

PRÀCTICA DE SEPARACIÓ I IDENTIFICACIÓ DELS COLORANTS DEL RECOBRIMENT DELS CARAMELS M&M

1.- Introducció

Un colorant alimentari és un additiu que s'empra principalment per afegir o restaurar el color d'un aliment. També es consideren colorants alimentaris els usats per tenyir papers, cartrons i altres materials que s'empren per embolicar aliments.

Els additius colorants han estat sempre molt emprats en l'elaboració artesanal i industrial dels aliments. Primer es feien servir espècies i productes naturals per a donar colors més vius als aliments i fer-los més agradables. Fins a la meitat del segle XIX tots els colorants alimentaris tenien origen natural, però a partir de la síntesi de Perkins el 1856 de la primera substància orgànica amb propietats colorants, els colorants artificials van començar a ser molt usats per la indústria alimentària. Actualment, a causa de problemes d'al·lèrgia i d'altres possibles efectes no desitjables dels colorants artificials, les normatives limiten l'ús d'aquests colorants i, per tant, s'intenta substituir-los per colorants naturals.

En aquesta pràctica separarem i identificarem colorants alimentaris mitjançant la tècnica de cromatografia líquida en fase reversa. Per identificar els colorants s'usarà l'espectroscòpia visible.

2.- Fonaments del mètode de separació dels colorants: la cromatografia líquida de fase reversa

La cromatografia és un conjunt de tècniques de separació dels components d'una mescla segons la seva polaritat. Existeixen diversos tipus de cromatografies, però en totes hi ha una fase mòbil i una fase estacionària; la fase mòbil és un fluïd que arrossega la mostra a través de la fase estacionària, que és un sòlid. Els components de la mescla, com que tenen polaritat diferent, interaccionen de forma diferent amb la fase estacionària i amb la fase mòbil, de manera que atravesen la fase estacionària a velocitats diferents, cosa que fa que es vagin separant.

La cromatografia líquida de fase reversa és un dels tipus de cromatografia de columna. La columna que pot tenir mides molt petites, com la que s'usa en aquesta pràctica, o mides considerablement més grans, depenent de la quantitat de material que s'ha de separar. A l'interior de la columna hi ha un sòlid que és la fase

estacionària. Els primers sòlids usats com a fase estacionària van ser els òxids Al_2O_3 i SiO_2 , de característiques polars. En aquest cas la fase mòbil que s'usa és menys polar que la fase estacionària. Aquesta cromatografia s'anomena en fase normal. Si el material sòlid de la columna (SiO_2) es modifica químicament amb hidrocarburs saturats, insaturats o aromàtics de diferent tipus, la fase estacionària passa a ser un material apolar, i la fase mòbil adequada és més polar que l'estacionària. Per aquest motiu quan la fase estacionària té característiques apolars la cromatografia s'anomena en fase reversa.

La mostra es diposita sobre la columna. I a través de la columna es fan passar líquids que són la fase mòbil. Normalment aquests líquids són mescles de dos dissolvents, i al llarg del temps es va canviant la proporció dels dos líquids que formen la mescla, de manera que varii la polaritat la fase mòbil. Quan la cromatografia és de fase reversa es fan servir mescles de solvents polars, com aigua, acetonitril, acetat d'etil, acetona i alcohols alifàtics.

Les molècules de colorants es retenen a la columna a causa de les interaccions hidrofòbiques que estableixen amb les cadenes de carboni. Les interaccions hidrofòbiques són en general bastant dèbils, però són molt nombroses. Per a eluir (fer sortir de la columna) les molècules és quasi sempre necessari disminuir la polaritat del dissolvent; per això es pot substituir l'aigua de la fase mòbil per un solvent orgànic, la concentració del qual es va augmentant gradualment.

3.- Fonaments del mètode d'identificació dels colorants

Els colorants deuen el seu color a la seva estructura química. Els colorants d'aquesta pràctica són colorants corrents de la indústria alimentària. Dos d'ells són naturals: el carmí i el β -apo-8'-carotenal; la resta són artificials. El diòxid de titani és un cas especial, ja que no absorbeix llum visible i, per tant, no el podem identificar.

