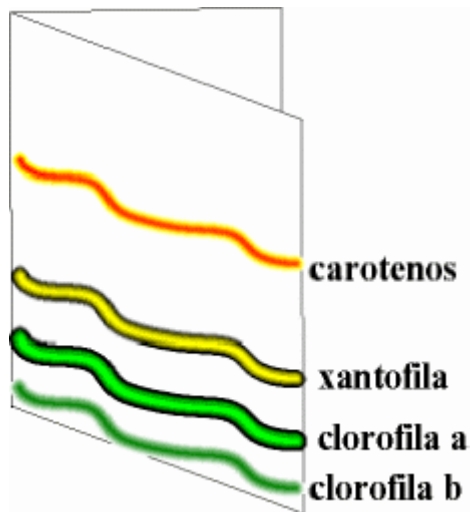


CROMATOGRAFÍA Y ESTUDIO DE LOS PIGMENTOS VEGETALES



OBJETIVOS

1. Investigar la composición de la clorofila. Comprobar que la pigmentación de una hoja de un vegetal superior se debe a la mezcla de varias sustancias y grupos de sustancias diferentes: La clorofila propiamente dicha –que se encuentra en dos formas diferentes: clorofila a y clorofila b-, los carotenos, las xantofilas y los antocianos.
2. Separar las moléculas componentes de la clorofila por medio de la técnica de cromatografía en papel.

MATERIAL

1. Probeta de cromatografía o tubo de ensayo grande (o un bote de cristal de conserva).
2. Tapón de corcho y chincheta o alfiler (o el tape del bote).
3. Pinzas finas.
4. Varilla de vidrio para agitar.
5. Tijeras.
6. Regla.
7. Papel de filtro normal.
8. Hojas verdes de espinaca o hiedra (las hojas blanquiverdes son las más adecuadas).
9. Disolventes: éter de petróleo, acetona y benceno.

REALIZACIÓN

1. Recorta una tira de papel de filtro que se ajuste a las dimensiones de la probeta de cromatografía (o recipiente que vayamos a utilizar). La tira debe tener el mismo largo del cilindro que vamos a usar y 0,5 cm menos de ancho que el diámetro del mismo.
2. Prepara la mezcla de disolventes usando la siguiente proporción: 85% de éter de petróleo, 10% de acetona y 5% de benceno.
3. Deposita la mezcla de disolventes en la probeta (o recipiente que vayamos a utilizar) un volumen que ocupe 1 ó 2 cm de altura. Tápalo con el tapón de corcho (o la tapa del bote).
4. Recorta en forma de tira dos o tres trozos de la hoja verde que utilices. Los trozos deberán tener de largo las dimensiones del ancho de la tira de papel y de ancho 0,5 cm.
5. Dispón un trozo de hoja colocándolo sobre el papel a 1 cm de uno de sus extremos. Macera el trozo mediante golpes

- dados con la punta del agitador de vidrio para que los pigmentos de la hoja impregnen el papel.
- Retira con las pinzas y con mucho cuidado los restos sólidos que pudieran haber quedado adheridos al papel.
 - Realiza esta operación sobre el mismo lugar al menos con tres trozos de hoja con la finalidad de que los pigmentos se concentren en esa zona.
 - Dobla el extremo "limpio" de la tira y pégalo en el tapón de corcho (con chincheta o cinta adhesiva). Coloca la tira de papel dentro de la probeta o tubo de manera que ésta debe estar en contacto con el disolvente por la parte inferior, manteniendo sin mojar la zona donde se ha realizado la aplicación de la clorofila.
 - Transcurridos unos 15 minutos, saca la tira de papel y observa las cinco zonas de diferentes colores en los que se ha dividido la banda verde inicial.

- Anota el resultado obtenido y realiza un dibujo de la tira con los resultados.
- Se deben observar a lo largo del desarrollo del cromatograma al menos cinco manchas (con sus respectivos colores) que avanzarán en el orden que se indica a continuación:
 - Carotenos (naranja)
 - Xantofilas (amarillo)
 - Clorofila a (verde amarillento)
 - Clorofila b (verde azulado)
 - Antocianos (pardo), lugar de aplicación

Ester Alonso, 5/02/03