



## **TRABAJO PRÁCTICO N° 8** **CROMATOGRAFÍA EN PAPEL**

### ✓ **OBJETIVO:**

# Separación de colorantes por cromatografía.

### ✓ **MATERIALES:**

- ◆ Gradilla
- ◆ Varilla de vidrio
- ◆ Tubo de ensayo
- ◆ Papel cromatográfico
- ◆ Papel de filtro
- ◆ Equipo de filtración
- ◆ Vaso de precipitados
- ◆ Gafas de seguridad
- ◆ Tubo capilar
- ◆ Escobilla
- ◆ Mechero
- ◆ Mariposa
- ◆ Tubo de goma
- ◆ Vidrio de reloj
- ◆ Probeta

### ✓ **SUSTANCIAS:**

Etanol  
Isopropanol

Metanol  
Agua destilada

El alumno deberá aportar gelatinas dietéticas y frascos con tapa.

### ✓ **PROCEDIMIENTOS:**

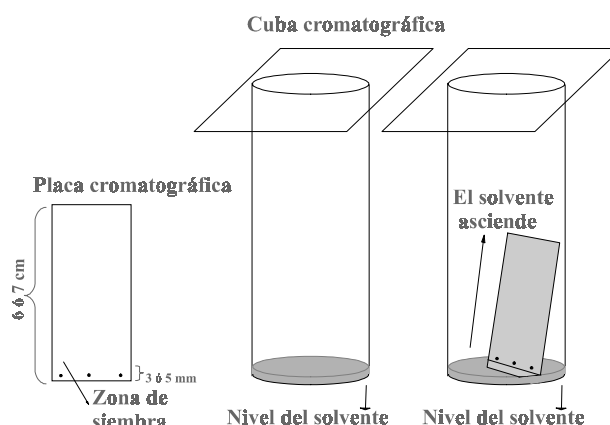
#### **I. CROMATOGRAFÍA DESCENDENTE**

##### **A. EXTRACCIÓN DE LOS COLORANTES**

1. En tres tubos de ensayo vierte aproximadamente cinco puntas de espátula de cada una de las gelatinas a ensayar.
2. Agregar entre 3 y 5 mL de etanol y agitar el contenido de cada tubo. Observar que el etanol se colorea cada vez más, lo cual te indica que se están extrayendo los colorantes.
3. Volcar el líquido resultante (cuidando que no caigan partículas sólidas) sobre un vidrio de reloj y dejar que aquél se concentre por evaporación.

## B. PREPARACIÓN DE LA CUBA CROMATOGRÁFICA

1. Se rodea la cuba con papel absorbente (secante o papel de cocina) dejando una ventanita.
2. Colocar el solvente de desarrollo. Esperar que se moje el papel. Después de logrado esto, el nivel del líquido no debe alcanzar el de la línea de siembra porque se arrastrarían los pigmentos hacia el fondo de la cuba.
3. Tapar la cuba y dejar 5 a 10 minutos para que se sature con los vapores de la mezcla de solventes.



## C. SIEMBRA DEL PAPEL

4. Recortar una tira de papel cromatográfico de aproximadamente 2,5 cm de ancho por 6 ó 7 cm de largo y marca una línea, a 1 cm de la base, paralela a la misma (OJO: marcar siempre con lápiz, no usar tinta). Dicha marca se denomina "*línea de siembra*".
5. Sembrar, utilizando tres capilares diferentes, los tres extractos por separado a unos 3 - 5 mm del borde de la placa y equidistantes entre sí. Para la siembra, estirar a la llama un tubo capilar, para cortarlo. La punta debe quedar estrecha. Tocar el extracto alcohólico con el extremo delgado del capilar. El líquido asciende. Tocar el centro de la línea de siembra con el capilar, con mucho cuidado para no romper o dañar el papel cromatográfico. Operar a intervalos cortos, para no producir una descarga que origine manchas grandes (la mancha no debe exceder los 3 mm de diámetro). Entre sembrado y sembrado dejar secar, en lo posible hacerlo con aire caliente (secador de pelo). Repetir 3 o 4 veces la operación de siembra para generar una buena concentración, pero tratando de que la mancha no difunda mucho.
6. Dado que la tartrazina utilizada es un colorante alimentario utilizado corrientemente en alimentos con coloraciones amarillas, naranjas o rojizas, se debe incluir en la zona de siembra un testigo de esta sustancia con fines comparativos.

Para preparar el *testigo* se coloca una pequeña cantidad de tartrazina en un tubo de hemólisis y se disuelve agregando unas gotas de etanol. Utilizar la solución así obtenida para la siembra cromatográfica.

## D. CORRIDA CROMATOGRÁFICA

7. Introducir el papel cromatográfico sembrado de manera que el solvente no toque la zona de siembra sino que la alcance al subir por capilaridad. Tapar inmediatamente (CUIDADO: no mover el frasco para que no se caiga).

8. Dejar ascender el solvente por el papel hasta que se encuentre entre 1 y 0,5 cm de su borde superior. En ese instante, retirarlo de la cuba. Dejar secar y marcar el contorno de mancha observada (son sustancias).
9. Comparar los resultados obtenidos. Sacar conclusiones con respecto al número de componentes que pueden observarse de acuerdo a la experiencia. ¿Por qué no se realiza el proceso de revelado?

## **II. CROMATOGRAFÍA RADIAL**

### **CROMATOGRAFÍA DE MARCADORES EN PAPEL**

Los marcadores al agua que se utilizan corrientemente en el aula están formados por pigmentos industriales, algunos de ellos puros, otros en combinación de dos o más colores lo que les da su tonalidad característica. Los marcadores negros, que suelen estar formados por mezcla de al menos tres colores.

1. Se toma un disco de papel de filtro y se dibujan puntos de marcador negro de diferentes marcas comerciales en forma de círculo alrededor del centro del disco, dejando en dicho centro un área libre de aproximadamente 2 a 3 cm de diámetro. Se coloca una tiza dentro de un frasco pequeño de boca estrecha que contenga agua, tal que el extremo de la tiza sobresalga unos centímetros y pueda mantenerse vertical.
2. Una vez que la tiza esté impregnada con agua, se coloca el disco de papel de filtro sobre la tiza, la cual actuará como suministradora de solvente a nuestro sistema cromatográfico. Dejar correr y observar.

El solvente (agua) correrá a través de la celulosa del papel desde el centro hacia el borde del papel, obteniendo así una “cromatografía radial”. Los pigmentos presentes en la tinta se separarán a lo largo del radio a medida que el agua circula por el papel.

### **✓ CUESTIONARIO**

1. ¿Cuál es el principio en que se basa la cromatografía de partición?
2. ¿De qué depende la retención de un compuesto en las fases en una cromatografía en papel? ¿Cuáles son las fases estacionaria y móvil en este tipo de cromatografía? ¿Cuándo es útil?
3. ¿Qué es el Coeficiente de Partición? ¿Cómo se calcula?
4. ¿De qué depende la retención de una sustancia en la fase estacionaria en la Cromatografía de Adsorción? ¿En qué casos es útil este tipo de Cromatografía? ¿Cuál es la fase estacionaria en la TLC?
5. ¿Qué es la relación de frente? ¿Por qué es útil?
6. ¿Qué se debe tener en cuenta para la elección del solvente de elución?
7. ¿Cómo afecta la temperatura el desarrollo de un cromatograma?
8. ¿Por qué es importante la saturación de la cuba cromatográfica?