**Lucrarea de laborator nr. 1**

**DIFERENŢIEREA COLORANŢILOR DIN**

**PRODUSELE ALIMENTARE (A CELOR NATURALI DE CEI SINTETICI)**

Culoarea alimentelor reprezintă o caracteristică importantă din punct de vedere tehnologic, comercial şi nutritiv, jucând un rol important în aprecierea calităţii produselor alimentare. Ea depinde de conţinutul de pigmenţi (clorofilă, carotenoide, antociani, polifenoli), de conţinutul unor coloranţi naturali şi sintetici. În industria alimentară sunt utilizaţi atât coloranţi naturali, cât şi sintetici. Utilizarea coloranţilor sintetici în industria alimentară a constituit obiectul a numeroase preocupări şi discuţii în mass media. Această situaţie se datoreşte caracterului periculos pentru sănătate, dată fiind acţiunea cancerigenă a unora dintre aceşti compuşi, precum şi a dificultăţilor deosebite în stabilirea toxicităţii respectiv a inocuităţii lor. Datorită acestui ultim motiv, s-a ajuns în situaţia regretabilă uneori, de a se admite utilizarea coloranţilor cu mare potenţial cancerigen, ale căror efecte nocive au fost demonstrate mult mai târziu. Iată de ce în prezent, există tendinţa de a limita la maxim utilizarea coloranţilor sintetici în alimente.

Dozarea coloranţilor alimentari prezintă câteva aspecte particulare. Astfel, analiza acestor aditivi trebuie să stabilească:

1. Provenienţa colorantului (dacă este sintetic sau natural);

2. Structura chimică a colorantului şi identificarea lui.

Analiza chimică se desfăşoară în mod obişnuit în două etape:

a) Extracţia, purificarea şi stabilirea naturii colorantului;

b) Identificarea şi dozarea cantitativă.

***Extracţia, purificarea şi stabilirea naturii (provenienţei) colorantului***

Operaţia se face în două etape: extracţia cu diferiţi solvenţi, separarea din soluţie şi purificarea prin vopsire pe fibră sau folosirea răşinilor poliamidice.

**Extracţia colorantului din alimente**

Extracţia se face în funcţie de natura colorantului folosit, ca şi de natura probei de analizat. Cel mai frecvent se folosesc următorii solvenţi: apă distilată, soluţii apoase acide sau bazice, alcooli, eteri, esteri etc. Utilizarea judicioasă a diferitelor tipuri de dizolvanţi, face posibilă, uneori, separarea mai mult sau mai puţin completă a unui amestec de coloranţi. De exemplu: acetatul de etil dizolvă bine derivaţii halogenaţi ai ftaleinelor, Ponceau 4R (E124), orange III (E 160a ii) şi IV (E 160b), galben orange S (E 110); alcoolul absolut dizolvă amarantul (E 123), eritrozina (E 127); alcoolul 95% dizolvă coloranţii insolubili în alcool absolut (Roşu Allura AC, E 129). Alţi dizolvanţi, formează cu soluţiile apoase sisteme heterogene bifazice, permiţând prin modificarea mediului, trecerea colorantului dintr-o fază în alta şi separarea lui de componentele care fac dificilă determinarea. Un asemenea exemplu, este extracţia şi separarea coloranţilor liposolubili. Dintre dizolvanţii amintiţi, cel mai indicat este alcoolul izoamilic, deşi se reproşează faptul că dizolvă și mici cantităţi de zaharuri şi răşini, care pot îngreuna identificarea ulterioară. De asemenea, apa sau soluţiile apoase sunt folosite frecvent în acelaşi scop. Extracţia coloranţilor din produsul alimentar se face prin macerare cu porţiuni proaspete de solvent, prin fierbere la reflux, prin extracţie în percolatoare de tip Soxhlet sau prin extracţia în pâlnia de separare (mai ales în cazul alimentelor lichide). Desfăşurarea procesului de extracţie se poate urmări, cu excepţia refluxării prin modificările de culoare ale dizolvantului specific.

**Scopul lucrării:**

Identificarea coloranţilor naturali şi sintetici în produsele alimentare.

**Principiul metodei**: se bazează pe proprietăţile proteinelor sau a firelor de lână de a adsorbi coloranţii sintetici, pe când cei naturali nu sunt adsorbiţi.

