

DP2-02: Separación de pigmentos fotosintéticos mediante cromatografía en capa fina

Tiempo: 1.5 h

Objetivo: Identificar los pigmentos fotosintéticos vegetales mediante su separación en una tira de papel cromatográfico.

Fundamento: Los pigmentos fotosintéticos vegetales incluyen un conjunto de sustancias tales como xantofilas, carotenos y clorofilas. El papel cromatográfico es una técnica usada para separar los componentes moleculares de una mezcla en un disolvente. Las moléculas migrarán hacia la parte superior de la tira a diferentes velocidades en función de su solubilidad, masa molecular y enlaces de hidrógeno que establezcan con el papel.

Los pigmentos fotosintéticos, al ser de naturaleza lipídica, son disueltos en un disolvente orgánico. La distancia recorrida por cada tipo de pigmento en relación a la recorrida por el frente del disolvente, se conoce como valor Rf, y es propia de cada pigmento, permitiendo distinguir unos de otros. El valor de Rf se calcula:

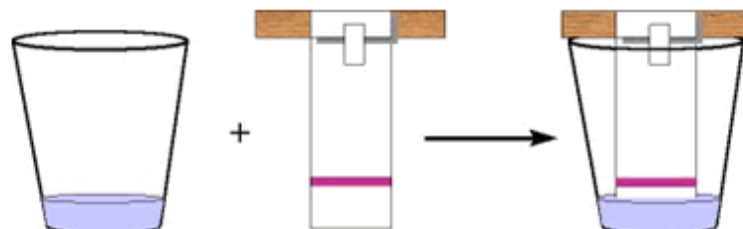
$$R_f = \frac{\text{distance traveled by the compound from the origin}}{\text{distance traveled by the solvent from the origin}}$$

Materiales:

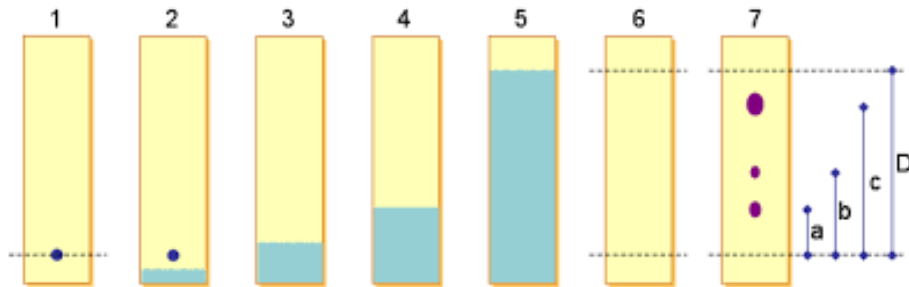
Espinaca	Tijeras	Mortero y masa	Arena/nitrógeno líquido
Acetona	éter de petróleo	Tira cromatografía capa fina	Tubo de ensayo
Lápiz y regla	Vaso precipitados	Pipeta 5 mL	Capilar punto fusión

Procedimiento:

1. Machacar 5 gramos de espinacas con un poco de nitrógeno líquido hasta un obtener un polvo fino.
2. Añadir 5 mL de acetona.
3. Recoger en un tubo de ensayo y dejar sedimentar.
4. Coger una tira de papel de cromatografía en capa fina de sílica gel, y trazar suavemente una línea con un lápiz 1 cm por encima del borde inferior.
5. Macar sobre la línea 3 puntos bien separados.
6. Pasar el sobrenadante a un vaso de precipitado y con ayuda de un capilar de punto de fusión, colocar en el primer punto una gota de extracto de hoja. Soplar, dejar secar y volver a poner otra gota. Repertir con los otros dos puntos pero con extracto de otra especie vegetal.
7. En un vaso precipitado añadir 5 mL de la solución de fase móvil (éter petróleo 9:1 acetona).
8. Colocar verticalmente la tira cromatográfica de manera que toque la mezcla éter de petróleo y acetona, pero que ésta no toque directamente a la línea con el filtrado.
9. La tira debe quedar completamente vertical y sin moverse, por lo que puede fijarse con ayuda de un lápiz colocado horizontalmente sobre el vaso de precipitado.



10. Dejar correr hasta que el eluyente (fase móvil) llegue arriba de la tira.
11. Traza una línea con el lápiz para marcar dónde ha llegado el frente de la fase móvil.
12. Anota la distancia recorrida por cada pigmento y por la fase móvil.



Tarea: Calcula el valor de R_f de cada pigmento a partir de la distancia recorrida por el frente del disolvente. Busca información acerca del valor de R_f de los pigmentos clorofila a, clorofila b, carotenos, xantofilas y feofitina. Determina cual es cada uno de ellos en tu cromatograma.