

nº 180  
Química

Secretaria de la  
20 MAR 1977  
EN...  
Nº 1381

Extracció del b-carotè.  
Sig: CC 4  
Registre: 60154  
CRP del Segrià

EXTRACCIÓ DEL  $\beta$ -CAROTÈ



INDEX

- 1 - Presentació.
- 2 - Motivacions, circumstàncies i formes com s'ha realitzat el treball.
- 3 - Introducció al Carotè i Vitamina A.
- 4 - Exposició dels mètodes preliminaris.
- 5 - Esquema.
- 6 - Fonament, material i reactius.
- 7 - Exposició del mètode a seguir.
- 8 - Gràfiques.
- 9 - Bibliografia.

## 1. PRESENTACIÓ.

L'equip de treball el forma els alumnes de 2º curs de 2º Grau de l'especialitat de Química, de l'Institut de Formació Professional "Provençana" de L'Hospitalet de Llobregat carrer Sant Pius nº 8, telèfono: 3382553, amb la participació del professor de pràctiques Antonio Avilés.

El grup està compost per:

- Francisca Almero
- Jordi Ballesta
- Francisco Luis Blanca
- Elena Cano
- Agustí Candet
- Lúdia Díaz
- Noli Gracia
- Sergio López
- Francisco Luis López
- Francisco Cárdenas

## 2. MOTIVACIONS.

La idea de participar en el concurs ens la va donar el professor de pràctiques, que va ser el que ens va animar a realitzar l'experiment. Ens va parlar del CIRIT i de l'interessant que seria participar-hi, ja que mai no havíem realitzat una feina conjunta i era una cosa factible ja que som un grup reduït. A més a més, el nostre curs és la primera promoció de químics que surtirà de l'escola Provençana i això ens fa una mica capdavantera en qüestió d'organització i d'iniciativa.

El fet de participar en un concurs pot ser un precedent per als cursos vinents que ho prendran com exemple i els animarà a participar en properes convocatòries. També pensem que aquest treball pot quedar com material d'estudi i complement del programa educatiu dels companys d'especialitat, ja que és un treball, de tema innovador dintre del nostre camp d'acció.

El motiu d'haver realitzat aquest experiment va ser el fet que ens va atreure poder ampliar el programa que tenim i tocar nous temes. L'especialitat que estem estudiant en aquesta escola és la d'anàlisi qualitativa i quantitativa, per això ens va semblar interessant treballar -almenys una vegada- en anàlisi biològica.

Aquest camp és molt ample, és a dir, abasta molts temes i el que més ens va seduir va ser l'extracció del B- carotè, el qual deu la seva importància a que és un dels pigments que es converteixen en vitamina A.

Un dels productes que contenen una major quantitat d'aquesta substància a extreure és la pastanaga, per això nosaltres la vam elegir, com la matèria a partir de la qual vam obtenir el carotè.

Abans de començar a treballar en la part pràctica, busquem i estudiem tota la informació possible sobre els pigments i la vitamina . Després busquem alguns dels mètodes d'extracció i els provem anotant els pros i els contres i reunint el positiu de cadascun d'ells, formant d'aquesta manera un mètode apropiat per nosaltres i pel material que tenim.

Ens vam repartir <sup>el treball</sup> de la manera següent: formem grups determinats de forma que cadascun d'ells realitzi sempre la mateixa funció, de manera que cada grup arribi a dominar una operació de l'experiment, amb la finalitat d'aconseguir els màxims resultats. Finalment cal remarcar l'ajut i ànims que ens han donat tant els nostres companys d'escola com la direcció del centre, que ens ha facilitat la possibilitat de poder aprofitar totes les hores lliures de què disposem per treballar en el nostre estudi i d'utilitzar tant el material del laboratori com el de la biblioteca.

Per últim volem fer notar la dificultat que ens han suposat algunes paraules del llenguatge científic que hem utilitzat per explicar l'experiment. Ens ha sigut de molta utilitat l'Enciclopèdia Catalana i els vocabularis químics catalans, així com l'ajuda de la professora de català. Agraïm l'ajut dels administratius de quart curs que ens han passat el treball a màquina.

### 3.- INTRODUCCIÓ AL CAROTÈ I VITAMINA A.

#### - CAROTÈ:

Els pigments carotenoides són importants ja que alguns d'ells es converteixen en vitamina A. Es troben abundantment en les plantes grogues i en les verdes junt a la clorofil·la. Són poliens que pertanyen a quatre grups principals:

1.- Els carotens, hidrocarburs carotenoides,  $C_{40}H_{56}$ , que inclouen els  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ , carotens i licopens.

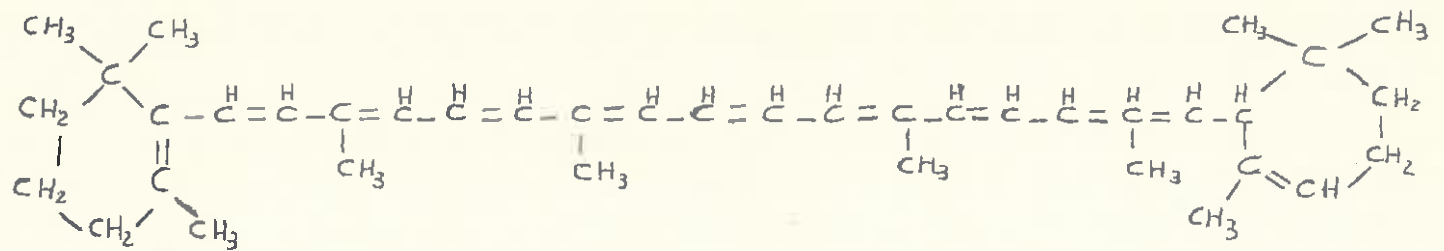
2.- Les xantofil·les són derivades de l'oxi i hidroxí dels carotens que inclouen entre altres la criptoxantina,  $C_{40}H_{55}OH$  i la luteïna,  $C_{40}H_{54}(OH)_2$ .

3.- Els esters xatofèlics, esters de les xantofil·les amb àcids grassos.

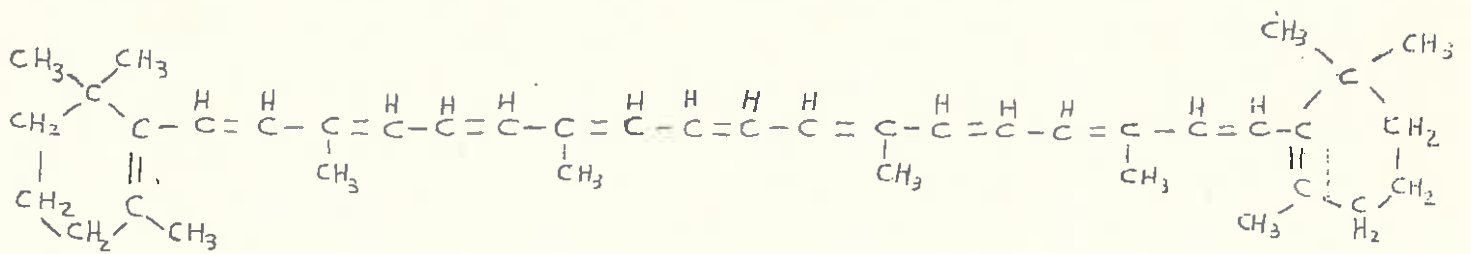
4.- Els àcids carotenoides que són derivats carboxílics dels carotens.

