

Docente, Instituto Universitario de la Paz.
Directora de Investigación y Proyección Social.
Docente, Instituto Universitario de la Paz.
Docente, Instituto Universitario de la Paz.
Dir.investigaciones@unipaz.edu.co

Recibido 10 de marzo de 2025,
Aceptado 1 de julio de 2025
www.unipaz.edu.co

Separación de pigmentos vegetales mediante cromatografía de columna

Separation of plant pigments by column chromatography.

Aparicio-Martha Patricia^a Pacheco-Valderrama Mónica María^b Paz-Díaz Hector Julio^c Aguirre-Durán Cesar^d

Resumen: Esta investigación se centro en analizar los pigmentos vegetales extraídos a partir de espinacas y acelgas mediante la técnica de cromatografía en columna, una herramienta eficaz para separar y caracterizar compuestos. Los pigmentos vegetales, como la clorofila y los carotenoides, son fundamentales tanto por su función biológica como por sus diversas aplicaciones en la industria. Se emplearon extractos de espinaca y acelga, utilizando solventes como éter de petróleo y acetona para facilitar la extracción de estos compuestos. Los resultados obtenidos demostraron que la cromatografía en columna permitió separar eficientemente los pigmentos, identificándose principalmente la clorofila A y B, así como los carotenoides. Se observó que las espinacas, debido a su alta concentración de clorofila, produjeron una mayor cantidad de este pigmento, a diferencia de la acelga, que además de clorofila, presentó una mayor diversidad de pigmentos, incluyendo carotenoides, flavonoides y xantofilas. Esto sugiere que la acelga podría tener un potencial más amplio de compuestos bioactivos. Estos hallazgos destacan la capacidad de la cromatografía en columna para separar pigmentos vegetales, lo que abre la puerta a investigaciones adicionales sobre sus propiedades y aplicaciones en áreas como la alimentación, la farmacología y la cosmética.

Palabras claves: Pigmentos vegetales, cromatografía de columna, aplicaciones.

Abstract: This research is focused on the analysis of plant pigments extracted from spinach and chard using column chromatography, an efficient tool to separate and characterize compounds. Plant pigments, such as chlorophyll and carotenoids, are essential both for their biological function and for their diverse applications in industry. Extracts of spinach and chard were employed, using solvents such as petroleum ether and acetone to facilitate the extraction of these compounds. The results obtained showed that column chromatography allowed efficient separation of pigments, identifying mainly chlorophyll A and B, as well as carotenoids. It was observed that spinach, due to its high concentration of chlorophyll, produced a greater amount of this pigment, unlike chard, which in addition to chlorophyll, presented a greater diversity of pigments, including carotenoids, flavonoids and xanthophylls. This suggests that chard may have a broader potential for bioactive compounds. These findings highlight the ability of column chromatography to separate plant pigments, which opens the door to further research into their properties and applications in areas such as food, pharmacology and cosmetics.

Keywords: Plant pigments, column chromatography, applications.

INTRODUCCIÓN

Los pigmentos vegetales son compuestos químicos presentes en las plantas que dan color a diversas partes de ellas como en las hojas, flores, frutas y raíces. Además de su función biológica, estos compuestos tienen aplicaciones en múltiples industrias como la alimentaria, cosmética y farmacéutica (Sanjuan Lara et al., 2024). La separación de pigmentos vegetales es crucial en la investigación, ya que permite analizar sus propiedades fisicoquímicas como solubilidad, tamaño y carga, lo que facilita su purificación mediante diferentes técnicas (Jácome Pilco et al., 2023). Entre las más empleadas se encuentra la cromatografía en columna, una técnica de separación que se basa en las diferencias de afinidad de los compuestos por la fase estacionaria y la fase móvil (Adiga et al., 2023). Esta técnica es ampliamente utilizada en química y bioquímica para aislar y analizar compuestos tanto orgánicos como inorgánicos en mezclas complejas. En el caso de los pigmentos vegetales, la cromatografía en columna facilita su separación al permitir la interacción selectiva entre los pigmentos y las fases implicadas (Ruiz Benitez, 2020).

