son mayores que en el anterior, existe poca diferencia de las muestras entre sí.

4.—

Se hizo una experiencia comparativa usando estos mismos eluyentes sobre placas tanto de gel de sílice como de kieselguhr.

a Placas	Kieselguhr/Acetato de sodio 0.02 M (30/60) Gel de sílice/Ac. Bórico 0.1 N (30/60)
b Eluyente	# 1 y # 5.
c Muestras	Arabinosa, dextrosa y levulosa.
d Tiempo en que corrió	30 min. y 1:30 hs. respectivamente.
e Distancia recorrida	10 cm.
f Agente revelador	# 6 y # 7.

ARABINOSA:

Base	Eluyente	Rf.	Revelador
Gel de sílice	# 1	0.100	# 6
Gel de sílice	# 1	0.100	# 7
Gel de sílice	# 5	0.240	# 6
Gel de sílice	# 5	0.229	# 7
Kieselguhr	# 1	0.520	# 7
Kieselguhr	# 1	0.475	# 6
Kieselguhr	# 5	0.660	# 6
Kieselguhr	# 5	0.650	# 7

DEXTROSA:

Gel de sílice	# 1	0.385	# 6
Gel de sílice	# 1	0.378	# 7
Gel de sílice	# 5	0.220	# 6
Gel de sílice	# 5	0.231	# 7
Kieselguhr	# 1	0.360	# 6
Kieselguhr	# 1	0.340	# 7
Kieselguhr	# 5	0.620	# 6
Kieselguhr	# 5	0.671	# 7

LEVULOSA:

Gel de sílice	# 1	0.050	# 6
Gel de sílice	# 1	0.045	# 7
Gel de sílice	# 5	0.089	# 6
Gel de sílice	# 5	0.090	# 7
Kieselguhr	# 1	0.590	# 6
Kieselguhr	# 1	0.540	# 7
Kieselguhr	# 5	0.765	# 6
Kieselguhr	# 5	0.740	# 7

Se volvieron a usar los mismos solventes en placas de Kieselguhr Acetato de sodio 0.02M, ya que como se podrá observar fue en dichas placas en las que se obtuvo el mayor valor de Rf para los azúcares.

5.—

- a Placas Kieselguhr/Acetato de sodio 0.02 M (30/60)
- b Eluyente # 1 y # 5.
- c Muestras Dextrosa, levulosa, sacarosa y una muestra comercial de azúcar de la U.N.P. A.S.A.
- d Tiempo en que corrió 30 y 45 min. respectivamente.
- e Distancia recorrida 10 cm.
- f Agente revelador # 6.

Los resultados obtenidos para esta serie de placas, fueron los siguientes:

Azúcares	Rf	Rf
----------	----	----

	Eluyente # 1	Eluyente # 5
Sacarosa	0.145	0.615
Dextrosa	0.297	0.635
Levulosa	0.350	0.705
Problema	0.143	0.613

Esta prueba se hizo con el fin de ver si el problema contenía otro tipo de azúcares y pudimos comprobar que sólo era sacarosa.

Hicimos una última prueba comparando los dos eluyentes anteriores a fin de ratificar los valores de Rf, usamos nuevamente placas de Kieselguhr acetato de sodio 0.02 M.

6.—

a Placas	Kieselguhr/Acetato de sodio 0.02 M (30/60)
b Eluyente	# 1 y # 5.
c Muestras	Arabinosa, Dextrosa y Levulosa.
d Tiempo en que corrió	30 min. y 1 h. respectivamente.
e Distancia recorrida	10 cm.
f Agente revelador	# 6 y # 7.

ARABINOSA:

Eluyente # 5	Rf	Revelador # 6
"	0.600	"
"	0.590	"
"	0.600	"
"	0.600	"
"	0.600	"
"	0.630	"
Promedio: 0.6033		

Eluyente # 1	Rf	Revelador # 7
"	0.350	"
"	0.367	"
"	0.345	"
"	0.350	"
"	0.357	"

Promedio: 0.3545

DEXTROSA:

Eluyente # 5

Rf

Revelador # 6

..

0.525

..

..

0.535

..

..

0.550

..

..

0.530

Revelador # 7

..

0.532

..

..

0.558

..

Promedio: 0.5386

Rf

Revelador # 6

Eluyente # 1

0.300

..

..

0.275

..

..

0.275

Revelador # 7

..

0.350

..

..

0.275

..

..

0.300

Revelador # 6

Promedio: 0.2950

LEVULOSA:

Eluyente # 5

Rf

Revelador # 6

..

0.575

..

..

0.580

..

..

0.565

..

..

0.575

Revelador # 7

..

0.575

..

..

0.570

..

Promedio: 0.5733

Eluyente # 1

Rf

Revelador # 6

..

0.330

..

..

0.320

..

..

0.355

..

..

0.400

Revelador # 7

..

