

Simulación de cromatografía en capa fina para la caracterización de pigmentos naturales

Thin-layer chromatography simulation for the characterization of natural pigments

Roger Alberto Rabelo-Florez¹; Alexandra Rosmery Sanjan Arias¹

¹ Magister en Biotecnología Alimentaria, Universidad Nacional Abierta y a Distancia - UNAD. Escuela de Ciencias de la Salud - ECISA

² Especialista en Gerencia de la Calidad, Universidad Nacional Abierta y a Distancia - UNAD. Escuela de Ciencias de la Salud - ECISA

ORCID: no reportado en el documento original

Correo: no reportado en el documento original

Resumen

Objetivo: Desarrollar una simulación de cromatografía en capa fina para la caracterización de pigmentos naturales que pueden emplearse como compuestos bioactivos de los alimentos.

Método: Se desarrolló una simulación de cromatografía en capa fina mediante el recurso virtual descrito en el documento. Se analizaron dos fracciones problema obtenidas de un extracto vegetal y se compararon con patrones de pigmentos puros para interpretar su composición.

Resultados: En la F1-muestra problema 1 se detectaron xantofilas y en la F2-muestra problema 2 se detectaron clorofila a y clorofila b. La muestra 1 presentó clorofila b, caroteno β, β y varias xantofilas, mientras que la muestra 2 presentó clorofila b, varias antocianinas y varias xantofilas.

Conclusión: La simulación permitió caracterizar pigmentos naturales y comprender los fundamentos de la separación cromatográfica a partir de la fase móvil, la fase estacionaria, la polaridad, el tamaño del analito y las propiedades del diluyente y del material de la fase estacionaria.

Palabras clave: Cromatografía; Pigmentos naturales; Clorofila; Antocianina

Abstract

Objective: To develop a thin-layer chromatography simulation for the characterization of natural pigments that may be used as bioactive food compounds.

Method: A thin-layer chromatography simulation was performed using the virtual resource described in the paper. Two problem fractions obtained from a plant extract were analyzed and compared with pure pigment standards to interpret their composition.

Results: Xanthophylls were detected in F1-problem sample 1, whereas chlorophyll a and chlorophyll b were detected in F2-problem sample 2. Sample 1 contained chlorophyll b, β, β -carotene, and several xanthophylls, while sample 2 contained chlorophyll b, several anthocyanins, and several xanthophylls.

Conclusion: The simulation enabled the characterization of natural pigments and supported understanding of chromatographic separation based on the mobile and stationary phases, polarity, analyte size, and the properties of the solvent and stationary-phase material.

Keywords: Chromatography; Natural pigments; Chlorophyll; Anthocyanin

Introducción

Al día de hoy, existe una gran requerimiento por elaborar productos naturales que tengan utilidad funcional como son los colorantes naturales, que actualmente tiene una gran acogida, debido al interés social de consumir productos saludables y nutritivos. Es de resaltar que a la fecha existen un gran número de productos y subproductos vegetales

que son tema de investigación como fuente de colorantes y antioxidantes naturales en productos vegetales. En dichos productos hay presencia de compuestos bioactivos de interés como lo son el licopeno, la clorofila, antocianinas, luteína, la curcumina y entre otros como flores de litchi, hojas de M.Oleífera, extracto de zanahoria y remolacha.

Para poder conocer qué tipo de colorantes están presentes en diferentes muestras naturales, es necesario identificarlos. Una de estas técnicas de identificación es la cromatografía. La cromatografía es un proceso físico de segregación para la diferenciación de mezclas complejas, se aplica en todas las ramas de la ciencia; están basadas en el principio de retención selectiva, para separar los distintos componentes de una mezcla, facilitando identificar y determinar las cantidades de dichos componentes (Villamar & Cortez, 2022).

Una de las formas de la cromatografía es la de capa fina, que consiste en que las sustancias se separan por distribución entre una fase móvil líquida y una estacionaria sólida llamada adsorbente, mediante equilibrios de adsorción y desorción (Baudino, 2007), este es un método cromatográfico que usa una placa inmersa verticalmente en una fase móvil (eluyente); esta placa cromatográfica consta en una fase estacionaria polar (comúnmente se utiliza sílica gel) adherida a una superficie sólida, es una capa uniforme de un adsorbente mantenido sobre una placa, la cual puede ser de vidrio, aluminio u otro soporte, la elección del eluyente depende del componente a separar y del material en que la separación se lleva a cabo (Vallejo, 2021); para entender cómo interpretar esta cromatografía, si dos muestras (control positivo y la muestra problema), corren igual en la placa, se trata de muestras idénticas (Rodríguez et al., 2021).