L'estructura dels pigments carotenoides es caracteritza per una cadena alifàtica amb grups metil insertats i un sistema de dobles enllaços conjugats, que és el responsable del color vermell o groc intens de dits compostos. Els grups terminals de la cadena alifàtica varien en els distints carotenoides i determinen l'activitat vitamínica A així com l'adsorció i propietats diferencials de solubilitat que formen la base per la separació d'uns dels altres. El sistema de dobles enllaços conjugats dels pigments carotenoides està subjecte a la isomerització "cis-trans", sent possible la formació de gran nombre d'estereoisòmers. Els estereoisòmers difereixen entre si, en potència biològica i en certes propietats físiques, tals com la capacitat d'adsorció i els seus espectres d'absorció. Encara que la configuració "trans" predomina en la majoria dels extractes de plantes fresques, aproximadament un terç d'aquestes molècules sofreixen una isomerització espontànea a la forma "cis". La velocitat d'isomerització s'incrementa per exposició de l'extracte a la llum o a l'escalfor o ambdues coses al mateix temps. Els que descriuen activitat de vitamina A contenen un anell B-ionona a un o ambdós costats de la cadena poliènica.

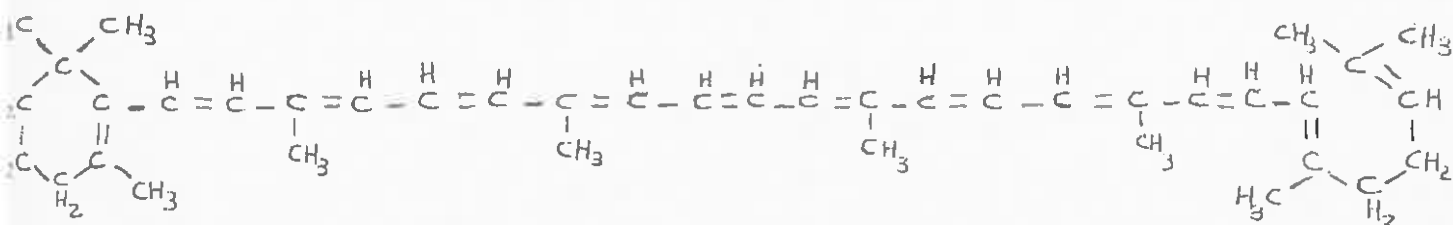
Dels varis precursors de la vitamina A que es troben en la natura els coneguts millor són  $\alpha, \beta, \gamma$  i neo- $\beta$ - carotens i la criptoxantina. El  $\beta$ - carotè contè dos anells  $\beta$ -idònics, i és capaç d'escindir-se en dues molècules de vitamina A mentre que la resta tenen un sol anell  $\beta$ - idònic i per tant són menys actius. L'activitat de vitamina A de la majoria de les verdures i fruites, es deu al seu contingut en  $\beta$ - carotè; els isòmers  $\alpha$ - $\gamma$ - neo- $\beta$  i la criptoxantina es troben en quantitats molt més petites. L'equivalent en vitamina A de cada pro-vitamina no es coneixia exactament, donat que la seva utilització per l'organisme animal depèn de les fonts vegetals, l'espècie de l'animal en qüestió i l'estat nutricional del mateix en el moment d'ingerir-lo. Un valor provitamínic arbitrari assignat al  $\beta$ - Carotè per la Farmacopea Americana és 0'6 mg. de  $\beta$ -Carotè = 1 unitat USP de vitamina A



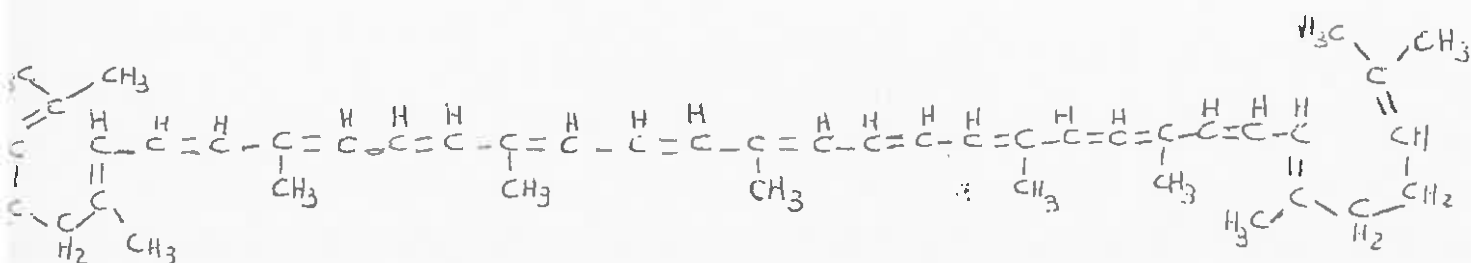
$\alpha$ - CAROTÈ



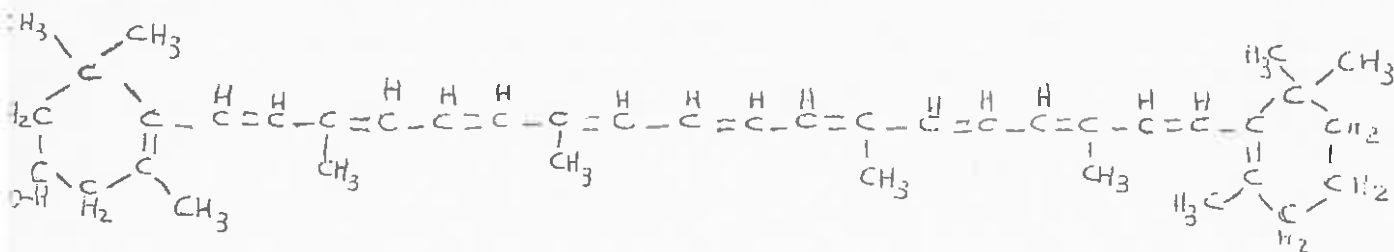
$\beta$ - CAROTÈ



β CAROTÈ



LICOPÈ



CRIPTOXANTINA

Longituds d'ona dels màxims d'absorció d'algunes provitamines en  
distints solvents (expresades m $\mu$ )

compost	ETER DE PETROLI	HEXA (11)	DISULFUR DE C.	BENZE	ALCOHOL	CLORO- FORTI	ISOOC TA(35)
carotè C <sub>40</sub> H <sub>56</sub>	447	422	477	-----	-----	-----	446
P.f. 187° 814=+323°(J)	478 ---	446 474	509 ---	-----	-----	-----	474 ---
B-carotè C <sub>40</sub> H <sub>56</sub>	451	450	485	-----	452	466	451
P.f. 184°	484	478	521	-----	480	497	479
carotè C <sub>40</sub> H <sub>56</sub>	462	---	496	477	-----	477	---
P.f. 178°	495	---	583	510	-----	510	---

PROPIETATS FÍSÍQUES I QUÍMIQUES DE LA VITAMINA A-

La vit-mina A cristal.litzada fon a 63-64°C, ordinariament es pre-  
senta en forma d'oli de color groc clar, insoluble en aigua, solu-  
ble en els greixos, alcohol metílic, èter de petroli, sulfur de  
carboni, èter i benzina.

