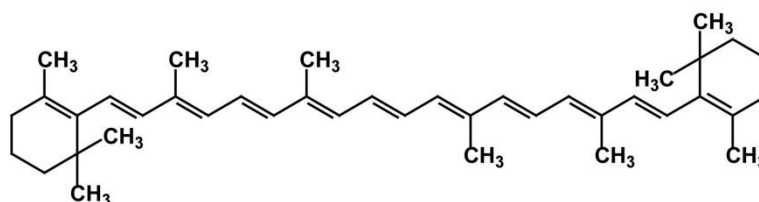


Práctica 6. Nanoestructuras naturales en alimentos: β -caroteno en zanahorias

El principal objetivo de esta práctica es concienciar al alumno en la existencia de nanoestructuras naturales en los alimentos. En este sentido, se llevará a cabo la extracción y detección mediante espectroscopia UV/visible del β -caroteno contenido en zanahorias.

6.1 Introducción

El β -caroteno fue el primer carotenoide purificado. En 1831, Wackenroder lo aisló en forma cristalina a partir de la zanahoria, dándole el nombre que lleva, derivado de la denominación latina de este vegetal (*Daucus carota*).



Aunque su valor vitamínico es solamente de alrededor de un sexto del valor del retinol (la “vitamina A” en su forma metabólicamente activa), su abundancia en los vegetales y también en algunos alimentos animales, como la leche, hace de él una fuente fundamental de vitamina A para muchísimas personas. Incluso en dietas relativamente pobres en productos vegetales, como es la estadounidense, los carotenoides representan alrededor del 30% de la ingesta total de vitamina A. Son

ricas en β -caroteno la zanahoria, que contiene entre 70 y 140 mg/kg, los vegetales verdes como la espinaca y algunas frutas. En los vegetales verdes el β -caroteno se encuentra en los cloroplastos, junto con xantofilas, y suele ser el carotenoide mayoritario. En las frutas, en cambio, el carotenoide mayoritario depende de la especie. El β -caroteno lo es en el mango y en el kaki.

El β -caroteno se emplea mucho como colorante alimentario. Al ser insoluble en agua, no es fácil de utilizar, por ejemplo para colorear bebidas refrescantes, una de sus principales aplicaciones. En este caso, se utiliza en forma de polvo extremadamente fino, en partículas de alrededor de 400 nm de diámetro, que se puede dispersar en el agua, con la ayuda de un polisacárido como la goma arábiga. Se obtiene actualmente por síntesis química, o bien por cultivo de *Dunaliella salina*, un alga microscópica que prolifera en aguas con concentraciones muy elevadas de sal.

El β -caroteno, como todos los carotenoides, puede sufrir isomerizaciones en condiciones de procesado drásticas, como en el caso del enlatado. Dependiendo del producto y de las condiciones concretas, puede llegar a isomerizarse entre el 30% y el 40% del todotrans β -caroteno presente, formándose sobre todo los isómeros 9-cis y 13-cis.

La isomerización reduce el valor como vitamina A del β -caroteno. La forma 13-cis tiene aproximadamente la mitad de valor como vitamina A que a forma todotrans, mientras que la forma 9-cis tiene un valor vitamínico del orden del 40% de la todotrans. Sin embargo, esta pérdida se ve compensada en general muy sobradamente por la mucha mayor biodisponibilidad del β -caroteno, al desnaturalizarse en este proceso las proteínas a las que se encuentra unido en muchos alimentos, especialmente en los vegetales.

Fundamento teórico

Los grupos funcionales (cetonas, aldehídos, dobles enlaces,...) dan bandas características en los espectros de absorción en UV/visible. Son los llamados grupos cromóforos.

