

Informe del trabajo práctico nº3

- **Profesora:**

Lic. Graciela.

Lic. Mariana.

- **Alumnas:**

Romina.

María Luján.

Graciela.

Mariana.

- **Curso:** Química orgánica 63.14 turno 1

OBJETIVOS

1. Conocer la aplicación y utilidad de las técnicas cromatográficas como método de separación y criterio de pureza e identificación
2. Realizar cromatografías en placa delgada y en columna para la separación de pigmentos vegetales (carotenos y clorofila)
3. Realizar cromatografía en papel para la separación de colorantes de alimentos

PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

1^{RA} PARTE

Extracción de pigmentos

En un mortero, se muele una hoja de acelga fresca y se elimina el agua de la misma con el agregado de 10ml. de metanol.

Luego, se deja macerar por unos minutos, apisonándola con el pilón mediante un movimiento de rotación y la solución formada se escurre del material vegetal y se desecha.

A ese residuo vegetal se lo trata con éter de petróleo (6ml) y etanol (4ml). La solución originada se vuelca en un vaso de precipitados y se reserva. Se repite la extracción con un nuevo agregado de solventes, al resto vegetal, en este caso 10ml de éter y 4ml de etanol y se agrega a la solución apartada en el vaso.

Inmediatamente, se filtra a través de una mecha de algodón y se recoge en una ampolla de decantación formándose dos fases: la superior de éter de petróleo, que contiene los pigmentos, y la inferior de etanol, que se desecha. A continuación, se debe eliminar el etanol presente en el éter agregando 10 ml de una solución saturada de Na_2SO_4 para evitar la formación de emulsiones. Esto se realiza debido a que el etanol es poco soluble en el éter y su presencia modificaría posteriormente las mediciones realizadas en la placa cromatográfica.

Paso siguiente, se transfiere a un erlenmeyer para llevar a cabo los ensayos de cromatografía correspondiente. A la fase orgánica obtenida la llamaremos A.

Cromatografía en columna

Se armó el dispositivo utilizando como relleno una suspensión de alúmina en éter de petróleo, eliminando el exceso de solvente para compactar la columna.

Con una pipeta Pasteur se agrega el extracto A y se inicia el proceso usando como eluyente una mezcla de éter de petróleo-acetona (9:1) dejándola gotear desde la ampolla de decantación.

Se observa la formación de una banda de color amarillo -que contiene los carotenos- que se separa de la zona verde -que contiene la clorofila- y va bajando a través de la columna. Cuando la franja amarilla llega a la lana de vidrio se cambia el recipiente colector para extraer los carotenos

Luego, se cambia el solvente por otro más polar para poder extraer la clorofila y se realiza la experiencia de igual manera que con los carotenos. De esta forma, quedan separados los carotenos de la clorofila.

Estas muestras se usan como testigos en la cromatografía de capa delgada que se realiza posteriormente y las llamaremos muestras B (carotenos) y C (clorofila).

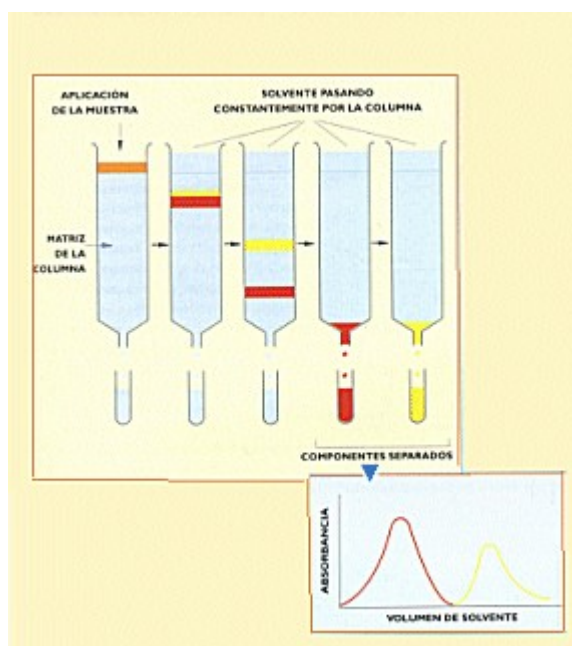


Imagen 1 - Cromatografía en columna

Cromatografía en placa

Se siembra en una placa de silicagel mediante pequeños toquitos con la punta de un capilar el extracto A obtenido y se lleva a cabo la cromatografía en una cuba saturada de solvente (mezcla de éter de petróleo-acetona 9:1), tomando como testigos de identificación a los compuestos B y C obtenidos en la cromatografía de columna.

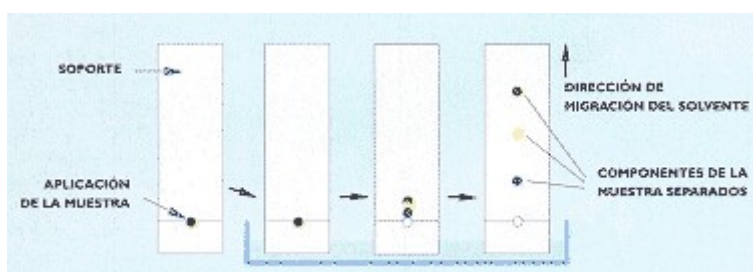


Imagen 2 - Cromatografía en placa

2^{DA} PARTE**Extracción de colorantes**

Se colocan 4 confites de un mismo color en un vaso de precipitados junto con una solución agua:etanol 1:1 para poder disolver el colorante. Una vez obtenida la solución buscada, se la coloca en un tubo de ensayo y los confites utilizados son desechados. Se repite el procedimiento para los restantes colores.

