



# Extracción y cuantificación de licopeno en tomates frescos

**Alumno:** Sebastián Yaneselli, Carolina Botta, Natalia Chury

**Grupo:** 3° BG

**Fecha de realización:** 05/09/2016

# Índice

<b>Resumen:</b> .....	2
<b>Introducción:</b> .....	2
<b>Objetivos:</b> .....	2
<b>Marco teórico.</b> .....	3
Extracción de grasas con equipo Soxhlet:.....	7
Espectrofotometría .....	9
Solventes (Hexano, Acetona, Cloroformo): .....	11
Rotavapor: .....	12
<b>Materiales / Sustancias / Soluciones:</b> .....	13
<b>Técnicas:</b> .....	14
<b>Recolección y análisis de datos:</b> .....	15
<b>Discusión de resultados y conclusiones:</b> .....	18
Conclusión:.....	19
<b>Perspectivas:</b> .....	20
<b>Referencia Bibliográfica:</b> .....	20
<b>Anexos.</b> .....	21

## **Resumen:**

Se realizó la extracción y cuantificación de licopeno presente en tomates frescos mediante espectrofotometría. Se utilizaron dos métodos diferentes de extracción; en uno se extrajo mediante filtración al vacío, y en el segundo procedimiento se extrajo por medio del equipo Soxhlet, en ambos casos se utilizó el Rotavapor para obtener el licopeno, extraído posteriormente con una solución de cloroformo y hexano. Luego de la extracción, se realizó una curva de absorbancia con licopeno patrón para posteriormente poder determinar la concentración exacta de nuestra muestra. Se obtuvo un mejor rendimiento de extracción por el método Soxhlet, donde la concentración de licopeno fue de 4,625 mg/100 g de tomate fresco. Se puede concluir que la cantidad de licopeno en nuestra muestra se encuentra dentro de los parámetros investigados que determinan la cantidad de licopeno presente en los tomates frescos.

## **Introducción:**

Este proyecto se realiza para culminar el año de estudio en el curso de química básica e industrial para ser más preciso en el tercer año, es el año de egreso, es un trabajo coordinado con los docentes que nos asignan un tema para posteriormente trabajar y presentar en forma de proyecto y exposición.

El tema designado es el de extracción y cuantificación de licopeno en el tomate, el licopeno es un pigmento natural perteneciente a la familia de los carotenoides y se pueden clasificar en dos grupos: los carotenos formados por hidrógeno y carbono, y las xantofilas, formadas por carbono, hidrógeno y además oxígeno. El licopeno se utiliza para las industrias farmacéuticas, cosméticas y de alimentos. Nosotros realizaremos el proyecto en base a la investigación de otros proyectos, donde desarrollamos una técnica previamente realizada y trabajando con valores estándar de la cantidad de licopeno presente en tomates.

## **Objetivos:**

Extraer licopeno en puré de tomate y cuantificar por espectrofotometría, a través de dos métodos diferentes

## Marco teórico:

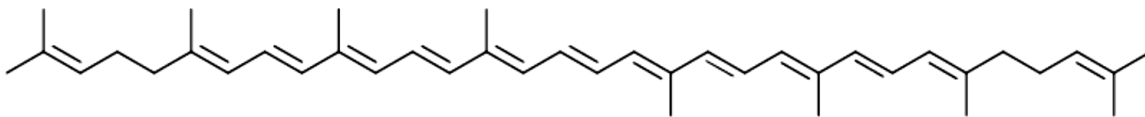
A continuación se desarrolla la información detallada del licopeno, y los distintos equipos que se usaran en la extracción del mismo.

## Licopeno:

V.Castro, C.Murcia (2013) afirman:

El licopeno es un hidrocarburo alifático acíclico, que como ya se mencionó proviene de la familia de los carotenoides y otorga el color rojo característico a los tomates, y en menor cantidad, a diversas frutas y hortalizas. Presenta una fórmula molecular  $C_{40}H_{56}$  y su masa molar es de 536.85g/mol, también posee trece dobles enlaces, de los cuáles once son conjugados, linealmente ordenados que lo hacen extremadamente hidrofóbico, presentando una mayor solubilidad en grasas y en lípidos; pero es susceptible a la degradación oxidativa, permitiéndole ser un compuesto muy reactivo frente al oxígeno, luz, y a los radicales libres. Al poseer una estructura acíclica, el licopeno presenta una simetría plana y no tiene actividad de vitamina A debido a la carencia de un anillo de  $\beta$ -ionona

En la Figura 1, se observa la estructura química del licopeno, con dobles enlaces trans, si bien existen isómeros con algunas uniones cis .