0.340

..

0.360

Promedio: 0.3508

A continuación aparecen en lista los promedios de los valores de Rf obtenidos para las tres muestras con los dos eluyentes:

Muestras

	Rf	Rf
	Eluyente # 1	Eluyente # 5
Dextrosa	0.2950	0.5386
Arabinosa	0.3545	0.6033
Levulosa	0.3508	0.5733

Como podrá observarse, la diferencia existente de los valores de Rf entre un eluyente y otro es bastante marcada, cualidad que puede aprovecharse en el caso de correr placas en sentido bidimensional.

7.—

Al observar que los valores de Rf obtenidos en placas hechas con gel de sílice son bastante más pequeños que los obtenidos con placas de Kieselguhr, se me ocurrió hacer una mezcla de ambos reactivos en partes iguales suspendiendo la mezcla en solución de acetato de sodio 0.01 M. usando 30 g de polvo por cada 60 ml de solución; las condiciones usadas fueron las siguientes:

- | | |
|------------------------|---|
| a Placas | Las descritas en el párrafo anterior. |
| b Eluyente | # 7 (Isopropanol/Amoniaco/Agua). |
| c Muestras | Celobiosa, galactosa, Xilosa, Manosa, Arabinosa, Glucosa, Maltosa, ribosa, Sacarosa y Levulosa. |
| d Tiempo en que corrió | Específica en cada placa. |
| e Distancia recorrida | Específica para cada placa. |
| f Agente revelador | # 7. |

	Placa # 1	Placa # 2
Distancia recorrida	13.2 cm	13.2 cm.
Tiempo en que corrió	3:20 hs.	3:20 hs.

Muestras	Rf	Rf
Maltosa	0.3304	0.3310
Celobiosa	0.3726	0.3726
Sacarosa	0.4355	0.4349
Galactosa	0.4487	0.4486
Glucosa	0.5000	0.5000
Manosa	0.5345	0.5345
Ribosa	0.5650	0.5646
Levulosa	0.5285	0.5285
Arabinosa	0.5489	0.5489
Xilosa	0.6243	0.6243

Se podrá observar la reproducción casi exacta de los valores de Rf en estas últimas placas.

8.—

Hicimos nuevas placas usando 15 g de Kieselguhr. 15 g de gel de sílice en 60 ml de agua: La finalidad de estas placas fue ~~en~~ mezclas de azúcares en forma bidimensional, para separar las muestras con valores de Rf muy cercanos, en caso de existir propósitos de análisis cuantitativo.

Placa # 1

a Placas	Las descritas en el párrafo anterior.
b Eluyente usado en sentido vertical	# 7.
c Eluyente usado en sentido horizontal	# 1.
c Muestras	Mezcla de Arabinosa, Glucosa y Sacarosa.
d Tiempo en que corrió verticalmente	4:30 hs.
Tiempo en que corrió horizontalmente	1:25 hs.
e Distancia recorrida verticalmente	15.6 cm.
Distancia recorrida horizontalmente	15.4 cm.
f Agente revelador	# 7.

Muestra	Rf vertical	Rf horizontal
Sacarosa/	0.5769	0.4480
Glucosa/	0.6282	0.5714
Arabinosa	0.7539	0.6435

Placa # 2.

a Placas	Las mismas.
b Eluyente para sentido vertical	# 5.
Eluyente para sentido horizontal	# 7.
c Muestras	Mezcla de Arabinosa, Glucosa y Sacarosa.
d Tiempo de corrida vertical	1 h.
Tiempo de corrida horizontal	3:30 hs.
e Distancia recorrida verticalmente	12.6 cm.
Distancia recorrida horizontalmente	14.1 cm.
f Agente revelador	# 7.

Muestra	Rf vertical	Rf horizontal
Sacarosa/	0.5829	0.5770
Glucosa/	0.6631	0.6284
Arabinosa	0.7840	0.7540

Placa # 3.

a Placas	Las mismas.
b Eluyente para sentido vertical	# 5
Eluyente para sentido horizontal	# 1
c Muestras	Mezcla de Arabinosa, Glucosa y Sacarosa.
d Tiempo de corrida vertical	2 hs.
Tiempo de corrida horizontal	1:30 hs.
e Distancia recorrida verticalmente	17.5 cm.

Distancia recorrida horizontalmente 17.2 cm.
f Agente revelador # 7.

Muestra	Rf vertical	Rf horizontal
Sacarosa/	0.5830	0.4500
Glucosa/	0.6631	0.5720
Arabinosa	0.7820	0.6440

Las muestras quedaron perfectamente separadas en forma escalonada, resultados que podrán apreciarse con mayor facilidad en las gráficas correspondientes al capítulo de resultados.

Con esto damos por terminado el capítulo correspondiente a establecer las condiciones de trabajo, aplicaremos los resultados aquí obtenidos, en los capítulos posteriores sobre productos naturales.

