

MÉTODOS DE SEPARACIÓN DE PIGMENTOS VEGETALES (Guión para el alumno)

I. Separación de pigmentos vegetales por separación simple.

Material: Mortero, embudo, papel de filtro, tubos de ensayo, etanol, éter de petróleo, tetracloruro de carbono, hojas de espinaca, planta del dinero, acelga, begonia, purpurina, Rúmex, etc.

Procedimiento:

- 1.-Poner las espinacas o acelgas en un mortero, añadir alcohol *etanol* (solvente extractante). Triturar la mezcla hasta que las hojas se decoloren y el disolvente adquiera un color verde intenso.
- 2.-Filtrar con un embudo y papel de filtro. Pasar 2 ó 3 ml. del filtrado a un tubo de ensayo.
- 3.-Añadir 2 ó 3 ml. de *tetracloruro de carbono* (solvente orgánico halogenado) agitar y dejar reposar en una gradilla unos 10 min.
- 4.-Los pigmentos se irán separando según su adsorción o afinidad con los solventes. Observa el tubo de ensayo. Verás dos zonas no miscibles, que corresponden a los distintos pigmentos, según su grado de solubilidad en alcohol y tetracloruro de carbono. Trata de identificar dónde está cada pigmento.



Muestra

- II.-Utilizando las disoluciones en alcohol preparadas anteriormente, añade ahora 2 o 3 ml. de *éter de petróleo* y compara los resultados. (También puedes hacer la disolución anterior con acetona, en vez de etanol y comparar los resultados)

III.-Separación de pigmentos vegetales por cromatografía sobre papel.

Material: Mortero, embudo, pipeta, papel de filtro, tubos de ensayo, *acetona*, *éter de Petróleo*, hojas de espinaca o Acelga, Vaso de precipitados.

Procedimiento:

- 1.- Poner las espinacas o acelgas en un mortero, añadir acetona (solvente extractante). Triturar la mezcla hasta que las hojas se decoloren y el disolvente adquiera un color verde intenso.
- 2.-Filtrar con un embudo y papel de filtro. Pasar el filtrado a un tubo de ensayo, colocar 3 a 5 perlas de Cloruro de calcio. Dejar reposar de 5 a 10 min.
- 3.-Tomar con un capilar o pipeta el sobrenadante del tubo anterior. Sobre un rectángulo de papel de filtro de unos 15 centímetros de ancho por 10 centímetros de alto doblado en V (para que se mantenga en pie) se traza con lápiz, una línea de siembra a 3 cm de la base. Sobre la línea se realizan de 5 a 8 pasadas con el capilar cargado de pigmento dejando entre cada pasada que se evapore acetona.
- 4.-Se coloca el papel ya sembrado en un vaso de precipitados o placa de petri que contendrá el solvente separador *el éter de petróleo*, dejándolo unos 5 a 10 min. Los pigmentos se irán separando según su adsorción o afinidad con el solvente.
- 5.-Observar en el papel las cuatro bandas que corresponden a los distintos pigmentos presentes en las hojas, según su grado de solubilidad con el éter de petróleo: clorofila b, clorofila a, xantofilas, carotenos. Intenta localizar dónde está cada uno de ellos.

