



## Determinació de pigments fotosintètics: clorofil·les i carotenoides

La **fotosíntesi** és un procés biològic complexa a on l'energia llumínica es transforma en energia química que s'emmagatzema en forma de carbohidrats, aquests es sintetitzen a partir de CO<sub>2</sub> y H<sub>2</sub>O.

Els **pigments fotosintètics** són compostos capaços de capturar diferent energia de la llum solar, i en el Regne Plantes trobem diferents tipus:

- Les **clorofil·les** són unes molècules presents en les plantes, algues i cianobacteris necessàries per al procés de la **fotosíntesi**. Aquests pigments estan confinats en els cloroplasts (amb l'excepció dels cianobacteris) i tenen la capacitat d'absorbir la llum vermella i blava, entre les clorofil·les la més abundant és la clorofil·la a.
- Els **carotenoides**, pigments accessoris, tenen bandes d'absorció entre 400 i 500 nm.

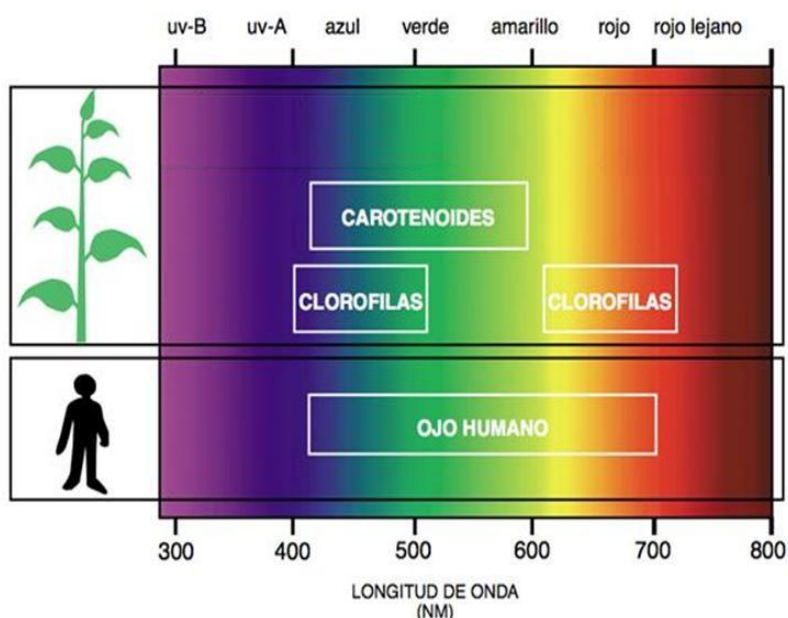


Figura Espectre de la radiació solar (entre 300 nm - 800 nm): La llum solar es compon de diferents colors, cada un d'aquests té una energia diferent (longitud d'ona). L'ull humà cobreix de la regió de 400 a 700 nm, mentre que les plantes capturen altres longituds d'ona.

La determinació i quantificació de pigments fotosintètics es realitzarà per **Espectrofotometria**



Per tal d'evitar la degradació dels pigments fotosintètics:

1. Es treballarà en **fred** (els tubs es mantindran en un bany de gel).
2. Els homogeneïtzadors amb el material vegetal, matrassos i tubs de centrifuga amb l'extracte dels pigments, **es protegiran de la llum** amb paper d'alumini)



## Determinació de pigments fotosintètics: clorofil·les i carotenoides

<i>Equipament</i>	<i>Reactius</i>	<i>Material</i>
Balançes Centrifugadora Espectrofotòmetre Fonts Ilum UV	Acetona 80% HCl 1:1	Homogenitzador de vidre (en nevera) Matràs aforat de 10 ml (en nevera) Embut folrat amb paper de filtre Pipetes Pasteur Tubs centrifugadora (en nevera) Tubs d'assaig Cubetes espectrofotòmetre Paper alumini Retoladors Contenedors amb gel Fulles d'espinaç



**PROCEDIMENT:** Extracció del pigments fotosintètics amb acetona 80 % i posterior determinació

1. Selecciona uns 100 mg de fulles d'espinaç (anotar el pes exacte).
2. En un homogeneïtzador de vidre fred (mantingut en un bany de gel) afegiu els 100 mg del limbe foliar i 3 ml de acetona 80 %
3. Amb molt de compte, emprant l'èmbol, tritureu i homogeneu molt bé les fulles, fins que a contra llum no vegeu cap partícula en suspensió.
4. Transferiu l'homogenat a un matràs aforat de 10 ml fred (bany de gel) amb l'ajuda d'un embut.
5. Feu rentats de l'homogeneïtzador i l'èmbol amb acetona 80 % fins a enrasar el matràs aforat de 10 ml.
6. Agiteu per inversió el matràs fins a obtenir una solució de color uniforme.
7. Traspasseu els 10 ml d'extracte a un tub de centrifugadora i centrifugueu a 3000 rpm 5 min a temperatura ambient per eliminar la terbolesa de la solució abans de determinar el contingut de pigments.
8. Determineu l'absorbància (A) del homogenat a 750 nm - si el valor a 750nm, és superior a 0,05 torneu a centrifugar per eliminar la terbolesa.  
(Utilitzeu acetona 80 % com a blanc).
9. Anoteu les absorbàncies a 750 nm, 663,2 nm, 646,8 nm i 470 nm.



## Determinació de pigments fotosintètics: clorofil·les i carotenoides



Observació de la fluorescència de la clorofil·la

**Procediment:**



Vigila al manipular la llum ultraviolada, pot danyar els ulls. Utilitzeu guants i bata per protecció.

En un tub d'assaig afegiu 3 ml de l'extracte de pigments fotosintètics:

- Observeu-lo a la llum ultraviolada.
- Afegiu ara al mateix tub d'assaig 2 ml de HCl 1:1 amb una pipeta Pasteur.
- Agita-ho
- Observar el resultat.