

CATEDRA DE ZOOTECNIA 1.ª y 2.ª

Catedrático: Prof. Dr. D. EDUARDO ZORITA

## **Ensayos sobre preservación del caroteno en la harina de la alfalfa deshidratada**

*Por Rodríguez Guedas, J.  
Cosín Alvarez, C.  
Zorita Tomillo, E.*

### INTRODUCCION

Las harinas de forrajes verdes ofrecen, debido a la enorme superficie de exposición al aire, una gran facilidad para la oxidación, ocurriendo pérdidas de alrededor del 45 al 90 % de caroteno. Estas pérdidas se atribuyen a la destrucción rápida de caroteno por procesos oxidativos, los cuales son catalizados por enzimas y luz.\* Por ello, y debido a que el valor de las mismas viene fijado en parte por su contenido en caroteno, el problema de la estabilización es de un enorme interés.

En la industrialización de la harina de alfalfa deshidratada se ha recurrido a los siguientes procedimientos con el fin de conseguir una conservación de su contenido en caroteno: el almacenamiento bajo refrigeración, almacenamiento en envases herméticos o recipientes metálicos para eliminar la presencia de oxígeno y almacenamiento en tanques metálicos en atmósfera inerte.

Los antioxidantes han sido aplicados con éxito al problema del enranciamiento de las grasas y de la conservación de vitaminas en soluciones oleosas. Su aplicación a las harinas de forrajes verdes desecados no parece tan comprobada, y es por ello por lo que resulta conveniente la realización de pruebas comparativas propias, que constituyen la 1.<sup>a</sup> parte del presente trabajo.

En la destrucción del caroteno en las harinas de alfalfa deshidratada intervienen procesos enzimáticos, fotoquímicos y autooxidativos.

Las condiciones óptimas para la destrucción del caroteno por un proceso enzimático han sido establecidas de la forma siguiente: una temperatura de 43° C, pH óptimo de 4.5 y siendo el fermento termolabil. Las pérdidas de caroteno en muestras incubadas a la luz se atribuyen a procesos fotoquímicos. La destrucción fotoquímica no ha sido afectada grandemente por cambios de pH entre 4 y 8 y cambios de temperatura entre 10 y 45° C, así como por prolongados tratamientos térmicos después de verificada una inactivación enzimática.<sup>6</sup>

Por otra parte, las pérdidas de contenido en caroteno en ausencia de una destrucción enzimática y fotoquímica han sido atribuidas a la autooxidación.<sup>6</sup>

GUILBERT hizo notar que la destrucción fotoquímica fué más importante que la enzimática en la desecación rápida de heno mientras que puede predominar la destrucción enzimática sobre la fotoquímica en una desecación lenta.<sup>7</sup>

CAPPA VITTORIO,<sup>8</sup> del Instituto di Zootecnia generale della Facoltà di Agraria dell'Univ di Piacenza, hizo estudios sobre la acción de algunos antioxidantes en la conservación de harina de alfalfa observando, que independientemente de la modalidad de conservación y de protección adoptada, la disminución del contenido en caroteno es mayor en el primer período de almacenamiento en tanto que se atenúa posteriormente. El 6 etoxi 1,2 dihidro 2, 2, 4 trimetilquinolina (Santoquin) demuestra un efecto notablemente superior al de la difenilparafenilendiamina. Es verosímil que el efecto protector de la etoximetildihidroquinolina pueda ser potenciado con una oportuna asociación con otros antioxidantes.

Siguiendo los estudios de conservación del caroteno en las harinas de alfalfa deshidratada se han realizado pruebas al efecto de comprobar la posible influencia de la granulación de la harina de alfalfa

sobre la preservación del caroteno suponiendo que al reducirse la superficie de exposición al aire disminuye la oxidación cuyos resultados exponemos en la segunda parte de este trabajo.

## I. CONTROL DE LABORATORIO DE LA ACTIVIDAD DE CUATRO ANTIOXIDANTES

Se ha realizado un experimento para comparar la actividad relativa de varios antioxidantes comerciales sobre la conservación del caroteno en la harina de alfalfa deshidratada. Los productos objeto de estudio han sido el SANTOQUIN (6-etoxi-1, 2-dihidro-2, 4-trimetilquinolina), el B. H. T. (4 metil-2, 6-ditertbutil-fenol) el U. O. P. 5 (N, N'-di-sec-butil-p-fenilendiamina) y el U. O. P. 88 (N, N'-di-octil-p-fenilendiamina). Se han empleado las concentraciones autorizadas por la A.A.F.C.O. para el caso del Santoquin y el B. H. T., o bien las indicadas por la casa productora en el caso del U. O. P. 5 y U. O. P. 88.

### MATERIAL Y METODOS

Los métodos empleados se han basado en el trabajo de THOMPSON.<sup>2</sup>

La harina de alfalfa utilizada permaneció en recipiente hermético en la cámara a -10° C hasta el momento de su uso. Una vez homogeneizada se tomaron muestras (series testigo) de 3 grs. que fueron depositadas en frascos abiertos de vidrio neutro, debidamente etiquetados.

