

Extracción de clorofila y otros pigmentos

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
- Vegetales (hojas de espinaca, maíz, alfalfa, etc.)
- Papel de filtro.
- 4 matraces erlenmeyer de 100 ml. con tapa
- 2 matraces erlenmeyer de 250 ml. con tapa
- Embudo
- Base soporte con aro, nuez
- Etanol
- Gasolina o éter petróleo
- Embudo decantación
- Vaso precipitado 1/4 litro
- Varilla vidrio
- Probeta 100 cm³



Clorofila

Alcohol metílico 92%
Éter dietílico
Hidróxido potásico.

Procedimiento

Se tritura en un mortero el vegetal (hojas espinaca, etc.) con un poco de alcohol. Se deja macerar un tiempo, se agita y se filtra 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.

Se toma una fracción (la mitad aproximadamente) del extracto alcohólico bruto de pigmentos y se añaden, dentro de un embudo de decantación, unos 25 cm³ de éter de petróleo o gasolina. Se agita suavemente durante un tiempo y se deja que se separen las dos capas líquidas. Tras eliminar la capa inferior de agua y alcohol, en la capa superior de gasolina o éter, de color verde oscuro, se encuentran los pigmentos.

Se realizan sucesivos lavados añadiendo 50 cm³ de agua; agitando suavemente, se deja decantar y se elimina la capa inferior acuosa.



Separación en éter

Separación cromatográfica

En este momento se puede realizar una cromatografía de papel (ver experiencia al respecto) del extracto bruto de pigmentos y del extracto purificado, a efectos comparativos usando como eluyente alcohol. Cuando los distintos componentes del extracto están 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.

Separación líquida

Una vez que se dispone del extracto purificado de pigmentos, se pueden añadir unos 50 cm³ de alcohol metílico (en el embudo de decantación); se agita y se deja que se separen las dos capas.

La capa inferior del alcohol metílico contiene clorofila b y xantofila. Se coloca en el embudo de reparación con éter dietílico y agitando continuamente se le añaden 5 o 6 porciones de 5 cm³ de agua. Tras eliminar la capa alcohólica y de agua, en la capa de éter dietílico (con clorofila b y xantofila) se añade lentamente 15 cm³ de una disolución reciente y saturada de KOH en alcohol metílico al 70%. Se añade un poco de agua y se agita. En la porción inferior de agua y alcohol, aparece un verde oliva de la clorofila b y en la porción superior de éter dietílico de color amarillo de la xantofila.