Sensible a l'acció de l'oxigen i de la llum, es destrueix per l'ac-  
ció dels raigs ultraviolats; els antioxigens, com la hidroquinona,  
lecitines i derivats pirròlics, que la protegeixen contra l'oxidació.  
Posseix una funció alcohol i dóna èters amb els àcids. En solució  
clorofòrmica dóna una coloració blava amb el triclorur d'arsènic i  
amb triclorur d'antimoni una coloració blava que poc a poc es va  
intensificant, reacció que donen també les pro-vitamines A. Amb  
el triclor acètic dóna coloració vermella (no específica).

-PROPIETATS FISIOLÒGIQUES:

La vitamina A és primer de tot, una substància fonamental pel crei-  
xement, al mateix temps que necessària per la vida, encara que és  
molt difícil d'explicar el seu mecanisme d'acció. La seva carència  
determina en termes més o menys llargs, la detenció del creixement  
així com un debilitament de la funció visual, proporcionant una  
menor resistència a les infeccions en general.



Al costat d'aquestes molt principals accions, s'ha de fer notar que, encara que d'una importància molt secundària, sembla comprovat també que, amb la seva carència, es produeix una disminució d'hematies a la sang amb anèmia greu, augment de monòcits y disminució dels granulòcits neutròfils.

Respecte l'aparell digestiu, per absència d'aquesta vitamina es presenten lesions a les genives (mucoses), i aparició de piorrea amb presentació d'aftes i supuració de les glàndules sublinguals. A més apareixen a l'intestí lesions que engendren enteritis.

La vitaminosis A també produeix trastorns en les glàndules endòcrines, i, a excepció del tiroide, l'acció general sobre les glàndules no està ben determinada. La disminució de l'adrénalina està comprovada. Finalment s'ha de senyalar, perquè això és de notòria importància, l'acció retardatària que exerceix la vitamina A en els processos de degradació del metabolisme dels glúcids, sent a més molt interessant remarcar el fet que, entre els lípids, en general i la vitamina A, existeix una molt estreta relació.

#### - TOXICOLOGIA:

És curiós fer notar que les altes dosis de vitamina A són capaces de produir els mateixos fenòmens que els que es presenten en les hipoavitaminosis.

#### 4.- MÈTODES PRELIMINARS

##### -- EXTRACCIÓ DEL B - Carotè. PROCEDIMENT:

Pesem 80 gr. de pastanaga triturada, hi posem 160 ml d'etanol. Escalfem a reflux fins l'ebullició durant uns 5 minuts. Filtrem en un embut Buchner al buit. El sòlid es passa a un matràs i es dissol amb 160 ml. de triclor etilè, el paper de filtre també es posa dins del matràs. Escalfem a reflux durant uns 3 ó 4 minuts perquè es dissolgui el B-Carotè.

Pesem dues vegades el triclor etilè fins que estigui ben filtrat. El filtrat el passem a un embut de decantació en el qual hi ha un ml. de solució de Na Cl saturat. Després d'agitar es deixa que se separin les capes i es decanta recollint la part taronja en pots foscos perquè no es descomposi.

Dins un embut normal es col.loca una capa de cotó i damunt una altra capa de sulfat sòdic anhidre i es fa passar la dissolució del triclor etilè amb el carotè per l'embut, per eliminar l'aigua que pugui contenir. Abans de passar l'extracte per la columna s'ha d'evaporar el dissolvent.

##### -Inconvenients d'aquest procés-

Aquest procés és molt lent perquè s'han de realitzar molts passos intermedis pels quals es perd gran quantitat de producte inicial, mentre que el mètode usat posteriorment és molt més curt i efectiu.

També l'aigua s'elimina difícilment i en molt poca quantitat fet que perjudica, evidentment, el producte obtingut; mentre que, en el mètode que nosaltres hem escollit, el problema de l'aigua queda totalment resolt.

A l'utilitzar en aquest mètode l'etanol per extreure l'aigua, s'ha vist que no l'arrosejava suficientment i es va arribar a la conclusió que l'absorció de l'aigua per medi d'un dissolvent no era gaire rentable, ja que els rendiments eren baixos.

Al provar varis mètodes vam veure que l'interessant seria extreure l'aigua per evaporació, sense l'utilització de reactius intermedis,

però tampoc podíem esalfar-lo ja que el carotè s'oxidava.

Una vegada s'havia eliminat la major part de l'aigua per una filtració vam pensar en la dessecació mitjançant una estufa de buit.

### PURIFICACIÓ:

#### 1ª ELECCIÓ DEL DISOLVENT (fase mòbil)

L'alúmina es dissol en aigua per formar una pasta homogènia, es posa a la columna i s'homogeneitza amb èter de petroli.

### OBSERVACIONS:

- 1ª La fase mòbil en aquest cas l'èter de petroli no forma una pasta consistent.
- 2ª A l'homogeneitzar la columna amb èter de petroli l'adsorció produïda per la trompa de buit produeix una temperatura tal, que congela l'èter.
- 3ª Al dissoldre l'alúmina en aigua es perdia molt de temps homogeneitzant després amb èter.

Després de vàries proves trobem en un llibre la utilització d'una mescla d'èter de petroli (70%) i acetona (30%) ens quedem amb aquesta perquè formava una pasta consistent.

