



UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE INGENIERIA

GUÍA DE PRÁCTICAS PERIODO ACADÉMICO: 2025-15				VERSIÓN: 1	
				Páginas 3	
CARRERA: AGROINDUSTRIA		DOCENTE: ANA MEJÍA LÓPEZ		SEMESTRE: Tercero PARALELO: A	
NOMBRE DE LA ASIGNATURA: ANALISIS DE PRODUCTOS AGROINDUSTRIALES		CÓDIGO DE LA ASIGNATURA: AGP230131		LABORATORIO: Control de Calidad	
				MODALIDAD: PRESENCIAL	
Práctica No.: 5	Tema: Cromatografía en capa fina	Duración: 4 horas	No. Grupos 6	No. Estudiantes (por Grupo) 5 por 4 y 4 por 2	
Objetivos de la práctica: ✓ identificar la presencia de azúcares por cromatografía en capa fina en muestras de alimentos comerciales					
Equipos, Materiales, Insumos: Glucosa, Galactosa, Sacarosa, Lactosa Muestra Desconocida					
PREPARACIÓN DE LA FASE MÓVIL Medir 25 ml de 1 butano, Anadir 12,5 ml de ácido acético, Agregar 12,5 ml de agua destilada Medir 25 ml de fase móvil y agregar a la cámara cromatográfica o la cantidad para que adquiera una altura de 0,5 cm AGENTE REVELADOR; Solución de ácido sulfúrico al 2% en solución etanol agua 1:1 Medir 24,5 ml de etanol Agregar 24,5 ml de agua destilada Agregar 1ml de ácido sulfúrico					
PREPARACIÓN DE ESTÁNDARES DE AZÚCAR Pesar 0,05 g de cada uno de los azúcares en vasos de precipitación de 50 ml y disolver con 2 ml de agua destilada					
PREPARACIÓN DE MUESTRA A ANALIZAR ✓ Medir 1 ml de las muestras a analizar y agregar 5 ml de solución etanol: agua 1:4					
APLICACIÓN EN LAS PLACAS CROMATOGRÁFICA: Hacer un trazado suave (lay out) con lápiz grafito sobre la capa de la placa cromatográfica (soporte de la fase estacionaria) como se indica en la Figura siguiente. Deben quedar claramente trazadas e identificadas las pistas y las posiciones para cada una de las muestras a analizar como se indica en la figura. Nota: Las unidades son cm. IMPORTANTE: Cuidar que no se manche la capa delgada de la placa por ningún motivo.					

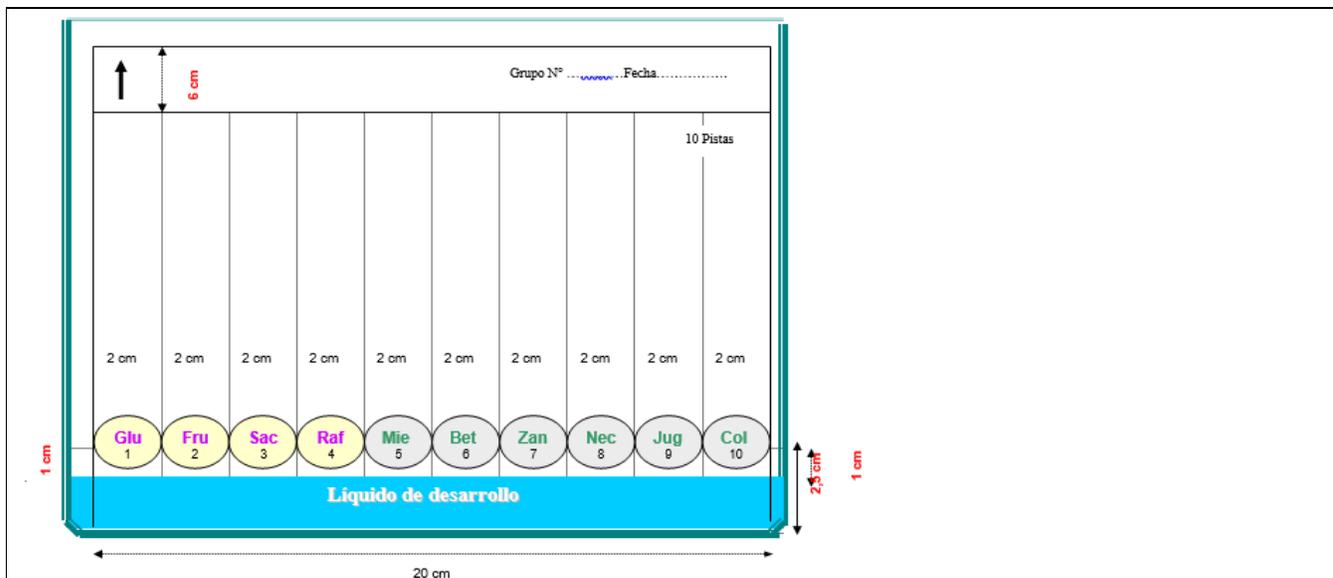


Figura: Placa Cromatográfica con el Trazado para las Muestras

APLICACIÓN DE LAS MUESTRAS Y PATRONES A LA PLACA CROMATOGRÁFICA:

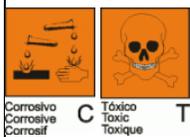
Aplicar 1 gota pequeña de cada muestra a la placa, **en las posiciones indicadas** de la Figura anterior. Cuidar que no se mezclen las muestras. Dejar secar al aire por 5-10 minutos y continuar con el desarrollo de la placa.