Para distribuir el SANTOQUIN en la harina de alfalfa se pusieron 3 grs. del antioxidante en el recipiente del pulverizador, los cuales se atomizaron cuidadosamente sobre 997 grs. de alfalfa en continuo movimiento y con ayuda de una fuerte corriente de CO<sub>2</sub>. Los restos del antioxidante, existentes en el pulverizador, fueron arrastrados mediante tres lavados consecutivos de 3 cc. de éter etílico que se pulverizaron igualmente sobre la harina de alfalfa. De esta harina de alfalfa (con una concentración del SANTOQUIN del 0,3 por 100) se realizaron mezclas sucesivas hasta alcanzar la concentración del 0,015 por 100. Una vez obtenida la mezcla final se tomaron muestras de 3 grs. igual que en el caso de los controles.

En el caso del B. H. T., al tratarse de un antioxidante sólido, se realizó una mezcla previa de 3 grs. del antioxidante en polvo con 997 grs.

de harina de alfalfa y, a partir de esta mezcla previa, se realizaron otras sucesivas hasta alcanzar la concentración final de 0,015 por 100 del antioxidante, tomándose las muestras de 3 grs. como en los casos anteriores.

Análogamente al caso del SANTOQUIN se procedió con los antioxidantes U. O. P. 5 y U. O. P. 88 por tratarse de líquido. Pulverizando 3 grs. del antioxidante sobre 997 grs. de alfalfa, arrastrando totalmente los restos del antioxidante con éter etílico. De esta mezcla original se realizaron las diluciones convenientes hasta alcanzar la concentración final de 0,003 por 100, a partir de la cual se tomaron las muestras para su conservación en la estufa.

Todos los frascos se colocaron en una bandeja única en la estufa a 65° C. tomándose regularmente para realizar los análisis.

Los análisis de caroteno se realizaron por el método preconizado para las harinas de alfalfa deshidratada por BOOTH,<sup>3</sup> que se el mismo propuesto por BECKER<sup>4</sup> y utilizado oficialmente en numerosos países.

La extinción se midió en el espectrofotómetro Beckman, D. U., modelo 2.400.

#### RESULTADOS Y DISCUSION

En la tabla I aparecen los resultados absolutos obtenidos a lo largo de la conservación al aire a 65° C.

TABLA I  
CONSERVACION A 65° C

DIAS	CAROTENO mg/kg.				Testigo
	Santoquin 0'015 %	B. H. T. 0'015 %	U. O. P. 5 0'003 %	U. O. P. 88 0'003 %	
3	175,2	151,0	163,2	159,2	162,2
5	133,6	106,1	115,3	115,3	108,1
7	112,2	79,6	87,2	91,8	80,1
9	88,2	41,3	41,7	49,5	46,1
11	83,4	36,6	35,5	40,9	41,1
13	71,4	31,9	29,3	32,3	36,6
15	49,5	27,0	29,3	32,3	33,4
17	46,2	20,9	23,4	28,6	30,8
20	28,1	12,4	15,5	18,5	21,5

Las cifras para el testigo corresponden a la media aritmética de las dos series testigo. Como puede apreciarse, la destrucción del caroteno tiene lugar de un modo extraordinariamente rápido al principio. El contenido en caroteno de la harina de la alfalfa utilizada, y referida a la sustancia seca, era de 227.3 mg. por kilogramo.

TABLA II

Días	Caroteno remanente %				Testigo
	Santoquin 0'015 %	B. H. T. 0'015 %	U. O. P. 5 0'003 %	U. O. P. 88 0'003 %	
3	77,0	66,2	71,6	69,8	71,2
5	58,6	46,5	50,6	50,6	47,4
7	49,2	34,9	38,2	40,2	35,1
9	38,7	18,1	18,3	21,7	20,2
11	36,6	16,0	15,5	17,9	18,0
13	31,3	14,0	12,8	14,1	16,0
15	21,7	11,8	12,8	14,1	14,6
17	20,2	9,1	10,2	12,5	13,5
20	12,3	5,4	6,8	8,1	9,4