#### 2ª ELECCIÓ DE LA FASE FIXA:

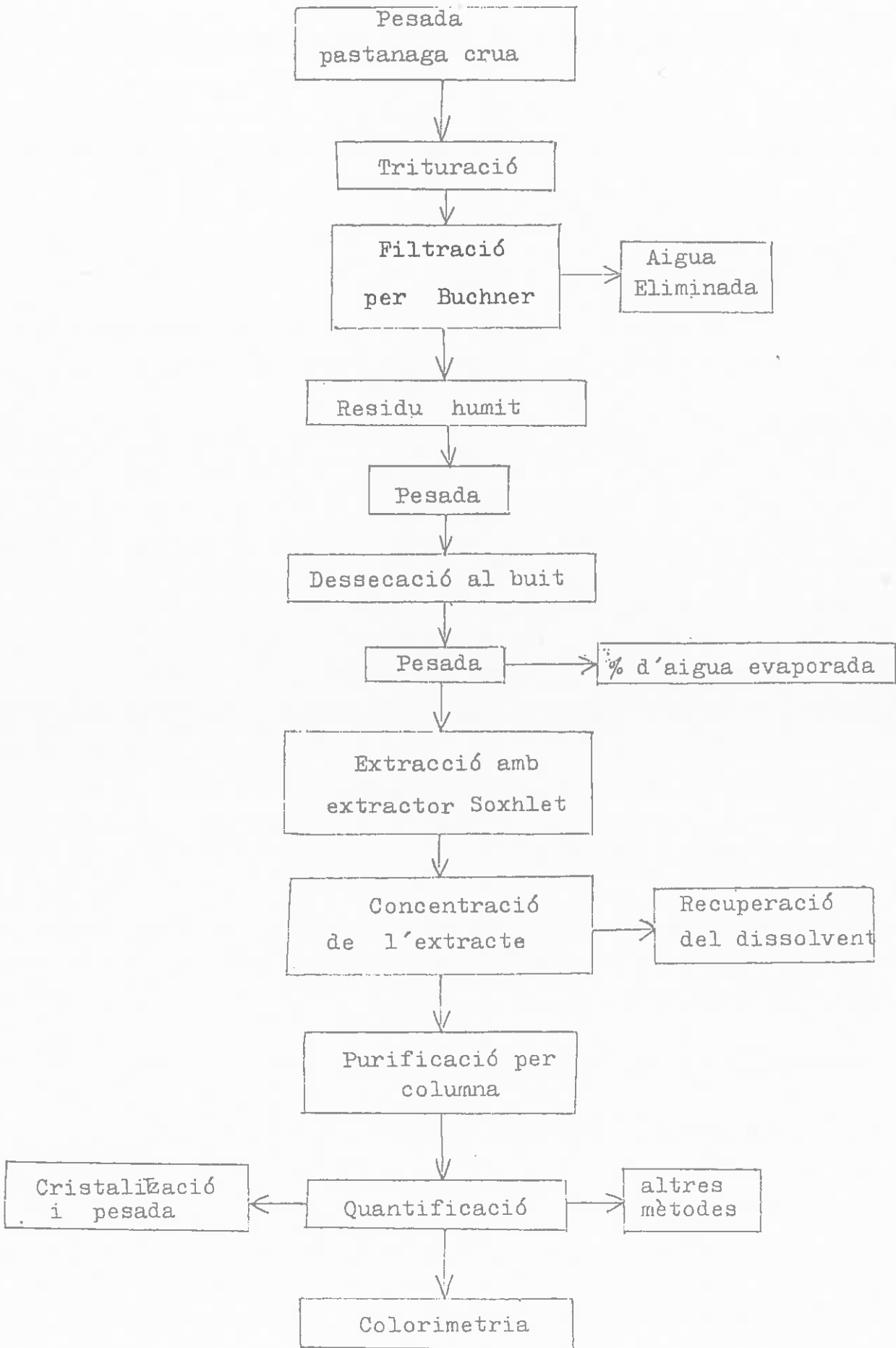
En un principi provem a fer la pasta amb  $\text{MgO}$  però no sortia compacta, així que ens quedem amb l'alúmina activada que ens va donar bons resultats.

#### 3ª PREPARACIÓ DE LA COLUMNA:

Alguns mètodes posaven el dissolvent dintre de la columna i després afegien l'alúmina activada, o al revés primer l'alúmina i després el dissolvent.

Nosaltres ho vam provar, però no sortia bé, ja que la pasta no quedava compacta, aleshores vam barrejar l'alúmina amb la dissolució dels dissolvents (èter i acetona) per separat, en un vas, i després la vam afegir a la columna.

5. ESQUEMA



6- FONAMENT, MATERIALS  
i REACTIUS

A. FONAMENT.-

El mètode es basa en les distintes solubilitats dels pigments liposolubles en solvents immiscibles. Escollint els solvents adequadament, es pot separar el carotè biològicament actiu, d'altres pigments liposolubles. Cada pigment mostra un màxim d'absorció característic, en el que és possible determinar la seva concentració fotomètricament.

B. MATERIALS.-

- Balança
- Bany d'aigua
- Bomba de buit
- Cartutx d'extracció
- Colorímetre
- Columnes cromatogràfiques
- Embut Buchner
- Embuts de separació
- Embuts de tub curt i 6 cm. de diàmetre
- Ertemueyer
- Estufa de buit
- Extractor Sholex
- Filtres
- Flascó rentador
- Kitasato
- Matràs aforat
- Pinces
- Suports
- Trituradora
- Trompa d'aigua
- Vas de precipitats

## C. REACTIUS.-

- Acetona
- Acetona al 3% i èter de petroli eluient
- Alcohol etílic
- Alúmina ( adsorbent )
- Diclor metà
- Èter de petroli
- Nítric fumant
- $\text{Na}_2 \text{SO}_4$  anhidre
- Pentaclorur d'antimoni
- Triclor etilè
- Vaselina per taps.

## 7.- EXPOSICIÓ DEL MÈTODE A SEGUIR

### A- Preparació i filtració de la pastanaga

En primer lloc es renta i se li treuen les parts que no serveixen. Pesem exactament dos quilos. Els dos quilos es fan a trossos i es posen a la trituradora. De la trituradora surt una massa homogènia i amb molta humitat.

La pastanaga triturada s'ha de filtrar per treure la major part de l'aigua mitjançant un embut Büchner acoplat a una bomba de buit. Per aquest mètode es perd una mitja del 75% de l'aigua de la pasta naga.

### B- Dessecació de buit

L'extracte que hem obtingut es reparteix en unes plàteres que es pesen prèviament, la pastanaga s'ha d'escampar per tota la superfície de la plàtera. La plàtera amb la pastanaga es pesa per saber la quantitat de pastanaga que anen a dessecar.

Disposem de dues estufes de buit, a la part superior de cadascuna d'elles pot posar-s'hi dues plàteres; a la inferior s'hi posen dos cristallitzadors amb clorur càlcic per absorbir l'aigua que es desprèn de les pastanagues.

Les plàteres es mantenen durant mitja hora dins de l'estufa, una vegada s'ha fet el buit i vigilant que la temperatura no pugi dels 30°C. Després es treuen i es pesen per veure l'aigua que s'ha perdut en el procés.

Aquesta operació es repeteix fins que les pastanagues siguin totalment seques.

L'aigua perduda en aquest pas és de l'ordre del 80%.

## EXPLICACIÓ DE LA GRÀFICA

La gràfica que s'exposa a continuació, no té altra finalitat que representar gràficament i amb ordre les operacions de pesada, dessecació, percentatge d'aigua perduda i extracte final sec.

A més, a més, dita gràfica és un centre de dades fixes, a partir de les quals, podríem calcular infinitat de dades de relativa importància com, pèrdua d'aigua parcial per dessecació, en tants per cents, importància de la quantitat de grams de què partim per les dessecacions, etc... (a més quantitat de pastenaga crua, més temps empleat i menys dessecada queda l'extracte).

Com a observació s'ha d'assenyalar que encara que de sortida tenim 2.000 grams de pastenaga crua, partim per a fer tot el procés de 750 grams, dels quals, una vegada dessecats, en queden 26'5 grams.

Els altres 1.250 grams, s'han utilitzat per a fer proves i investigar noves tècniques i processos d'identificació o bé purificació del  $\beta$  - carotè.



