

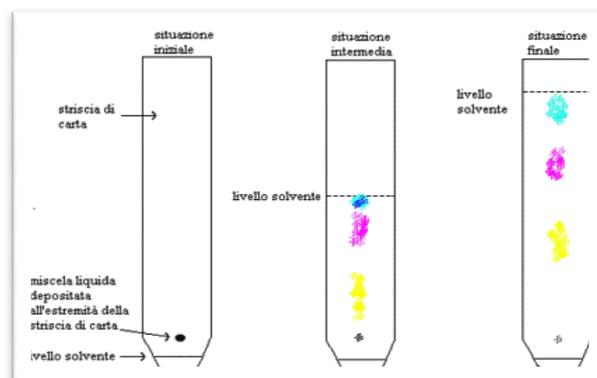
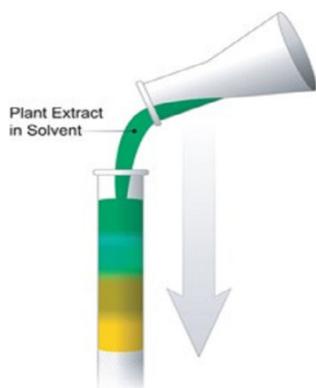
CROMATOGRAFIA TLC

DI PIGMENTI FOGLIARI DI SPINACI

LADDAGA ANNA e TRIONFO GENNARO – 3G a.s. 2016/17

BREVI CENNI SULLA CROMATOGRAFIA

La CROMATOGRAFIA è una tecnica di separazione delle componenti di un miscuglio omogeneo basata sulla distribuzione dei suoi elementi tra due fasi, una stazionaria e una in movimento lungo una direzione definita.



L'invenzione della cromatografia è attribuita al biochimico Michail Cvet, il quale riuscì, impiegando questa tecnica, a separare la clorofilla da un estratto vegetale. Egli pose una piccola quantità di estratto di foglie verdi alla sommità di una colonna di vetro. In seguito vi versò dell'etere di petrolio (un eluente) che fluendo trascinava con sé il campione separandolo in bande di diverso colore (da qui il nome cromatografia).

Esistono vari tipi di tecniche cromatografiche che sono rappresentati nella seguente tabella:

FASE MOBILE	STRUMENTAZIONE	TECNICA
Liquida	Colonna	LLC cromatografia liquido/liquido
		LSC cromatografia liquido/solido
		IEC cromatografia a scambio ionico
	Strato sottile	GPC cromatografia a permeazione di gel
		TLC cromatografia su

		strato sottile (ripartizione)
		TLC cromatografia su strato sottile (assorbimento)
	Cromatografo liquido	TLIEC cromatografia a scambio ionico su strato sottile
		HPLC cromatografia ad alte prestazioni
Gassosa	Gascromatografo	GLC cromatografia gas/liquido
		GSC cromatografia gas/solido

ESPERIENZA DI LABORATORIO

OBIETTIVO: Separazione e osservazione delle componenti che costituiscono le clorofille e gli altri pigmenti fotosintetici delle foglie di spinaci.

NOTE TEORICHE: -La foglia di spinaci contiene molta clorofilla in più rispetto ad altri tipi di piante, e ciò fa di essa un perfetto elemento da scomporre.



-Lo scienziato ad aver eseguito maggiori studi sulla cromatografia e ad aver inventato la cromatografia di ripartizione con la complicità di Richard Laurence Millington Synge è stato **ARCHER JOHN PORTER MARTIN**, detto anche **A.J. MARTIN**, il quale ha conseguito la vittoria del premio nobel per la chimica, insieme al sopra citato collega, nel 1952, grazie all'innovativa tecnica cromatografica da loro inventata.

-I PIGMENTI FOGLIARI: sono dei pigmenti biologici prodotti da organismi viventi che appaiono colorati per effetto di un assorbimento selettivo della radiazione elettromagnetica visibile.

