

Estrazione dei pigmenti fotosintetici - Metodo qualitativo

OBIETTIVO: Dimostrare la presenza di sostanze all'interno degli organismi autotrofi (vegetali e cianobatteri) in grado di interagire con la luce solare e, attraverso un processo chiamato FOTOSINTESI CLOROFILLIANA, di produrre energia chimica sotto forma di zuccheri. Le sostanze estratte prendono il nome di pigmenti fotosintetici (in particolare clorofille e ficocianine).

MATERIALI:

- Mortaio e pestello
- Spatola
- 2 Forbici
- 10 ml di alcol etilico
- 10 ml di acqua
- Centrifuga da laboratorio
- 2 Microscopi con telecamera
- Pipette e provette
- 2 Cilindri graduato da 25 ml
- Cilindro graduato da 15 ml
- 2 Becker da 30 ml
- Torcia a luce bianca
- Torcia UV
- Foglie appartenenti a diverse specie di piante (la quantità di foglie può variare in base alla grandezza delle foglie della pianta esaminata)
- Pastiglie di spirulina in polvere (cianobatterio del genere *Arthrospira*) utilizzate come integratore alimentare
- pinzetta
- vetrini e coprivetrini
- forcicina

PRIMA PARTE:

PROCEDIMENTO PER ESTRAZIONE DELLE CLOROFILLE DALLE FOGLIE

1. Spezzettare le foglie (togliendo sempre prima il gambo) in tanti pezzettini, con l'aiuto di forbici, che andranno poi collocati all'interno del mortaio dove verranno pestate con il pestello fino a ridurle in poltiglia (indicativamente per un minuto).
2. Dopo aver misurato 10 ml di alcol etilico nel cilindro graduato servendosi del sussidio della provetta e del becker, versare il contenuto del cilindro nel mortaio, successivamente mescolare con il pestello.
3. Estrarre con una pipetta solo il liquido nel mortaio, in modo da riempire quasi a metà la provetta da centrifuga (una ogni foglia utilizzata)
4. Alloggiare le provette all'interno del portaprovette nella centrifuga da laboratorio.
5. Chiudere lo sportello ed avviare la centrifuga per circa 2 minuti alla velocità di 3200 rpm
6. Al termine aprire lo sportello e prelevare le provette: sarà possibile apprezzare nel surnatante (parte superiore della provetta) le clorofille estratte di colore verde

PROCEDIMENTO PER ESTRAZIONE DELLE CLOROFILLE DA SPIRULINA:

1. Prelevare una punta di polvere di spirulina con una spatola ed inserirla in una provetta da centrifuga

2. Dopo aver misurato 5 ml di alcol etilico con il cilindro graduato, versare il liquido nella provetta con la spirulina e mescolare energicamente
3. Alloggiare la provette all'interno del portaprovette nella centrifuga da laboratorio.
4. Chiudere lo sportello ed avviare la centrifuga per circa 2 minuti alla velocità massima di 3200 rpm
5. Al termine aprire lo sportello e prelevare le provette: sarà possibile osservare nel surnatante (parte superiore della provetta) le clorofille estratte di colore verde

PROCEDIMENTO PER ESTRAZIONE DELLE FICOCIANINE DALLA SPIRULINA:

1. Prelevare una punta di polvere di spirulina con una spatola ed inserirla in una provetta da centrifuga
2. Dopo aver misurato 5 ml di acqua distillata con il cilindro graduato, versare il liquido nella provetta con la spirulina e mescolare energicamente
3. Alloggiare la provette all'interno del portaprovette nella centrifuga da laboratorio.
4. Chiudere lo sportello ed avviare la centrifuga per circa 2 minuti alla velocità massima di 3200 rpm
5. Al termine aprire lo sportello e prelevare le provette: sarà possibile osservare nel surnatante (parte superiore della provetta) le ficocianine estratte di colore blu

SECONDA PARTE:

1. Accendere una torcia e indirizzare la luce verso il surnatante contenente i pigmenti estratti
2. Osservare l'eventuale variazione di colore

TERZA PARTE

1. Osservare sulla videocamera del microscopio i cloroplasti e i tricomi di spirulina

SPIEGAZIONE

Le clorofille negli organismi eucarioti sono contenute nei cloroplasti (organuli presenti nel citoplasma della cellula vegetale) e sono essenziali per ogni organismo che svolge la fotosintesi.

Formula fotosintesi clorofilliana: $6\text{H}_2\text{O} + 6\text{CO}_2 + \text{Luce} = \text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 + 6\text{O}_2$

Senza i pigmenti fotosintetici gli organismi autotrofi non avrebbero modo di svolgere questo tipo di metabolismo e produrre le sostanze nutritive necessarie per la loro sopravvivenza. L' anidride carbonica è necessaria solo nella seconda fase della fotosintesi (fase oscura) perché è in grado di utilizzare l'energia prodotta nella fase luminosa per organizzarsi e trasformandosi, con una serie di reazioni chimiche di riduzione, in glucosio.

Utilizziamo l'alcool per estrarre le clorofille in quanto risulta più affine e solubile rispetto all' acqua, mentre nel caso dell'estrazione delle ficocianine utilizzeremo l' acqua (miglior solvente per questo tipo di pigmento fotosintetico).

I pigmenti fotosintetici a seconda della loro natura molecolare e del tipo di luce con qui sono a contatto, interagiscono in modo diverso assorbendo e riflettendo le lunghezze d'onda incidenti in modo selettivo. Infatti sottoponendo a luce di lunghezza d'onda diversa i pigmenti estratti si può notare un diverso colore di riflessione. E' proprio per questo motivo che le foglie possono presentare colori diversi.

APPROFONDIMENTI:

-La vera natura dei colori (interazione luce/materia):

Un determinato colore è caratterizzato da una specifica composizione spettrale. Una sorgente ci appare di un certo colore perché emette prevalentemente luce di quel colore. La luce del Sole appare “bianca” perché è un miscuglio di tutti i colori dell’iride. Un oggetto ci appare di un certo colore (ad esempio rosso) perché riflette quella componente di colore (rossa) della luce che lo illumina assorbendo tutte le altre. Le radiazioni elettromagnetiche, qualunque sia la loro frequenza, vengono emesse o assorbite dalla materia sempre sotto forma di fotoni. L’assorbimento di un fotone fa passare l’atomo, o la molecola, dal livello fondamentale ad un livello eccitato, cedendogli tutta la propria energia. La clorofilla è verde perché riflette la luce verde (tra 500 e 600 nm) e assorbe principalmente nella parte rossa (430 nm) e blu (662 nm) dello spettro. Le ficocianine invece hanno colorazione blu perché riflettono lunghezze d’onda a 650 nm. Quando i pigmenti assorbono luce, gli elettroni, all’interno delle loro molecole, vengono spinti a livelli di energia superiori. L’energia assorbita innesca una reazione chimica. L’energia assorbita dal pigmento spinge gli elettroni fuori dalla molecola, che pertanto si ossida, e questi elettroni ad alta energia sono immediatamente accettati da un’altra molecola, che perciò si riduce. Se avverrà o meno una reazione chimica dipende non soltanto dalla struttura di quel particolare pigmento, ma anche dalle sue relazioni con le molecole vicine.

CONSIGLI DI PRUDENZA:

- Tenere a portata di mano un rotolo di carta per assorbire eventuali fuoriusciti sul bancone nel corso dell’esecuzione dell’esperimento
- Assicurarsi che nessun partecipante ingerisca sostanze utilizzate durante esperimento