**Figura 1 Estructura química del licopeno todo-trans**

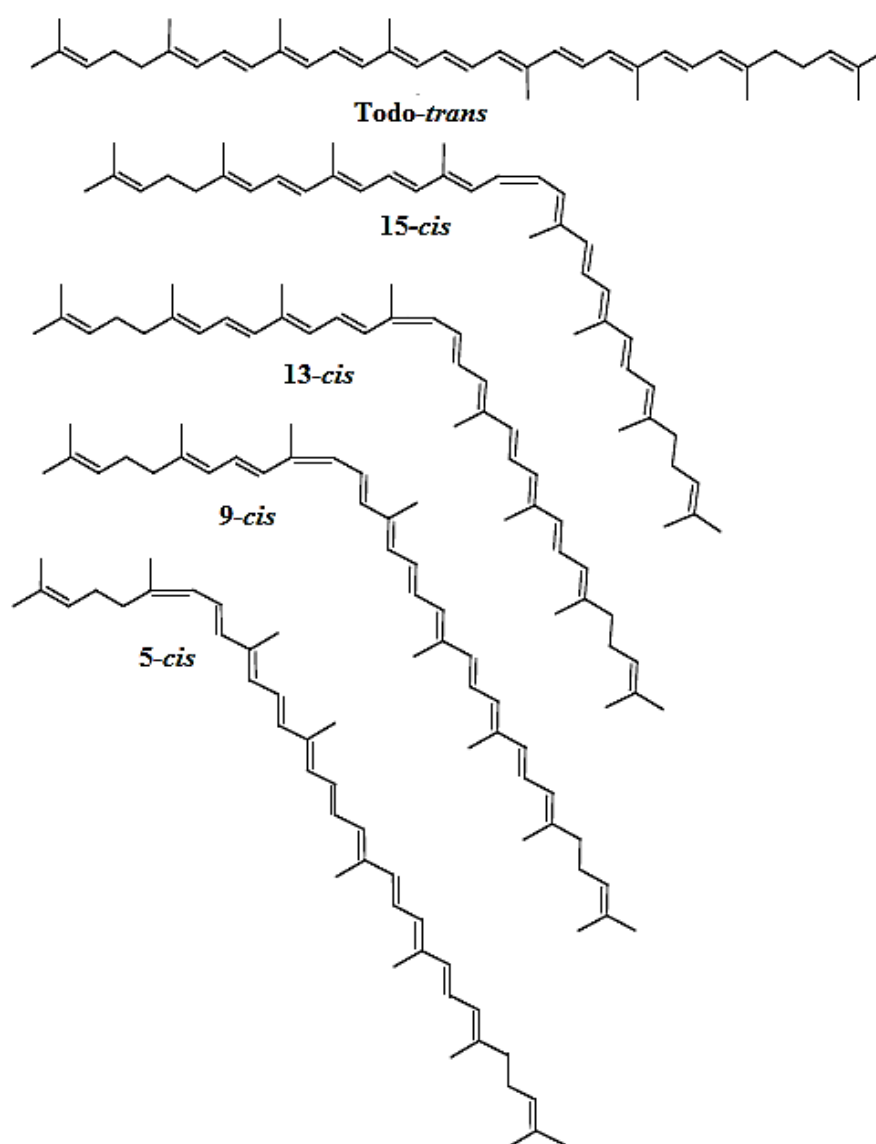
*Fuente: Vitale et al. [2010]*

A. Martí, D. Sánchez, (2008) afirman:

El licopeno en los tomates consiste en un 94-95% todo trans, 3-5% 5-cis, 0.1% 9-cis y <1% otros cis-isómeros. La cadena de polieno del licopeno al ser inducida por energía térmica, luz y reacciones químicas experimenta un proceso de isomerización como se observa en la Figura 2

El licopeno por ser la molécula más simple de los carotenos, sirve de sustrato base para la obtención de la mayor parte de los carotenoides cíclicos, que se pueden formar por ciclación, hidroxilación u oxidación, o bien por combinación de las tres. Estas reacciones se originan de uno o de los dos extremos de la cadena, de esta manera la vía biocinética se va ramificando

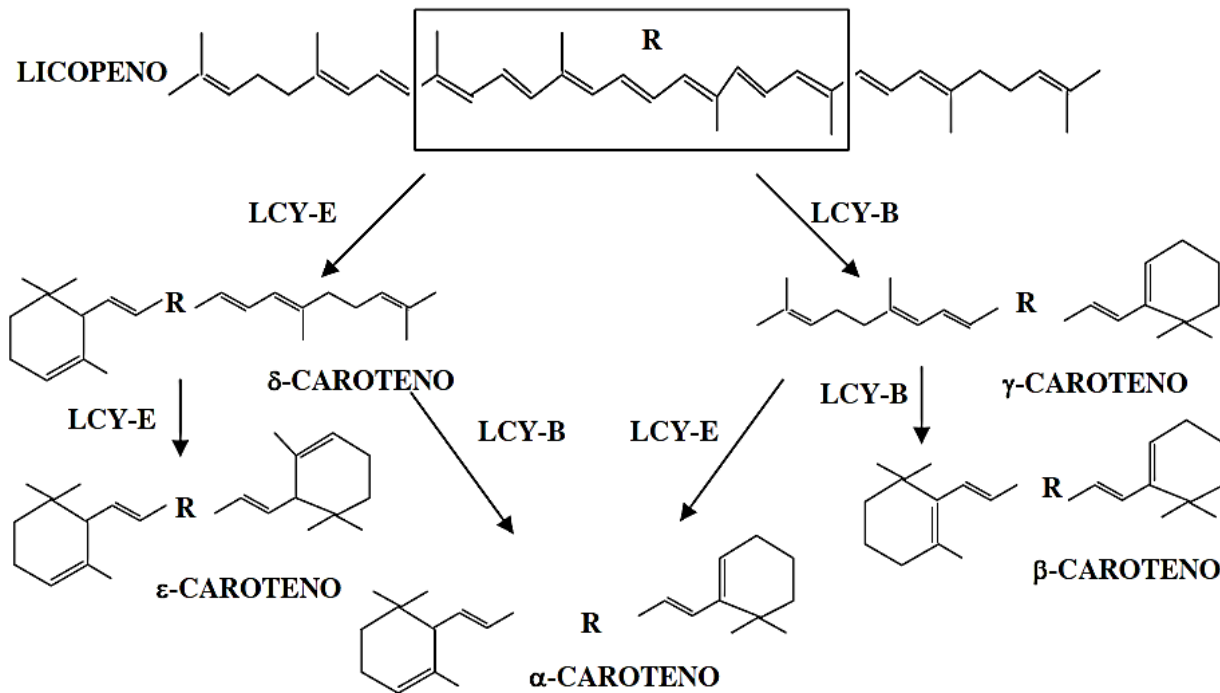
formando así los distintos carotenoides la reacción de ciclación de licopeno se lleva a cabo por la formación de ciclos en ambos extremos de la molécula dando como resultado los compuestos  $\alpha$ ,  $\beta$  o  $\epsilon$  caroteno, mediante la enzimas  $\beta$ - o  $\epsilon$ -licopeno ciclasa. Cuando actúa la enzima  $\beta$ - lycopeno ciclasa (LCY-B) sobre el licopeno, esta enzima cataliza la formación de un anillo  $\gamma$ -ionona en un extremo de la cadena originando el  $\gamma$ -caroteno; consecutivamente la enzima actúa sobre el compuesto formado, dando lugar a la producción de  $\beta$ -caroteno, precursor de xantofilas como zeaxantinas, violaxantinas y anteraxantina. Mientras que el  $\epsilon$ -licopeno ciclasa (LCY-E) cuando opera sobre el licopeno cataliza la formación de un anillo  $\delta$ -ionona dando origen al  $\delta$ -caroteno, la enzima sigue su reacción sobre este compuesto formando el  $\epsilon$ -caroteno, el cual es poco común en plantas y algas, y se encuentra en cantidades muy bajas.



**Figura 2 Estructuras químicas de los isómeros cis del licopeno**

Fuente: Agarwal y Rao [2000]

Por último, la formación del  $\alpha$ -caroteno se da bajo la acción de dos enzimas, LCY-B que cataliza sobre el  $\delta$ -caroteno y LCY-E sobre  $\gamma$ -caroteno. Los anillos  $\epsilon$  difieren de los  $\beta$  en la posición del doble enlace dentro del ciclohexano (ver Figura 3)