	1a	2a	3a	4a	5a	6a	7a	Percentatge d Eua perduda.
PLAT Nº 1	28'10	46'76	40'95	33'00	8'70	6'72	15'53	85'6 %
2	26'08	52'99	48'90	44'20	19'43	15'53	9'45	82'1%
3	28'37	49'33	43'32	23'43	17'75	16'13	13'22	84'4%
4	27'02	53'26	45'33	27'45	22'10	20'09	18'06	83'3%
5	28'47	58'77	42'03	36'67	29'12	15'32	11'43	85'3%
6	26'60	54'24	35'79	21'38	18'49	14'47	10'18	85'3%
7	26'58	36'94	7'71	5'12	4'92	---	---	86'6%
8	28'10	11'25	4'89	3'54	2'17	---	---	80'7%
9	26'08	12'14	4'84	2'28	---	---	---	81'2%
10	28'37	8'31	3'22	1'50	---	---	---	81'9%
11	27'02	8'77	5'47	2'18	---	---	---	75'1%
12	28'47	10'27	7'43	2'80	---	---	---	72'7%
13	26'58	9'58	2'38	---	---	---	---	75'1%
14	27'78	10'56	5'96	3'01	---	---	---	71'4%
15	25'69	9'61	6'57	4'05	2'90	---	---	69'8%
16	28'08	8'42	3'28	2'51	2'44	---	---	71'02%
17	26'82	7'51	3'26	1'62	---	---	---	78'4%
18	28'36	12'51	9'43	5'50	3'09	---	---	75'2%
19	26'36	13'43	11'23	8'20	3'54	2'96	---	77'9%
20	26'37	14'88	4'60	3'12	---	---	---	79'03%

489'53

79'1 %

2a

1a

CALCULS

Un cop explicat l'ús de la gràfica anterior passem a fer una petita explicació del perquè s'observa la gràfica dividida en tres parts. L'explicació és la següent, hem dividit els 2.000 gr. de pastanaga crua en tres pesades de 1.000 gr., 500 gr. i 500 gr.

Aquestes tres pesades, s'han agafat per separat per una millor rapidesa de treball, a les estufes de dessecació i a l'hora de fer pesades.

En la primera remesa de 1.000 gr., vàrem obtenir les següents dades:

- Grams totals obtinguts després de passar la pastanaga pel Buchner, partint de 1.000 gr. = 352'29 gr.

-La quantitat d'aigua perduda serà igual a la diferència d'ambdues quantitats. Així:

$$1.000 - 352'29 = 647'71 \text{ gr. d'aigua perduda en 1.000 gr.}$$

Aplicant una regla de tres:

$$\begin{array}{rcl} 1.000 \text{ gr.} & \text{----} & 647'71 \text{ gr.} \\ 100 \text{ " } & \text{----} & x \end{array} \quad x = \frac{647'71 \cdot 100}{1.000} = 64'7 \%$$

percentatge d'aigua perduda en el Buchner.

-Ara bé, partint del 352'29 gr. de residu, més o menys sec, després de les dessecacions hem obtingut: 54'21 gr.

Fent una resta, significarà:

352'29 gr. --- 54'21 gr. = 298'08 gr. d'aigua perduda després de les dessecacions. El percentatge serà:

$$\begin{array}{rcl} 352'29 & \text{---} & 298'08 \\ 100 & \text{---} & x \end{array} \quad x = \frac{298'08 \cdot 100}{352'29} = 84'6 \%$$

percentatge d'aigua perduda en total

Seguidament fem els càlculs de les altres dues "remeses" de 500 gr. (1) i 500 gr. (2).

- Grams totals obtinguts després de passar la pastanaga pel Buchner, partint dels 1ers.

$$\underline{500 \text{ gr.}} \text{ ---- } \underline{60'32 \text{ gr.}}$$

La diferència d'ambdues quantitats serà igual a la quantitat d'aigua perduda.

Així:

$$500 - 60'32 = 439'68 \text{ gr. d'aigua perduda en } 500 \text{ gr.}$$

Aplicant la regla de tres:

$$\begin{array}{r} 500 \text{ --- } 439'68 \\ 100 \text{ --- } x \end{array} \quad x = \frac{439'68 \cdot 100}{500} = \underline{87'9 \%} \text{ percentatge d'aigua perduda en el Buchner.}$$

Ara, partint dels 60'32 gr. d'extracte més o menys sec, després de les dessecacions hem obtingut 1.331 gr. La qual cosa significarà 47'01 gr. d'aigua perduda, després de les dessecacions. El percentatge serà ...

Aplicant la regla de tres:

$$\begin{array}{r} 60'32 \text{ --- } 47'01 \\ 100 \text{ --- } x \end{array} \quad x = \frac{47'01 \cdot 100}{60'32} = \underline{77'9 \%} \text{ percentatge d'aigua total perduda.}$$

- Grams totals obtinguts després de passar la pastanaga pel Buchner, partint dels 2ons. 500 gr. ---- 76'92 gr.

La diferència d'ambdues quantitats serà igual a la quantitat d'aigua perduda.

Així:

$$500 \text{ gr.} - 76'92 \text{ gr.} = 423'08 \text{ gr. d'aigua perduda en } 500 \text{ gr.}$$

Aplicant la regla de tres:

$$\begin{array}{r} 500 \text{ --- } 423'08 \\ 100 \text{ --- } x \end{array} \quad x = \frac{423'08 \cdot 100}{500} = \underline{84'6 \%} \text{ d'aigua perduda en el Buchner.}$$

Ara, partint dels 76'92 gr. d'extracte més o menys sec, després de les dessecacions hem obtingut 19'14 grs.

La qual cosa significarà 57'78 gr. d'aigua, perduda després de les dessecacions.

El percentatge serà:

aplicant la regla de tres:

$$\begin{array}{r} 76'92 \text{ g} \text{ --- } 57,78 \text{ g} \\ 100 \text{ ---- } x \end{array} \quad x = \frac{57'78 \cdot 100}{76'92} ;$$

$x = \underline{75'1\%}$  percentatge d'aigua total perduda.

-Tenim d'aclarar que les tres parts de pastanaga crues estan repartides de la següent manera:

- . Els primers 1.000 g. es reparteixen en els plats del 1 al 7.
- . Els primers 500 g. es reparteixen en els plats del 8 al 13.
- . Els segons 500 g. es reparteixen en els plats del 14 al 20.

### C.- EXTRACCIÓ.

Partim de 750 gr. de pastanaga crua i es desseca com s'ha indicat en el punt anterior (dessecació de la pastanaga).

Aquesta quantitat de pastanaga crua al dessecar-la es redueix a una quantitat de 26,50 gr.

La gran quantitat d'aigua que té la pastanaga en relació amb el seu pes sec dificulta la seva dessecació. Per tant és un procés bastant lent.

En l'extracció es parteix de la pastanaga dessecada, que s'extreu mitjançant un aparell d'extracció Soxhlet (fig. 1). Aquest aparell està compost de tres parts:

.El primer és un matràs on es posa el dissolvent i on es recollirà el concentrat del carotè.

.El segon és el cos central on s'introdueix el cartutx amb una quantitat de pastanaga.

.El tercer és un refrigerant de serpentí on es condensa el dissolvent.

