12º-2: Separación de pigmentos fotosintéticos mediante cromatografía en capa fina

Objetivo

Identificar los pigmentos fotosintéticos vegetales mediente su separación en una tira de papel cromatográfico.

Fundamento

Los pigmentos fotosintéticos vegetales incluyen un conjunto de sustancias tales como xantofilas, carotenos y clorofilas. El papel cromatográfico es una técnica usada para separar los componentes moleculares de una mezcla en un disolvente. Las moléculas migrarán hacia la parte superior de la tira a diferentes velocidades en función de su solubilidad, masa molecular y enlaces de hidrógeno que establezcan con el papel.

Los pigmentos fotosintéticos, al ser de naturaleza lipídica, son disueltos en un disolvente orgánico. La distancia recorrida por cada tipo de pigmento en relación a la recorrida por el frente del disolvente, se conoce como valor Rf, y es propia de cada pigmento, permitiendo distinguir unos de otros. El valor de Rf se calcula:

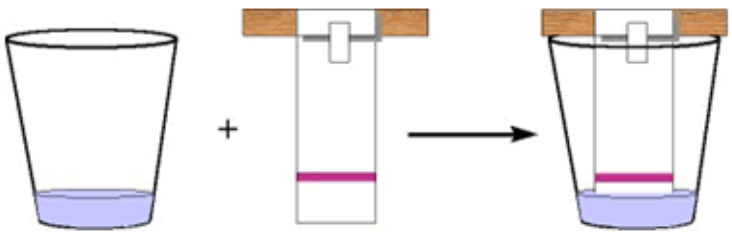
$$Rf = \frac{\text{distance traveled by the compound from the origin}}{\text{distance traveled by the solvent from the origin}}$$

Materiales

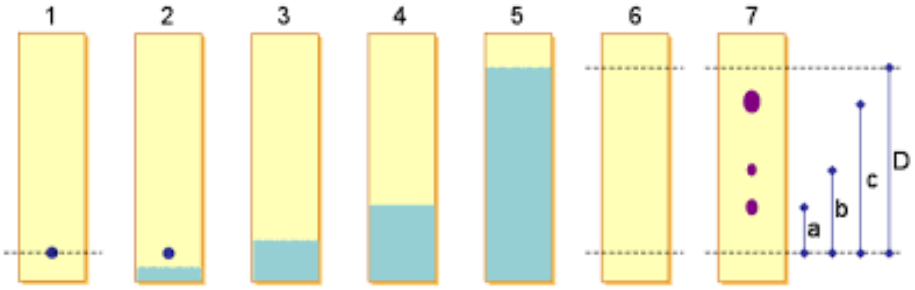
Espinaca	Tijeras	Mortero y masa	Arena/nitrógeno líquido
Acetona	éter de petróleo	Tira cromatografía capa fina	Tubo de ensayo
Lápiz y regla	Vaso precipitados	Pipeta 5 mL	Capilar punto fusión

Procedimiento

1. Machacar 5 gramos de espinacas con un poco de nitrógeno líquido/arena hasta un obtener un polvo fino.
2. Añadir 5 mL de acetona.
3. Recoger en un tubo de ensayo y dejar sedimentar.
4. Coger una tira de papel de cromatográfia en capa fina de sílica gel, y trazar suavemente una línea con un lápiz 1 cm por encima del borde inferior.
5. Macar sobre la línea 3 puntos bien separados.
6. Pasar el sobrenadante a un vaso de precipitado y con ayuda de un capilar de punto de fusión, colocar en el primer punto una gota de extracto de hoja. Soplar, dejar secar y volver a poner otra gota. Repertir con los otros dos puntos pero con extracto de otra especie vegetal.
7. En un vaso precipitado añadir 5 mL de la solución de fase móvil (éter petróleo 9:1 acetona).
8. Colocar verticalmente la tira cromatográfica de manera que toque la mezcla éter de petróleo y acetona, pero que ésta no toque directamente a la línea con el filtrado.
9. La tira debe quedar completamente vertical y sin moverse, por lo que puede fijarse con ayuda de un lápiz colocado horizontalmente sobre el vaso de precipitado.



10. Dejar correr hasta que el eluyente (fase móvil) llegue arriba de la tira.
11. Traza una línea con el lápiz para marcar dónde ha llegado el frente de la fase móvil.
12. Anota la distancia recorrida por cada pigmento y por la fase móvil.



Informe

Calcula el valor de Rf de cada pigmento a partir de la distancia recorrida por el frente del disolvente. Busca información acerca del valor de Rf de los pigmentos clorofila a, clorofila b, carotenos, xantofilas y feofitina. Determina cual es cada uno de ellos en tu cromatograma.

Compara el valor obtenido con la información de la literatura. Evalúa el procedimiento experimental con especial énfasis en los puntos débiles y limitaciones del mismo. Propón mejoras al método.
Cada uno de los criterios será evaluados conforme a los siguientes descriptores:

Análisis

Este criterio evalúa en qué medida el informe del alumno aporta pruebas de que este ha seleccionado, registrado, procesado e **interpretado** los datos de maneras que sean pertinentes para la pregunta de investigación y que puedan respaldar una conclusión.