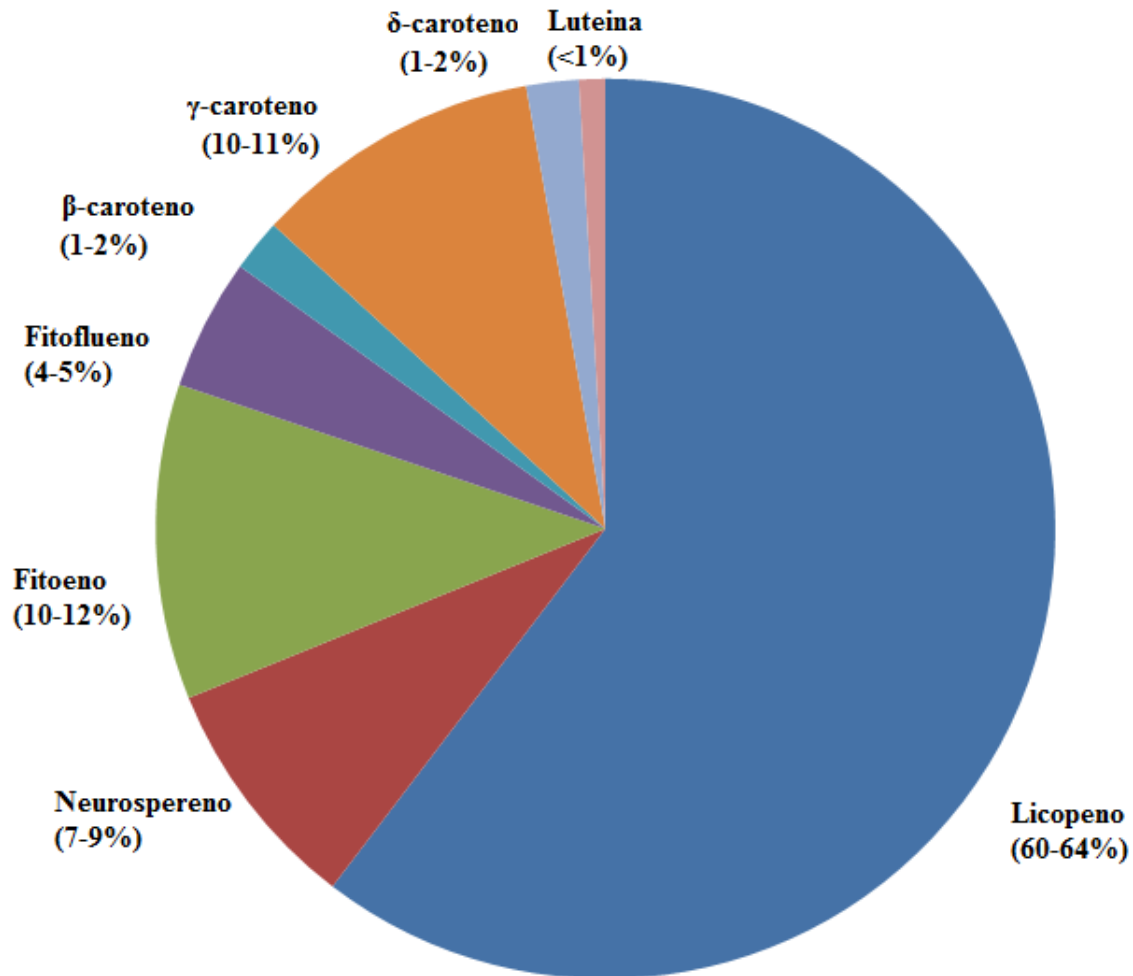
**Figura 3 Biosíntesis de carotenoides cíclicos a partir del licopeno. LCY-E= Licopeno  $\epsilon$ -ciclase; LCY-B= Licopeno  $\beta$ -ciclase**

Fuente: Del Villar-Martínez Alma Angélica et al. [2007]

V. Castro, C. Murcia (2013) afirman:

Como se observa en la Tabla 2 la mayor fuente proviene del tomate fresco y sus productos alimenticios, tales como salsas, jugos y conservas, en el que el licopeno constituye más del 60% de otros carotenoides presentes en la hortaliza y derivados (Ver Figura 4). Teniendo en cuenta también que las concentraciones del caroteno aumenta con el grado maduración de los frutos y/o hortalizas. En efecto, el cambio de color verde a rojo de los alimentos se debe a una modificación de alta proporción del grupo de los carotenos debida a la desaparición de la clorofila, y mínima para el grupo de las xantofilas presentes en el mismo. Sin embargo, la concentración de licopeno en el fruto puede variar presentando grandes diferencias según la variedad, las condiciones del cultivo (tipo de suelo y clima), tipo de almacenamiento, procesado, entre otros. Del mismo modo, también varía según en la recolección del alimento,

es decir, que es menor en frutos que se recolectan verdes y maduran en el almacén en comparación con los frutos madurados en la planta. En pocas palabras, el licopeno puede encontrarse como isómeros cis y trans, pero los primeros son más abundantes en los productos procesados que en los frescos; y en el cuerpo humano se acumulan preferentemente en la sangre y en tejidos (hígado, pulmones, cuello uterino, testículos, próstata, colon y piel), siendo los más importantes los trans y el 5-cis-licopeno (Ver Figura 2)



**Figura 4. Perfil de Carotenoides de productos de tomate**

*Fuente: [Roldán-Gutiérrez y Dolores Luque de Castro, 2007]*

**Tabla 1. Contenido de Licopeno en varios alimentos**

<b>Fuente</b>	<b>Contenido de licopeno (mg/100 g base húmeda)</b>
Tomate fresco	0,72-20
Tomate, jugo	5,00-11,60
Tomate, salsa	6,20
Tomate, pasta	365
Tomate, sopa	7,99
Salsa cátsup	9,90-13,44
Salsa para pizza	12,71
Sandía	2,3-7,2
Guayaba rosa	5,23-5,50
Toronja	0,35-3,36
Papaya	0,11-5,3
Zanahoria	0,65-0,78
Calabaza	0,38-0,46

*Fuente: Waliszewski y Blasco [2010]*

Se utilizará el equipo Soxhlet para extraer el licopeno presente en tomates frescos

### **Extracción de grasas con equipo Soxhlet:**

La extracción es una de las operaciones básicas del laboratorio. Consiste en separar, con un líquido solvente, una fracción específica de una muestra, dejando el resto de la muestra lo más íntegro posible. Hay tres tipos de extracciones en los tres estados de la materia; extracción sólido-líquido, extracción líquido-líquido y extracción gas-líquido.

El proceso de extracción de la mayoría de las sustancias tiene muy baja eficiencia, es decir, una vez que se agrega el solvente, lo que está en contacto íntimo con lo extraíble se satura enseguida, por lo que hay que filtrar y volver a tratar con solvente fresco. Lo que implica gran cantidad y mucha manipulación del solvente aparte de la atención personalizada que la operación requiere. Lo que hace el extractor Soxhlet es realizar un sin fin de extracciones de manera continua, con el mismo solvente que se evapora y condensa llegando siempre de manera pura la muestra. Está formado por un balón que contiene el solvente adecuado, un cilindro de manera vertical que contiene un cartucho con la muestra sólida de la cual se extraerá el compuesto deseado y una columna refrigerante. Hay dos



tubos vacíos a un lado del cilindro; el tubo de vapor que está ubicado desde la parte inferior hasta la superior del mismo y el tubo de sifonación que está ubicado al lado del tubo de vapor con el fin de retornar el solvente con la muestra de lípidos al balón.

