

Paulina Serrano

Jean Kopecký

determinación de los azúcares predominantes en las mieles por el método de cromatografía de papel

Sumario

Se determinó cuantitativamente glucosa, fructosa y sacarosa en miel, teniendo como base cromatografía de partición en papel; utilizando el método ascendente con sistema de solvente 6:2:2 v/v de etanol, n-butanol, tricloroetileno, revelando con molibdato de amonio al 10%. Eluyendo en 5 ml de agua, determinamos colorimétricamente (método Antrona Sulfúrico) utilizando Spekol de la Carl Zeiss 625 nm. Obteniéndose el por ciento en las mieles de estos azúcares.

Summary

The glucose, fructose and sucrose contents of malasses were determined quantitatively by partition paper chromatography using the ascending method with a solvent system of 6:2:2 v/v ethanol, n-butanol, trichloroethylene, visualizing with ammonium molybdate 10%. Eluting with 5 ml H₂O, we determine the percentage of these sugars in the malasses colorimetrically using a Zeiss Spekol at 625 nm (method of Antrone Sulphite).

Introducción

En nuestro Instituto se realiza anualmente la caracterización de las mieles finales, analizando su composición química y física. Con relación a la determinación de los azúcares, actualmente se reportan los resultados solamente como azúcares reductores libres y totales. Por ello, se hacía necesario mediante métodos cromatográficos obtener estos azúcares separadamente. En el presente trabajo están determinados los azúcares principales por el método de cromatografía de papel.

Parte experimental

Material

Miel final, zafra 1974

Patrones de glucosa, fructosa y sacarosa todos de la BDH Inglesa. Antrona /Lachema, CSSR/ dos veces recristalizada con benceno. Todos los otros reactivos fueron de calidad grado analítico. Para la parte cuantitativa se utilizó el fotómetro Spekol /RDA/ a longitud de onda 625 nm.

Tratamiento

6 g de miel final diluida con agua 1:1 fue mezclada con 25 ml de agua. De esta solución se tomaron 10 ul para la determinación de los azúcares /glucosa y fructosa/. En el caso de sacarosa la concentración fue 2 g de miel /1:1/ en 10 ml de agua y se tomaron 5 ul. La determinación de los mismos se hizo por cromatografía descendente /48 hrs/ utilizando papel Whatman No. 3 MM y el solvente n-butanol, saturado con agua:eta-

nol 96%:tricloroetileno 6:2:2 v/v. Como revelador de las manchas de patrones se utilizó molibdato de amonio al 10% con calentamiento posterior a 105°C por 15 minutos. Las áreas de la muestra desarrollada correspondientes a los patrones fueron eluidas con 5 ml de agua. Se tomó 1 ml del eluato y se midió la concentración del azúcar por el método de antrona.¹

Para la verificación de los resultados obtenidos se efectuó también la determinación clásica por el método Eynon-Lane modificado por ICIDCA.²

Discusión y resultados

En las cuatro tablas siguientes se pueden observar los resultados obtenidos por el método de cromatografía de papel, los cuales tienen una reproducibilidad muy buena, aunque en el caso de sacarosa se produjo un fenómeno inexplicable; mezclando el patrón de la sacarosa con miel, el valor obtenido era siempre más alto que el valor calculado.

En la tabla 5 tenemos los resultados comparados con el método clásico Eynon-Lane en que los reductores totales y los reductores libres se determinan en un rango más amplio. Comparando ambos métodos podemos determinar el por ciento de los componentes menores en los dos valores mencionados anteriormente.

En el caso de sacarosa vemos que los resultados obtenidos por ambos métodos son similares.

TABLA 1
Determinación de la glucosa

No.	Miel (%)	Patrón (%)	M + P obtenido (%)	M + P calculado (%)	Exactitud (%)
1.	9.17	11.88	20.42	21.05	97.02
2.	9.38	11.88	20.42	21.26	96.05
3.	9.38	11.46	20.21	20.84	97.00
4.	9.38	11.25	20.00	20.63	97.00
5.	9.38	11.46	20.00	20.84	96.00
6.	9.38	11.46	20.42	20.84	98.00
7.	8.54	11.46	20.42	20.00	102.10
8.	8.54	11.46	20.00	20.00	100.00
9.	8.54	11.46	20.42	20.00	102.10
10.	8.54	11.46	20.42	20.00	102.10
Sx ₁	90.33	115.23	202.73		990.32
s	9.03	11.52	20.27		99.03
s	±0.42	±0.20	±0.20		±2.58
v	4.64	1.74	0.99		2.61