Cromatografía en papel

Se coloca en un vaso de precipitado de 250 ml la fase móvil y se tapa con un vidrio de reloj, de manera de saturar la cuba con los vapores del solvente para obtener un ascenso homogéneo del frente del solvente. Como fase móvil se utilizan 10 ml de solución de cloruro de sodio al 0,1% .

Se marca con un lápiz la línea de siembra a 1,5 cm del borde inferior del papel. A continuación se deposita la muestra de cada colorante -obtenido de los confites-, utilizando los tubos capilar a una distancia de 2cm entre cada siembra. También se siembra el colorante amarillo de Tartrazina que se utiliza como estándar.

Se coloca el papel dentro del vaso de precipitados (saturado con el solvente) y se deja correr la cromatografía hasta que el solvente llega a 1 cm del borde superior del papel. Finalizado esto, se retira el papel y se señala con un lápiz la posición alcanzada por cada colorante, tratando de definir el centro de cada una, y se mide la distancia recorrida por cada uno. Los datos conseguidos son tabulados.

RESULTADOS Y ANÁLISIS**Cromatografía en placa**

A continuación se encuentra la tabla con los datos obtenidos a partir de las mediciones:

	Altura alcanzada (cm)	R_f ¹
Solvente	6.50	-
Clorofila α	1.10	0.17
Clorofila β	0.50	0.08
Carotenos	6.35	0.98

¹ R_f : Relación de frentes

$$R_f = \frac{\text{Distancia recorrida por el soluto}}{\text{Distancia recorrida por el solvente}}$$

Cromatografía en papel

Con las mediciones recabadas, realizamos una tabla:

Color del confite	N° de manchas		Altura alcanzada (cm)	R _f
Amarillo	1	-	2.5	0.37
Azul	1	-	3.2	0.48
Naranja	2	Rojo	1.1	0.16
		Amarillo	2.4	0.36
Rojo	2	Rojo	0.7	0.10
		Amarillo	1.9	0.28
Verde	2	Azul	3.5	0.52
		Amarillo	2.3	0.34
Marrón	3	Rojo	1.0	0.15
		Amarillo	1.9	0.28
		Azul	3.6	0.54
Amarillo de Tartrazina	1	-	5.4	0.81
Solvente	-		6.7	-

CONCLUSIONESCromatografía en columna

Se pudo observar cómo los carotenos (banda amarilla) se iban separando de la clorofila (zona verde), debido a la diferencia de afinidad de cada uno frente a la fase móvil. Los carotenos (menos polares) descendieron por la columna debido a que tienen mayor afinidad por la fase móvil (éter de petróleo) que es muy poco polar. En cambio, la clorofila (más polar), tuvo más afinidad por la fase fija y, por ello, permaneció en el extremo superior de la pipeta. Sólo cuando se cambió el solvente por uno polar, la clorofila comenzó a descender.

Esta técnica es muy buena como método de separación; pero si, más tarde, se quisiera realizar algún otro tipo de cromatografía -por ejemplo, en placa fina- con los compuestos separados, esto no sería posible debido a que se obtienen de forma muy diluida. Es probable que deba realizarse alguna otra experiencia para concentrarlos y así poder proseguir con la cromatografía.

Cromatografía en placa

El éter de petróleo es un solvente no polar, que en solución 9:1 con un solvente polar (acetona) da un eluyente muy poco polar.

Comparando los datos de relaciones de frente obtenidos en la tabla correspondiente, se puede hacer un ordenamiento decreciente de polaridad entre los tres compuestos orgánicos que se manifestaron en la

cromatografía. El primero y más polar de los solutos encontrados es la Clorofila β , que a causa de su bajo R_f , debido a su pobre ascenso por la placa cromatográfica, podemos decir que posee mayor afinidad por la fase fija (silicagel presente en la placa –compuesto polar–). El segundo es la Clorofila α , que ascendió el doble que el compuesto anterior, pero aún así muestra una marcada afinidad por la fase fija. Por último, los carotenos con un elevado R_f (~ 1) revelan una gran atracción por la fase móvil.

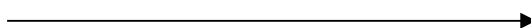
Cromatografía en papel

En la cromatografía realizada se comprueba la ausencia de la Tartrazina en los colorantes extraídos de los confites Rocklets, debido a que ningún R_f calculado nos da similar al de esta. Los R_f de los otros colores son demasiado diferentes como para poder considerarlos.

Se puede observar que los colorantes verde, marrón, naranja y rojo provocaron más de una mancha ya que son una mezcla de los colorantes rojo, azul y amarillo (donde cada uno se encuentra en diferente proporción). Los R_f de todas las manchas del mismo color son muy similares. Creemos que las pequeñas diferencias pueden deberse a varias razones. Entre ellas, la que más influyó es el *efecto tailing* por parte de las manchas, lo que provocó que se extendieran por una superficie amplia que impidió la correcta medición de la altura alcanzada por parte de cada uno.

Asimismo, podemos establecer, al igual que en el caso anterior, un ordenamiento de los colorantes con polaridad creciente analizando su R_f . Cuanto más cercano es su R_f a 1, mayor vinculación con la fase móvil posee. De modo inverso, cuanto menor R_f , menor relación con la fase móvil y mayor con la fija.

Amarillo de Tartrazina < Azul < Amarillo < Rojo



Aumento de la Polaridad