La extracción Soxhlet consiste en las siguientes etapas:

1. Colocar el solvente en un balón.
2. Armar el equipo.
3. Ebullición del solvente que se evapora hasta llegar a la columna refrigerante y condensar.
4. El solvente condensado cae en el cilindro que contiene un cartucho poroso con la muestra en su interior.
5. Ascenso del nivel del solvente cubriendo el cartucho hasta un punto en que se produce la sifonación y vuelve el solvente con la muestra de lípidos al balón.
6. Se vuelve a producir este proceso la cantidad de veces necesaria para llegar a una concentración deseada de la muestra de lípidos.

Preparación de la muestra: la muestra debe ser dividida en fragmentos de mayor o menor tamaño dependiendo de la porosidad del cartucho y del tamaño de la muestra. Con la muestra molida se carga el cartucho de extracción.

Cartuchos: existen varios tipos de cartuchos; un cartucho está formado por un recipiente cilíndrico con base semiesférica para que apoye perfectamente en la base del equipo extractor y sea más resistente. Los materiales más utilizados son el algodón prensado y la porcelana porosa. Los cartuchos de algodón son más económicos pero no se pueden utilizar para varias extracciones porque se van contaminando, los de porcelana son más resistentes y se pueden lavar periódicamente con mezcla sulfocrómica. También se pueden utilizar cartuchos caseros hechos con papel de filtro o mayas con poros adecuados para el tamaño de la muestra. Los cartuchos se llenan hasta la mitad o un poco más y no es conveniente comprimir demasiado la muestra para que no se vea impedida la difusión. La cantidad de muestra condiciona el tamaño del cartucho y este el del extractor. Es por eso que existen varios tamaños de Soxhlet, y es conveniente antes de comenzar a trabajar definir cuál es la medida que se debe utilizar.

Elección del solvente: Si se sigue una norma o técnica obviamente que el solvente estará indicado pero si no se sigue una norma hay que determinar que solvente se debe utilizar. Por esta razón es necesario saber el rango de solventes que se pueden utilizar en el extractor soxhlet. Hay una temperatura máxima y mínima de ebullición en la que el equipo funciona adecuadamente. Con respecto al extremo superior hay que decir que para la cantidad de energía limitada que generan los calentadores eléctricos comunes, a medida que aumenta el punto de ebullición del solvente disminuye significativamente el caudal de solvente que se evapora y por ende, también disminuye la velocidad de extracción. Sin embargo hay que hacer notar que además del punto de ebullición es importante el calor latente de evaporación.

Para determinar el solvente que se debe utilizar hay que tener en cuenta que las sustancias no polares tienden a ser solubles en solventes no polares, los solutos iónicos y

polares suelen ser solubles en solventes polares. El solvente no debe ser tóxico ni inflamable, en caso de serlo hay que manipular con las medidas de seguridad adecuadas. También hay que considerar la volatilidad del solvente. En los casos en los que se utiliza una mezcla de solventes es imprescindible trabajar con mezclas azeotrópicas porque de otra manera la extracción sería heterogénea en cuanto a la composición del solvente. (<http://www.cenunez.com.ar/archivos/39ExtraccinconequipoSoxhlet.pdf> ) ([https://es.wikipedia.org/wiki/Extractor\\_Soxhlet](https://es.wikipedia.org/wiki/Extractor_Soxhlet))

Después de la extracción se tiene que utilizar el espectrofotómetro el mismo tendrá la utilidad de medir la absorbancia que tenga nuestra solución problema y también para realizar la gráfica de concentración en función de absorbancia

## Espectrofotetría

M. Neira (2010) afirma:

La espectrofotetría UV-visible es una técnica analítica que permite determinar la concentración de un compuesto en solución. Se basa en que las moléculas absorben las radiaciones electromagnéticas y a su vez que la cantidad de luz absorbida depende de forma lineal de la concentración. Para hacer este tipo de medidas se emplea un espectrofotómetro, en el que se puede seleccionar la longitud de onda de la luz que pasa por una solución y medir la cantidad de luz absorbida por la misma.

Cuando se hace incidir luz monocromática (de una sola longitud de onda) sobre un medio homogéneo, una parte de la luz incidente es absorbida por el medio y otra transmitida, como consecuencia de la intensidad del rayo de luz sea atenuada desde  $P_0$  a  $P$ , siendo  $P_0$  la intensidad de la luz incidente y  $P$  la intensidad del rayo de luz transmitido. Dependiendo del compuesto y el tipo de absorción a medir, la muestra puede estar en fase líquida, sólida o gaseosa. En las regiones visibles y ultravioleta del espectro electromagnético, la muestra es generalmente disuelta para formar una solución.



El método espectrofotométrico se rige por dos leyes fundamentales: Ley de Lambert y Ley de Beer.

**Ley de Lambert. :**

Esta ley establece que cuando pasa luz monocromática por un medio homogéneo, la disminución de la intensidad del haz de luz incidente es proporcional al espesor del medio, lo que equivale a decir que la intensidad de la luz transmitida disminuye exponencialmente al aumentar aritméticamente el espesor del medio absorbente.

**Ley de Beer:**

La intensidad de un haz de luz monocromática disminuye exponencialmente al aumentar aritméticamente la concentración de la sustancia absorbente, cuando este haz pasa a través de un medio homogéneo.

**Absorbancia(A):** Se define como la cantidad de energía radiante absorbida por una sustancia pura o en solución.

$$A = -\log T = 2 - \log \%T$$

$$A = -\log (P / P_0) = -\log 10^{-abc}$$

$$A = a b c$$

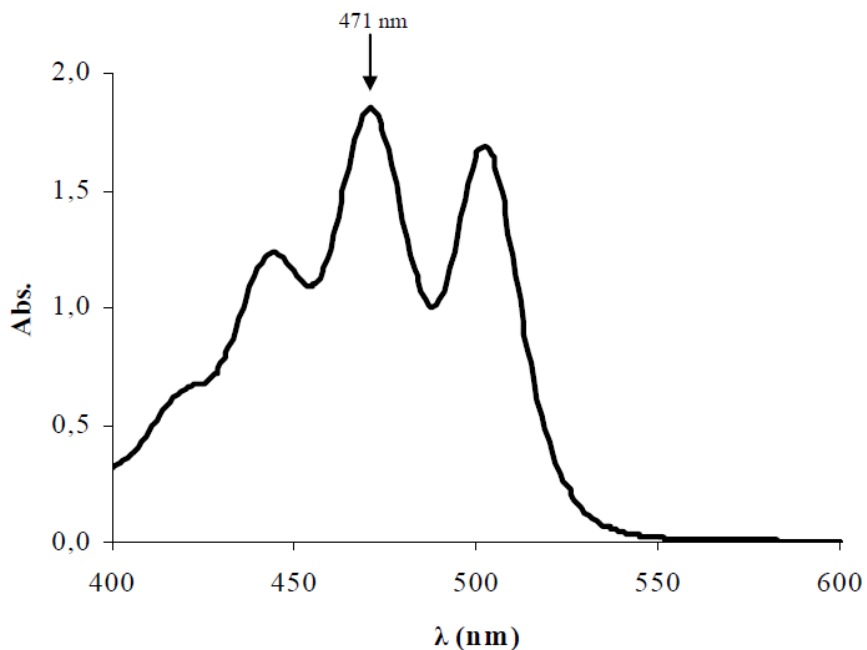
Esta ecuación indica que la absorbancia es una función lineal de la concentración, donde  $a$  es una constante de proporcionalidad llamada absortividad. La magnitud de  $a$  depende de las unidades de  $b$  y  $c$ . Si la concentración  $c$  está expresada en mol/L y la longitud de la cubeta  $b$  en centímetros, la constante  $a$  recibe el nombre de absortividad molar ( $\xi$ ). Luego