CAPITULO III

PARTE EXPERIMENTAL

DETERMINACION CUALITATIVA DE AZUCARES EN PRODUCTOS NATURALES.—Las condiciones ya establecidas en el capitulo anterior, las aplicamos en éste, usando como muestras los siguientes licores, vinos y jugos: Saké, vermouth, ginebra, crema de guayaba, crema de café, crema de zarza, crema de cacao, jugo de manzana, jugo de uva, jugo de piña, jugo de durazno, jugo de mango y jugo de naranja; los jugos que usamos fueron tanto naturales como de lata, y diluidos al 10%; los vinos los usamos en una concentración del 2% y los licores los usamos sin diluir; la concentración de los tipos fue de 20 mcg en 2 mcl.

1.—

Hicimos placas usando tipos con la concentración arriba indicada, corriendo al mismo tiempo una muestra de saké sin diluir.

a Placas	Gel de silice/Agua (30/60)
b Eluyente	# 7.
c Muestras	Glucosa, sacarosa, maltosa, xilosa y saké
d Tiempo en que corrió	Específico en cada placa
e Distancia recorrida	Específica en cada placa
f Agente revelador	# 7.

	# 1	# 2
Placas		
Distancia recorrida	12.3 cm.	12.5 cm.
Tiempo en que corrió	3:30 hs.	3:30 hs.
	Rf	Rf
Glucosa	0.3202	0.3202
Sacarosa	0.2790	0.2791

Saké	0.2317/0.2789/0.3201	0.2311/0.2789/0.3201
Maltosa	0.2318	0.2318
Xilosa	0.4630	0.4631

Placa # 3.

Distancia recorrida: 12.5 cm.

Tiempo en que corrió: 3:30 hs.

Glucosa/Sacarosa	0.3201/0.2790
Maltosa/Xilosa	0.2317/0.4629
Saké	0.2317/0.2789/0.3201
Glucosa/Sacarosa/Maltosa	0.3202/0.2789/0.2317
Glucosa/Sacarosa/Xilosa	0.3201/0.2789/0.4629

Placa # 4.

Distancia recorrida: 12.5 cm.

Tiempo en que corrió: 3:30 hs.

Glucosa/Sacarosa	0.3201/0.2790
Maltosa/Xilosa	0.2317/0.4630
Saké	0.2317/0.2789/0.3202
Glucosa/Sacarosa/Maltosa	0.3202/0.2790/0.2318
Glucosa/Sacarosa/Xilosa	0.3201/0.2790/0.4630

Placa # 5.

Distancia recorrida: 12.35 cm.

Tiempo en que corrió: 3:40 hs.

Glucosa/Maltosa	0.3201/0.2317
Sacarosa/Xilosa	0.2789/0.4629
Saké	0.2318/0.2789/0.3203
Glucosa/Maltosa/Xilosa	0.3202/0.2318/0.4630
Celobiosa/Maltosa/Sacarosa	0.2201/0.2318/0.2789

Placa # 6.

Distancia recorrida: 12.15 cm.

Tiempo en que corrió: 3:30 hs.

Glucosa/Maltosa	0.3202/0.2318
Sacarosa/Xilosa	0.2790/0.4630

Saké	0.2317/0.2789/0.3201
Glucosa/Maltosa/Xilosa	0.3201/0.2317/0.4629
Celobiosa/Maitosa/Sacarosa	0.2200/0.2318/0.2790

En el saké comprobamos la presencia de maltosa, sacarosa y glucosa.

2.—

Hicimos diez placas más usando ahora vermouthe, ginebra, crema de guayaba, crema de café, crema de zarza y crema de cacao. Las condiciones en que llevamos a cabo esta serie de placas, fueron las siguientes:

a Placas	Gel de sílice/Agua (30/60)
b Eluyente	# 7.
c Muestras	Arabinosa, glucosa, maltosa, sacarosa, xilosa, celobiosa, galactosa y levulosa.
d Tiempo en que corrió	Específico para cada placa.
e Distancia recorrida	Específica para cada placa
f Agente revelador	# 7.

Usamos las muestras arriba mencionadas en una concentración del 2% y los tipos en una concentración de 20 mcg por 2 ml.

Placa # 1.

Distancia recorrida: 11.4 cm.
Tiempo en que corrió: 3:40 hs.

Muestras	Rf
Arabinosa	0.3071
Vermouthe	0.2789
Ginebra	NO DIO RESULTADO
Crema de guayaba	0.2789/0.3200
Glucosa/Maltosa/Sacarosa/ Xilosa	0.3202/0.2318/0.2790/0.4630

Placa # 2.

Distancia recorrida: 11.4 cm.
Tiempo en que corrió: 3:30 hs.