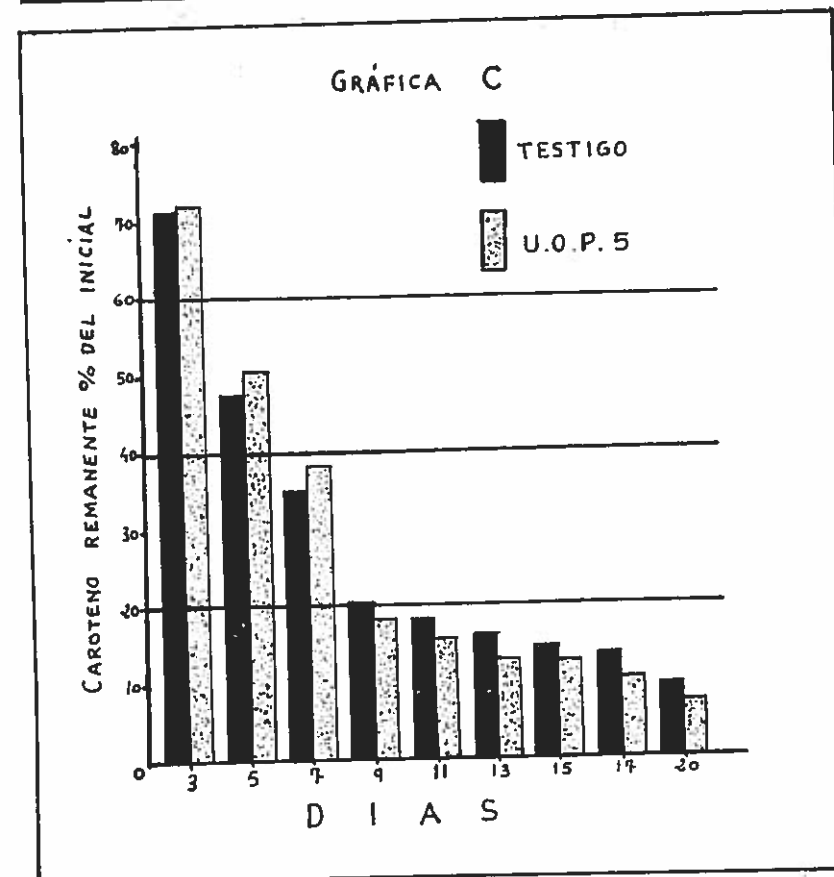
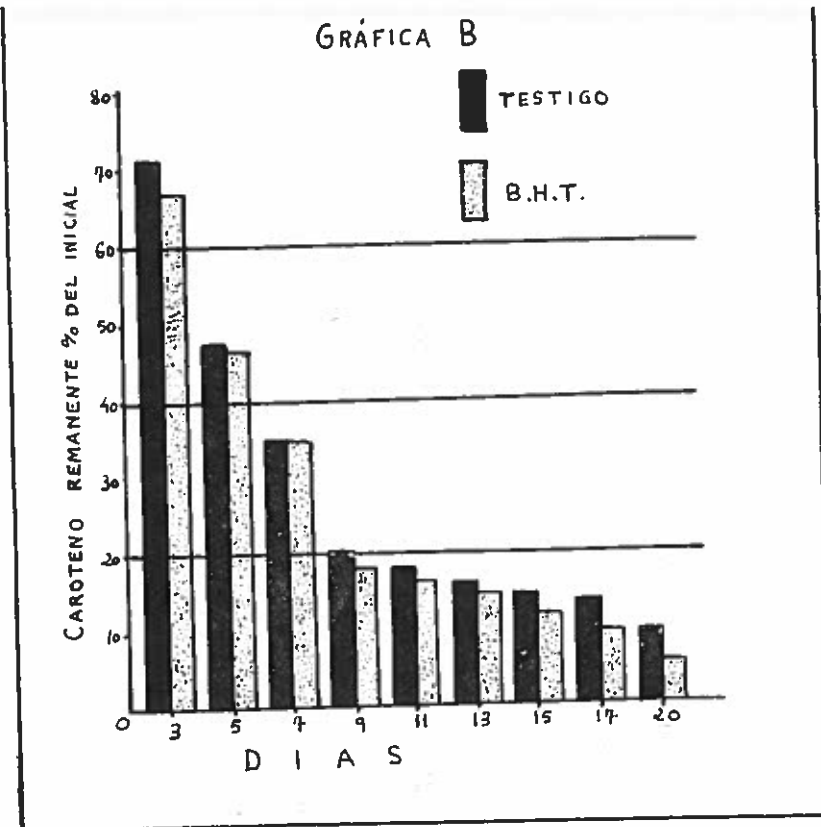
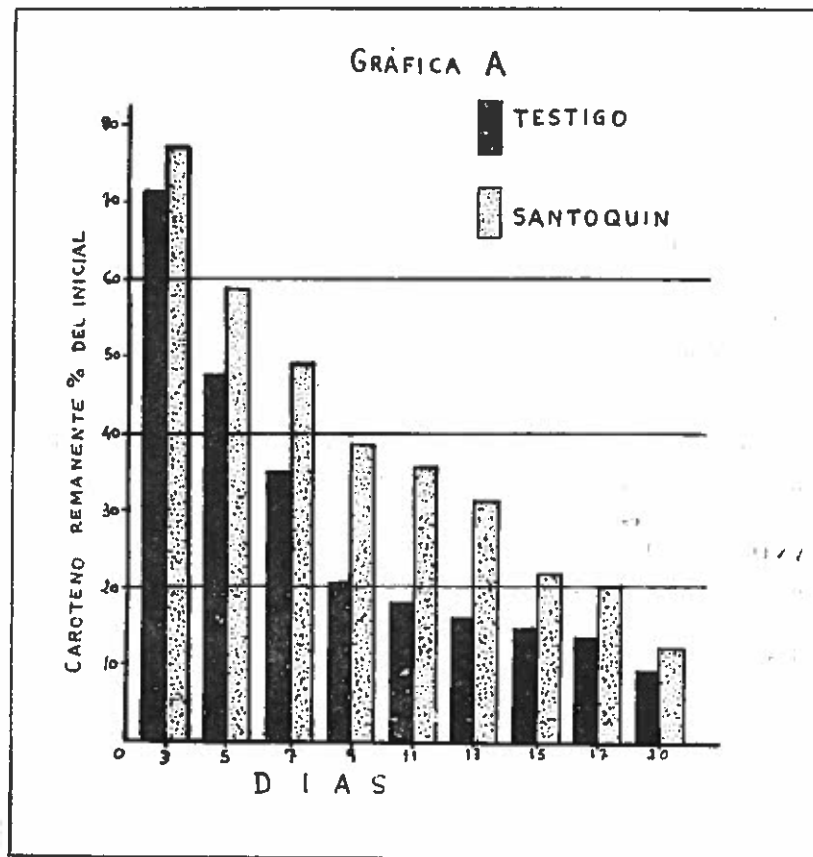
En la tabla II figura el caroteno remanente expresado en tanto por ciento del original. Si, como se hace ordinariamente, consideramos que un remanente del 18 por 100 representa el máximo de caroteno utilizable para las harinas de forrajes verdes desecados, veremos que este nivel es alcanzado para el control y para el U. O. P. 88 a los once días, para el B. H. T. y U. O. P. 5 es alcanzado ya a los nueve días, en tanto que para el SANTOQUIN aún no se alcanza el día 17.