$$A = \xi b c$$

***Selección de longitud de onda de trabajo.***

La longitud de onda de trabajo corresponde, generalmente, a la longitud de onda en la cual la absorbancia del analito (sustancia a analizar) es máxima, y recibe la denominación de Lambda máximo ( $\lambda_{\max}$ ). Para seleccionar el  $\lambda_{\max}$ , se hace un espectro de absorción o curva espectral, y que consiste en una gráfica de la absorbancia de una solución de la sustancia absorbente de concentración adecuada, medida a distintas longitudes de onda y en ella se determina el  $\lambda_{\max}$ .

En la medición de absorbancia del licopeno utilizamos una longitud de onda de 471nm, el valor del mismo depende del punto de absorbancia máxima del espectro del licopeno (Figura 5)



**Figura 5 espectro del licopeno estándar**

*Fuente: [ Gemma Aràndiga Martí & Sonia Díaz Sánchez, 2008]*

### **Curva de Calibración.**

Uno de los métodos más utilizados para determinar la concentración de una muestra problema, es el método de la curva de calibración. Esta curva de calibración es una gráfica que relaciona la concentración de al menos cinco soluciones de estándar de concentraciones conocidas, con la absorbancia de cada uno de ellos a la longitud de onda máxima ( $\lambda_{Max}$ ).

El uso o elección de solventes es muy importante ya que el licopeno es un lípido que se puede descomponer fácilmente, por ende se utilizarán los siguientes solventes.

### **Solventes (Hexano, Acetona, Cloroformo):**

El hexano forma parte de la gasolina de automóviles y es utilizado en la extracción de lípidos, en la formulación de algunos productos adhesivos (cementos y pinturas), como solvente en reacciones de polimerización, como desnaturalizante de alcohol y en termómetros para temperaturas bajas (en lugar de mercurio). Es una neurotoxina. Al metabolizarse se forman productos los cuales reaccionan con aminas esenciales para el funcionamiento de las células nerviosas, especialmente la 2,5-hexanediona. (<http://www.quimica.unam.mx/IMG/pdf/13hexano.pdf>)

### Cloroformo:

También se le puede llamar Triclorometano, tiene un punto de ebullición de 61°C. Posee propiedades semejantes al diclorometano, disolución y extracción de lípidos y resinas, las ventajas de que disuelve mayor cantidad de soluto para la misma masa de solvente y que no produce peróxidos explosivos. A diferencia del diclorometano, éste no es combustible. Produce alteraciones en el sistema nervioso si se aspira, al llegar al cerebro disminuye la actividad normal de las neuronas. Dependiendo de su concentración pueden ocasionar: analgesia, excitación, anestesia quirúrgica o depresión total del sistema respiratorio. Debido a esto debe trabajarse en campana.

### Acetona:

La manipulación o inhalación de acetona no es peligrosa en las cantidades y frecuencias de un uso esporádico y en pequeñas cantidades. El solvente puro es higroscópico, y forma un azeótropo con el agua de aproximadamente 85% de acetona. Esto explica su higroscopicidad y su poder secante de la piel. La acetona es un solvente intermedio entre los muy polares y los no polares, por lo que sirve por ejemplo para hacer miscibles dos solventes que no lo son o para extraer conjuntamente sustancias polares y no polares. Hay que tener cuidado con los recipientes plásticos pues disuelve o degrada algunos de ellos. (<http://www.cenunez.com.ar/archivos/51Comentariosobresolventesysolubilidades.pdf>)

Después de haber realizado la extracción del licopeno se procedió a evaporar el solvente a través del equipo rotavapor, a una temperatura controlada.

## Rotavapor:

### Rotavapor:

El evaporador rotativo ha sido diseñado para su uso en laboratorios técnicos y en producción. Está autorizado su uso en aplicaciones que trabajan con la evaporación y condensación de solventes.

- Evaporación de solventes y suspensiones
- Síntesis y limpieza de sustancias químicas refinadas
- Reacciones bajo reflujo
- Reciclado y concentración de solventes
- Recristalización
- Secado de polvos y granulados

El Rotavapor produce destilaciones de etapa única eficaces y con ahorro de tiempo para aplicaciones de producción de etapa media y pequeña. El proceso se basa en la evaporación y la condensación de solventes o el secado de polvos y pastas en un matraz de evaporación rotativo.

Gracias a su sofisticado sistema de juntas, se puede alcanzar un nivel de vacío muy estable en combinación con un controlador de vacío y una bomba de vacío. El vacío

también elimina emisiones de vapores no deseadas o peligrosas durante el proceso y es un importante rasgo de seguridad. La presión baja disminuye el punto de ebullición del medio dentro del Rotavapor. Esto permite tratar el producto con delicadeza incluso con un rendimiento de evaporación superior comparado con el manejo a presión ambiental.

([http://static1.buchi.com/sites/default/files/downloads/11593360\\_R-220SE\\_OM\\_es\\_F\\_LR.pdf](http://static1.buchi.com/sites/default/files/downloads/11593360_R-220SE_OM_es_F_LR.pdf))

### **Materiales / Sustancias / Soluciones:**

Métodos	Materiales	Sustancias y soluciones	Materiales en común
Soxhlet	Equipo Soxhlet	Hexano	Rotavapor
	Manta calefactora	Cloroformo	Espectrofotómetro
	Estufa	Éter de petróleo	Matraz aforados
		Tomates frescos	Vasos de bohemia
		Acetona	Balanza
Filtración	Embudo de decantación	Licopeno patrón	Matraz Erlenmeyer
	Agitador magnético		Papel de filtro
	Matraz kitasato		
	Embudo büchner		
	Trompa de vacío		

## Técnicas:

- **Cortado del tomate:** se tiene que lavar y cortar en cuadraditos pequeños para que exista más transferencia de masa entre éste y el contacto con el solvente. Después se debe masar y se anota su masa.