Muestras	Rf
Celobiosa	0.2200
Crema de café	0.2789/0.2869
Crema de zarza	0.3350
Vermouth	0.2790
Arabinosa/Celobiosa/Galactosa /Levulosa	0.3070/0.2200/0.2867 /0.3349
Placa # 3.	
Distancia recorrida: 13.6 cm.	
Tiempo en que corrió: 3:30 hs.	
Galactosa	0.2867
Ginebra	NO DIO RESULTADO
Crema de guayaba	0.2789/0.3202
Crema de café	0.2789/0.2866
Manosa/Glucosa/Sacarosa/ Levulosa	0.3751 /0.3202/0.2790/0.3349
Placa # 4.	
Distancia recorrida: 11.6 cm.	
Tiempo en que corrió: 3:35 hs.	
Levulosa	0.3350
Crema de zarza	0.3350
Vermouth	0.2790
Ginebra	NO DIO RESULTADO
Celobiosa/Xilosa/Sacarosa/ Arabinosa	0.2201/0.4630/0.2789/0.3071
Placa # 5.	
Distancia recorrida: 13.6 cm.	
Tiempo en que corrió: 4.00 hs.	
Manosa	0.3750
Crema de guayaba	0.2789/0.3201
Crema de café	0.2790/0.2867
Crema de zarza	0.3350
Glucosa/Maltosa/Levulosa/ Galactosa	0.3202/0.2316/0.3349/0.2865

En las cinco siguientes placas se substituyó la ginebra por crema de cacao también al 2%, ya que a pesar de haberse puesto concentrada, no dio ningún resultado: tal vez por tratarse de una bebida destilada.

Placa # 6.

Distancia recorrida: 13 cm.

Tiempo en que corrió: 4 hs.

Muestras	Rf
Arabinosa	0.3071
Crema de café	0.2788/0.2866
Crema de cacao	0.2789/0.3349
Crema de guayaba	0.2789/0.3199
Glucosa	0.3202

Placa # 7.

Distancia recorrida: 13.6 cm.

Tiempo en que corrió: 4:10 hs.

Levulosa	0.3350
Vermouth	0.2790
Crema de zarza	0.3349
Crema de cacao	0.2787/0.3348
Maltosa	0.2318

Placa # 8.

Distancia recorrida: 14 cm.

Tiempo en que corrió: 4:30 hs.

Ribosa	0.2989
Crema de café	0.2789/0.2866
Crema de guayaba	0.2787/0.3200
Vermouth	0.2790
Sacarosa	0.2790

Placa # 9.

Distancia recorrida: 14.1 cm.

Tiempo en que corrió: 4:30 hs.

Arabinosa	0.3070
Crema de zarza	0.3350
Crema de cacao	0.2790/0.3350
Muestras	Rf
Crema de café	0.2789/0.2865
Glucosa	0.3202

Placa # 10.

Distancia recorrida: 12.5 cm.

Tiempo en que corrió: 3:30 hs.

Levulosa	0.3349
Crema de guayaba	0.2791/0.3201
Vermouth	0.2790
Crema de zarza	0.3351
Maltosa	0.2318

Se comprobó la presencia de los siguientes azúcares en las muestras usadas:

Muestras.	Azúcares encontrados.
Crema de cacao	Sacarosa y levulosa
Crema de café	Sacarosa y galactosa
Crema de guayaba	Sacarosa y glucosa
Crema de zarza	Levulosa
Vermouth	Sacarosa

3.—

Hicimos nuevas placas para llevar a cabo el análisis cualitativo de los azúcares contenidos en los juegos mencionados en el comienzo de este capítulo; trabajamos en las siguientes condiciones:

a Placas	Gel de sílice/Agua (30/60)
b Eluyente	# 7.
c Muestras	Arabinosa, glucosa, levulosa, Maltosa, ribosa, sacarosa, jugos de: manzana, uva, piña, durazno, mango y naranja.
d Tiempo en que corrió	Específico en cada placa.
e Distancia recorrida	Específica en cada placa.
f Agente revelador	# 7.

Placa # 1.

Distancia recorrida: 12.5 cm.

Tiempo en que corrió: 3.30 hs.

Muestras	Ri
Arabinosa	0.3071
Manzana natural	0.2789/0.3201/0.3349
Manzana de lata	0.2789/0.3201/0.3349
Uva natural	0.2789/0.3201/0.3349
Uva de lata	0.2789/0.3201/0.3349
Glucosa/levulosa	0.3202/0.3350

Placa # 2.

Distancia recorrida: 12.0 cm.

Tiempo en que corrió: 3.00 hs.

Maltosa/ribosa	0.2317/0.2988
Manzana natural	0.2788/0.3200/0.3348
Manzana de lata	0.2788/0.3200/0.3348
Uva natural	0.2790/0.3202/0.3350
Uva de lata	0.2790/0.3202/0.3350
Sacarosa	0.2790

Placa # 3.