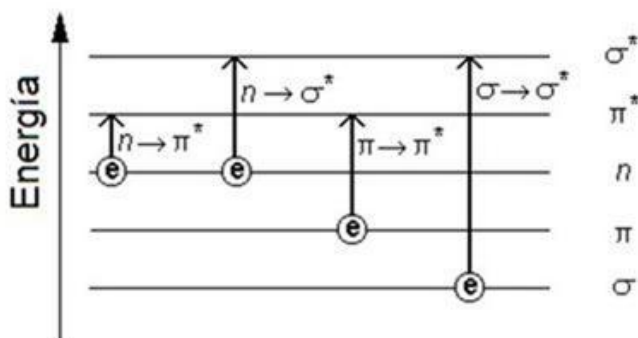


Diagrama esquemático de las transiciones más habituales en la región del UV/visible

Un enlace doble produce una banda en 180 nm (región del UV lejano). Al aumentar el número de enlaces dobles conjugados, la longitud de onda a la que se observará el máximo de absorción se desplazará hacia valores mayores. Es lo que se conoce como el efecto batocrómico (λ_{rojo}). La posición de dicha banda dependerá del grupo funcional, del resto de sustituyentes de la molécula y del disolvente.

En esta actividad emplearemos el β -caroteno como colorante conjugado. En este caso se trata de una molécula que tiene 11 enlaces dobles conjugados. Por el efecto batocrómico, la longitud de onda de la banda se desplazará a mayores valores, estando alrededor de los 450 nm (región del visible).

6.2 Reactivos

Zanahoria, etanol (96 %), éter de petróleo, agua destilada.

6.3 Materiales

Rayador (1), cristizador (1), vidrio de reloj (1), erlenmeyer (1), probeta (1), embudo de decantación (1), tubo para el secado en vacío (1), cubeta UV/visible (1).

6.4 Procedimiento

Apartado A Extracción del β -caroteno de la zanahoria

- _1. Se pesan unos 5 g de zanahoria rayada en un erlenmeyer que contiene 25 cm³ de etanol (96%) y se agita durante 15 minutos (sin calentar). De esta forma obtendremos una mezcla de β -caroteno y xantofilas.
- _2. Se filtra la solución sobre una probeta y se diluye con agua destilada hasta obtener una concentración de etanol del 85% aproximadamente.

Apartado B Separación del β -caroteno de las xantofilas

Para llevar a cabo esta separación, se tendrá en cuenta la diferencia de polaridad entre ambas sustancias. La xantofila es una molécula más polar que el β -caroteno.

- _1. Se añade la disolución a un embudo de decantación junto con 15 cm³ de éter de petróleo y se agita vigorosamente.
- _2. Se deja reposar durante unos 30 minutos hasta observar una separación de ambas fases. En caso de que no se distinga bien dicha separación, se puede disminuir el pH de la disolución introduciendo una pipeta mojada en HCl.
La fase que se encuentra en la parte inferior del embudo de decantación (fase alcohólica) contiene las xantofilas se retira, mientras que la superior (fase etérea) es la que contiene el β -caroteno y se introduce en un tubo con esmerilado. Esta fase etérea se lleva al sistema de vacío donde se evapora hasta sequedad. De esta forma, se habrá aislado el β -caroteno en forma de polvo anaranjado.
- _3. Se disuelve el polvo obtenido en una pequeña cantidad de etanol y se registra su espectro en la zona de 360 a 550 nm. Se determina la longitud de onda del máximo de absorbancia (λ_{pick}).