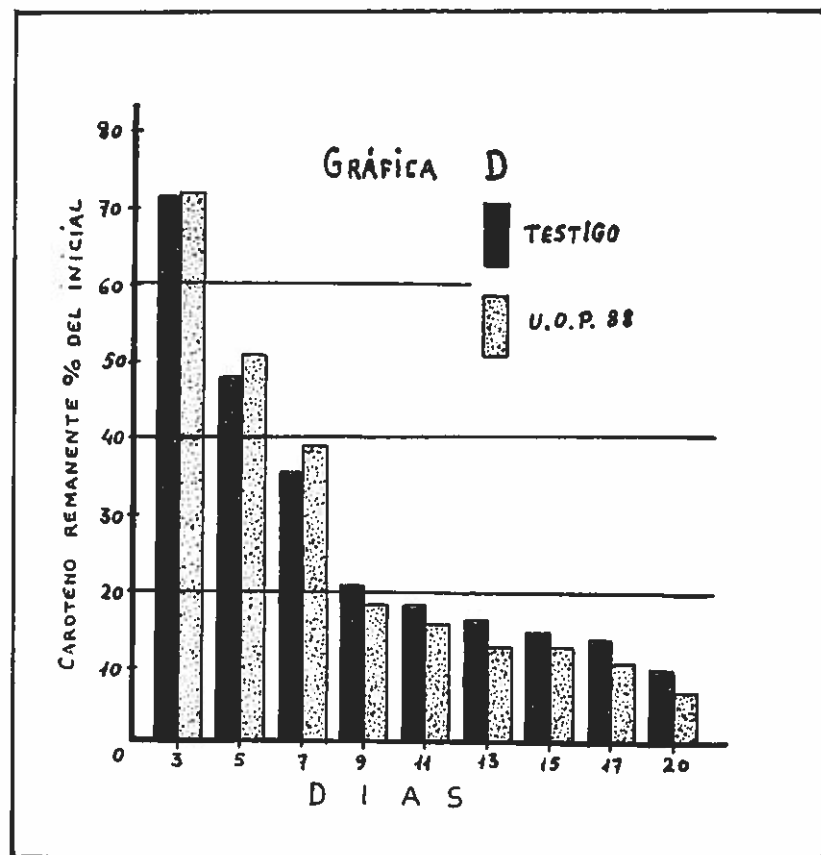
En la tabla III se expresan los resultados, en porcentaje del caroteno presente en cada momento en las series control. Evidentemente es expresado de esta manera como aparece más clara la superioridad del SANTOQUIN. Los otros tres antioxidantes probados, indican las cifras que, en realidad, y a la concentración empleada, han actuado como pro-oxidantes, la posibilidad de lo cual ha sido ya señalada por BICKOFF, LIVINGSTON y THOMPSON.<sup>5</sup>

TABLA III

Días	Caroteno % del testigo			
	Santoquin 0'015 "	B. H. T. 0'015 "	U. O. P. 5 0'003 "	U. O. P. 88 0'003 "
3	108.0	93.0	100.6	98.1
5	123.5	98.1	106.6	106.6
7	140.0	98.2	108.8	114.6
9	191.3	89.5	90.4	107.3
11	202.9	89.0	86.3	99.5
13	195.0	87.1	80.0	88.2
15	148.2	80.8	87.7	96.7
17	150.0	67.8	75.9	92.8
20	130.6	57.6	72.0	86.0

En las gráficas aparece de un modo aún más claro la ligera acción protectora del SANTOQUIN, y la falta de actividad de los otros tres productos.





