**LUCRAREA DE LABORATOR nr. 8**

**DETERMINAREA SUBSTANŢELOR AMELIORANTE ÎNDULCITOARE**

Substanţele edulcorante sunt compuşi chimici cu structură diversă, care fără a avea valoare nutritivă au un gust dulce, asemănător zaharurilor simple, dar de intensitate considerabil mai ridicată (cca. de 30ori mai mare la ciclamat, de 200ori la zaharină şi de 4000ori la neoduxan).

Substanţele edulcorante au fost considerate practic ca lipsite de toxicitate (DL50 pt. ciclamat = 12g/kgcorp) cu excepţia dulcinii, care are o acţiune hepatotoxică şi cancerigenă şi a neoduxanului care este nefro- şi hepatotoxic. Datorită acestui fapt, ele au fost folosite nu numai în preparate dietetice, ci şi pentru fabricarea alimentelor hipocalorice, mult răspândite în unele ţări (mai ales ciclamatul, al cărui gust este mai plăcut şi este termostabil). Cercetări efectuate în ultimii ani au ilustrat însă potenţialul lor oncogen, determinând apariţia de cancer vezical, prin mecanisme încă puţin elucidate. Acest fapt, a determinat restrângerea folosirii lor în sectorul alimentar strict dietetic.

Cu toate acestea, alte substanţe edulcorante sunt folosite în prezent pentru prepararea alimentelor hipocalorice, cum ar fi: aspartamul, sintetizat din acid aspartic şi fenilalanină, cu putere de îndulcire asemănătoare zaharinei (care deşi netoxic, se descompune uşor în dicetopiperazină, fără putere de îndulcire); acesulfamul K, cu capacitatea de îndulcire de 130 de ori mai mare decât a zahărului şi neconsiderat toxic, care nu se acumulează în organism şi este metabolizabil. Se mai folosesc şi alţi compuşi, cum ar fi zaharurile modificate: triclorogalactozaharoza, care este de 650ori mai dulce decât zahărul, dar nemetabolizabilă şi cu suspiciuni de nocivitate.

**Scopul lucrării:**

- identificarea zaharinei şi ciclamatului din unele băuturi răcoritoare;

- verificarea datelor inscripţionate pe etichetele unor astfel de produse.

**Principiul metodei**: metoda cromatografică în strat subţire, se bazează pe reacţia de culoare.

**Produsul testat:** băuturi răcoritoare nealcoolice.

**Reactivi şi materiale:**

- H2SO4 10%;

- acetat de etil;

- Na2SO4 anhidru;

- soluţii etalon de ciclamat şi zaharină;

- amestec alcool etilic-amoniac (90:10) sau acetonă-amoniac (90:10);

- azotat de argint 0,05M;

- soluţie alcoolică de α-naftilamină 0,1%;

- pâlnie de separare de 250ml;

- capsulă;

- baie de apă;

- plăci de silicagel cu grosimea de 0,25mm.

**Modul de lucru:**

Sunt necesari 100ml de băutură (în cazul în care este un preparat fără suspensie) sau 20ml de preparat cu suspensie care se diluează la 100ml; se adaugă 100ml H2SO4 10% agitând uşor, pentru facilitarea extracţiei; se trece totul într-o pâlnie de separare de 250ml şi se extrage cu 50ml de acetat de etil; se lasă să se separe şi se scurge stratul de solvent într-o capsulă de porţelan, unde se tratează cu un vârf de spatulă de Na2SO4 anhidru; extractul se filtrează şi se concentrează pe baie de apă până la volumul de 1-2cm; se cromatografiază pe silicagel cu o grosime de 0,25mm. Plăcile astfel preparate, se usucă la temperatura camerei fără activare, prin încălzire. Pe placa preparată ca mai sus, se plasează spoturi din extractul obţinut ca mai sus şi dintr-o soluţie de ciclamat de calciu etalon, preparată prin dizolvarea a 1g de ciclamat în 100ml de alcool etilic 50% (1μl de soluţie va conţine 10μg ciclamat). Apoi, alături de etalonul de ciclamat se spotează un etalon de zaharină, preparat prin dizolvarea a 1g de sare de sodiu în 100ml de alcool etilic 50%; soluţia de zaharină va avea aceeaşi concentraţie ca şi cea de ciclamat. După aceea, cromatoplaca se developează folosind un amestec de alcool etilic-amoniac (90:10) sau acetonă-amoniac (90:10). Dacă proba conţine şi acid benzoic, identificat în cazul testărilor preliminare, acesta poate fi îndepărtat prin sublimare, introducând cromatoplaca în etuvă timp de 30-40minute la 130˚C.

După răcire, cromatoplaca se stropeşte cu o soluţie de azotat de argint 0,05M, preparată prin dizolvarea a 170mg de AgNO3 în 1ml apă, la care se adaugă 5ml amoniac şi se aduce la 200ml cu alcool etilic 95%.

După stropire şi uscare la temperatura camerei, se iradiază în U.V. la 245-300nm timp de 1 minut; în aceste condiţii, apar spoturi albe pe un fond gri mai închis sau mai puţin închis la culoare, având coeficienţi Rf = 0,20 pentru ciclamat sau acid benzoic şi Rf = 0,50 pentru zaharină (din cauza acestei interferenţe, este necesară îndepărtarea prealabilă a acidului benzoic). Pentru identificarea numai a zaharinei, placa se stropeşte cu o soluţie 0,1% de α-naftilamină, care se prepară adăugând la o soluţie de αnaftilamină 0,1% în etanol (soluţia este nestabilă şi trebuie proaspăt preparată), 5 picături de soluţie saturată de acetat de cupru şi 3 picături de soluţie de acid glacial. În prezenţa zaharinei, reactivul de α-naftilamină formează spoturi colorate în violet închis.

**Interpretarea rezultatelor**: Pe baza datelor experimentale se formulează concluzii referitoare la prezenţa unor edulcoranţi în probele analizate.