Los pigmentos más estudiados son la clorofila, los carotenoides y las antocianinas, los cuales se caracterizan por sus propiedades antioxidantes y sus beneficios potenciales para la salud humana (Glagoleva et al., 2020). Por ello, el objetivo de este estudio fue analizar los compuestos orgánicos en las espinacas y acelgas, dos vegetales reconocidos por su alto contenido de pigmentos, especialmente clorofila (Ebrahimi et al., 2023). Estos pigmentos no solo confieren su color verde característico a las plantas, sino que también representan una fuente importante de ingredientes naturales que responden a la creciente demanda de productos saludables y sostenibles (Mancilla, 2018). Resaltando que las espinacas y acelgas son excelentes fuentes de clorofila, lo que las convierte en materiales vegetales ideales para este tipo de análisis.

MÉTODOS

Esta investigación consistió en un análisis experimental utilizando la técnica de cromatografía de columna para la separación de pigmentos vegetales y el reconocimiento de aminoácidos (Jácome Pilco et al., 2023; Macías De Costa et al., 2003; Mancilla, 2018). Se emplearon extractos de espinaca y acelga. La selección de los solventes específicos fue:

- Tierra de mar: como adsorbente eficaz para separar y purificar los pigmentos presentes en la muestras.
- La alúmina: para la estabilidad y la solubilidad de los pigmentos naturales.
- El éter de petróleo: solvente orgánico que se utilizó para la extracción de compuestos lipofílicos.
- La acetona: solvente para la extracción y la solubilidad de los pigmentos presentes en la muestra.

Tabla 1. Proceso de técnica para extracción de pigmentos:

Proceso	Descripción
Preparación del éter de petróleo	5 mL de éter de petróleo a la columna 5:8 v/v.
Introducción del algodón	Algodón humedecido con éter de petróleo hasta alcanzar aproximadamente 1,5 cm desde la punta de la columna, evitando obstrucciones en el paso del eluyente.
Arena marina	Se agrega una capa de arena marina de aproximadamente 1 cm de espesor, cubriendo el ensanchamiento de la columna en la parte de mayor diámetro para asegurar una filtración adecuada.
Preparación de suspensión de alúmina	Suspensión mezclando 20 g de la alúmina con 30 mL de éter de petróleo, agitándose hasta obtener una mezcla homogénea.
Introducción de la columna	La mezcla de alúmina se lleva a la columna y, utilizando el sistema

alúmina en la columna	de agitación, evitando que se forme burbujas de aire.
Recolección del exceso de éter de petróleo	Se abre la llave de la columna con precaución y se recolecta el exceso de éter de petróleo.
Verificación del nivel de la fase móvil	Se verifica que la fase móvil este por encima de la empaquetadura de la columna, asegurando que el éter de petróleo cubra la última capa.

Fuente: Autores.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

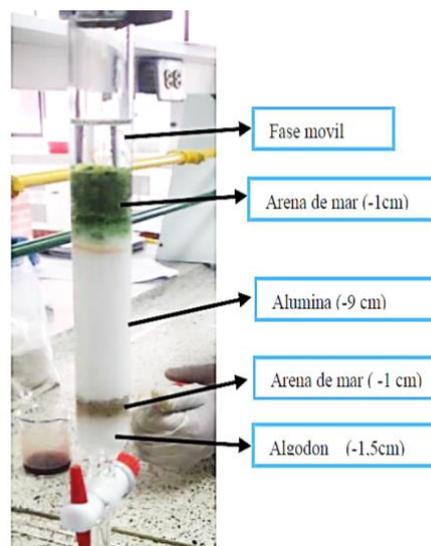
Inicialmente, se realizó el proceso de maceración de las espinacas y la acelga, lo que permitió obtener una solución concentrada. Durante este proceso, las células vegetales se rompieron, liberando los pigmentos y otros compuestos presentes en las muestras vegetales (Jácome Pilco et al., 2023). La maceración facilitó la extracción de pigmentos como la clorofila y los carotenoides, así como de otros compuestos solubles en el solvente utilizado. Una vez que las espinacas y acelgas fueron adecuadamente maceradas, el solvente se saturó con los compuestos extraídos, formando una disolución concentrada que se utilizó para análisis posteriores, con la cromatografía en columna (Ruiz Benitez, 2020).

Figura 1. Maceración de la muestra (espinaca y acelga).



Fuente: Autores.

Figura 2. Montaje de columna cromatográfica para la determinación de pigmentos naturales.



Fuente: Autores.

La separación cromatográfica de los pigmentos naturales se realizó aplicando la muestra extraída de la acelga y las espinacas en la parte superior de la columna cromatográfica. A medida que se hizo pasar un solvente o una mezcla de solventes (fase móvil) a través de la columna, los distintos pigmentos presentes en la muestra interactuaron de manera diferente con la fase estacionaria y la fase móvil, como se muestra en la Figura 2.