### PROCEDIMENT:

En un cartutx de paper per extraccions s'introdueixen els 26,50 gr. de pastanaga dessecada en varies porcions, o bé montant diversos soxhlets. Un cop realitzat el montatge s'introdueix en un bany d'aigua amb termostat.

En un matràs de destilació es posen 150 cc d'èter de petroli (dissolvent).

Els vapors pugen pel cos extractor i pel refrigerant Ainroth, es condensen baixant en forma líquida i extraient el carotè de la pastanaga del cartutx.

Del depòsit del cos extractor parteix un tub acolzat vertical i paral·lel. Al mateix temps que s'omple el cos extractor, s'omple també el petit tub acolzat. El nivell de dissolvent anirà pujant fins que el petit tub s'ompli per complert, en aquest moment i degut al principi dels gots comunicants, es produeix un sifó, gràcies el qual, tot el dissolvent colorejat de carotè, tornarà al matràs original.

Es torna a repetir l'operació, fins que el dissolvent no absorbeixi coloració de carotè al passar pel cartutx.

La temperatura del bany d'aigua deu estar entre  $40^{\circ}\text{C}$  i  $60^{\circ}\text{C}$ .

#### D.- CONCENTRACIÓ.

Per la concentració de la solució s'emplea el montatge de destil·lació. (Fig. 2)

#### PROCEDIMENT:

En un matràs de 500 cc (per concentració més ràpida) s'introdueix la solució de carotè + dissolvent.

Una vegada tenim el montatge de destil·lació es calenta en un bany d'aigua a una temperatura de  $50^{\circ}\text{C}$  2.

El dissolvent, en aquest cas l'èter, que té un punt d'ebullició entre  $40^{\circ}\text{C}$  i  $60^{\circ}\text{C}$ , pujarà en forma de vapor i a l'arribar al refrigerant es farà líquid. Un cop hagi travessat tot el refrigerant caurà dins el matràs.

S'ha de tenir en compte que la solució no quedi seca, ja que el carotè quedaria enganxat a les parets i hauria sigut inútil.

El procés de concentració haurà finalitzat, un cop el volum de carotè + dissolvent es trobi reduït el màxim possible.

Aquesta solució es guarda en un flascó amb tap sense fisures, ja que si no el dissolvent s'evaporaria.

El dissolvent obtingut de la concentració del carotè es torna a posar dins el matràs de destil·lació i es guarda en un flascó per altres extraccions.

El carotè concentrat està preparat per passar per la columna i obtenir el carotè.

El dissolvent utilitzat en altres processos és el diclorometà, però el nostre espectrofotòmetre no té la longitud d'ona que aquest dissolvent precisa.

## E.- PURIFICACIÓ DE L'EXTRACTE:

El mètode que utilitzem és el de purificació per columna.

Preparació: En un vas de precipitats es posa una quantitat d'alúmina activada ( $\text{Al}_2\text{O}_3$ ) i s'hi afegeix una mescla d'acetona (30%) i èter - de petroli (70%), fins que es forma una solució pastosa.

Es neteja la columna i quan està ben seca, es posa una petita capa de sorra fina, s'afegeix la pasta de forma uniforme amb una vareta, intentant que no quedin bombolles d'aire ni clivelles. És molt important l'aspecte de la columna per al seu funcionament. Quan té una alçada d'uns 20 cm. s'afegeix una petita capa de  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  per atrapar qualsevol rastre d'humitat que pugués haver quedat en l'extracte.

Es prepara un kitasato net al que acoblem una trompa de buit i hi posem un tap que es comunica amb la columna, conectem l'aigua, i el dissolvent baixa, tenim la precaució de no deixar assecar la columna. Quan ha passat el dissolvent, afegim l'extracte. La massa fa de fase fixa i l'extracte de fase mòbil. El  $\text{Al}_2\text{O}_3$  adsorbeix la mescla de  $\beta$ -carotens, criptoxantina i els neo-isòmers d'aquests.

La segona banda és estreta i molt lenta, és de color taronja, conté el  $\beta$ -carotè que és el que nosaltres volem separar.

Quan la primera banda arriba fins a l'estrem de la columna, aquesta es tanca i canviem de matràs per recollir en ell la mescla carotenoida. Després es torna a canviar de matràs i recollim la segona banda,  $\beta$ -carotè, aquest es passa a un flascó de color obscur per evitar l'acció de la llum.

## F.- QUANTIFICACIÓ:

### 1. Cristallització:

Després de la columna, el carotè obtingut està dissolt en el dissolvent i com ens interessa obtenir un residu sec, fem la cristallització. Posem l'extracte en un vas de precipitats i aquest en un cristallitzador amb gel, deixem reposar en l'obscuritat fins que cristallitzi, posant gel quan l'altre es va fonent.

El resultat ha sortit negatiu.

## 2. Prova qualitativa del pentaclorur d'antimoni:

Es posa aproximadament 1 ml. de l'extracte, en un tub de proves i s'a fegeix 1 ml. d'àcid nítric fumant, agafa una coloració blava que per sisteix de 4 - 5 segons, afegim 1 ml. de pentaclorur d'antimoni i la coloració és negra.

El fet d'aparèixer la coloració blava ens confirma la presència de - carotè.

## QUANTIFICACIÓ

### 3. Determinació de la concentració per fotocolorimetria:

Com el carotè s'isomeritza fàcilment durant l'escalfament donant - neo -  $\beta$  - carotè i com aquest s'ha trobat també en alguns aliments - naturals, es pot obtenir un valor més exacte del contingut carotènic total llegint les solucions a 436 u m longitud d'ona a la que ambdós isòmers tenen la mateixa absorció. Es fa el càlcul de la concentració a partir d'una corba de calibració feta a 436 u m.

Per preparar la corba de calibració, es pot utilitzar  $\beta$  -carotè pur dissolt en èter de petroli, llegit a la mateixa longitud d'ona.

El valor final que es designa amb el nom de contingent carotènic necessàriament inclou tots els pigments en la solució final. Aquest inclouen no solament  $\beta$  -carotè, sinó també  $\beta$  -carotè en molts vegetals, i els neo-isòmers dels primers.

Tanmateix, per tots els efectes pràctics, el valor pot considerar-se com  $\beta$  -carotè exclusivament.

Per determinar la concentració de carotè en mg. per c.c. en la solució, agafem com referència la corba de calibració preparada representant el percentatge de transmissió (o densitat òptica) davant la concentració d'una sèrie de solucions de carotè.

Primer es prepara una dissolució patró com punt de referència; d'aquesta dissolució s'agafen varies porcions de 1 ml. i es dilueixen - altre cop fins 100 c.c. (amb èter de petroli totes les dissolucions), en el nostre cas preparem una dissolució de 1 mg. de  $\beta$  -carotè diluit en 100 c.c. d'èter. D'aquesta dissolució s'agafa una porció d'un ml. i es dilueix altra vegada fins 100 c.c.. S'efectua el mateix agafant 2 ml. i diluint fins 100 c.c. de bell nou i així successivament 1, 2, 3, 4, 5, 10, 15, 20 ml. preparant vuit dissolucions de concentració distinta, partint d'inicial, 1 mg./100 c.c.. Seguidament s'agafen - uns ml. de cadascuna de les solucions i es medeix la seva absorbència a 436 u m per segon, anotant curiosament el resultat.



