

## CAROTENS I XANTOFILES EN PEBRE ROIG

### OBJECTE I FONAMENTS

Els colorants naturals vegetals carotens i xantofiles presenten una retenció selectiva sobre alúmina.

La concentració de carotens o xantofiles de cada fracció es determina espectrofotomètricament.

### MATERIAL

Balança analítica.

Columna cromatogràfica amb sistema de buit, segons esquema adjunt, de uns 2 cm de  $\Phi$ .

Embut cònic.

Embut petit per sòlids.

Flascó rentador.

Matràs aforat de 100 ml.

Matrassos aforats de 50 ml (2)

Pesasubstàncies.

Pipeta aforada de 1 ml.

Pipeta aforada de 2 ml.

Pipetes aforades de 25 ml.

Pipetes aforades de 5 ml.

Pipetes graduades de 5 i 10 ml.

Provetes de 100 i 50 ml.

Espectrofotòmetre

Cubetes per espectrofotòmetre

### REACTIUS

Aigua destil·lada.

Alúmina per cromatografia en columna, activitat mitjana.

Dissolució de Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 10 % (dissoldre 50 grams de sulfat de sodi pa fins a 500 ml en aigua)

Dissolució patró de Sudan I (dissoldre 0'1241 grams de Sudan I pa en 500 ml d'acetona-isopropanol(1/1) pa).

Dissolvent HAET (hexà, acetona, etanol i toluè, tots de qualitat pa, en les proporcions 10/7/6/7).

Hexà pa.

Hexà-acetona 90/10 (qualitat pa en les proporcions indicades).

Hexà-acetona 96/4 (qualitat pa en les proporcions indicades).

Hexà-acetona-metanol 80/10/10 (qualitat pa en les proporcions indicades).

KOH al 40 %, dissolució metanòlica (dissoldre 47'1 grams d'hidròxid de potassi pa del 85% en alcohol metílic fins a 100 ml, i filtrar amb placa porosa si es presenta residu insoluble).

Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidre pa.

## METODOLOGIA

- 1.- Pesar exactament al voltant de 0'5 grams de farina de pebre roig i passar a un matràs aforat de 100 ml.
- 2.- Pipetejar 30 ml de dissolvent HAET en el matràs aforat; tancar i sacsejar 1 minut.
- 3.- Afegir 1 ml d'aigua, tancar, sacsejar 1 minut i deixar reposar 16 hores a les fosques.
- 4.- Afegir 2 ml de dissolució metanòlica de KOH al 40 %, agitar 1 minut i deixar reposar 1 hora a les fosques.
- 5.- Afegir, amb pipeta, 30 ml d'hexà, agitar 1 minut i afegir dissolució de Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 10 % fins omplir part del coll del matràs (no cal arrasar exactament); tancar i sacsejar amb energia durant 2 minuts.
- 6.- Deixar reposar 1 hora a les fosques.
- 7.- Preparar una columna cromatogràfica al buit segons l'esquema. Omplir-la fins 10-12 cm amb alúmina, posant l'alúmina en petites capes i trepitjar-les amb suavitat; posar-hi pel damunt una capa de 1 cm de sulfat de sodi anhidre.
- 8.- Posar 5 ml de la capa superior (zona del coll) del matràs a la columna; fer buit molt suau fins que quedin els 5 ml absorbits a la part superior de la columna.
- 9.- Passar per la columna hexà-acetona(96/4), fins que comenci a sortir líquid per la part inferior de la columna.
- 10.- Passar hexà-acetona(90/10) fins eluir la banda de carotens, arplegant el líquid en un matràs aforat de 50 ml; portar a volum amb el dissolvent hexà-acetona(90/10) i homogeneïtzar.
- 11.- Passar hexà-acetona-metanol(80/10/10) fins eluir la banda de les xantofiles, arplegant el líquid en un matràs aforat de 50 ml; portar a volum amb el mateix dissolvent i homogeneïtzar.
- 12.- Llegir en espectrofotòmetre l'absorbància de la dissolució de carotens a 435 nm i la de la dissolució de xantofiles a 475 nm, enfront d'un blanc dels dissolvents emprats en cada cas.

### Determinació dels factors de correcció de l'espectrofotòmetre

- 1.- Recalibrar l'espectrofotòmetre de manera que entre 470 i 480 nm, l'absorbància de la dissolució patró de Sudan I (acabada de preparar), tingui el màxim d'absorbància a 475 nm.
- 2.- Determinar l'absorbància de la dissolució extemporània de patró de Sudan I, a 435 nm i a 475 nm i calcular els factors de correcció.

## CÀLCULS

El resultat s'expressa en mil·ligrams/Kg (ppm):

$$\text{Carotens} = 255 \cdot A_{435} \cdot \frac{V_f}{V_d} \cdot \frac{F_{435}}{m}$$

$$\text{Xantofiles} = 212 \cdot A_{475} \cdot \frac{V_f}{V_d} \cdot \frac{F_{475}}{m}$$

expressions en les quals:

**A435** = Absorbància a 435 nm.

**A474** = Absorbància a 475 nm.

**Vf** = Volum final de la porció eluïda.

**Vd** = Volum de la porció que es passa per columna.

**F435** = Factor de correcció espectrofotomètric a 435 nm.

**F475** = Factor de correcció espectrofotomètric a 475 nm.

**m** = pes de la mostra en grams.

Els valors del factors de correcció són:

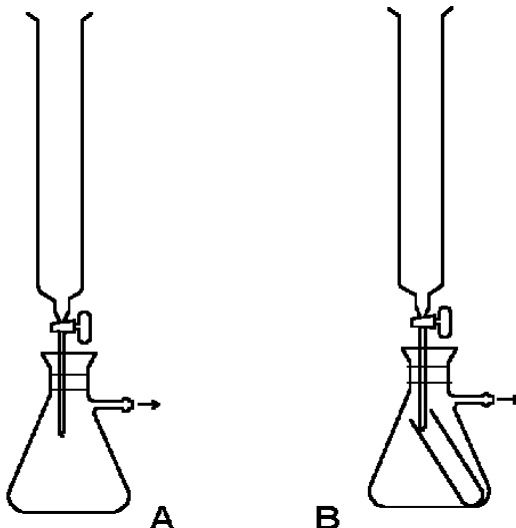
$$F_{435} = \frac{0'460}{A_{435}^{\circ}} \text{ (carotens)}$$

$$F_{475} = \frac{0'561}{A_{475}^{\circ}} \text{ (xantofiles)}$$

a on els **A<sub>o</sub>** són les absorbàncies de la dissolució patró de Sudan I.

## OBSERVACIONS

El mètode és aplicable, canviant la quantitat a pesar i els volums d'elució i d'arrasament dels eluïts, per alfals deshidratat, moresc, curri i pinsos de contingut gras no excessivament alt.



Muntatge per cromatografia en columna al buit:

A) Sense arreplegar fracció.

B) Arreplegant fracció.

## Questionari 19.1.- Carotens i xantofiles en pebre roig

1.- Deduir raonadament les fórmules utilitzades en els càlculs (considerant que l'activitat òptica del Sudan I en les condicions esmentades equival a la de 255 mg de carotens i 212

mg de xantofiles, considerant les elucions fins el punt 9).

2.- Quin objectiu té l'addició de KOH (subapartat 4 de la metodologia)?

3.- Per quin motiu es deixa reposar la mostra a les fosques en els punts 3, 4 i 6 de la metodologia?

4.- Fer l'esquema gràfic del procediment analític.

5.- Confeccionar el corresponent "butlletí d'anàlisi".