

Cromatografía en papel en hojas de zapallo (*Cucurbita moschata*), tomate (*Solanum lycopersicum*) y habichuela (*Phaseolus vulgaris*)

Paper chromatography on leaves of buttermut squash (*Cucurbita moschata*), tomato (*Solanum lycopersicum*) and bean (*Phaseolus vulgaris*)

Denis Margoth Pantoja Portilla^{1,6}

Magda Piedad Valdés Restrepo^{2,6}

Sanin Ortiz Grisales^{3,7}

Leonardo Álvarez Ríos^{4,6}

Robert Augusto Rodríguez Restrepo^{5,7}

Universidad Nacional Abierta y a Distancia⁶ / Universidad Nacional de Colombia, Sede Palmira⁷

Resumen

La cromatografía en papel es una técnica empleada para la separación de componentes, específicamente de pigmentos, por tanto, el objetivo de la investigación fue identificar la presencia de diferentes pigmentos fotosintéticos en hojas de hortalizas. Se emplearon 3 tipos de muestras (hojas de zapallo, habichuela y tomate) y dos tratamientos (acetona y alcohol etílico), en donde se identificó que el mejor solvente para la extracción de pigmento era la acetona por realizar un mejor arrastre de compuestos; en las hojas de zapallo se pudo identificar un compuesto

¹ Estudiante de ingeniería de alimentos, <https://orcid.org/0000-0003-0959-5920> / denispantoja9@gmail.com

² Ingeniera agrónoma, ingeniera agroindustrial, magister en Ciencias agrarias-fitomejoramiento, doctora en Ciencias agrarias-mejoramiento genético vegetal, <https://orcid.org/0000-0001-9594-0289> / magda.valdes@unad.edu.co

³ Zootecnista, magister en semillas, doctor en Ciencias agrarias-mejoramiento genético vegetal, <https://orcid.org/0000-0002-7237-0815> / sortizg@unal.edu.co

⁴ Ingeniero agrónomo, magister en Ciencias agrarias, doctor en Ciencias agrarias – entomología, acarología, <https://orcid.org/0000-0002-6243-0781> / leonardo.alvarez@unad.edu.co

⁵ Ingeniero agrícola, magister, doctor en Ciencias agrarias-manejo de suelos y aguas, <https://orcid.org/0000-0002-1916-2005> / rarodriguezre@unal.edu.co

adicional a los presentes en las hojas de habichuela y tomate, los carotenos.

Palabras clave: hortalizas, fase móvil, fase estacionaria. pigmentos.

Abstract

Paper chromatography is a technique used for the separation of components, specifically pigments, therefore, the objective of the research was to identify the presence of different photosynthetic pigments in vegetable leaves. Three types of samples were used (butternut squash, bean and tomato leaves) and two treatments (acetone and ethyl alcohol), where it was identified that the best solvent for pigment extraction was acetone because it carried out a better dragging of compounds; In the butternut squash leaves it was possible to identify an additional compound to those present in the bean and tomato leaves, the carotenes.

Keywords: Vegetables, mobile phase, stationary phase, pigments.

1. Introducción

La cromatografía fue inventada por M. Tswett en 1906, quien inicialmente realizó la separación de xantofilas, clorofila y otros pigmentos vegetales empleando una columna de carbonato de calcio (Shinde *et al.*, 2021); una técnica que permite la separación e identificación de pigmentos basada en el principio de retención selectiva, la solución acuosa de pigmentos se desplaza a través de un medio poroso por capilaridad separando los componentes (Corzo, 2019; Sayed, 2021), en la separación están involucradas dos fases, la fase estacionaria empleando un líquido estacionario que se mantiene en contacto con la fibra de papel y la fase móvil empleando un solvente (Shince *et al.*, 2021).

En la cromatografía de papel, se logra la separación de los analitos parcialmente a lo largo del papel en función de su afinidad hacia la fase estacionaria, la posición del analito se representa por el factor de retardo R_f y se expresa con dos cifras significativas, entendida como la distancia recorrida por el analito por la banda sobre la distancia recorrida en la fase móvil (Robards *et al.*, 2004; Gupta *et al.*, 2020).