En la gràfica següent s'ha representat absorbència que tenen les distintes solucions preparades i anomenades anteriorment. La concentració absorbència de cadascuna és:

<u>CONCENTRACIÓ</u>	<u>ABSORBÈNCIA</u>
a) 0'1 mg.	0'13
b) 0'15 mg.	0'19
c) 0'20 mg.	0'26
d) 0'30 mg.	0'40
e) 0'40 mg.	0'56
f) 0'50 mg.	0'88

En l'eix de absisses col.loqueu els miligrams i en el de coordenades l'absorbència, s'obté una recta proporcional a la concentració la qual serveix per qualsevol substància problema. En el nostre cas diluim la concentració problema de carotè en les mateixes condicions que la patró o sigui en 100 c.c d'èter, agafem 5 ml. de la solució i la diluim una altra vegada a 100 c.c. S'agafa la mostra i es mesura la seva absorbència en el colorímetre, el resultat obtingut ha sigut de 0'70 A, es mira en l'eix d'abscisses la concentració que correspon o sigui a 0'54 mg., els quals seran els miligrams que hi havien en els 5 ml. recollits anteriorment.

De 750 gr. de pastanaga cra obtenim 26'5 gr. de pastanaga seca. De 100 ml. de mostra agafem 5 ml. i el diluim vint vegades perquè la concentració és massa forta pel colorímetre i no es registra a l'escala. Així doncs ens dóna una absorció de 0'70 A que correspon a 0'54 mg. de concentració. Aquesta concentració s'ha de multiplicar per vint per tal d'obtenir la concentració que tenim en els 100 ml. inicials. Tenim doncs, 10'80 mg. de pigments carotenoides de 26'5 gr. de pastanaga seca.

Calculem els mg. de concentració de pigments que tindriem en un quilo sec:

$$\frac{10'80 \cdot 1.000}{26'5} = 407'54 \text{ mg.}$$

$$\text{I per quilo cru: } \frac{10'80 \cdot 1.000}{750} = 14'4 \text{ mg./ quilo cru}$$

Seguidament obtenim el rendiment de l'operació agafant les dades que apareixen a la bibliografia:

$$\frac{40'754 \cdot 100}{1.000} = 40'754 \%$$

Aquest tant per cent correspon a 750 gr de pastanaga crua. Per altra banda obtenim de 1.250 gr. de pastanaga crua una mesura d'absorció de 0'8 la qual correspon a 0'61 mg. de -carotè. Efectuant els càlculs anteriors ens donarien:

$$0'61 \text{ mg.} \times 50 \text{ dilució} = 30'5 \text{ mg.}$$

Si sumem aquesta quantitat (obtinguda de 1.250 gr.) més l'anterior que és 10'8 mg (obtinguda de 750 gr.) donaria 41'3 mg./2 quilos de pastanaga crua o el que és el mateix 20'65 per quilo de pastanaga crua. Segons aquest, el nostre rendiment és:

$$\frac{20'65 \text{ mg.}}{50 \text{ mg.}} \times 100 = 41'3 \%$$

Segons la bibliografia també s'obtenen 1 gr. de -carotè per quilo de pastanaga seca. Els nostres 2 quilos de pastanaga crua es redueixen a 88'19 de pastanaga seca i s'obtenen 0'452 gr. de -carotè per tant el nostre rendiment seria:

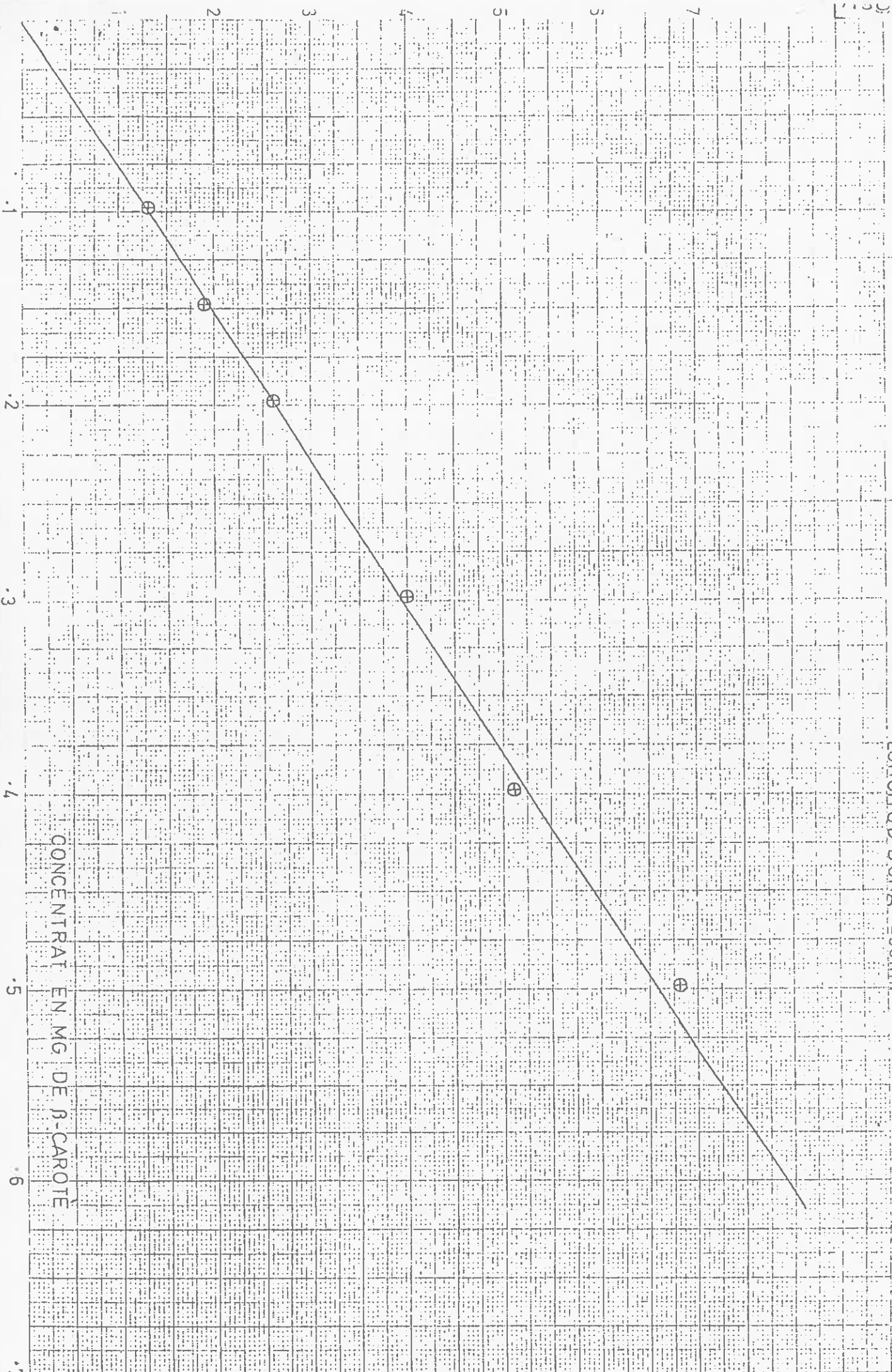
$$\frac{0'4819}{1 \text{ gr.}} \times 100 = 45'1 \%$$

NOTES:

Aquest tant per cent comparat amb les dades que vénen donades a la bibliografia poden semblar una mica baixes però s'ha de tenir en compte diversos factors.

