

## Glicídios por cromatografia descendente em papel - Prova qualitativa

Os métodos cromatográficos, aplicáveis a pequenas quantidades de amostra, são os mais úteis para identificação de glicídios. A cromatografia em papel, usando solventes e reveladores apropriados, permite não só a identificação como a determinação quantitativa, eluindo-se as manchas do papel e determinando colorimetricamente a concentração dos glicídios correspondentes. Pode-se correr um cromatograma com solvente apropriado e, uma vez revelado, identificar os glicídios, comparando os valores de  $R_f$  com os dos padrões usados paralelamente à amostra.

### Material

Balança analítica,  
estufa,  
papel para cromatografia Whatman nº 1,  
pipetas de 1 e 5 mL,  
capilares de vidro,  
cuba cromatográfica com cânula,  
atomizador,  
béquer de 250 mL,  
funil de vidro  
frasco Erlenmeyer de 100 mL.

### 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 - n-propanol - acetato de etila - água (65:10:25).  
Solução reveladora - Em um frasco Erlenmeyer, prepare a mistura de solução de anilina a 4% em álcool (5 mL), solução de difenilamina a 4% em metanol (5 mL) e ácido fosfórico (1 mL).

Procedimento - Pese cerca de 10 g da amostra em um béquer de 250 mL e dissolva com aproximadamente 100 mL de água, mantendo em contato por no mínimo duas horas.

Filtre em papel de filtro, recolhendo o filtrado em béquer de 250 mL. Reserve o filtrado para aplicar no papel para cromatografia. Corte o papel Whatman nº 1 com largura de 15 cm e comprimento de 57 cm. Faça uma linha com grafite ao longo da largura do papel, a 6 cm da base. Marque seis pontos com a distância mínima de 3 cm uns dos outros. Aplique, utilizando capilar de vidro, duas gotas das soluções-padrão de açúcares e quatro gotas do filtrado da amostra nos pontos marcados do papel cromatográfico. Coloque a fase móvel numa cânula de vidro, tampe a cuba e mantenha no mínimo uma hora para saturação da mesma. Coloque o papel, adequadamente, com a extremidade em que foram aplicados os padrões e a amostra na cânula. Fixe o papel na cânula, usando um bastão de vidro como apoio. Corra o cromatograma descendentemente por cerca de 12 horas, retire o papel e deixe secar ao ar em uma capela. Aplique o revelador sobre toda a superfície do papel, com auxílio de atomizador. Seque o papel em estufa a (100 - 105)°C, até o aparecimento de manchas características quanto à cor e respectivos  $R_f$ . Compare os valores dos  $R_f$  dos padrões com os  $R_f$  dos componentes da amostra.

Cálculo:

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

$D_c$  = distância percorrida pelo componente da amostra ou padrão

$D_s$  = distância percorrida pela fase móvel.

Referência bibliográfica

MORAES, R.M. Carboidratos em alimentos - Manual Técnico, Campinas, SP: Ed. ITAL. 1987.