Según Shince *et al.*, (2021), la técnica de cromatografía encierra cuatro pasos (4) esenciales: 1. Adsorción y retención de la sustancia o analito; 2. Separación de los analitos en la fase móvil; 3. Recuperación de las sustancias separadas en la fase móvil, llamado método de elución y 4. Análisis cualitativo y cuantitativo de las sustancias eluidas. Esta técnica es importante en la determinación de pigmentos en hortalizas debido a la versatilidad de colores que poseen, sin embargo, la concentración o cuantificación se puede ver afectada por la variedad y las condiciones ambientales. El objetivo de este estudio fue identificar la presencia de diferentes pigmentos fotosintéticos en hojas de hortalizas.

2. Metodología

Material vegetal. Se tomaron hojas de zapallo (*Cucurbita moschata*), tomate (*Solanum lycopersicum*) y habichuela (*Phaseolus vulgaris*) (ver Figura 1), verificando que estuvieran frescas y en buen estado.

Principio de análisis. La cromatografía es una técnica que permite la separación de sustancias de una mezcla y según sea el solvente empleado para la separación, los pigmentos serán arrastrados con diferente velocidad según la solubilidad que tengan.

Se empleó la técnica de cromatografía por el mecanismo de separación de adsorción en papel, la cual presenta dos fases, fase estacionaria (sólido-papel) y fase móvil (líquido polar); el desplazamiento de la fase móvil se llevó a cabo por capilaridad.

Procedimiento experimental. Se realizaron dos tratamientos. 1. Muestra con alcohol etílico al 70 %; 2. Muestra con acetona. Se seleccionó la acetona como solvente debido a su naturaleza polar y amplio margen

de solubilización. Las hojas fueron reducidas de tamaño, exentas de nervadura y se tomó como muestra 5 gramos, los cuales fueron maceradas con el respectivo solvente (alcohol etílico- acetona), el líquido obtenido se centrifugó para eliminar los sólidos en suspensión, luego se colocó en cajas Petri y como capilar se empleó papel filtro marca Whatman. Se dejó la muestra en suspensión por espacio de una hora y se analizaron los resultados.



Figura 1. De izquierda a derecha, hojas de zapallo (Cucurbita moschata), tomate (Solamun lycopersicum) y habichuela (Phasealus vulgaris).

3. Resultados y discusión

En la Figura 2. Se observa al lado izquierdo la cromatografía en papel, utilizando como solvente acetona y al lado derecho la muestra empleando alcohol etílico. Es evidente que el mejor solvente para realizar la extracción de pigmentos es la acetona. Por tanto, la información proporcionada en este documento corresponde a la cromatografía en papel empleando como solvente acetona.



Figura 2. Izquierda, muestras maceradas con acetona; derecha, muestras maceradas con alcohol etílico.

Cada pigmento tiene una migración diferencial, que depende de sus características físicas y fuerzas intermoleculares que interactúan con hidroxilos libres de la celulosa del papel y con el solvente empleado. Según el color de los pigmentos en las tres muestras (zapallo, tomate y habichuela), se identificó que las hojas poseen pigmentos pronunciados de color verde y amarillo, donde el pigmento verde corresponde a la presencia de clorofila y el pigmento amarillo a carotenos y xantofilas, según Torossi (2007) las xantofilas poseen pigmentación amarilla, son derivados oxigenados de los carotenos y son solubles en alcohol, siendo las más abundantes la luteína y la violaxantina.

Los pigmentos se distribuyeron según su polaridad, los más polares quedan en la parte baja y los menos polares en la parte superior, según Torossi (2007) la clorofila *a* es menos polar, por tanto, siempre se localiza por encima de la clorofila *b*, siendo más polar. La clorofila *b* se ubica en la parte baja del papel, debido a que se adhiere con intensidad al papel por su naturaleza polar, mientras que los carotenos son menos fuertes y su adherencia es débil y son arrastrados ubicándose en la parte superior.

En las hojas de zapallo, de abajo hacia arriba, se encuentran los siguientes pigmentos: carotenos, clorofila *b*, clorofila *a* y xantofilas; en las hojas de habichuela se encuentra: clorofila *b*, clorofila *a*, xantofilas y en las hojas de tomate se encuentra: clorofila *b*, clorofila *a* y xantofilas (ver Figura 3).