Un d'ells seria el no poder aconseguir la sequedat total de la mostra, degut sobre tot a que amb els aparells disponibles en el laboratori, secar més, significaria arriscar-se a descomposar el producte. L'aigua ha dificultat més endavant l'extracció de Sholex i ha sigut un problema fins de l'experiment.  
el final

LONGITUD D'ONA 436nm



CONCENTRAT EN MG DE  $\beta$ -CAROTÈ

El següent problema i potser el més important amb el que ens hem trobat, ha sigut la impossibilitat de treballar en grans quantitats de producte que ens hagués permès l'obtenció d'una major quantitat de concentrat. També hagués sigut important disposar de diferents tipus de pastanaga ja que s'ha de tenir en compte que la quantitat de pigment que tenen unes i altres és diferent, i fer un mostratge ampli i representatiu. Amb 26'5 gr. d'extracte seca, la possibilitat d'arribar a error és major que posseint grans quantitats d'aquesta. Per últim dir que el mètode ha hagut de ser adaptat a les possibilitats d'un laboratori dins del qual no hi ha els aparells adequats per posar en pràctica un mètode industrial.

MONTATGE DE L'APARELL EXTRACTOR SOXHLET COMPLE RT

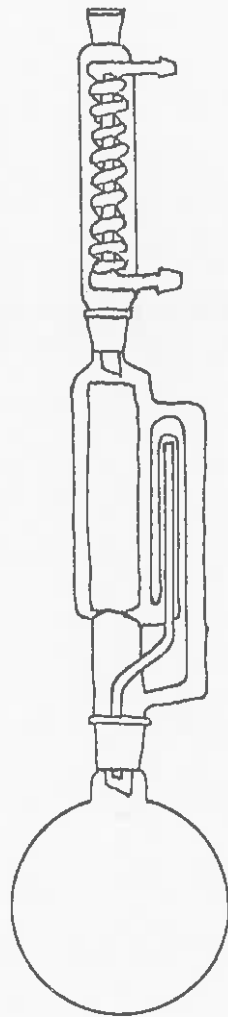
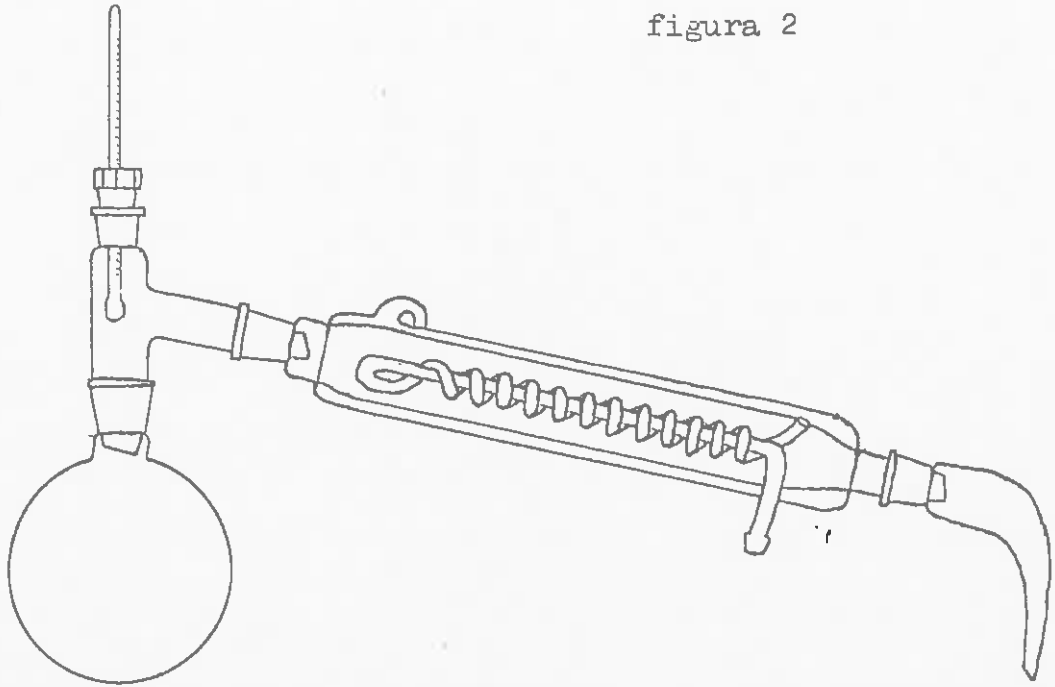


figura 1

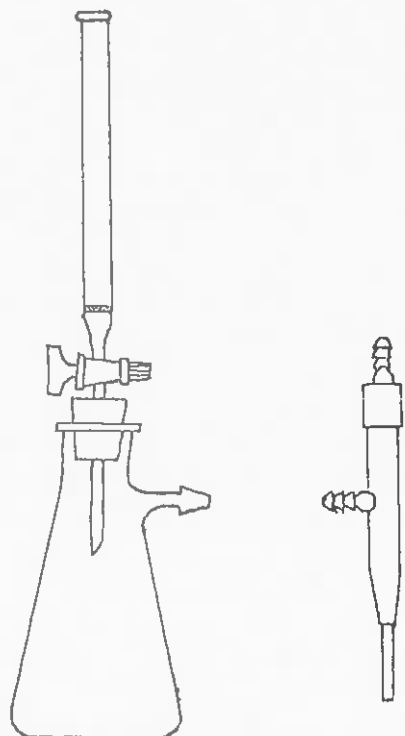
MONTATGE DE DESTILACIÓ PER A RECUPERACIÓ DEL DISSOLVENT

figura 2



MONTATGE D'UNA COLUMNA CROMATOGRÀFICA

figura 3



9. BIBLIOGRAFIA

Abbott David y R.S. Andrews: Introducción a la cromatografía  
Ed. Alhambra S.A. 1973.

Barceló José R.: Diccionario terminológico de química  
Ed. Alhambra.

Gary . Lampman. Donald y David.

Química Orgánica experimental.

Productos naturales, compuestos de interés  
farmacológico e industrial.

Georges S. Kriz Jr.

Ed. Únibar

Masjuan i Buxó M. Dolors: Vocabulari de Química.

per a batxillerat i Formació Profesional.

Generalitat de Catalunya Departament D'Ensenyament

Barcelona: 1983

"Investigación y ciencia."

Octubre 1976. Edición en español de  
SCIENTIFIC AMERICAN

Métodos de Análisis de vitaminas.

Ed. Academia-León 1969.

Vocabulari bàsic de bioquímica:

Comissió de Coordinadora lexicogràfica de ciències

Barcelona 1977.

Gran Enciclopèdia Catalana - 10 volums

Barcelona 1970.