DESARROLLO DE LA PLACA CROMATOGRÁFICA:

Introducir la placa con las muestras y los patrones de comparación aplicados a la cámara cromatográfica, que debe contener el líquido de desarrollo. La cantidad de líquido debe ser tal que el nivel de éste, quede **0,5 cm. bajo la línea de las muestras.**

Poner la tapa a la cámara cromatográfica y esperar que la fase móvil ascienda por la placa por capilaridad, hasta que el frente de ésta alcance la línea situada a 1 cm del borde superior de la placa. Una vez ocurrido esto, sacar la placa de la cámara y dejar secar bien al aire por unos 15 minutos a lo menos.

8.- Revelado de la placa cromatográfica:



¡¡ PRECAUCIÓN LAS NEBLINAS GENERADAS SON CORROSIVAS Y TÓXICAS !! APLICAR SOLAMENTE EN LUGAR VENTILADO BAJO CAMPANA DE EXTRACCIÓN O AL EXTERIOR. USAR ELEMENTOS DE PROTECCIÓN PERSONAL: lentes de seguridad, protector facial con pantalla clara, máscara respiratoria con filtros para gases ácidos y vapores orgánicos, colete de PVC y guantes de PVC.

Una vez desarrollada y seca la placa, **deben pulverizarla finamente con la solución de revelado**

La forma correcta para obtener resultados satisfactorios, es pulverizar desde unos 25 cm de distancia ligeramente toda la superficie de la capa, **sin empaparla.** Colocar enseguida la placa en la estufa por 5 minutos a 100 °C y dejarla enfriar al aire. Aparecerán algunas manchas oscuras.

Resultados:

Mediciones, cálculos e Identificación:

La Movilidad Relativa o también llamada Velocidad de Migración de los azúcares designada por el símbolo **R_f**, puede ser calculada experimentalmente a partir de los datos de mediciones de la placa cromatográfica desarrollada y revelada.

La velocidad de migración **R_f** es “ *la razón entre la distancia recorrida por la mancha de un azúcar presente en la muestra, a partir de la línea base, y la distancia recorrida por la fase móvil desde la línea base hasta la línea superior de la capa* “.

Los azúcares en las muestras pueden ser identificados comparando sus **Rf**, con aquellos de los patrones corridos junto con las muestras en la placa cromatográfica.

Observar las manchas características que aparecen sobre la placa revelada. Si éstas cubren zonas extensas o poco definidas es debido a una separación escasa de los azúcares, pudiendo ocurrir algún tipo de superposición difícil de resolver. Algunas manchas pueden aparecer bien definidas y claramente resueltas. Algunas pistas pueden presentar varias manchas identificables que han migrado en distinto grado desde la línea base.

En las pistas donde se observen manchas definidas, marcar el centro de la mancha y medir con una regla su desplazamiento distancia (cm) recorrida desde la línea base. Medir además la distancia recorrida por la fase móvil en el proceso cromatográfico (distancia entre las líneas base y superior de la placa).

Calcular en cada caso las **Rf** como sigue

$$Rf = \frac{\text{desplazamiento de la mancha (cm)}}{\text{desplazamiento de la fase móvil (cm)}}$$

Analizar los resultados obtenidos y comparar los valores de **Rf** obtenidos de las muestras y de los patrones, investigar posibles coincidencias entre ellos, dentro del error experimental. Informar la identidad de los azúcares encontrados en las muestras analizadas.

Averiguar los valores de **Rf** obtenidos por otros grupos que desarrollaron la placa en soluciones diferentes, así como con aquellos que utilizaron otro revelador. Interpretar los resultados y buscar una explicación fundamentada a las diferencias encontradas

Anexos:

El Rf toma valores entre 0 y 1 y puede ser usado para la identificación de los componentes de una muestra. datos teóricos del libro Bioquímica Humana (José M. Macarulla, 1994), donde se recopilaron los siguientes resultados, Manosa: Rf: 0.28, Galactosa: Rf: 0.36, Glucosa: Rf: 0.41, Fructosa: Rf: 0,46.

Referencias bibliográficas:

<https://www.youtube.com/watch?v=8EbHEC8CUcA>

<https://es.scribd.com/document/439220693/Azucres-Por-Cromatografia-Tlc#>

<https://www.youtube.com/watch?v=izHy-iOLZ0c>

<https://www.youtube.com/watch?v=g71IWP2O5pg>

<https://youtu.be/0Q3mKoRZIIQ>

<https://www.youtube.com/watch?v=8EbHEC8CUcA>

Fecha de Revisión y Aprobación: 15 de abril del 2025

Firma Director de Carrera

Firma Docente