Arabinosa	0.3071
Piña natural	0.2790
Piña de lata	0.2790
Durazno natural	0.2789
Durazno de lata	0.2789
Glucosa/levulosa	0.3201/0.3349

Placa # 4.

Distancia recorrida: 14.3 cm.

Tiempo en que corrió: 4:00 hs.

Maltosa/ribosa	0.2318/0.2989
Piña natural	0.2791
Piña de lata	0.2790

Durazno natural	0.2790
Durazno de lata	0.2789
Sacarosa	0.2790

Placa # 5.

Distancia recorrida: 11.4 cm.

Tiempo en que corrió: 2:45 hs.

Arabinosa	0.3070
Mango natural	0.2790
Mango de lata	0.2790
Naranja natural	0.2788
Naranja de lata	0.2787
Glucosa/levulosa	0.2302/0.3350

Placa # 6.

Distancia recorrida: 12.3 cm.

Tiempo en que corrió: 3:15 hs.

Maltosa/ribosa	0.2317/0.2988
Mango natural	0.2790
Mango de lata	0.2789
Naranja natural	0.2788
Naranja de lata	0.2788
Sacarosa	0.2790

Se comprobó la presencia de los siguientes azúcares en las muestras usadas:

Muestras.	Azúcares encontrados.
Jugo de manzana	Sacarosa, glucosa y levulosa
Jugo de uva	Sacarosa, glucosa y levulosa
Jugo de piña	Sacarosa
Jugo de durazno	Sacarosa
Jugo de mango	Sacarosa
Jugo de naranja	Sacarosa

4.—

A pesar de tener ya establecidas las condiciones de trabajo, hicimos nuevas placas de kieselguhr/Agus (30/60), aplicamos las

mismas muestras y los mismos tipos; los resultados para esta serie de placas fueron negativos, ya que las muestras fueron arrastradas por el eluyente hasta el borde final del mismo.

Hicimos una nueva serie de placas usando 15 g de kieselguhr con 15 g de gel de sílice en 60 ml de acetato de sodio 0.01 M, y aplicamos nuevamente las mismas muestras con los mismos tipos.

a Placas	Las especificadas anteriormente
b Eluyente	# 7.
c Muestras	Arabinosa, glucosa, levulosa, maltosa, ribosa, sacarosa, jugos de: manzana, uva, piña, durazno, mango y naranja.
d Tiempo en que corrió	Específico en cada placa
e Distancia recorrida	Específica en cada placa
f Agente revelador	# 7

Placa # 1.

Distancia recorrida: 10.75 cm.

Tiempo en que corrió: 2:30 hs.

Muestras	Rf
Arabinosa	0.5489
Manzana natural	0.4354/0.5000/0.5284
Manzana de lata	0.4355/0.5000/0.5285
Uva natural	0.4355/0.5000/0.5283
Uva de lata	0.4354/0.5001/0.5284
Glucosa	0.5000

Placa # 2.

Distancia recorrida: 11.45 cm.

Tiempo en que corrió: 2:45 hs.

Muestras	Rf
Levulosa/Sacarosa/Glucosa	0.5285/0.4355/0.5000
Manzana natural	0.4355/0.5000/0.5285
Manzana de lata	0.4355/0.5000/0.5285
Uva natural	0.4352/0.5000/0.5283
Uva de lata	0.4354/0.5000/0.5285
Maltosa	0.3304

Placa # 3.

Distancia recorrida: 11.00 cm.

Tiempo en que corrió: 2:30 hs.

Ribosa	0.5650
Piña natural	0.4356
Piña de lata	0.4355
Durazno natural	0.4354
Durazno de lata	0.4355
Glucosa	0.5000

Placa # 4.

Arabinosa	0.5490
Piña natural	0.4355
Piña de lata	0.4355
Durazno natural	0.4354
Durazno de lata	0.4354
Sacarosa	0.4355

Placa # 5.

Distancia recorrida: 13.50 cm.

Tiempo en que corrió: 3.30 hs.

Muestras

Ribosa	0.5649
Mango natural	0.4354
Mango de lata	0.4355
Naranja natural	0.4355
Naranja de lata	0.4356
Sacarosa	0.4355

Placa # 6.

Distancia recorrida: 12.8 cm.

Tiempo en que corrió: 3:15 hs.

Levulosa	0.5285
Mango natural	0.4355
Mango de lata	0.4354
Naranja natural	0.4356

Naranja de lata	0.4356
Maltosa	0.3305

Comprobamos la presencia de los mismos azúcares para cada jugo, que en la serie de placas anterior; y pudimos comprobar también que la única diferencia existente entre los jugos naturales y los de lata, estriba en la mayor concentración de la sacarosa y glucosa en las muestras de lata, observación que pudimos hacer mediante la intensidad de la mancha; ya que como indicamos en el capítulo anterior, al establecer la curva de concentraciones máximas y mínimas adecuadas, la variación se nota solamente en la intensidad de la mancha al revelar.