Para trasladar estos resultados a la práctica hay que admitir que los resultados obtenidos a temperaturas altas son aplicables a las **condiciones normales de almacenaje**. Que existe una correspondencia y, por tanto, que el método acelerado es válido, parecen indicarlo los resultados obtenidos por THOMPSON<sup>2</sup> y BICKOFF.<sup>3</sup>

En realidad, incluso los resultados obtenidos para el SANTOQUIN son muy pobres. A los siete días ha desaparecido el 50 por 100 del caroteno originalmente presente. Las cifras que figuran en la literatura sobre la acción de este producto parecen ser exclusivamente las obtenidas por THOMPSON<sup>2</sup> que trabajó con harina de alfalfa, empleándole a la concentración de 0,125 por 100, es decir, casi diez veces mayor

que la autorizada y utilizada por nosotros, y las de BICKOFF<sup>3</sup> sobre la conservación del caroteno en solución en aceite mineral.

La relativamente escasa capacidad antioxidante del SANTOQUIN en nuestros ensayos pueden encontrar explicación en alguno o en varios de los siguientes hechos:

- a) Al empleo del producto en estado original, sin solvente.
- b) Al hecho de no emplear aceite en la proporción del 1 por 100, junto con el antioxidante.
- c) A que la aplicación del producto debe realizarse inmediatamente antes o después de la desecación y molturación de la alfalfa, y en nuestro caso se realizó la adición sobre una harina de alfalfa de algunas semanas.

En todo caso, en el trabajo de THOMPSON,<sup>2</sup> y en la figura 1, aparecen los efectos de cantidades crecientes de un antioxidante (la 2,5-diter-butilhidroquinona), sustancia de efectos muy semejantes a los del SANTOQUIN (véase tabla I del mismo trabajo). En dicha figura se aprecia que a la concentración autorizada, y por nosotros utilizada, los efectos estabilizadores son realmente mínimos, figurando el óptimo a concentraciones diez veces superiores a las autorizadas. Las gráficas no difieren esencialmente de los resultados por nosotros obtenidos.

Según BICKOFF<sup>3</sup> los antioxidantes deben ser solubles en la fase en que deben actuar, lo cual apoya la hipótesis de la falta de actividad cuando la adición tiene lugar sobre una sustancia muy desecada.

## II. INFLUENCIA DEL GRANULADO.

### MATERIAL Y METODOS

Hemos trabajado con dos harinas de alfalfa de distinto origen y fabricación. La primera procedente de una fábrica situada en la provincia de Badajoz y la segunda fabricada en la provincia de Madrid.

La granulación fue realizada con la prensa California, modelo "Century", cuyas características eran las siguientes:

*Alimentador*, que puede ser variado de tal forma que sus rendimientos cambien de una a sesenta veces.

*Mezclador*, especialmente diseñado con el fin de poder añadir humedad o vapor al pienso antes de formar los gránulos. El vapor de agua se inyecta en el alimentador para el acondicionamiento del producto antes de la formación de los gránulos.

*Sección de formación de pastillas*, que consta de un troquel anular que gira en la misma dirección que las manecillas de un reloj, que, a su vez, obliga a los piñones o rodillos a girar por su contacto con la superficie interior del troquel. El producto es presionado a través de los agujeros de los troqueles por los rodillos y al salir los gránulos fuera de la línea de los troqueles, son cortados por cuchillos fijos o por la barra rompedora.

Con el fin de obtener el mejor resultado, se debe disponer de un suministro de vapor de 3.5 kilogramos por centímetro cuadrado.

Consta, asimismo, de refrigerador de gránulos Henry Simon Ltd. número 244, con una capacidad de 9 m<sup>3</sup> con ventilador y ciclón.

Con la primera harina de alfalfa (serie A) se fabricaron gránulos de cuatro tamaños diferentes. Tamaño número I.  $\phi$  0.36 cm.; longitud 0.74 cm. y peso 0.0836 grs., siendo la relación superficie/peso 12.44 cm<sup>2</sup>/gr. Tamaño número II.  $\phi$  1.01 cm.; longitud 1.21 cm. y peso 0.9587 grs., siendo la relación superficie/peso de 5.67 cm<sup>2</sup>/gr. Tamaño número III.  $\phi$  1.33 cm.; longitud 1.52 cm.; peso 1.931 grs., con una relación superficie/peso de 4.72 cm<sup>2</sup>/gr. y tamaño número IV.  $\phi$  1.62 cm.; longitud 1.56 cm.; peso 3.323 grs. y relación superficie/peso, 3.62 cm<sup>2</sup>/gr.