**Produsul analizat:** produse alimentare lichide (sucuri, băuturi, alte produse colorate). **Materiale şi reactivi**:

- acid clorhidric (HCl, d= 1,19, diluat 1: 9 v/v);

- soluţie de K2SO4,10%;

- soluţie de NaOH, 5%;

- soluţie de NH4OH, 5%;

- fire de lână special preparate pentru analiză;

- eter;

- pH - metru sau hârtie indicatoare de pH,

- aparatul Soxhlet;

- baie de apă;

- baie de nisip.

**Modul de lucru:**

***Degresarea firelor de lână***

Lâna este fibra de origine animală cea mai utilizată, care din punct de vedere chimic este cea mai complexă, având în structură mai mult de 21 aminoacizi, dispuşi într-o ordine formând lanţuri lungi. Între lanţuri vecine sunt legături transversale de hidrogen, sare, cistin-disulfidice. Lâna conţine cinci elemente chimice de bază dintre care carbonul între 49,4 - 54,5 %, oxigenul 22 - 25%, azotul 15,4 -17% hidrogenul 6,8 - 7,5 % şi sulful 3 - 4%. Această organizare chimică explică o parte din proprietăţile lânii, cum ar fi recuperarea elasticităţii instantanee şi întârziate.

La acţiunea soluţiilor alcaline fibrele nu rezista. Astfel îmbrăcămintea se spală în anumite condiţii, cu detergenţi cu pH 7. La o concentraţie de 15%, soluţiile alcaline distrug fibrele. Acizii minerali diluaţi 5% nu influenţează deloc proprietăţile fibrelor. Pe aceasta proprietate se bazează carbonizarea lânii, adică curăţirea de resturi vegetale. La acţiunea apei oxigenate pigmenţii sunt distruşi, dacă este concentrată rezultă degradare. Solvenţii nu au nici o acţiune asupra fibrelor, este curăţată chimic.

Higroscopicitatea lânii este cea mai mare dintre fibrele naturale. În condiţii obişnuite lâna absoarbe din aer 15-18% vapori apă, iar în atmosferă saturată de vapori de apă umiditatea poate ajunge până la 40%. Până la o anumită limită, odată cu creşterea umidităţii lânii creşte şi elasticitatea, iar rezistenţa scade. Higroscopicitatea lânii creşte cu dezvoltarea canalului medular şi are efect asupra umflării ei prin creşterea diametrului cu până la 18%, iar lungimea cu 1%. Umiditatea lânii prezintă interes în procesele tehnologice (elasticitatea, încărcarea cu electricitate statică) şi în operaţiile comerciale. Proprietăţile fizico-mecanice sunt în dependenţă şi de cantitatea de apă din fibre. Prin scăderea conţinutului de apă, proprietăţile fibrelor se înrăutăţesc de aceia este necesar să se acorde atenţie mărită la uscarea lânii.

Firele de lână naturală se degresează cu eter (temperatura de 40-60˚C) în aparatul Soxlet; trebuiesc efectuate 25-30 de sifonări.

Aparatul Soxhlet utilizat la extragerea grasimilor prin aceasta metoda se compune din: un balon de distilare (1), cu capacitatea de 250 cm3, care colecteaza extractul eteric; un corp extractor (2) alcatuit dintr-un cilindru de sticlă închis în partea inferioară. În extractor se introduce un cartuș din hârtie poroasă care conține firele de lână. Extractorul este prevazut cu doua tuburi laterale: un sifon (3) care ajunge la circa 1/3 din înălțimea extractorului și care servește la trecerea solventului cu grăsime din extractor în balon; un tub mai larg (4) care face legatura între balon și partea superioară a extractorului, prin care trec vaporii de solvent în refrigerent; un refrigerent ascendent cu coloana în zig-zag (5); o baie de nisip pentru încălzirea aparatului (6).

Firele de lână se introduc într-un cartuș de hârtie poroasă, în lipsa cartușului standard se poate folosi hartie de filtru. Înălțimea cartușului trebuie astfel stabilită, încât acesta să fie cu 0,5 cm sub nivelul curburii superioare a sifonului, astfel încât și partea superioară a firelor de lână să fie spălată de solvent și deci, extrasă toată grăsimea.