Procedimiento N°1	Procedimiento N°2
<p>- <b>Agitación magnética:</b> Seguidamente, se pasa a un vaso de bohemia y se pone en contacto con unos 75 ml de acetona en un agitador magnético durante un tiempo para homogenizar la mezcla y así se transfieren los carotenos a la fase de la acetona.</p> <p>- <b>Filtración al vacío:</b> Pasados unos veinte minutos aproximadamente, se lleva la muestra a filtración al vacío para separar la fase acetónica, de la sólida y se repite el proceso con el sólido residual añadiendo 50 mL más de acetona; así hasta 3 veces o hasta que la solución acetónica se quede sin color en ese momento. Cuando ya se hayan hecho las 3 extracciones, se juntan las fases acetónicas y se puede observar un color anaranjado fuerte.</p> <p>- <b>Decantación:</b> Se mide el volumen que hay en el extracto y en un embudo de decantación se añade la fase acetónica con el mismo volumen de hexano y 100 mL de agua destilada aproximadamente. Se tapa y se agita con precaución abriéndolo para que salgan los vapores formados de la mezcla. Lo dejaremos reposar hasta completa separación de las fases.</p>	<p>- <b>Secado del tomate:</b> Se coloca en la estufa durante 6 horas para eliminar la mayor parte de agua presente en el tomate la temperatura la estufa no debe superar los 60°C por el hecho de que se descompone a temperaturas mayores a esa</p> <p>- <b>Extracción Soxhlet:</b> El tomate seco y molido se somete a extracción con hexano, en un equipo de extracción Soxhlet, con una manta calefactora a una temperatura mayor a la de ebullición del solvente a utilizar. La relación material vegetal/solvente es 20.0 g/120 mL, realizando un número de 10 reflujos.</p>

- **Separación de la muestra con el rotavapor:** Mientras tanto, la fase orgánica, se lleva al rotavapor, con una temperatura inferior a 40° C y se conecta al vacío para que se destile el solvente más rápido. En el balón redondo del rotavapor quedará como residuo los carotenoides pegados a las paredes de éste y será el objeto de estudio en este caso.

Para despegar los carotenoides del vidrio del matraz se prepara una muestra de cloroformo con éter de petróleo del 50% V/V Se aplican unas cuantas gotas que disolverán los carotenos y con un

cuenta gotas se recoge esta solución diluida y se guarda en un congelador, el matraz tiene que ser tapado correctamente y cubierto de papel aluminio o a oscuras ya que el licopeno se puede descomponer por exposición a luz

- **Determinación espectrofotométrica:** Se prepara un volumen conocido de hexano para disolver los carotenos del vial y se enrasa la solución en un matraz aforado para disponer de ciertas concentraciones y poder empezar las mediciones de lectura en el espectrofotómetro. Antes se realiza la lectura del blanco, poniendo hexano en las 2 celdas del instrumento y ajustando a cero. Una vez hecho el cero se procederá a la lectura de la muestra problema. Para saber su concentración, previamente se calcula una recta de calibrado con una muestra patrón. Esta recta patrón se consigue a partir de unas soluciones de licopeno patrón comercial de concentración conocida. Obtenida la recta, se podrá medir la concentración de las muestras problema desconocidas. Se leen las muestras en el espectrofotómetro a la longitud de onda máxima del licopeno (471 nm) para obtener su absorbancia y su concentración.

- **Recta patrón de licopeno:** se realiza mediante un solución “madre” de concentración conocida de licopeno patrón de 400 ppm (4 cápsulas de licopeno en 100 mL de la solución de cloroformo y hexano), se realiza los cálculos y se procede a hacer la toma en volumen para realizar una segunda solución “madre” de 40 ppm, para obtener soluciones de menor concentración en este caso la concentraciones son 8ppm, 6ppm, 4ppm, 2ppm, 1ppm donde a través de los cálculos determinamos las tomas en volumen a realizar, de la segunda solución “madre”

### Recolección y análisis de datos:

Realizamos los cálculos de concentración máxima y mínima de licopeno en la muestra de 12.0997 g de tomate con valores de la tabla de cantidad en mg de licopeno en 100 g de tomate sin procesar.

	<b>Masa de tomate (g)</b>	<b>Masa en mg de licopeno (Max)</b>	<b>Masa en mg de licopeno (min)</b>
Valor estándar	100	20.00	0.72
Procedimiento N°1	195.45	39.00	1.404
Procedimiento N°2	12.9907	2.59	0.0935

Cálculos que realizamos para la curva patrón de licopeno:

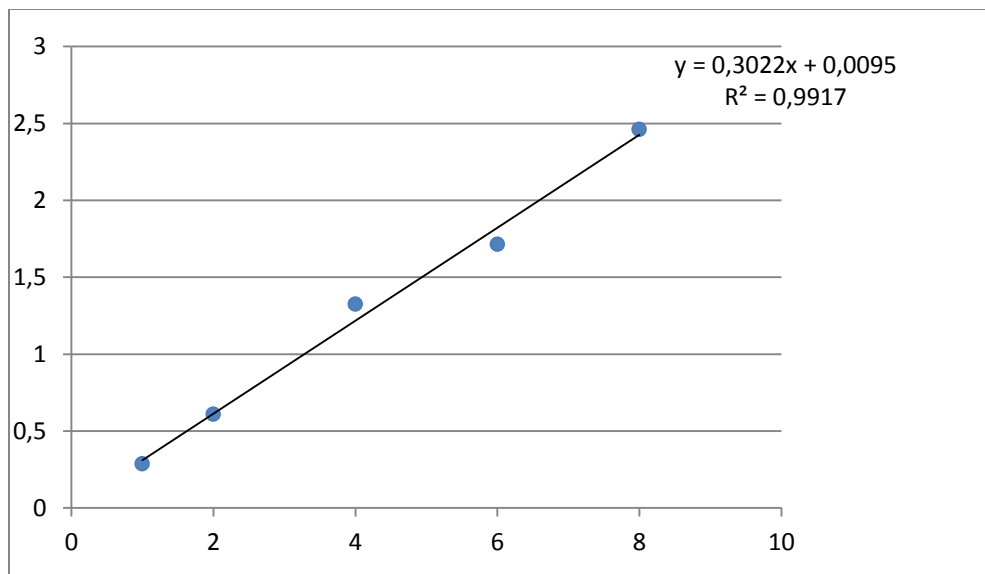
$$V1 = \frac{(C2 * V2)}{C1}$$



Concentración de las diluciones (ppm)	Cálculos para realizar una toma en volumen de una solución madre o toma en volumen de soluciones estándar
8	$0.01L = \frac{(8ppm * 0.05L)}{40ppm}$
6	$0.015L = \frac{(6ppm * 0.1L)}{40ppm}$
4	$0.005L = \frac{(4ppm * 0.05L)}{40ppm}$
2	$0.025L = \frac{(2ppm * 0.05L)}{4ppm}$
1	$0.025L = \frac{(1ppm * 0.05L)}{2ppm}$

