

Glicídios por cromatografia circular em papel - Prova qualitativa

Aplica-se na análise qualitativa dos açúcares presentes nos alimentos (glicose, frutose, maltose, sacarose, além de outros açúcares) utilizando-se a técnica de cromatografia circular em papel em comparação com soluções-padrão de açúcares. A cromatografia em papel é uma técnica de separação baseada no deslocamento diferencial de solutos, arrastados por uma fase móvel e retidos seletivamente por uma fase estacionária líquida (água), contida no papel.

Material

Balança analítica,
estufa, capela para substâncias voláteis,
papel para cromatografia Whatman nº 1,
pipetas de 1 e 5 mL,
capilares de vidro,
cuba cromatográfica de (52 x 52) cm,
atomizador,
béquer de 250 mL,
papel de filtro,
funil de vidro,
frasco Erlenmeyer de 100 mL,
proveta com tampa de 100 mL
placas de Petri.

Reagentes

Soluções-padrão a 2% dos açúcares a serem identificados n-Propanol

Acetato de etila

Solução de anilina a 4% em álcool

Solução de difenilamina a 4% em metanol Ácido fosfórico

Fase móvel - Prepare em uma proveta de 100 mL uma mistura de n-propanol - acetato de etila - água (65:10:25).

Solução reveladora - Em um frasco Erlenmeyer de 20 mL prepare a mistura de 5 mL da solução de anilina, 5 mL de difenilamina e 1 mL de ácido fosfórico.

Procedimento - Pese (10 - 20) g da amostra em béquer de 250 mL, dissolva com cerca de 100 mL de água, mantendo em contato por no mínimo 2 horas. Filtre, recolhendo o filtrado em béquer de 250 mL e reserve, para aplicar no papel para cromatografia. Corte o papel para cromatografia Whatman nº 1, em quadrado de 50 cm de cada lado. Trace com grafite duas diagonais entre os vértices do quadrado e duas entre os lados (todas cruzando pelo centro do papel). Marque com lápis um ponto em cada diagonal a 2 cm do centro do papel. Aplique, utilizando capilar de vidro, duas gotas das soluções-padrão e 4-6 gotas do filtrado da amostra. Coloque a fase móvel nas placas de Petri posicionadas no centro e nos quatro vértices da cuba cromatográfica, tampe com uma placa de vidro e deixe saturar por cerca de uma hora. Coloque o papel sobre as placas de Petri, conectando o centro do papel com o solvente da placa central por meio de uma "vassourinha de papel". Corra o cromatograma circular por cerca de 12 horas (até o solvente atingir as laterais do papel) e retire o papel, marque a frente do solvente e deixe secar ao ar numa capela. Aplique o revelador sobre toda a superfície do papel, com auxílio de atomizador, mantendo-o pendurado em um varal

na capela e enrole em um grande cartucho (cerca de 10 cm de diâmetro). Leve a estufa a 105°C até o aparecimento de manchas características quanto a cor e respectivos R_f . Compare os valores dos R_f dos padrões com os R_f do componente da amostra que permite a sua identificação.

Cálculo

$$\frac{D_c}{D_s} = R_f$$

D_s

D_c = distância percorrida pelo componente da amostra, a partir do ponto de aplicação da amostra

D_s = distância percorrida pela fase móvel, do ponto de aplicação da amostra até a frente marcada.