Por otro lado, el proceso de segregación de cada compuesto es el producto de un balance entre dos grupos de fuerzas que se oponen: las de propulsión, ejercidas por la fase móvil y las fuerzas de retención, por la fase estacionaria, de tal forma, que cada sustancia se traslada de forma diferencial, de acuerdo a sus inherentes propiedades físicas y al tipo de fuerzas intermoleculares que pueda establecer con ambas fases (Baudino, 2007). El gel de sílice es una forma granular y porosa de dióxido de silicio hecho a partir de silicato sódico (Bustamante, 2023), por su gran porosidad se usa como adsorbente cromatográfico (Robles Melgarejo, 2021). El objetivo de esta práctica es desarrollar una simulación de cromatografía en capa fina para la caracterización de pigmentos naturales, que pueden ser empleados como compuestos bioactivos de los alimentos.

Metodología

La presente actividad consistió en desarrollar una simulación de cromatografía en capa fina para la caracterización de pigmentos naturales, que pueden ser empleados como compuestos bioactivos de los alimentos. Se ingresó al link <https://biomodel.uah.es/lab/inicio.htm>, luego se realizó las lecturas de las indicaciones del experimento. Se seleccionaron las muestras (F1-muestra problema 1 y F2-muestra problema 2), las cuales son dos fracciones obtenidas a partir de un extracto vegetal empleando una cromatografía en columna, el objetivo fue analizar su composición; el código para las muestras en esta ocasión particular es 051. Para la identificación se dispuso de 5 patrones de pigmentos puros, disueltos en acetona:

- a. F1-muestra problema 1
- b. F2-muestra problema 2
- c. Ca: clorofila a
- d. Cb: clorofila b
- e. Cβ: caroteno β,β
- f. A: varias antocianinas
- g. X: varias xantofilas.

Luego, las etapas del experimento fueron las siguientes:

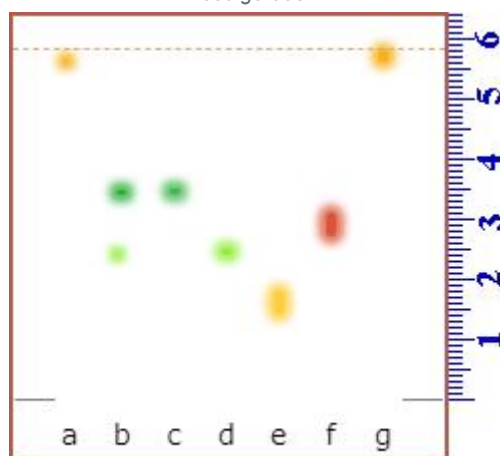
1. Se aplicaron muestras y patrones a la placa recubierta con gel de sílice (fase estacionaria de la cromatografía)
2. La placa se introduce en la cubeta que contiene fase móvil (mezcla de disolventes: hexano, acetona y cloroformo en proporciones 3:1:1), se tapa y se espera a que la fase móvil ascienda; se detiene pasando a la etapa 3.
3. Se saca la placa, se espera a que se evapore el disolvente y se estudian los resultados.

Se repitió el proceso para las muestras (n^{os} 1 y 2) los cuales son extractos obtenidos de distintas especies vegetales, el código es 932.

Resultados

En la figura 1, se logra advertir que según las muestras patrones, la F1-muestra problema 1 contiene varias xantofilas y la F2-muestra problema 2 contiene clorofila a y clorofila b.

Figura 1. Resultados de cromatografía en capa fina de muestras (F1 y F2) son dos fracciones obtenidas a partir de un extracto vegetal, código 053.

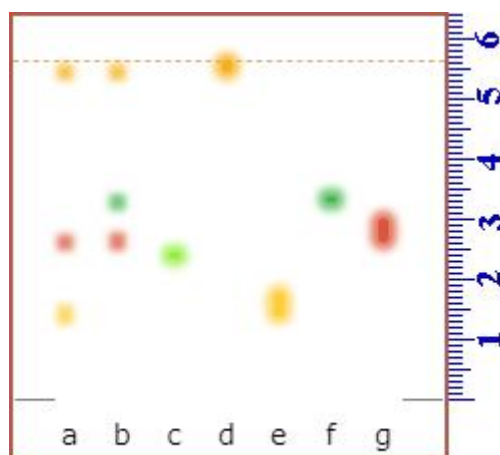


[045] 16/5/2023, 11:52:17 a.

Fuente: <https://biomodel.uah.es/lab/cromat/TLC-pigmentos.htm> (2023).

En la figura 2, se logra advertir que según los extractos obtenidos de distintas especies, la muestra 1 contiene clorofila b, caroteno β,β y varias xantofilas y la muestra 2 contiene clorofila b, varias antocianinas y varias xantofilas.

