

## EXTRACCIÓN DE CLOROFILA Y CROMATOGRAFÍA

La mayoría de los pigmentos vegetales que se encuentran en una planta y por supuesto, los mas importantes, se alojan en los plastos. Los pigmentos que aparecen en el cloroplasto podemos clasificarlos en comunes y específicos. En el primar apartado estarían las clorofilas (a y b), las xantofilas y los carotenoides. En el segundo, la fucoxantina (típico de las algas pardas) y las ficobilinas, ficoeritrina y ficocianina de las algas rojas y azules, como ejemplos de pigmentos más extendidos.

El mas importante es la clorofila porque lleva la responsabilidad de la vida en nuestro planeta, ya que es un pigmento utilizado universalmente en la fotosíntesis.

### MATERIAL

Mortero con pistilo	Vaso precipitado 1/4 litro
Vegetales (hojas de espinaca, maíz, alfalfa, etc.)	Varilla vidrio
Papel de filtro.	Alcohol etílico
matraz erlenmeyer de 250 ml. con tapón	Gasolina o éter petróleo
Embudo	Para la cromatografía:
Base soporte con aro, nuez	Gotero
Embudo decantación	Tubo de vidrio y algodón
	Trióxido de dialuminio.

### PROCEDIMIENTO

Machacar en un mortero el vegetal (hojas espinaca, por ejemplo) con un poco de alcohol. Dejar macerar un tiempo. Agitar y filtrar el líquido obtenido recogiendo con el filtrado los pigmentos de los cloroplastos. La solución esta formada por tres pigmentos : la clorofila de color verde, los carotenoides naranjas y las xantofilas amarillas.

Tomar una fracción (la mitad aproximadamente), del extracto alcohólico bruto de pigmentos, y añadirle, dentro de un embudo de decantación, unos 25 cm<sup>3</sup> de éter de petróleo o gasolina. Agitar suavemente durante un tiempo y dejar que se separen las dos capas líquidas. Eliminar la capa inferior de agua y alcohol. En la capa superior de gasolina o éter, de color verde oscuro, se encuentran los pigmentos.

Realizar sucesivos lavados añadiendo 50 cm<sup>3</sup> de agua; agitando suavemente, dejar decantar y eliminar la capa inferior acuosa.

### **Separación cromatográfica**

En este momento podíamos realizar una cromatografía de papel (ver experiencia al respecto) del extracto bruto de pigmentos y del extracto purificado, a efectos

comparativos. Usar como eluyente alcohol. Cuando los distintos componentes del extracto están perfectamente separados, se da por terminado el recorrido o frente del disolvente a través del papel cromatográfico a unos 5 cm del final del mismo. Se verán, entonces, dos bandas bien diferenciadas, una de color naranja perteneciente a la xantofila y otra de color verde de la clorofila. Como alternativa, utilizando benceno o tolueno como disolvente revelador, aparecerá además una banda de color amarillo de los carotenos.

#### CUESTIONES

- ¿Qué diferencias hay entre la primera extracción del extracto alcohólico bruto de pigmentos y la fase purificada en la gasolina o el éter de petróleo?
- Si realizas una cromatografía de papel de pigmentos brutos y purificados ¿que diferencias encuentras?
- ¿Por qué se eligen vegetales muy coloreados?
- ¿Qué tipos de colores asociados a pigmentos has encontrado? Establece la correspondencia y documéntate de cada uno de ellos.
- Localiza estos pigmentos en las plantas, en las células vegetales y esboza su función.