Nota: Los valores fueron calculados por las siguientes fórmulas:

$$\bar{x} = \frac{\sum x_i}{N} ; s = \frac{\sum (x - \bar{x})^2}{N - 1} ; v = \frac{s}{\bar{x}} \cdot 100 (\%)$$

$$E = \left[\frac{(M + P)_{obt} - (M + P)_{calc}}{(M + P)_{calc}} \cdot 100 \right] + 100$$

TABLA 2
Determinación de la fructosa

<i>No.</i>	<i>Miel</i> (%)	<i>Patrón</i> (%)	<i>M + P</i> <i>obtenido</i> (%)	<i>M + P</i> <i>calculado</i> (%)	<i>Exac-</i> <i>titud</i> (%)
1.	8.96	11.25	19.79	20.21	97.92
2.	8.75	10.83	19.79	19.58	101.07
3.	8.96	11.25	19.36	20.21	96.79
4.	8.95	10.83	20.20	19.78	102.15
5.	8.95	11.25	20.00	20.20	99.00
6.	8.95	11.25	19.80	20.20	98.02
7.	8.95	11.04	19.80	19.99	99.04
8.	8.95	11.25	20.20	20.20	100.00
9.	8.95	11.25	19.80	20.20	98.02
10.	8.75	10.83	19.80	19.58	101.20
Sx_1	89.12	111.03	198.54		993.21
\bar{x}	8.91	11.10	19.85		99.32
s	0.08	0.20	0.30		1.72
v	0.95	1.80	1.45		1.74

TABLA 3
Determinación de la sacarosa

<i>No.</i>	<i>Miel</i> (%)	<i>Patrón</i> (%)	<i>M + P</i> <i>obtenido</i> (%)	<i>M + P</i> <i>calculado</i> (%)	<i>Exac-</i> <i>titud</i> (%)
1.	35.0	10.10	46.50	45.10	103.1
2.	35.0	10.10	46.50	45.10	103.1
3.	35.5	10.10	46.50	45.10	103.1
4.	35.0	10.20	47.00	45.20	103.9
5.	35.0	10.20	47.00	45.20	103.9
6.	35.0	10.05	46.50	45.05	103.2
7.	35.5	10.05	46.00	45.55	101.0

(Continuación)

8.	35.0	10.05	46.00	45.05	102.0
9.	35.0	10.05	46.00	45.05	102.0
10.	35.0	10.05	46.00	45.05	102.0
Σx_i	351.0	100.95	464.00		1027.3
\bar{x}	35.1	10.09	46.40		102.7
s	0.11	0.06	0.38		0.94
v	0.31	0.60	0.83		0.92

TABLA 4

Precisión del método. Sumario de los resultados obtenidos por el método de cromatografía de papel

	<i>Glucosa</i>	<i>Fructosa</i>	<i>Sacarosa</i>
miel	9.03±0.23	8.91±0.04	35.10±0.06
patrón	11.52±0.11	11.10±0.11	10.09±0.03
miel + patrón	20.27±0.11	19.85±0.15	46.40±0.21

Nota: La precisión del método fue calculada por la siguiente fórmula:

$$p = \bar{x} \pm \frac{t.s.}{\sqrt{N}}$$

t = criterio de Student³
Otros símbolos ver tabla I

TABLA 5

Comparación de los resultados obtenidos por los métodos de cromatografía de papel y Eynon-Lane

<i>Método</i>	<i>Reductores totales (%)</i>	<i>Reductores libres (%)</i>	<i>Sacarosa (%)</i>
cromatografía de papel	53.04	17.94	35.10
Eynon-Lane	58.80	21.10	35.80

Conclusiones

Por el método descrito es posible determinar rápida y fácilmente los componentes mayores de los valores de reductores totales y reductores libres respectivamente. La precisión y la reproducibilidad de los resultados obtenidos es muy alta y comparable con los métodos clásicos.

En el mismo tiempo hay posibilidad de analizar un mayor número de muestras de mieles, que por los métodos clásicos, porque eso depende solamente de la anchura del papel utilizado.

Este método es posible de aplicar en todos los casos donde se busca la forma de la determinación de los azúcares puros.

Bibliografía

1. Maksimenko O. A., Zyukova L. A., Fedorovich R. M.: Priklad Biochem. Microbiol. VII /2/ 139 /1971/.
2. Manual de Técnicas Analíticas, Dir. Fer. ICIDCA 1973.
3. Statistical Methods in Research and Production. Ed. Davies O. L. London 1957, p. 366.