***Aparatul Soxhlet***

Se introduc în balonul de distilare, câteva fragmente de porțelan poros, cartușul cu proba în extractor și se montează aparatul, adăugând la partea superioară a extractorului și refrigerentul. Se umple apoi cu eter de petrol corpul extractorului, turnând cu pâlnia prin partea superioară a refrigerentului, astfel ca prin sifonare, eterul să treacă în balon, după care se mai introduce în extractor o cantitate de eter de petrol pâna la 2/3 din înălțimea sifonului.

Se încălzește apoi balonul pe baia de nisip. Vaporii solventului care se cumulează în balon, trec prin tubul (4) și ajung în refrigerent unde se condensează și cad sub formă de picături pe cartușul din extractor. Când nivelul solventului acumulat prin condensarea vaporilor în extractor ajunge la nivelul sifonului (3), aparatul sifonează și întreaga cantitate de lichid trece din nou în balon. Extracția continuă astfel încât să aiba loc 10-15 sifonări pe oră. Cu fiecare sifonare, în balonul aparatului sunt aduse mici cantități din grăsimea dizolvată, astfel încât la sfârșitul determinării obținem în balon întreaga cantitate de grăsime conținută în firele de lână.

Lâna se usucă şi apoi se tratează termic timp de câteva minute în soluţie de NaOH de (5%); după aceea,lâna se spală atent cu apă şi se usucă din nou la aer; nu se recomandă atingerea firelor de lână cu mâna.

***Pregătirea probei pentru analiză***

1. Pentru analiză, se iau 30-40 cm3 de produs şi se determină valoarea pH-ului. În cazul în care produsul este concentrat, se iau numai 10-15 cm3 pentru analiză şi se diluează cu apă distilată până la volumul de 30-40 cm3.

2. Dacă valoarea pH–ului soluţiei a fost mai mică de 6 -7, proba se neutralizează cu soluţie de NH4OH (5%) până la valoarea pH-ului 7,0. Neutralizarea se efectuează fie cu hârtie de pH, fie astfel: în soluţie se introduc electrozii pH-metrului; cu ajutorul biuretei se adaugă soluţia NH4OH 5 %, până când pH-ul atinge valoarea 6,7–7,0; soluţia se agită permanent.

3. După neutralizare, în soluţie se introduc 5 ml de K2SO4 10%; paharul cu soluţie se încălzeşte în baia de apă până la fierbere; în soluţie se introduce o porţiune de fire de lână degresate în prealabil; se lasă în repaus 5 minute.

4. Peste 5 minute, firele se scot din soluţie şi se spală bine cu apă rece; se analizează culoarea fibrelor; prezenţa coloranţilor sintetici este indicată prin colorarea lânii.

5. Soluţia din care au fost scoase firele de lână se acidulează cu 3-4 picături de HCl, până la pH-ul de 3,0–5,0; în soluţie se introduce o altă porţiune de fire; se lasă în repaus 10 minute.

6. După 10 minute, lâna se scoate, se spală şi se examinează culoarea; se formulează concluzii privind colorarea lânii în mediul acid; prezenţa coloranţilor sintetici în produsele alimentare este indicată de colorarea lânii. Coloranţii bazici se fixează mai bine pe firele de lână în mediu neutru sau slab alcalin. Coloranţii acizi se fixează în medii acide, însă pot fi fixaţi slab şi în medii neutre. În cazul în care coloranţii din produsele alimentare testate sunt naturali, atunci lâna rămâne necolorată.

**Interpretarea rezultatelor**

În baza datelor experimentale, se formulează concluzii referitoare la natura coloranţilor din produsele alimentare analizate.

***Observaţii:*** operaţiile de purificare cu ajutorul firelor textile se bazează pe capacitatea de vopsire şi fixare diferită a coloranţilor pe acestea. Metoda prezintă interes, deoarece permite separarea colorantului din soluţie şi concentrarea pe fire; concomitent, se îndepărtează şi interferenţii, ca substanţele răşinoase etc., care pot împiedica identificarea ulterioară. De asemenea, în acest fel se poate estima provenienţa coloranţilor.

Criticile care se aduc acestei proceduri, constau în apariţia unor denaturări în structura coloranţilor, ulterioare operaţiunilor repetate de încălzire şi tratament chimic, pentru montarea şi demontarea coloranţilor pe fire.