Con la segunda harina de alfalfa (Serie B) se fabricaron dos tamaños de gránulos. Tamaño número I.  $\phi$  0.49 cm.; longitud 1.29 cm. peso 0.2444 gr.; relación superficie/peso 9.69 cm<sup>2</sup>/gr. Tamaño número II.  $\phi$  1.61; longitud 1.64 cm.; peso 3.080 gr.; relación superficie/peso, 4.01 cm<sup>2</sup>/gr.

Los métodos utilizados fueron los mismos que han sido descritos en la primera parte de este trabajo. Muestras de cada uno de los distintos tamaños de gránulos fueron colocadas en una sola bandeja en placas de Petri abiertas y depositadas en la estufa a 65° C. En las mismas condiciones se colocaron muestras de las harinas a partir de las cuales se habían fabricado los gránulos.

El contenido en caroteno se altera por el proceso de granulación, siendo la riqueza de la harina empleada en serie A de 259,1 mg/Kg. sobre base de sustancia seca, y la de los gránulos fabricados a partir de ella de 246.9 mg/Kg. en el tamaño I; de 251,0 mg/Kg. en el tama-

ño II; de 257.1 mg/Kg. en el tamaño III y de 205 mg/Kg. en el tamaño IV. En la alfalfa de la serie B el contenido inicial de caroteno era de 227 mg/Kg. también sobre base de sustancia seca y para los gránulos formados a partir de ella de 192,3 en el tamaño número I y 192 en el tamaño número II.

## RESULTADOS Y DISCUSION

Se observa que en ambas serie las harinas testigo tienen una riqueza en caroteno superior a la de los distintos tamaños de gránulos, fenómeno probablemente debido a la pérdida que tiene lugar por la acción de la temperatura elevada durante el proceso de la fabricación e igualmente la mejor calidad de la alfalfa de la serie A con un contenido en caroteno más elevado que la de la serie B.

En la tabla número I, figuran los valores absolutos de caroteno en cada una de las muestras a lo largo del experimento, observándose que, para valores de un mismo día, las cifras son más elevadas en las harinas testigo que para los gránulos correspondientes.

En la tabla número II, figuran los contenidos en caroteno, remanente expresado en tanto por ciento del inicialmente presente. Puede observarse que a los nueve días ha desaparecido el 50 por ciento del caroteno original en los gránulos de tamaño I y II de la serie A; a los doce días en los gránulos de tamaño III y en la harina testigo y a los dieciséis días en los gránulos de tamaño IV de esta misma serie. A los diecinueve días sólo presentan un remanente del 13 por 100 los gránulos del tamaño IV. Estos resultados han sido expresados gráficamente. (Gráficas E y F).

En la serie B, el 50 por 100 de pérdida se presenta a los seis días para los gránulos de ambos tamaños en tanto que la harina testigo conserva este mismo 50 por 100 hasta el día diez, manteniendo su superioridad a lo largo de todo el experimento.

De estos datos se deduce clara y evidentemente la ineficacia práctica de la fabricación de gránulos en la deshidratación de la harina de alfalfa con la finalidad de preservar la destrucción del caroteno. Los efectos debidos al tamaño son realmente muy débiles. Una explicación pudiera encontrarse en el hecho de que el proceso de destrucción del caroteno una vez acelerado por el proceso de granulación continúa incluso cuando se disminuye la superficie de exposición al aire.

TABLA I  
SERIE A

Días	Caroteno mgs. kg.				Harina
	Tamaños gránulos (diámetros)				
	I 0,36 cm.	II 1,01 cm.	III 1,33	IV 1,62 cm.	
3	147,9	179,5	143,8	137,7	208,1
5	136,7	146,9	138,5	131,1	189,0
9	96,9	117,3	133,1	124,4	169,8
12	86,7	98,4	105,6	105,6	121,4
16	64,1	50,0	59,1	59,1	98,4
19	21,8	29,7	39,5	38,3	46,1
23	17,1	18,7	28,5	25,7	35,5
26	9,7	17,5	19,18	24,0	24,4