En esta forma concluimos con la parte experimental en la cual analizamos cualitativamente las muestras, en forma directa.

CAPITULO IV

RESULTADOS

A pesar de que los resultados aparecen ya en el capítulo correspondiente a la parte experimental, los expondremos aquí a fin de poder apreciarlos globalmente.

Resultados obtenidos por los tipos en las siguientes condiciones:

- a Eluyente # 1 (Acetato de etilo/Isopropanol/Agua).
 b Placas Gel de sílice/Agua.
 c Agente revelador # 7 (Naftoresorcinol).

Muestras	Rf	Color de las manchas
Celobiosa	0.2200	Gris pardo
Maltosa	0.2318	Gris pardo
Sacarosa	0.2790	Púrpura
Galactosa	0.2807	Azul brillante
Ribosa	0.2989	Azul brillante
Arabinosa	0.3071	Azul brillante
Glucosa	0.3202	Azul intenso
Levulosa	0.3350	Amarillo púrpura azulado
Manosa	0.3750	Azul brillante
Xilosa	0.4630	Azul brillante

Resultados obtenidos para los tipos en las siguientes condiciones:

- a Eluyente # 1 (Acetato de etilo/Isopropanol/Agua).
 b Placas Kieselguhr/Acetato de sodio 0.02 M (30/60).
 c Agente revelador # 6 (Anisaldehido).

Muestras	Rf	Color de las manchas
Sacarosa	0.180	Diversas tonalidades en azul verde
Maltosa	0.230	
Trealosa	0.250	
Glucosa	0.330	
Ribosa	0.380	
Levulosa	0.560	
Manosa	0.580	
Celobiosa	0.720	
Galactosa	0.785	
Arabinosa	0.820	
Xilosa	0.835	

Resultados obtenidos para los tipos en las siguientes condiciones:

- a Eluyente # 5 (Butanol/Acetona/agua).
 b Placas Kieselguhr/Acetato de sodio 0.02 M (30-60).
 c Agente revelador # 6 (Anisaldehido).

Muestras	Rf	Color de las manchas
Celobiosa	0.1150	Diversas tonalidades en azul verde
Arabinosa	0.4150	
Glucosa	0.5800	
Maltosa	0.6850	
Sacarosa	0.7850	
Levulosa	0.7900	
Manosa	0.8000	
Ribosa	0.8550	
Galactosa	No hubo	
Trealosa	No hubo	
Xilosa	No hubo	

Resultados obtenidos para las soluciones tipo en las siguientes condiciones:

- a Eluyente # 7 (Isopropanol/Amoniaco/Agua).
 b Placas. Gel de silice-Kieselguhr/Acetato de sodio 0.02 M.
 c Agente revelador # 7 (Naftoresorcinol). (15-15/60).

Muestras	Rf	Color de las manchas
Maltosa	0.3304	Gris pardo
Celobiosa	0.3720	Gris pardo
Sacarosa	0.4355	Púrpura
Galactosa	0.4487	Azul
Glucosa	0.5000	Azul
Levulosa	0.5285	Amarillo púrpura azulado
Manosa	0.5345	Azul
Arabinosa	0.5489	Azul
Ribosa	0.5649	Azul
Xilosa	0.6243	Azul

Resultados obtenidos para las soluciones tipo en las siguientes condiciones:

- a Eluyente usado en sentido vertical. # 7 (Isopropanol/Amoniaco/Agua).
 Eluyente usado en sentido horizontal. # 1 (Acetato de etilo/Isopropanol/Agua).
 b Placas. Gel de silice-Kieselguhr/Agua (15-15/60).
 c Agente revelador # 7 (Naftoresorcinol).
 d Muestras usadas Arabinosa/Glucosa/Sacarosa. (Una mezcla de las tres).

Muestras	Rf Vertical	Rf Horizontal
Sacarosa/	0.5769	0.4480
Glucosa/	0.6282	0.5714
Arabinosa	0.7539	0.6435

2.—

- a Eluyente usado en sentido vertical. # 5 (Butanol/Acetona/Agua).
 Eluyente usado en sentido horizontal. # 7 (Isopropanol/Amoniaco/Agua).
 b Placas. Las mismas de la serie anterior.
 c Agente revelador # 7 (Naftoresorcinol).
 d Muestras usadas La misma mezcla anterior.