STRUMENTI e SOSTANZE:• **Strumenti:**

1. Un mortaio in porcellana;
2. Un becher;
3. Una pipetta con terminazione capillare;
4. Un vetrino con uno strato sottile di gel di silice (il silice è il Biossido di Silicio -SiO₂- ed è un supporto microporoso il quale sul vetrino crea una matrice microporosa rendendo efficace la capillarità);

• **Sostanze:**

1. Foglie di spinaci;
2. Alcol etilico;
3. Acetone (CH₃COCH₃ è un solvente organico polare);
4. Etere di petrolio(è un solvente meno polare);



PROCEDIMENTO: 1°FASE “Estrazione”; versare l’alcol etilico nel mortaio insieme alle foglie di spinaci e iniziare a pestare con una discreta forza utilizzando il pestello. Pestando la foglia, le cellule che la compongono si romperanno permettendo la fuoriuscita della clorofilla e degli altri



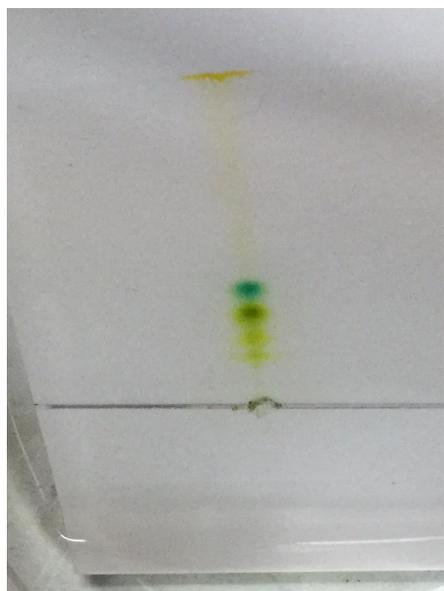
elementi, l’alcol etilico, grazie alle sue proprietà chimiche, farà sì che la clorofilla pestata si separi dal resto della foglia, successivamente con la pipetta con terminazione a capillare si prende un campione di clorofilla. Dopo di questo si preparano le due miscele di eluente versando nel primo e nel secondo becher etere di

petrolio e acetone rispettivamente secondo le proporzioni 8:2 e 9:1 e per una quantità che non superi i 4 cm di altezza;

2°FASE “Deposizione”; si effettua una riga con una matita circa 4 cm dalla base del vetrino con gel di silice e con la pipetta si depona il campione su questa riga, ciò è fatto per avere un punto di riferimento per capire dove era inizialmente situato il campione omogeneo, giacché la grafite di cui è composta la matita non è attratta

dall'eluente. Si esegue lo stesso procedimento anche sull'altro vetrino;

3°FASE “Separazione”; con molta cautela si posano i vetrini preparati nei becher con gli eluenti, per evitare che si formino onde che interagiscano col campione in modo inappropriato e modifichino il risultato dell'esperimento, e si attende che l'eluente abbia separato i vari elementi che compongono i campioni. I principi che permettono l'avvenire di codesta separazione sono due: il **PESO MOLECOLARE** delle sostanze che compongono il campione, le quali più saranno leggere più saranno trascinate in alto dall'eluente; la **POLARITA' COMPRESSIVA** di codeste sostanze le quali più saranno polari più saranno attratte dall'eluente, fortemente polare. Questi principi sono gli stessi che permettono l'elettroforesi, un processo che permette di eseguire studi sul DNA. L'eluente deve la sua grande polarità alla presenza dell'acetone fra i suoi elementi. Dopo che l'eluente sarà arrivato al lato del vetrino superiore, si osservano i risultati ottenuti e si prende nota della riuscita o del fallimento dell'esperimento.



CONSIDERAZIONI FINALI: i risultati migliori sono stati ottenuti dal campione posto nel becher con eluente più polare, cioè nel becher con proporzioni 8:2 rispettivamente di etere di petrolio e acetone, infatti vediamo la miscela scomposta in tre macchie di colori differenti (dal basso verso l'alto: verde, azzurro e giallo).