SERIE B

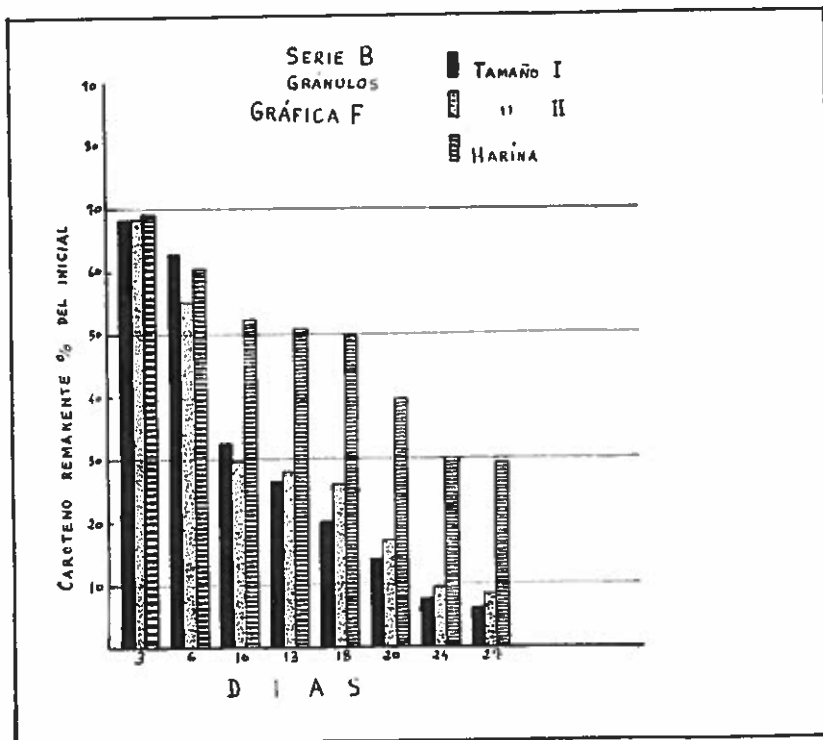
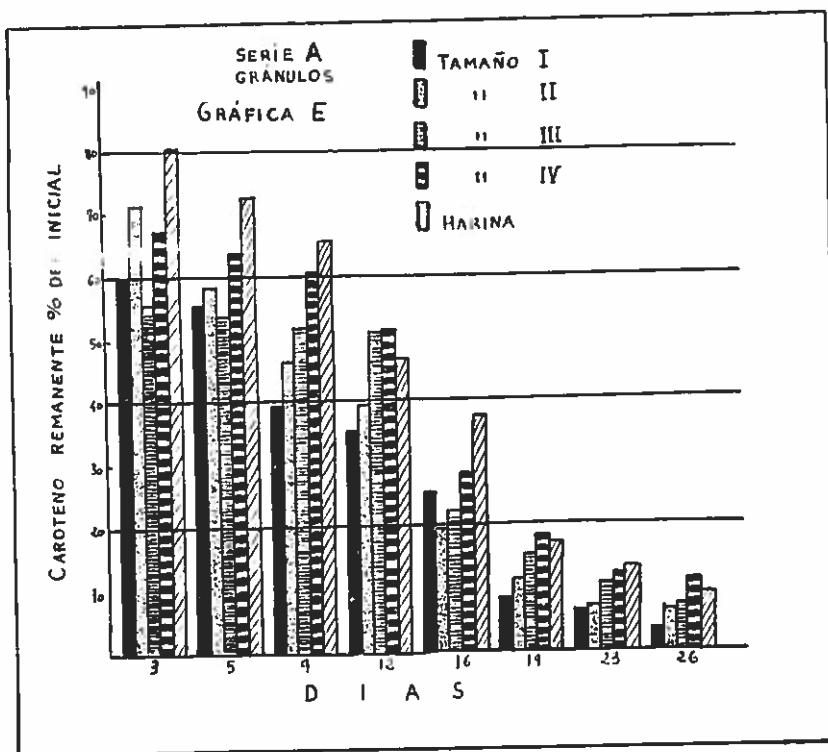
Días	Caroteno mgs. kg.		Harina
	Tamaños gránulos (diámetros)		
	I 0,49 cm.	II 1,61 cm.	
3	131,6	131,6	157,1
6	121,4	106,1	136,7
10	63,2	57,6	118,3
13	51,0	54,0	115,5
18	38,7	50,5	112,7
20	27,0	32,8	90,5
24	15,3	18,8	68,3
27	11,9	16,1	66,3

TABLA II  
SERIE A

Días	Caroteno remanente % del inicial				Harina
	Tamaños gránulos (diámetros)				
	I 0,36 cm.	II 1,01 cm.	III 1,33 cm	IV 1,62 cm	
3	59,9	71,5	55,9	67,1	80,2
5	55,3	58,5	53,8	63,9	72,9
9	39,2	46,7	51,7	60,6	65,5
12	35,1	39,2	51,0	51,4	46,8
16	25,9	19,9	22,9	28,8	37,9
19	8,8	11,8	15,3	18,6	17,7
23	6,9	7,4	11,0	12,5	13,6
26	3,9	6,9	7,7	11,7	9,4

SERIE B

Días	Caroteno remanente % del inicial		Harina
	Tamaños gránulos (diámetros)		
	I 0,49 cm.	II 1,61 cm.	
3	68,2	68,2	69,2
6	62,9	55,0	60,2
10	32,7	29,8	52,1
13	26,4	28,0	50,8
18	20,0	26,1	49,6
20	14,0	17,0	39,8
24	7,9	9,7	30,0
27	6,1	8,3	29,2



## RESUMEN

Se han realizado pruebas de laboratorio con cuatro antioxidantes (Santoquin, BHT, UOP-5 y UOP-33) en concentraciones autorizadas por la A. A. F. C. O. y casas productoras, con el fin de determinar y comparar su posible acción protectora sobre el caroteno contenido en harina de alfalfa deshidratada, conservada al aire y a la temperatura de 65° C.