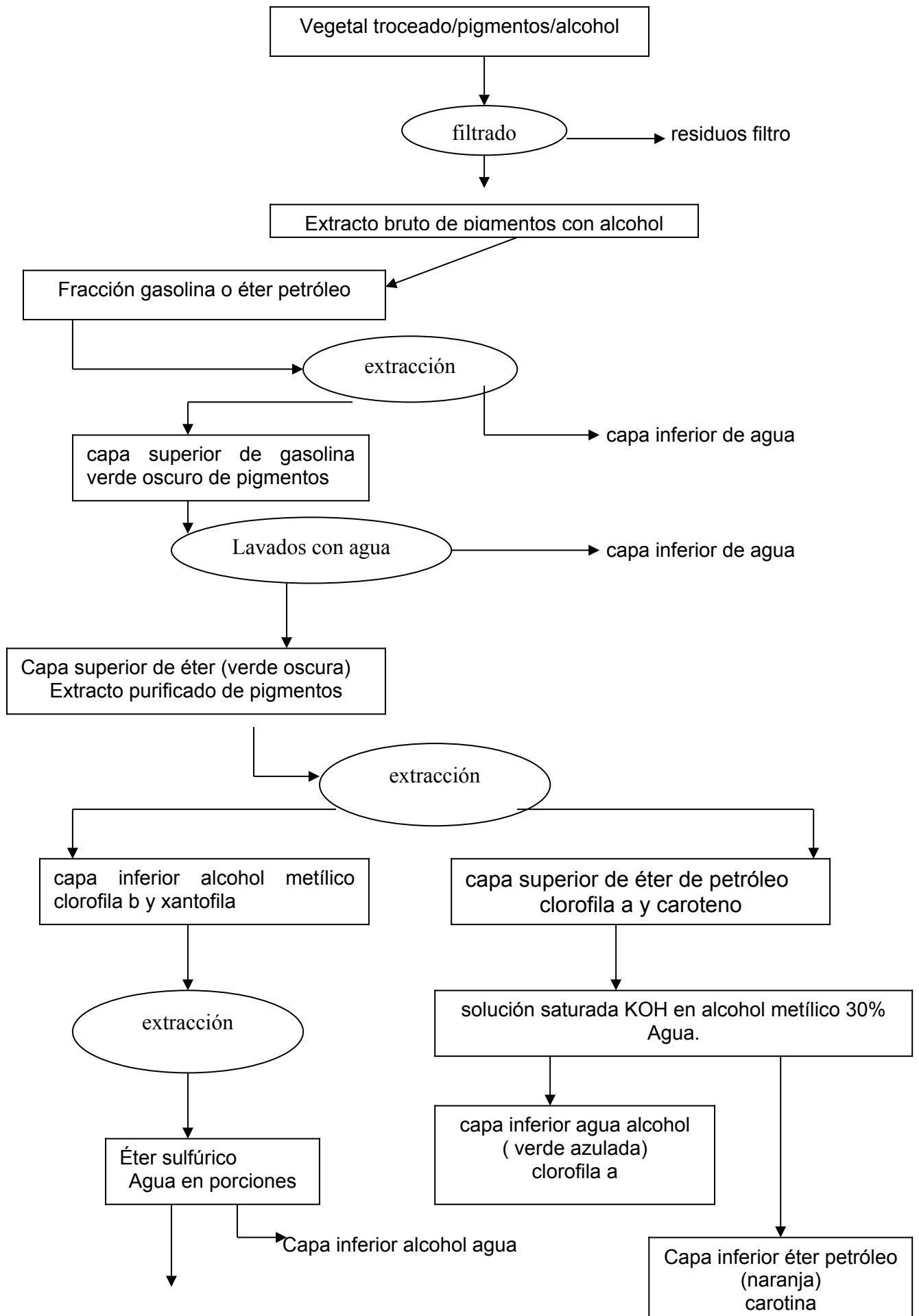
La capa superior del éter de petróleo contiene clorofila a y carotenos. Se añade la disolución reciente de KOH en alcohol amílico al 30%, agitar y luego se incorpora un poco de agua. La parte inferior será de agua-alcohol, con un verde azulado de la clorofila a y la parte superior es de éter de petróleo anaranjado de la carotina.

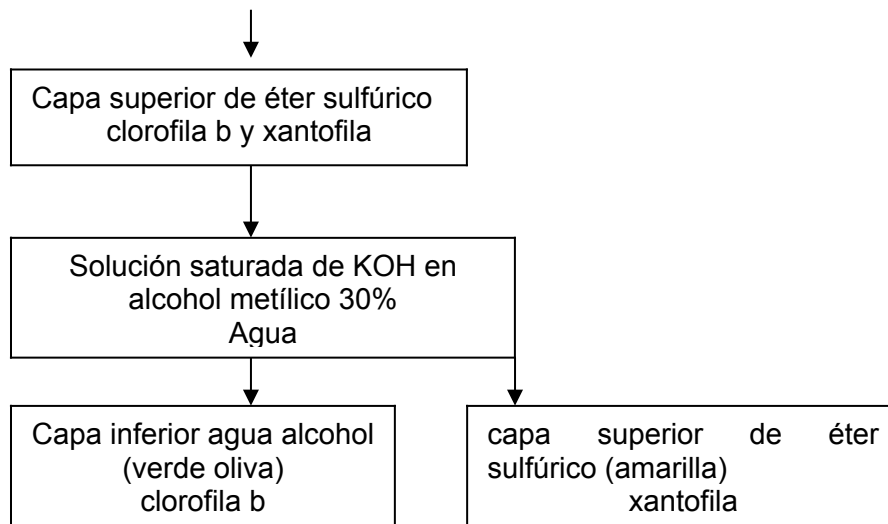
Cuestiones

- ¿Qué se observa en la primera extracción del extracto alcohólico bruto de pigmentos?
- 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.



Extracto con alcanos





Bibliografía

- Grupo Querus : "Curso Práctico de Ciencias Naturales de 1º de B.U.P." Tomo II pag.39. Akal (1983).
- Sánchez Díaz, M^a; Aparicio Tejo, P. y Peña Calvo, J.I. "Prácticas de Biología General". pag.39-5. Ed. Eunsa (1980).
- González Martín, C. y Calama Grego, M.M. : "Prácticas de Química" pag. 150-2 S.M. (1980).
- Salom Bonet, F. y Cantarino Aragón, M.H. : "Curso Práctico de Biología General" . pag. 90-3.