Puntos	Descriptor
0	El informe del alumno no alcanza ninguno de los niveles especificados por los descriptores que figuran a continuación.
1-2	El informe **no incluye suficientes datos brutos pertinentes** como para respaldar una conclusión válida para la pregunta de investigación. Se realiza cierto procesamiento **básico** de datos, pero es demasiado **impreciso o demasiado insuficiente como para llevar a una conclusión válida**. El informe muestra pruebas de que el efecto de la incertidumbre de las mediciones en el análisis apenas se toma en consideración. Los datos procesados se interpretan de manera incorrecta o insuficiente, de tal forma que la conclusión no es válida o es muy incompleta.
3-4	El informe incluye datos brutos cuantitativos y cualitativos pertinentes pero incompletos que podrían respaldar una conclusión simple o parcialmente válida con respecto a la pregunta de investigación. Se realiza un procesamiento adecuado y suficiente de datos que podría llevar a una conclusión válida a grandes rasgos, pero hay importantes imprecisiones e incoherencias en el procesamiento. El informe muestra pruebas de que el efecto de la incertidumbre de las mediciones en el análisis se toma en consideración de manera limitada. Los datos procesados se interpretan de tal forma que se puede deducir una conclusión válida a grandes rasgos, pero incompleta o limitada, con respecto a la pregunta de investigación.
5-6	El informe incluye suficientes datos brutos cuantitativos y cualitativos pertinentes que podrían respaldar una conclusión detallada y válida en relación con la pregunta de investigación. Se realiza un procesamiento adecuado y suficiente de datos con **la precisión** necesaria como para permitir extraer una conclusión con respecto a la pregunta de investigación que sea completamente **coherente** con los datos experimentales. El informe muestra pruebas de que el efecto de la incertidumbre de las mediciones en el análisis se toma en consideración de manera completa y adecuada. Los datos procesados se interpretan correctamente, de tal forma que se puede deducir una conclusión completamente válida y detallada de la pregunta de investigación.

Evaluación

Este criterio evalúa en qué medida el informe del alumno aporta pruebas de que este ha evaluado la investigación y los resultados con respecto a la pregunta de investigación y al contexto científico aceptado.

Puntos	Descriptor
0	El informe del alumno no alcanza ninguno de los niveles especificados por los descriptores que figuran a continuación.
1-2	Se **resume** una conclusión que no es pertinente para la pregunta de investigación o que no cuenta con el respaldo de los datos que se presentan. La conclusión hace una comparación superficial con el contexto científico aceptado. Los puntos fuertes y débiles de la investigación, como las limitaciones de los datos y las fuentes de error, se **resumen** pero se limitan a **exponer las cuestiones prácticas o de procedimiento** a las que el alumno se ha enfrentado. El alumno ha **resumido** muy pocas sugerencias realistas y pertinentes para la mejora y la ampliación de la investigación.
3-4	Se **describe** una conclusión que es pertinente para la pregunta de investigación y que cuenta con el respaldo de los datos que se presentan. Se describe una conclusión que realiza cierta comparación pertinente con el contexto científico aceptado. Los puntos fuertes y débiles de la investigación, como las limitaciones de los datos y las fuentes de error, se **describen** y demuestran cierta conciencia de las **cuestiones metodológicas*** implicadas en el establecimiento de la conclusión. El alumno ha **descrito** algunas sugerencias realistas y pertinentes para la mejora y la ampliación de la investigación.
5-6	Se **describe y se justifica** una conclusión detallada que es totalmente pertinente para la pregunta de investigación y que cuenta con el respaldo absoluto de los datos que se presentan. Se **describe y se justifica** correctamente una conclusión mediante una comparación pertinente con el contexto científico aceptado. Los puntos fuertes y débiles de la investigación, como las limitaciones de los datos y las fuentes de error, se **discuten** y demuestran una clara comprensión de las **cuestiones metodológicas*** implicadas en el establecimiento de la conclusión. El alumno ha **discutido** sugerencias realistas y pertinentes para la mejora y la ampliación de la investigación.

Comunicación

Este criterio evalúa si la presentación de la investigación y su informe contribuyen a comunicar de manera eficaz el objetivo, el proceso y los resultados.

Puntos	Descriptor
0	El informe del alumno no alcanza ninguno de los niveles especificados por los descriptores que figuran a continuación.
1-2	**La presentación de la investigación es poco clara, lo cual dificulta comprender el objetivo, el proceso y los resultados.** El informe es poco claro y no está bien estructurado: la información necesaria acerca del objetivo, el proceso y los resultados es inexistente o se presenta de manera incoherente o desorganizada. La presencia de información inadecuada o no pertinente dificulta la comprensión del objetivo, el proceso y los resultados de la investigación. Hay muchos errores en el uso de convenciones y terminología específicas de la asignatura*.
3-4	**La presentación de la investigación es clara. Los errores que pueda haber no obstaculizan la comprensión del objetivo, el proceso y los resultados.** El informe es claro y está bien estructurado: la información necesaria acerca del objetivo, el proceso y los resultados se presenta de manera coherente. El informe es pertinente y conciso, lo cual facilita una rápida comprensión del objetivo, el proceso y los resultados de la investigación. El uso de convenciones y terminología específicas de la asignatura es adecuado y correcto. Los errores que pueda haber no obstaculizan la comprensión.

*Por ejemplo, no rotular (o rotular de manera incorrecta) gráficos, tablas o imágenes; uso incorrecto de unidades; uso incorrecto de decimales. Para cuestiones relacionadas con la citación de referencias, consulte la sección "Probidad académica".