De los resultados puede deducirse una ligera acción protectora del Santoquin en las condiciones y dosis experimentales utilizadas y la falta de actividad de los otros tres antioxidantes, que parece ser actuación como prooxidantes.

En la segunda parte del trabajo, y con el fin de comprobar la posible acción protectora del granulado sobre la conservación del caroteno, se efectuaron pruebas con dos series de granulos utilizados como control muestras de la harina de alfalfa empleada en la fabricación de los mismos. Los métodos utilizados fueron idénticos a los de la primera parte del trabajo.

Se observó que el contenido en caroteno se altera por el proceso de fabricación de los granulos ya que las harinas testigo tenían una superior riqueza en caroteno a la de los granulos con ellas fabricados.

De los datos obtenidos se deduce la ineficacia práctica de la granulacion con este fin y al parecer el proceso de destrucción acelerado durante la granulacion continua, incluso cuando se disminuye la superficie de exposicion al aire a consecuencia del granulado.

## RESUME

On a effectué des essais ou expériences de laboratoire avec quatre antioxydants (Santoquin, BHT, UOP-5 et UOP-33) dans des concentrations autorisées para la A.A.F.C.O. et les maisons productrices à fin de déterminer et de comparer leur possible action protectrice et conservatrice sur le carotène contenu dans de la farine de lucerne déshydratée, gardée ou emmagasinée en plein air et à la température de 65° C.

D'après les résultats obtenus on peut déduire qu'il y a une légère action protectrice du Santoquin dans les conditions et doses expérimentales utilisées et un manque d'activité de la part des autres trois antioxydants que agissent, paraît-il, comme des prooxydants.



Dans la deuxième partie du travail à fin de vérifier la possible action protectrice du granulage sur la conservation du carotène, on a fait des essais avec deux séries de granules utilisés comme échantillons-control de la farine de luzerne employée dans la fabrication des susdits granules. Les méthodes employées furent identiques à celles de la première partie du travail.

On a observé que le contenu en carotène change par le procès de fabrication des granules puisque les farines-témoin avaient une richesse en carotène supérieure à celle des granules fabriqués avec ces mêmes farines.

Des données obtenues on déduit l'inefficacité pratique de la granulation à cette fin et il paraît que le procès de destruction accéléré continue pendant la granulation, même quand la superficie d'exposition à cause du granulage.

#### SUMMARY

We have carried out some laboratory assays with four antioxidants (Santocin, BHT, UOP-5 UOP-88) in concentrations authorized by A. A.F.C.O. and the producing Firms of same in order to determine and compare their possible preventive and preservative action on the carotene contained in dehydrated lucerne meal kept in the open air and at a temperature of 65° C.

According to the results obtained we may conclude that there is a slight preservative action of Santocin under the conditions and experimental doses used and the lack of activity from the other three antioxidants which apparently seem to have acted as prooxidants.

In the second part of the work and in order to check the possible preservative action of the granulation on the preservation of carotene some assays were carried out with two series granules used as sample-control of the lucerne meal used in the manufacturing of same. The methods used were similar to those used in the first part of the work.

It was noticed that the carotene contents changes or is altered by the manufacturing process of the granules manufactured with them.

According to the data obtained we may deduce the practical inefficiency of the granulation to this purpose and apparently the accelerated process of destruction during the granulation goes on even when the area of exposition to the air decreases owing to granulation formed.

#### BIBLIOGRAFIA

1. The Feed Bag Red Book, 1960, pag. 49. Editorial Service Company, Inc. Milwaukee 3, Wis.
2. THOMPSON, C. R., 1950.—*Stability of Carotene in alfalfa meal, Effect of Antioxidants*.—Industrial and Engineering Chemistry, v. 42, p. 922, May 1950.
3. BOOTH, V. H., 1957.—*Carotene its Determination in Biological Materials*, Heffer-Cambridge.
4. BECKER, M., 1960.—*Analyse, Beurteilung und Bewertung der Futterstoffe*, Kiel.
5. BICKOFF, E. M., LIVINGSTON, A. L. and THOMPSON, C. R., 1955.—*Biphenol Derivatives as Antioxidants for Carotene*.—Journal of the American Oil Chemists Society, v. XXXII, n.° 2, 64-68.
6. KENNETH, A. WALSH, and HANGE, S. M., 1953.—*Carotene Factors Affecting Destruction in Alfalfa*.—Journal of Agricultural and Food Chemistry, October 23.
7. GULBERT, H. R., 1935, J. Nutrition, 10, 45.
8. HANGE, S. M. and AITKENHEAD, W. J., 1931, J. Biol. Chem. 93, 657.
9. CAPPÀ VITTORIO.—*Efficacia di alcuni antiossidanti nella conservazione dei caroteni della medica disidratata*, Revista di Zootecnia, Nov. 1953, n.° 11, pag. 317.