

IZOLAREA LICOPINEI DIN TOMATE

Licopina (licopenul) a fost izolată pentru prima dată din tomate de către Hartsen et al. în 1873. Prin metode cromatografice de analiză s-a demonstrat că acest pigment, precursor al carotenoizilor, este foarte răspândit în lumea vegetală.

Principiul metodei

Pasta de tomate se deshidratează cu metanol, iar licopina este extrasă din materialul uscat cu un amestec de metanol: tetraclorură de carbon. Produsul brut este cristalizat de două ori din benzen cu ajutorul metanolului, rezultând un produs de puritate 98-99%.

Reactivi

1. Benzen p.a.
2. Tetraclorură de carbon p.a.
3. Metanol p.a.
4. Sulfat de sodiu anhidru.

Modul de lucru

Se cântăresc 50 de grame de pastă de tomate și se amestecă cu 65 ml metanol, agitând energic pentru a împiedica formarea aglomerărilor. O mică probă de suspensie se încearcă cu degetele: dacă are consistență gelatinoasă se mai adaugă metanol pentru a preîntâmpina posibila colmatare a filtrului.

Amestecul este lăsat în repaus 1-2 ore după care se agită energic și se filtrează cu o pâlnie Buchner. Se aruncă filtratul galben, iar precipitatul roșu este reintrodus în flacon și se agită cu un amestec format din 35 ml metanol și 35 ml tetraclorură de carbon. Suspensia se agită timp de 10-15 min și se filtrează sub vid într-o pâlnie Buchner.

După un timp filtratul se va stratifica într-o fază cu tetraclorură de carbon și o fază metanolică de culoare portocalie. Reziduul se fărâmițează până la obținerea unei pudre fine și se repetă extracția cu același amestec de solvenți.

Filtratele se unesc, se lasă în repaus pentru stratificare, iar faza metanolică se transferă într-o pâlnie de separare mare în care se mai adaugă și un volum de apă distilată egal cu volumul fazei metanolice. Se agită energic pentru ca particulele de tetraclorură de carbon rămase să treacă în faza inferioară.

Soluția de tetraclorură de carbon se trece într-un balon Erlenmeyer de 1 litru și se adaugă sulfat de sodiu anhidru pentru deshidratare. Extractul este apoi filtrat printr-un filtru de hârtie obișnuit într-un balon cu fundul rotund de 1 litru și se evaporă solventul la trompa de vid, pe o baie de apă la 60°C până când volumul ajunge la aproximativ 5 ml. Soluția obținută se transferă într-un balon de 100 ml folosind volume mici de tetraclorură de carbon pentru spălare. Amestecul obținut se evaporă apoi complet sub vid, obținându-se un lichid uleios. Pentru a elimina complet tetraclorura de carbon, se dizolvă lichidul obținut în 2-3 ml de benzen și se evaporă din nou.

Reziduul închis la culoare, parțial cristalin, se transferă cantitativ cu 1 ml de benzen într-un flacon Erlenmeyer de 25 de ml și se introduce într-o baie de apă la fierbere. Se adaugă apoi metanol fierbinte în porțiuni mici (cu picătura), cu agitare după fiecare picătură, adăugând în total 1 ml de metanol. Imediat încep să apară cristale de lycopină brută. Cristalizarea este completă dacă

se menține flaconul mai întâi la temperatura laboratorului, apoi pe apă cu gheață timp de o oră. Cristalele se colectează într-o pâlnie Buchner mică și se spală cu 2 ml de metanol fierbinte.

Pentru purificare, cristalele de lycopină brută se transferă într-o eprubetă de centrifugă gradată de 10 ml cu cantități mici de benzen fierbinte până la un volum de 1 ml. Cristalele se dizolvă apoi prin introducerea eprubetei în apă fierbinte și agitare. După obținerea unei soluții transparente se adaugă metanol fierbinte, în porțiuni mici prin picurare și se agită cu o baghetă de sticlă până la apariția cristalelor (de regulă de aproximativ 1 ml de metanol).

Eprubeta se răcește mai întâi la temperatura laboratorului apoi pe apă cu gheață timp de 24 de ore. După cristalizare se îndepărtează lichidul limpede prin decantare. Pentru obținerea unui grad înalt de puritate se spală de două ori cristalele cu câte 1 ml de metanol fierbinte care se îndepărtează prin centrifugare. Cristalele obținute se usucă sub vid timp de câteva ore.

Pentru verificare se fac următoarele reacții de culoare:

1. lycopina dizolvată în acid sulfuric concentrat conferă soluției o culoare albastră-indigo;
2. amestecând volumele egale de soluție cloroformică de lycopină și soluție cloroformică de triclorură de sibiū se obține o colorație albastră stabilă;