#### Medidas y gráfica de absorbancia

Absorbancia	Concentración (ppm)	$\lambda$ (nm)
2.460	8	471
1.713	6	471
1.325	4	471
0.609	2	471
0.286	1	471



**Ilustración 1 Gráfico de Absorbancia en función de la concentración de licopeno estándar**

### Procedimiento N°1

masa de tomate = 195.45 g

Medidas de absorbancia:

$\lambda$ (nm)	Absorbancia
444	0.263
<b>471</b>	0.332
502	0.250

Cálculos de concentración de la solución problema

$$y = 0,3022x + 0,0095 \quad x = (\text{absorbancia } 471\text{nm}) - 0,0095 / 0,3022$$

$$\frac{(0,332 - 0,0095)}{0,3022} = 0,3005 \text{ ppm}$$

## Procedimiento N°2

Masa de tomate = 12.9907 g

medidas de absorbancia de la solución problema de licopeno:

$\lambda$ (nm)	Absorbancia
444	1.483
<b>471</b>	1.825
502	1.483

Cálculos de concentración de la solución problema

$$y = 0,3022x + 0,0095 \quad x = (\text{absorbancia } 471\text{nm}) - 0.0095 / 0.3022$$

$$\frac{(1.825 - 0.0095)}{0.3022} = 6.0076 \text{ ppm}$$

## Discusión de resultados y conclusiones:

¿Cómo sabemos que es licopeno nuestra solución problema?

Para evacuar esa duda realizamos comparación con el espectro del licopeno obteniendo como resultado coincidencia en sus picos como se observa en la (figura 5), esos resultados que coinciden con el espectro del licopeno son los siguientes

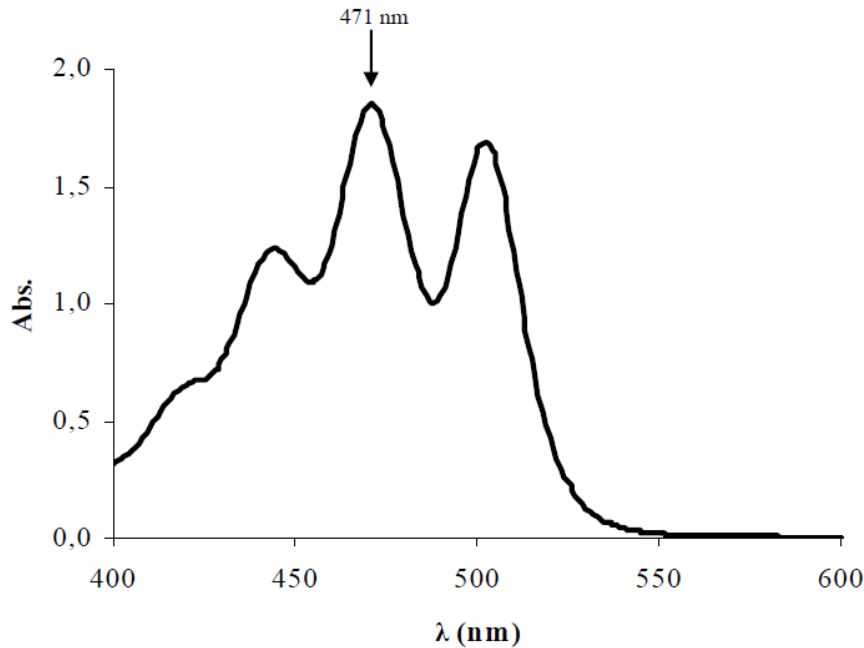
Procedimiento N°1

$\lambda$ (nm)	Absorbancia
444	0.263
<b>471</b>	0.332
502	0.250

Procedimiento N°2

$\lambda$ (nm)	Absorbancia
444	1.483
<b>471</b>	1.825
502	1.483

La mayor absorbancia se produce en 471nm, el pico menor es a 444nm y el intermedio es a 502, en ambos procedimientos se cumple ese orden, por ese motivo logramos ver la similitud con la (figura 5) Podemos concluir que nuestra solución problema contiene licopeno



**Figura 5 espectro del licopeno estándar**

*Fuente: [ Gemma Aràndiga Martí & Sonia Díaz Sánchez, 2008]*

Los resultados obtenidos de concentración en el procedimiento 1 no fueron los esperados ya que no se encuentra en sus rangos de máximo y mínimo, ese resultado puede tener una explicación ya que el licopeno se descompone por radiación electromagnética o el contacto con el dióxígeno, pero la exposición a la luz o a altas temperaturas hace que se descomponga el licopeno, el procedimiento N°1 se realizó antes que el procedimiento N°2 estuvo guardado a temperaturas bajas en un refrigerador, pero la exposición a la luz puede haber descompuesto el licopeno el contacto con el dióxígeno también puede ser un factor ya que no teníamos medios para hacer una atmósfera de dinitrógeno, en el procedimiento 2 realizamos todo el procedimiento de corrido por eso descartamos esos factores ya que si se produjo descomposición fue mínima.

## **Conclusión:**

Podemos concluir tomando como resultados correctos los del procedimiento N°2 donde obtuvimos su concentración que se encuentra dentro de los rango estándar investigados previamente, la concentración es de 6.0076 ppm en 12.9907 g de tomate fresco, que equivale a 0.60076 mg de licopeno, el rango como máximo es de 2.59 mg y el mínimo es de 0.0935 mg de licopeno

## **Perspectivas:**

- Cuantificación de licopeno en salsa de tomate y derivados
- Cuantificación de licopeno en cosméticos
- Extracción de licopeno de otros vegetales y frutas
- Estudio sobre la Acidez del tomate
- Investigar y profundizar en los efectos positivos en la salud humana del licopeno


## **Referencia Bibliográfica:**

- V. Castro, C. Murcia (2013). Licopeno y salud humana, Documento de revista. Revista ReCiTeIA Revisiones de la Ciencia, Tecnología e Ingeniería de los Alimentos; Vol. 12, Nº 2 (Año 2013)
- A. Martí, D. Sánchez (2008). S. Estudio del licopeno del tomate como colorante natural desde la perspectiva analítica e industrial. Tesis de Ingeniería técnica industrial (química industrial). Universitat Politecnica de catalunya, Ingenieria química, 103 p.
- M. Neira (2010). Marco teórico sobre espectrofotometría. Guía para uso de docentes y alumnos, ([www.u-cursos.cl/odontologia/2010/2/OD0903/1/material\\_docente/objeto/566977](http://www.u-cursos.cl/odontologia/2010/2/OD0903/1/material_docente/objeto/566977))
- Fuente de la imagen de la caratula:  
([https://www.google.com.uy/search?q=tomate+licopeno&safe=strict&biw=1366&bih=613&source=lnms&tbn=isch&sa=X&ved=0ahUKEwjH9Lqs1IXQAhUBjZAKHWbWDVIQ\\_AUIBigB#imgsrc=LgxzfICM00XfuM%3A](https://www.google.com.uy/search?q=tomate+licopeno&safe=strict&biw=1366&bih=613&source=lnms&tbn=isch&sa=X&ved=0ahUKEwjH9Lqs1IXQAhUBjZAKHWbWDVIQ_AUIBigB#imgsrc=LgxzfICM00XfuM%3A))