Los pigmentos con mayor afinidad por la fase móvil se movieron más rápidamente a través de la columna, mientras que aquellos con mayor afinidad por la fase estacionaria se desplazaron más lentamente (Urvi et al., 2022). Esto resultó en la separación de los pigmentos en diferentes bandas a lo largo de la columna. Al finalizar el proceso, se recogieron las fracciones eluidas en distintos puntos de la columna, las cuales fueron analizadas para determinar la presencia y concentración de los pigmentos presentes en las acelgas y espinacas (Sarita, 2023).

En el análisis de los resultados obtenidos durante el proceso de extracción se observó que, en el primer paso, los pigmentos carotenoides atravesaron la capa de arena de mar (James, A., et al., 2020). Al añadir éter de petróleo, se observó una separación completa de los pigmentos. En el segundo paso, el éter se volvió transparente, lo que indicó que la

clorofila fue extraída eficientemente, dependiendo de la afinidad de los solventes utilizados. La afinidad de los solventes para extraer los pigmentos está directamente relacionada con su capacidad para disolver una amplia gama de compuestos orgánicos presentes en las células vegetales, así como con su selectividad y eficiencia en el proceso de extracción como se muestra en la figura 3 (Ebrahimi et al., 2023; Glagoleva et al., 2020; Jácome Pilco et al., 2023).

Figura 3. Separación cromatográfica de pigmentos naturales.



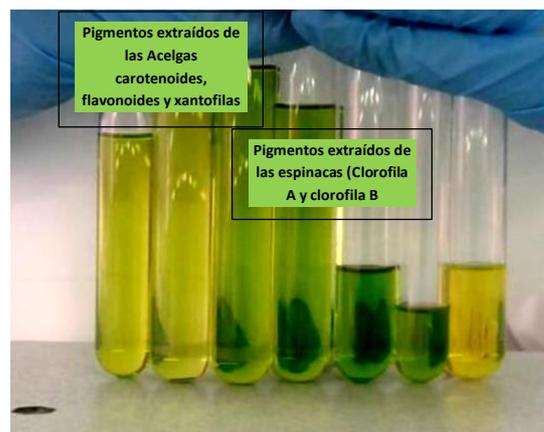
Fuente: Autores.

La cromatografía permitió obtener extractos que contenían los pigmentos separados durante el proceso. Las muestras observadas en la Figura 5 revelaron que los pigmentos presentes en las muestras vegetales de acelga y espinaca se identifican con distintos colores, indicando la presencia de clorofila A identificado (tonalidad verde oscuro) y clorofila B identificado (tonalidad verde claro) (Pérez et al., 2018). La intensidad del color verde indicó el predominio de uno u otro pigmento, o una combinación de ambos. Las muestras con color amarillo correspondieron a los pigmentos amarillos que se disolvieron con el uso del solvente en el proceso de extracción, lo que confirma la efectividad de la técnica utilizada (Dongdong, et al., 2024; James et al., 2020; Emel et al., 2004).

Los pigmentos amarillos obtenidos probablemente corresponden a carotenoides, flavonoides o xantofilas, compuestos conocidos por sus diversas funciones biológicas. Los resultados obtenidos en

esta investigación proporcionan una base sólida para la identificación y análisis más detallado de estos compuestos mediante técnicas analíticas, con el fin de determinar su composición y concentración específicas que demuestran que la cromatografía es una técnica eficaz para la separación de pigmentos vegetales (Alexandra, 2022; Takehiro et al., 2021; Xinxin et al., 2024).

Figura 5. Separación por cromatográfica de pigmentos naturales.



Fuente: Autores.

La cantidad de pigmentos extraídos de las espinacas y las acelgas varió debido a las características propias de cada planta. Las espinacas son especialmente conocidas por tener una alta concentración de clorofila, particularmente clorofila A y clorofila B, que son responsables de su característico color verde intenso. Debido a esta alta concentración, las espinacas proporcionaron una mayor cantidad de clorofila durante el proceso de extracción (Zhi Ling et al., 2012). Esto se observó claramente en las muestras extraídas, donde el predominio del color verde intenso reflejó la presencia significativa de estos pigmentos, lo que facilita su extracción y aislamiento mediante cromatografía (Glagoleva et al., 2020; Macías De Costa et al., 2003; Pérez-Cabeza et al., 2018).