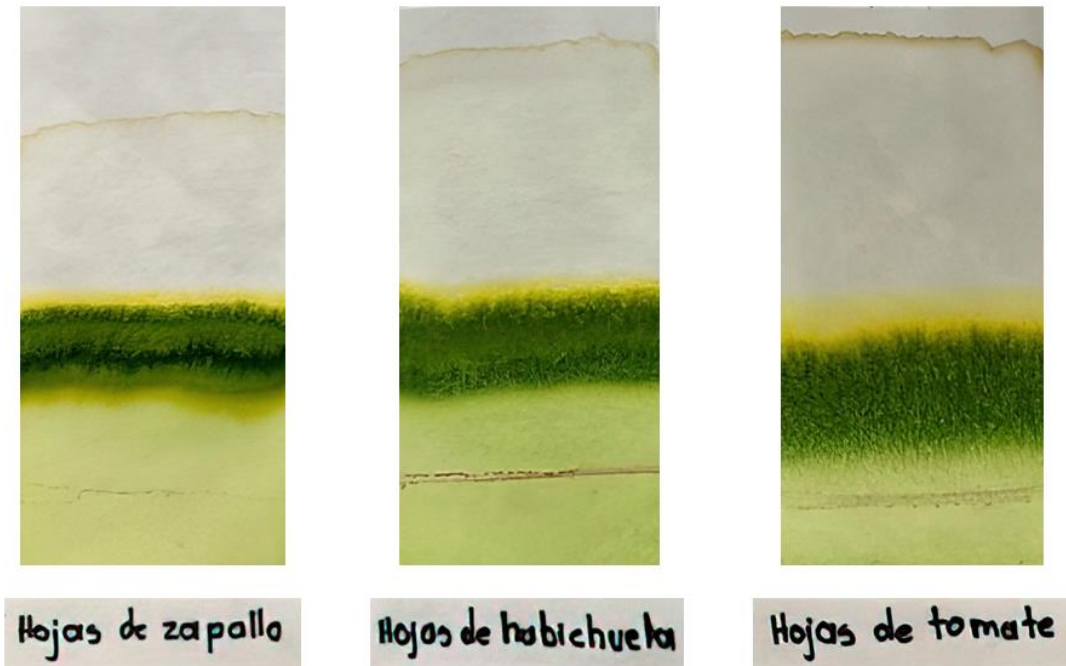


Figura 3. Cromatografía en papel en hojas de zapallo, habichuela y tomate.

Obsérvese que la muestra de hojas de zapallo, en la parte de abajo aparece un color naranja tenue, esto indica la presencia de carotenos, pero también indica que son moléculas grandes que debido a su tamaño su arrastre es difícil. En la parte baja de las muestras se observa una tenue línea roja, esto indica probablemente presencia de antocianinas.

4. Conclusiones

La separación exitosa de los pigmentos depende del tipo de solvente y del equilibrio de las fuerzas intermoleculares entre el soluto, la fase estacionaria y la fase móvil.

Referencias

- Corzo, A. (2019). *Técnicas de análisis en química orgánica: cromatografía: cátedra de Química orgánica y Biológica*. Santiago del Estero: Universidad Nacional de Santiago del Estero - UNSE. <https://fcf.unse.edu.ar/archivos/series-didacticas/SD-44-Cromatografia-CORZO.pdf>
- Gupta, M., Kapoor, B. & Gupta, R. (2020). Paper Chromatography: A Review. *International Journal of Emerging Technologies and Innovative Research*, 5(10), 462-468. <http://www.jetir.org/papers/JETIRDQ06066.pdf>
- Robards, K., Haddad, P. R. & Jackson, P. E. (2004). 2 - Theory of Chromatography. In K. Robards, P. R. Haddad & P. E. Jackson (eds.). *Principles and Practice of Modern Chromatographic Methods* (pp. 35-74). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-057178-2.50005-4>
- Sayed, M.. (2021). A review of Chromatography: principles, Classification, Applications. <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.22113.43361>
- Shinde, G. S., Rao, P. S., Jadhav, R. S., & Piyusha, K. D. A. (2021). A Review on Chromatography and Advancement in Paper Chromatography Technique. *Asian Journal of Pharmaceutical Analysis*, 11(1), 45-48. <https://doi.org/10.5958/2231-5675.2021.00009.0>
- Torossi, B.F.D. (2007). Una experiencia sencilla con fundamentos complejos: la separación de pigmentos fotosintéticos mediante cromatografía sobre papel. *Anales de Química*, 103(4), 45-51. <https://analesdequimica.es/index.php/AnalesQuimica/article/view/1558>