Muestras	Rf Vertical	Rf Horizontal
Sacarosa/	0.5829	0.5770
Glucosa/	0.6631	0.6284
Arabinosa	0.7840	0.7540

3.—

- a Eluyente usado en sentido vertical. # 5 (Butanol/Acetona/Agua).
 Eluyente usado en sentido horizontal. # 1 (Acetato de etilo/Isopropanol/Agua).
 b Placas. Las mismas de la serie anterior.
 c Agente revelador # 7 (Naftoresorcinol).
 d Muestras usadas La misma mezcla anterior

Muestras	Rf Vertical	Rf Horizontal
Sacarosa/	0.5830	0.4500
Glucosa/	0.6631	0.5720
Arabinosa	0.7820	0.6440

Al aplicar las técnicas usadas en este trabajo, sobre productos naturales, encontramos los azúcares que a continuación se enuncian, teniendo en cuenta que el análisis cromatográfico fue únicamente cualitativo, así como existe la posibilidad de que aparte de los azúcares encontrados en dichos productos, puede haber otros en menor concentración que no pudimos detectar con este método; los resultados son los siguientes:

CAPITULO V

EVALUACION DE RESULTADOS

Como resultado de los trabajos realizados podemos concluir que las condiciones más adecuadas para el estudio cromatográfico en capa delgada de las mezclas de azúcares, son las siguientes:

1.—TIPOS DE PLACAS:

Observamos que el kieselguhr no posee propiedades para retrasar el recorrido de la muestra, contrarrestando con esto con la gel de sílice que las posee; el Kieselguhr puede mezclarse con una solución amortiguadora para ayudar a retrasar el recorrido de la muestra, o bien pueden hacerse mezclas en partes iguales de kieselguhr —Gel de sílice, en este trabajo, dicha mezcla la suspendimos en solución amortiguadora en algunas ocasiones, y en agua en otras; con esta última los valores de R_f fueron bastante buenos, y fue con este tipo de placas con las que obtuvimos los máximos resultados.

Se pueden hacer también combinaciones diversas de estos dos productos con agua, hasta lograr la obtención de valores de R_f máximos con el mínimo de gel de sílice y el máximo de kieselguhr.

Observamos que las placas hechas con gel de sílice-Acetato de sodio 0.02m, tienen muy poca adherencia al vidrio, desprendiéndose con facilidad.

2.—PREPARACION DE LAS PLACAS

La mezcla que se usa para hacer las placas debe agitarse con una varilla de vidrio poco gruesa y a una velocidad más o menos constante a fin de conseguir una consistencia un poco espesa,

ya que si se hacen las placas con una mezcla muy líquida, al evaporarse y secarse, la película quedará muy delgada y poco uniforme; una vez hechas las placas, deberán secarse a 100°C durante 30 min.; y después de que se hayan corrido las muestras, debe evaporarse el eluyente, manteniendo las placas a una temperatura de 90-100°C, durante 10 a 15 min.

3.—CONCENTRACION DE LA MUESTRA

La concentración de muestra que escogimos fue la No. 1, que equivale a 5 mcg/10 ml.

4.—APLICACION DE LAS MUESTRAS

La extensión de las manchas debe ser lo más mínima posible debiendo evitarse tocar la película con la micropipeta; hay que aplicar la muestra por capilaridad separando la pipeta en cuanto la película empiece a humedecer, secar con aire caliente, y seguir aplicando la muestra hasta su totalidad, en esta forma.

5.—PREPARACION DE CONDICIONES

Con respecto a las placas, observamos que se obtienen mejores resultados, desprendiendo los bordes de la película aproximadamente 0.5 cm en las cuatro orillas de las placas; y para que la adsorción sea mejor y la placa no queda sumergida en el eluyente, conviene colocar en el fondo de la cámara una base de algodón que se impregna a saturación, con el eluyente, colocando la placa encima a modo de que ésta adsorba el eluyente únicamente por el borde inferior de la película, evitando con esto el desprendimiento de la misma. Conviene que la cámara quede totalmente saturada del aluyente, para lo cual se forran las paredes de la misma, con papel filtro también saturado del eluyente; se untan después los bordes de la cámara y de la tapa con vaselina sólida, sellándola así herméticamente y dejándola reposar de 15 a 30 min., después de los cuales se introduce la placa que se correrá.

6.—APLICACION DEL AGENTE REVELADOR

El agente revelador deberá aplicarse en cada placa por separado, y dejarlo actuar durante 8 a 10 min. a una temperatura de

95 a 100°C, después de los cuales se saca la placa, dejando ventilar la estufa durante un tiempo conveniente: pues se nos presentó el siguiente problema:

• Observamos que metiendo varias placas al mismo tiempo en la estufa, aparecían manchas, pero todas del mismo color, y metiéndolas por separado, pero sin ventilar la estufa, en las 2 ó 3 primeras placas, aparecían las manchas con los colores característicos, y en las placas siguientes, las manchas volvieron a aparecer del mismo color: sin embargo, ventilando convenientemente la estufa entre placa y placa, observamos que de la primera a la última placa, las manchas correspondientes a los azúcares, aparecieron en los colores característicos.