Tots els colorants d'aquesta pràctica excepte el diòxid de titani són molècules orgàniques, les quals tenen grups cromòfors (grups d'àtoms que tenen enllaços insaturats, normalment conjugats o aromàtics, cosa que fa que absorbeixin radiació visible o ultraviolada). A causa d'aquestes característiques químiques aquests colorants tenen colors vius i absorbeixen llum de la radiació visible. Aquesta característica s'aprofita per identificar-los, ja que cada colorant absorbeix a una longitud d'ona diferent. Usarem la longitud d'ona on es produeix la màxima absorció de cada colorant (vegi's la taula dels colorants).

A la pràctica s'usarà un espectrofotòmetre i l'interval de longitud d'ona d'irradiació serà entre 650 i 380nm, que correspon a la radiació visible. Mesurarem

absorbàncies, per tant, quan es produeixi absorció s'observarà un pic, la longitud d'ona del qual ens permetrà identificar el colorant.

4.- Realització de la separació dels colorants del recobriment dels caramels M&M

1) Començarem preparant la columna de cromatografia: primer passarem per la columna 10 mL d'una solució d'isopropanol (IPA) del 70% . A continuació activarem la columna fent-hi passar 10 mL d'aigua destil·lada.

2) Posarem un caramel M&M en un vial i afegirem 5 cm³ d'aigua destil·lada. Observarem com l'aigua comença a acolorir-se, i en pocs minuts la capa externa es dissol completament, formant una suspensió acolorida. Convé deixar el temps just per a què se dissolgui només la capa acolorida, no la següent capa blanca.

3) Amb una pipeta Pasteur passarem aproximadament 1mL de la solució acolorida a un petit tubet de plàstic amb tapa (un tub eppendorf) i repetirem l'operació amb un altre tubet. Els posarem a la microcentrífuga, disposant-los un davant de l'altre per repartir bé el pes. Connectarem la centrífuga a una velocitat adequada durant uns 3-5 minuts.

4) Agafarem els tubets de la centrífuga i amb una pipeta Pasteur agafarem el líquid que puguem sense tocar les parets ni el fons del tubet. Aquesta solució la dipositarem sobre la columna de cromatografia. Repetirem la mateixa operació amb l'altre tubet.

5) Posarem l'èmbol de la xeringa i pitjarem suaument de forma que el líquid surti gota a gota.

6) Començarem fent passar per la columna 2 cm³ d'aigua destil·lada, tot empenyent amb l'èmbol. Recollirem el líquid que surt de la columna en vials, i cada vegada que observem un canvi de color canviarem de vial.

7) A continuació farem passar per la columna mescles IPA-aigua de concentracions creixents en alcohol: primer IPA 4%, després IPA 10%, a continuació IPA 17%, i si encara queda color a la columna hi farem passar IPA 35%. Així aconseguirem la separació dels colorants. Cada vegada que s'observi un canvi de color en el líquid que surt de la columna s'ha de canviar de vial.

8) Rentarem la columna amb 10 mL d'isopropanol del 70%.

9) Usarem l'espectrofotòmetre d'UV-Visible per enregistrar un espectre de cada colorant separat. En aquesta part convé seleccionar el rang d'absorbància de 0 a 1,5 o 2. Omplirem la cubeta amb l'ajuda d'una pipeta Pasteur. Procureu no rallar les parets de la cubeta amb la pipeta. Afegiu-hi aigua destil·lada en cas de no arribar al 70% de l'altura de la cubeta. Amb cada colorant farem un escombrat complet entre 650 i 380 nm, que enregistrarem al mateix paper per poder comparar els seus màxims d'absorció.

L'envàs dels M&M indica que actualment els colorants utilitzats per elaborar els caramels són:

Codi	Nom	Color	λ_{max} absorció
E-171	òxid de titani	blanc	----
E-104	quinoleïna	groc	412, (430)
E-160e	β -apo-8'-carotenal	taronja	450
E-120	Carmí*	vermell	531, (551)
E-133	blau brillant FCF	blau	630

* El carmí està format per dues molècules d'àcid carmínic que actuen de lligand d'un ió d'alumini.

Contesteu:

- 1.- Identifiqueu els colorants presents al caramel M&M que hàgiu estudiat.
- 2.- S'ha aconseguit una separació completa dels colorants?
- 3.- Busqueu la fórmula desenvolupada dels colorants dels caramels M&M. ¿Què tenen en comú els diversos colorants que absorbeixen al visible?