Figura 2. Resultados de cromatografía en capa fina de muestras (n° s 1 y 2) son extractos obtenidos de distintas especies vegetales, código 932



[932] 17/5/2023, 10:11:45 a.

Fuente: <https://biomodel.uah.es/lab/cromat/TLC-pigmentos.htm> (2023).

Análisis de resultados

El gel de sílice es mesoporosa, es decir el diámetro de poro va de 2 a 50 nm (Jiménez, 2020), además se caracteriza por ser polar (Medina, 2019), esto facilita el flujo de la fase móvil o sea del diluyente. En la figura 1 se detalla la F1-muestra problema 1, se advierte la detección de clorofila a, se resalta que la muestra está menos pigmentada que la de control positivo, y esto es debido a que la muestra tiene poca cantidad de este tipo de pigmentos. A continuación, la F2-muestra problema 2, se advierte la detección tanto de caroteno β,β y clorofila b (C-b), pero la C-b tiene una mayor retención que la C β , esto es debido a que la C-b tiene una mayor polaridad con respecto a la C β (Curtis et al., 2022), además por el diámetro del pigmento se infiere que tiene poca cantidad de C-b en la muestra problema.

En la figura 2, se evidencia que en la muestra 1 de extractos obtenidos de distintas especies vegetales, contiene varias antocianinas, clorofila b y caroteno β,β , en cuanto a la muestra 2, contiene Clorofila b, varias xantofilas y caroteno β,β .

Algunas muestras quedan rezagadas otras están adelantadas y se infiere que es por el tamaño de la muestra y la polaridad de cada una. En cuanto al grado de pigmentación se infiere que es por la cantidad de pigmentos presentes en la muestra.

Conclusiones

Se logró desarrollar una simulación de cromatografía en capa fina para la caracterización de pigmentos naturales, que pueden ser empleados como compuestos bioactivos de los alimentos.

Se comprendió los conceptos teóricos de la cromatografía, mediante la separación de sus compuestos, a través de una fase móvil y una fase estacionaria. Dependiendo de la polaridad, el tamaño del analito, las propiedades del diluyente de la fase móvil y del material de la fase estacionaria así va a ser la velocidad de retención.

Referencias

1. Baudino FDT. Una experiencia sencilla con fundamentos complejos: la separación de pigmentos fotosintéticos mediante cromatografía sobre papel. AQ. 2007;103(4):45-45. Disponible en: <https://analesdequimica.es/index.php/AnalesQuimica/article/view/1558>
2. Bustamante GT. Propuesta de unidades temáticas de procesos industriales [Ingeniería Industrial]. 2023. Disponible en: https://ru.dgb.unam.mx/handle/DGB_UNAM/TES01000833865
3. Curtis H, Sue Barnes N, Schnek A, Massarini A. Curtis. Biología (+e-book): en contexto social. Editorial Médica Panamericana S.A. 2022.
4. Jiménez LGF. Influencia del solvente en la impregnación de sales higroscópicas en el MOF MIL-101(Cr) [Tesis (M.C.)--Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del I.P.N. Unidad Mérida. Departamento de Física Aplicada]. 2020. Disponible en: <https://repositorio.cinvestav.mx/handle/cinvestav/3399>
5. Medina JGR. Identificación cromatográfica en capa fina de benzoilecgonina en orina de personas intervenidas en el complejo policial "CAP PNP Alcides Vigo Hurtado", mayo a julio 2016 [Universidad Nacional de Trujillo]. 2019. Disponible en: <http://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/12257>
6. Robles Melgarejo M. Monolitos de TiO₂-SiO₂: influencia del método de incorporación y de la concentración de Ti en sus propiedades morfológicas, estructurales y fotocatalíticas [Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo]. 2021. Disponible en: http://bibliotecavirtual.dgb.umich.mx:8083/xmlui/handle/DGB_UMICH/5759
7. Rodríguez ER, Rivero MJF, Mendoza BJL. Evaluación de colorantes sintéticos en bebidas comercializadas en la ciudad de Trujillo en el periodo 2018 - 2019. Alpha Centauri. 2021;2(3):124-139. doi: 10.47422/ac.v2i3.46
8. Vallejo ADA. Revisión sistemática de la literatura de Piper bogotense y su actividad antibacteriana. 2021. Disponible en: <http://hdl.handle.net/11349/26362>
9. Villamar AMR, Cortez HJA. Estudio Comparativo de los Métodos Analíticos de HPLC y Espectrofotometría UV-Visible para el Ensayo de Amoxicilina más Acido Clavulánico aplicado en el Laboratorio de Control Farmacéutico ROCNARF (M. V. Aveiga (ed.)) [Maestría en Química Aplicada]. 2022. Disponible en: <http://repositorio.unemi.edu.ec/handle/123456789/6072>