En contraste, la acelga mostró una mayor diversidad de pigmentos. Aunque también contenía clorofila, la acelga se destacó por la presencia de carotenoides, pigmentos que aportan tonalidades amarillas (Sara et al., 2003). Esta diversidad de pigmentos sugiere que, a pesar de que la cantidad total de pigmentos extraídos de la acelga pueda ser menor en comparación con las espinacas, esta

planta ofrece una gama más amplia de compuestos bioactivos. La cromatografía permitió separar estos pigmentos adicionales, lo que resalta la capacidad de la técnica para discriminar entre diferentes tipos de compuestos, como los carotenoides presentes en la acelga (Magda et al., 2021; Jácome Pilco et al., 2023; Dongdong et al., 2024).

CONCLUSIONES

- Se identificaron pigmentos en las muestras vegetales principalmente como la clorofila A y B y carotenoides. Esto demuestra la versatilidad y la eficacia del método de cromatografía de columna para separar y caracterizar los pigmentos vegetales.
- Los resultados de este estudio demuestran que las espinacas y la acelga ofrecen distintas ventajas en cuanto a los pigmentos que se pueden extraer. Las espinacas, con su alta concentración de clorofila permiten una mayor extracción de este pigmento. En cambio, la acelga, al contener tanto clorofila como carotenoides, ofrece una diversidad mayor de pigmentos.
- La cromatografía en columna se ha mostrado como una técnica eficaz y precisa para la separación y análisis de estos pigmentos, lo que sienta las bases para futuras investigaciones sobre sus propiedades y aplicaciones potenciales.

AGRADECIMIENTOS

Al Instituto Universitario de la Paz por su valioso apoyo y financiamiento para llevar a cabo investigaciones innovadoras que contribuyen al avance de la ciencia y la sostenibilidad y también promueven el desarrollo de nuevas alternativas para el aprovechamiento de los recursos naturales en la región.

REFERENCIAS

- Adiga, V., Chandra P, S., Venkatesh Kikkeri, V., Praveen, C., & Senapati, S. (2023). Developing A Novel Solvent System to Isolate Plant Pigments of Different Polarities Using Thin Layer Chromatography. <https://doi.org/10.32388/I14RGE>
- Alexandra, Savcenco. (2022). Caracterización espectral y cromatográfica del colorante alimentario amarillo del cártamo. *Journal of Engineering Science*, 29(3):189-195. doi: 10.52326/jes.utm.2022.29(3).16
- Dongdong, Peng., Xiang, Huang., Jun, Wang., Yuanning, Zhai., Hengnian, Qi., Chu, Zhang. (2024). Determinación simultánea de pigmentos de hojas de espinaca (*Spinacia oleracea* L.) para inspección de calidad utilizando imágenes hiperespectrales y enfoques de regresión de aprendizaje profundo multitarea. doi: 10.1016/j.fochx.2024.101481
- Ebrahimi, P., Shokramraji, Z., Tavakkoli, S., Mihaylova, D., & Lante, A. (2023). Chlorophylls as Natural Bioactive Compounds Existing in Food By-Products: A Critical Review. In *Plants* (Vol. 12, Issue 7). MDPI. <https://doi.org/10.3390/plants12071533>
- Emel, Ergun., Birsen, Demirata., Gulcin, Gumus., Reşat, Apak. (2004). Determinación simultánea de clorofila a y clorofila b mediante espectrofotometría derivada. *Química analítica y bioanalítica*, 379(5):803-811. doi: 10.1007/S00216-004-2637-7
- Glagoleva, A. Y., Shoeva, O. Y., & Khlestkina, E. K. (2020). Melanin Pigment in Plants: Current Knowledge and Future Perspectives. In *Frontiers in Plant Science* (Vol. 11). Frontiers