## Anexos.


### Medidas de seguridad:

Éter de petróleo 30-40 °C

<b>Pictogramas de peligro</b>	
<b>Declaraciones de peligro</b>	<p>H225: Líquido y vapores muy inflamables. H304: Puede ser mortal en caso de ingestión y penetración en las vías respiratorias. H315: Provoca irritación cutánea. H336: Puede provocar somnolencia o vértigo. H361f: Se sospecha que perjudica a la fertilidad. H373: Puede provocar daños en los órganos tras exposiciones prolongadas o repetidas. H411: Tóxico para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos.</p>
<b>Consejos de precaución</b>	<p>P210: Mantener alejado del calor, de superficies calientes, de chispas, de llamas abiertas y de cualquier otra fuente de ignición. No fumar. P240: Conectar a tierra/enlace equipotencial del recipiente y del equipo de recepción. P273: Evitar su liberación al medio ambiente. P301 + P330 + P331: EN CASO DE INGESTIÓN: Enjuagarse la boca. NO provocar el vómito. P302 + P352: EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL: Lavar con agua y jabón abundantes. P314: Consultar a un médico en caso de malestar. P403 + P233: Almacenar en un lugar bien ventilado. Mantener el recipiente cerrado herméticamente.</p>
<b>Palabra de señalización</b>	Peligro
<b>Eliminación</b>	Solventes exentos de halógenos y soluciones de sustancias orgánicas fuertemente impurificados: categoría A.


[https://www.merckmillipore.com/INTL/es/product/%C3%89ter-de-petr%C3%B3leo,MDA\\_CHEM-101769](https://www.merckmillipore.com/INTL/es/product/%C3%89ter-de-petr%C3%B3leo,MDA_CHEM-101769)

## Acetona 95%

<b>Pictogramas de peligro</b>	
<b>Declaraciones de peligro</b>	<p>H225: Líquido y vapores muy inflamables. H319: Provoca irritación ocular grave. H336: Puede provocar somnolencia o vértigo. EUH066: La exposición repetida puede provocar sequedad o formación de grietas en la piel</p>
<b>Consejos de precaución</b>	<p>P210: Mantener alejado del calor, de superficies calientes, de chispas, de llamas abiertas y de cualquier otra fuente de ignición. No fumar. P240: Conectar a tierra/enlace equipotencial del recipiente y del equipo de recepción. P305 + P351 + P338: EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Aclarar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Seguir aclarando. P403 + P233: Almacenar en un lugar bien ventilado. Mantener el recipiente cerrado herméticamente.</p>
<b>Eliminación</b>	<p>Solventes exentos de halógenos y soluciones de sustancias orgánicas fuertemente impurificados: categoría A.</p>

([https://www.merckmillipore.com/INTL/es/product/Acetona,MDA\\_CHEM-100012](https://www.merckmillipore.com/INTL/es/product/Acetona,MDA_CHEM-100012))


## Hexano

<b>Pictogramas de peligro</b>	
<b>Declaraciones de peligro</b>	<p>H225: Líquido y vapores muy inflamables.</p> <p>H304: Puede ser mortal en caso de ingestión y penetración en las vías respiratorias.</p> <p>H315: Provoca irritación cutánea.</p> <p>H336: Puede provocar somnolencia o vértigo.</p> <p>H361fd: Se sospecha que perjudica a la fertilidad. Se sospecha que daña al feto.</p> <p>H373: Puede provocar daños en los órganos tras exposiciones prolongadas o repetidas si se inhala.</p> <p>H411: Tóxico para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos.</p>
<b>Consejos de precaución</b>	<p>P210: Mantener alejado del calor, de superficies calientes, de chispas, de llamas abiertas y de cualquier otra fuente de ignición. No fumar.</p> <p>P240: Conectar a tierra/enlace equipotencial del recipiente y del equipo de recepción.</p> <p>P273: Evitar su liberación al medio ambiente.</p> <p>P301 + P330 + P331: EN CASO DE INGESTIÓN: Enjuagarse la boca. NO provocar el vómito.</p> <p>P302 + P352: EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL: Lavar con agua y jabón abundantes.</p> <p>P314: Consultar a un médico en caso de malestar.</p> <p>P403 + P233: Almacenar en un lugar bien ventilado. Mantener el recipiente cerrado herméticamente.</p>
<b>Eliminación</b>	<p>Solventes exentos de halógenos y soluciones de sustancias orgánicas fuertemente impurificados: categoría A.</p>

([https://www.merckmillipore.com/INTL/es/product/n-Hexano,MDA\\_CHEM-104373](https://www.merckmillipore.com/INTL/es/product/n-Hexano,MDA_CHEM-104373))



## Cloroformo

<b>Pictogramas de peligro</b>	
<b>Declaraciones de peligro</b>	<p>H302: Nocivo en caso de ingestión.  H315: Provoca irritación cutánea.  H319: Provoca irritación ocular grave.  H331: Tóxico en caso de inhalación.  H351: Se sospecha que provoca cáncer.  H361d: Se sospecha que daña al feto.  H372: Perjudica a determinados órganos por exposición prolongada o repetida.</p>
<b>Consejos de precaución</b>	<p>P281: Utilizar el equipo de protección individual obligatorio.  P302 + P352: EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL: Lavar con agua y jabón abundantes.  P304 + P340: EN CASO DE INHALACIÓN: Transportar a la víctima al exterior y mantenerla en reposo en una posición confortable para respirar.  P305 + P351 + P338: EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Aclarar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Seguir aclarando.  P308 + P310: EN CASO DE exposición manifiesta o presunta: Llamar inmediatamente a un CENTRO DE TOXICOLOGÍA o a un médico.</p>
<b>Eliminación</b>	<p>Solventes orgánicos halogenados y soluciones de sustancias orgánicas conteniendo halógenos: En Alemania, además de las empresas de eliminación de residuos, según el decreto alemán HKW-Abfall-Verordnung, también el distribuidor acepta el retorno de solventes con halógenos y los purifica de nuevo por encargo pagado. De todas maneras los solventes conteniendo halógenos deben mantenerse separados al recogerlos y deben cumplir determinadas especificaciones. Solventes conteniendo halógenos, fuertemente impurificados o mezclados: categoría B. Atención: no utilizar recipientes de aluminio y en caso de residuos clorados conteniendo agua tampoco utilizar recipientes de acero inoxidable (peligro de fugas por corrosión).</p>

([https://www.merckmillipore.com/INTL/es/product/Cloroformo,MDA\\_CHEM-107024](https://www.merckmillipore.com/INTL/es/product/Cloroformo,MDA_CHEM-107024))