El agente revelador con el que obtuvimos mejores resultados fue el No. 7 (Naftoresorcinol), que desarrolla un color azul claro brillante en los monosacáridos y en los disacáridos, púrpura para la sacarosa y gris pardo para maltosa y celobiosa así como un color amarillo-púrpura-azulado para la levulosa.

7.—ELUYENTES ESCOGIDOS

Los eluyentes que elegimos por su mayor efectividad sobre placas corridas en sentido vertical, fueron el No. 1 (Acetato de etilo-Isopropanol-Agua), el No. 5 (Butanol-Acetona-Agua) y el No. 7 (Isopropanol-Amoniaco-Agua).

En las placas corridas en sentido bidimensional, la combinación de eluyentes con la que obtuvimos mejores resultados fue la siguiente:

En sentido vertical: Butanol-Acetona-Agua.

En sentido horizontal: Isopropanol-armoniaco-agua.

CONCLUSIONES

1.—Determinamos las condiciones más apropiadas para llevar a cabo el método, con las que el estudio cronofotográfico en capa delgada es practicable en la separación e identificación de monosacáridos, tanto pentosas como hexosas y disacáridos, provenientes de jugos naturales extraídos directamente de frutas, de jugos de lata y de licores.

2.— Este método es aplicable a la valoración cuantitativa; aunque no estudiamos este aspecto en el presente trabajo, la claridad de las separaciones de indicios de las posibilidades cuantitativas del método, lo cual está indicado por la diferencia de tamaños y de concentración de color de las manchas desarrolladas.

3.— Demostramos que los azúcares contenidos en los jugos naturales directamente obtenidos de las frutas, y los contenidos en los jugos provenientes de latas, no presentan ninguna diferencia de tipo cualitativo, variando solamente en la concentración: por lo tanto este método puede ser de utilidad por las ventajas que presenta que son las siguientes:

a) Para aquellas muestras en que la concentración del ó de los azúcares contenidos, no sea suficiente para detectarse por los métodos usuales.

b) Para aquellas ocasiones en que se desee saber qué tipo de azúcares son los que contiene una determinada muestra, ya que los métodos usuales sólo nos dan a conocer resultados globales.

c) Para conocer el tipo de azúcares que intervienen en la descomposición o fermentación de un determinado producto y conocer los desdoblamientos que pueden presentar.

CAPITULO VI

BIBLIOGRAFIA

- 1.—RANDERATH, KURT: THIN LAYER CHROMATOGRAPHY; Academic Press (1964).
- 2.—M. BOBBITT, JAMES: THIN LAYER CHROMATOGRAPHY; Reinhold Publishing Corporation, (1963).
- 3.—TRUTER, E. VERNON: THIN FILM CHROMATOGRAPHY; Intercience Publishers (1963).
- 4.—HEFTMAN, ERICH: CHROMATOGRAPHY; Reinhold Publishings Corporation (1963).
- 5.—MALDONADO GARIBAY, BERTINA: IDENTIFICACION CROMATOGRAFICA DE MANOSACARIDOS PRESENTES EN LOS LICORES PREHIDROLITICOS DE YUCCA FILIFERA; Tesis; Facultad de Ciencias Químicas, Puebla, Pue. (1955).
- 6.—LEDERER, MICHAEL: CHROMATOGRAPHIC REVIEWS; Elsevier Publishing Company; Vol. I. (1959).
- 7.—DOMINGUEZ, JORGE ALEJANDRO: REVISTA DE LA SOCIEDAD DE QUIMICA DE MEXICO: Vol. II, Julio-Agosto (1963).

- 8.—LEDERER, EDGAR Y LEDERER, MICHAEL: CHROMATOGRAPHY; Elsevier Publishing Company: (1957).
- 9.—GOMES CASSIDY, HAROLD: FUNDAMENTALS OF CHROMATOGRAPHY; Intercience Publishers (1957).
- 10.—CALVET, ENRIQUE: QUIMICA GENERAL APLICADA A LA INDUSTRIA CON PRACTICAS DE LABORATORIO: Vol. IV: pág. 38. 484; Salvat editores S. A. (1953).
- 11.—CHEMICAL ABSTRACT: 40d, 6639e, 11706e (1962).
 - a) NEW USES FOR THIN LAYER CHROMATOGRAPHY; E. STAHL: Angew Chem. 73, 646. - 54 (1961).
 - b) THIN LAYER CHROMATOGRAPHY; TRACE ANALYSIS OF SUGAR MIXTURES ON LAYER OF TENBACK (Univ. Saarland. Saarbruecken, Ger) J. Chromatography: 5, 351-5 (1961).

INDICE

	Pág.
CAPITULO I	
Introducción	7
CAPITULO II	
Parte Experimental	11
CAPITULO III	
Parte Experimental	35
CAPITULO IV	
Resultados	49
CAPITULO V	
Evaluaciones de Resultados	57
CAPITULO VI	
Bibliografía	63