- Media S.A.
<https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00770>
- James, A., Ciaccio., Kareem, Hassan. (2020). Método modificado para la extracción de pigmentos fotosintéticos de plantas para cromatografía de microcolumna. *Journal of Chemical Education*, 97(8):2362-2365. doi: 10.1021/ACS.JCHEMED.0C00503
- Jácome Pilco, C. R., Aucatoma Chico, K. B., Agualongo Sinchipa, S. A., Callan Chela, C. R., & Montero Silva, V. D. (2023). Biotecnología para la extracción de pigmentos vegetales, para uso industrial. *LATAM Revista Latinoamericana de Ciencias Sociales y Humanidades*, 4(1). <https://doi.org/10.56712/latam.v4i1.353>
- Macías De Costa, S., Montenegro, M. A., Arregui, T., Inés Sánchez De Pinto, M., Nazareno, M. A., & López De Mishima, B. (2003). Caracterización de acelga fresca de Santiago del estero (Argentina). comparación del contenido de nutrientes en hoja y tallo. evaluación de los carotenoides presentes 1. In *Ciênc. Tecnol. Aliment* (Vol. 23, Issue 1).
- Magda, Gamba., Peter, Francis, Raguindin., Eralda, Asllanaj., Francesco, Merlo., Marija, Glisic., Beatrice, Minder., Weston, Bussler., Brandon, Metzger., Hua, Kern., Taulant, Muka. (2021). Bioactive compounds and nutritional composition of Swiss chard (*Beta vulgaris* L. var. *cicla* and *flavescens*): a systematic review.. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 61(20):3465-3480. doi: 10.1080/10408398.2020.1799326
- Mancilla, C. G. E. ; C. C. R. ; R. T. M. B. E. Z. y P. S. L. J. (2018). Extracción y separación de pigmentos vegetales.
- Pérez-Cabeza, S. B., Morón Angarita, N., Cervantes, M., & Barón-Rodríguez, M. A. (2018). Evaluación del potencial antioxidante en extracto de espinaca por voltamperometría cíclica. *Revista ION*, 30(2), 99–105. <https://doi.org/10.18273/revion.v30n2-2017009>
- Ruiz Benitez, M. L. (2020). Guía de laboratorio cromatografía en capa fina y en columna. <https://bonga.unisimon.edu.co/handle/20.500.12442/7984>
- Sara, Macías, de Costa., Mariana, A., Montenegro., Teresa, Arregui., M., Inés, Sánchez, de Pinto., Mónica, A., Nazareno., Beatriz, A., López, de , Mishima. (2003). Caracterización de acelga fresca de Santiago del Estero (Argentina). Comparación del contenido de nutrientes en hoja y tallo. Evaluación de los carotenoides presentes. *Internacional de ciencia y tecnología de los alimentos*, 23(1):33-37. doi: 10.1590/S0101-20612003000100008
- Sarita, Singhal. (2023). Análisis fitoquímico de hojas verdes mediante cromatografía en columna. *Revista internacional de ciencia e investigación*, doi: 10.21275/sr23426222843
- Sanjuan Lara, K. P., Pérez Flores, J. G., Contreras López, E., Soto Vega, K., García Curiel, L., Pérez Escalante, E., Jijón, C. Á., & Portillo Torres, L. A. (2024). Exploración Integral de los Colorantes Naturales en la Industria Alimentaria: Desafíos y Oportunidades. *Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar*, 8(3), 4586–4614. https://doi.org/10.37811/cl_rcm.v8i3.11668
- Takehiro, Watanabe., Tohru, Yamagaki., Toshiaki, Azuma., Manabu, Horikawa. (2021). Distinción entre ésteres isoméricos de neoxantina y violaxantina en pétalos de flores amarillas mediante cromatografía líquida/espectrometría de masas de ionización química a presión atmosférica con matriz de

fotodiodos y espectrometría de masas en tándem. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 35(15) doi: 10.1002/RCM.9142

Urvi, Das, Sharma., Lalit, Kumar., Ruchi, Verma. (2022). Selección de fase estacionaria y fase móvil en cromatografía líquida de alta resolución. *Revista de investigación de farmacia y tecnología*, 4325-4332. doi: 10.52711/0974-360x.2022.00726

Xinxin, Yu., Hao, Chen., Xingchun, Xiang., Jingjing, Fu., Xin, Wang., Yuanhang, Zhou., Xing, Wang. (2024). Biosíntesis y extracción de clorofila, carotenoides, antocianinas y betalaína in vivo e in vitro. *Current Issues in Molecular Biology*, 46(9):10662-10676. doi: 10.3390/cimb46090633

Zhi, Ling, Chen., Jian, Ping, Chao., Bing, Kun, Wang., Hui, Lin, Cao., Song, Wang., Chi, Lin. (2012). Estudio sobre la tecnología de extracción del pigmento de la espinaca. *Advanced Materials Research*, 3931-3937. doi: 10.4028/WWW.SCIENTIFIC.NET/AMR.518-523.3931