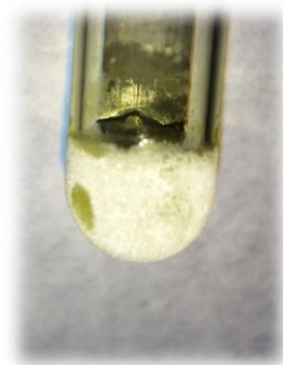
Pesar 5 g



Extracción



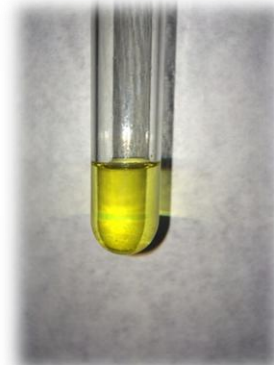
Secado en vacío



Secado en vacío



Secado en vacío



Disolución en etanol

Apartado C Cálculo de la λ teórica

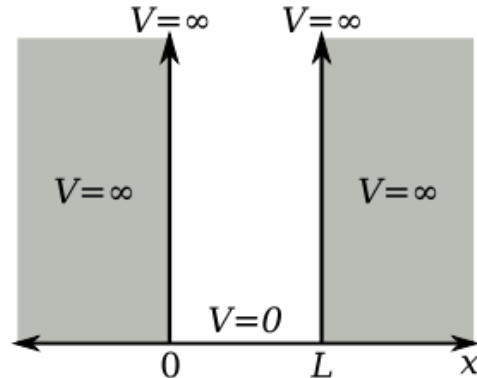
Para calcular la longitud de onda teórica del máximo de absorbancia, se emplea el modelo de partícula en una caja. Para ello se debe tener en cuenta que el β -caroteno posee 11 enlaces tipo π . Se considera que los electrones π se mueven sujetos a un potencial generado por los núcleos y los electrones σ dentro de una zona determinada y fuera de dicha zona, el potencial es infinito. Se trata de una aplicación del modelo de la partícula en una caja unidimensional.

$$E_n = n^2 \frac{h^2}{8 m_e L^2}$$

L: longitud del sistema π

m_e : masa del electrón

n: n^o de enlaces π



Lo que se hace es separar los orbitales moleculares σ y los π . Los orbitales σ son los responsables de la geometría de la molécula (indican el valor del potencial dentro de la molécula). Los electrones π se mueven libremente a lo largo de la cadena. Se supone que la energía correspondiente a los orbitales moleculares π puede igualarse a los niveles de energía de la partícula en una caja unidimensional. Siguiendo el principio de exclusión de Pauli, en cada nivel de energía tan sólo pueden alojarse dos electrones π . En el caso del β -caroteno, existen 22 electrones π , por lo que se distribuirán en 11 niveles de energía. La transición electrónica se producirá entre los niveles de energía 11 y 12. Para calcular la longitud del sistema π es necesario conocer las longitudes de los dos tipos de enlaces en la molécula de β -caroteno:

$$r_{C-C} = 1.54 \text{ \AA}$$

$$r_{C=C} = 1.34 \text{ \AA}$$

$$L = 9(r_{C-C} \cos 30 + r_{C=C} \sin 60) + r_{C-C} \cos 30 = 23.78 \text{ \AA} = 23.78 \cdot 10^{-10} \text{ nm}$$

$$m_e = 9.10939 \cdot 10^{-31} \text{ kg}$$

$$h = 6.62 \cdot 10^{-34} \text{ Js}$$

$$c = 3 \cdot 10^8 \text{ m/s}$$

$$\Delta E = \frac{h^2}{8 m_e L^2} [(n+1)^2 - n^2] = (2n+1) \frac{h^2}{8 m_e L^2} = \frac{h c}{\lambda_{teórica}}$$

6.5 Cuestiones

1. Determinar la longitud de onda del máximo de absorbanza (λ_{pick}) para el β -caroteno extraído, registrando el espectro de UV/visible entre 360 y 550 nm cada 5 nm.
2. Calcular la longitud de onda teórica ($\lambda_{\text{teórica}}$).
3. Calcular el porcentaje de error según la fórmula:

$$\text{Error} = \frac{\lambda_{\text{teórica}} - \lambda_{\text{pick}}}{\lambda_{\text{teórica}}} 100$$

4. Teniendo en cuenta el error obtenido, ¿se ajusta la aproximación del modelo de partícula en una caja unidimensional al sistema en estudio? ¿por qué?

