

UMETNA IN NARAVNA BARVILA V ŽIVILIH

Živa Anderluh

Raziskovalna naloga
Osnova šola Valentina Vodnika

Umetna in naravna barvila v živilih
(Kemija)

Avtorica: Živa Anderluh, 7. c

Mentorica: Nataša Arčon Triler

Somentor: prof. dr. Marko Anderluh, mag. farm.

Ljubljana, marec 2020

KAZALO VSEBIN

UMETNA IN NARAVNA BARVILA V ŽIVILIH.....	1
Umetna in naravna barvila v živilih.....	2
SEZNAM PRILOG.....	4
POVZETEK.....	6
1. UVOD.....	7
1.1 Namen naloge.....	8
1.2 Hipoteze.....	8
2. TEORETIČNI DEL.....	9
2.1 BARVILA V PREHRANI.....	9
2.2 FILTRACIJA.....	12
2.3 EKSTRAKCIJA.....	12
2.4 pH VREDNOST.....	13
2.5 pH INDIKATORJI.....	13
3. EKSPERIMENTALNI DEL.....	15
3.1 MATERIAL.....	15
3.2 METODE.....	18
3.2 EKSPERIMENTALNI DEL.....	20
4. REZULTATI.....	22
4.1 Izolacija barvila beta karoten iz korenčka.....	22
4.2 Izolacija barvila klorofil iz blitvinih listov.....	22
4.3 Izolacija barvila kurkumin iz kurkume.....	23
4.4 Izolacija barvila likopen iz kečapa.....	23
4.5 Izolacija barvil antocianinov iz borovnic.....	24
4.6 Izolacija barvila betalain iz kuhane rdeče pese.....	25
4.7 Lastnosti karminske kisline iz rdeče barve za hrano.....	26
5. RAZPRAVA.....	28
6. ZAKLJUČEK.....	29
7. VIRI IN LITERATURA.....	30

SEZNAM PRILOG

Preglednica 1. Seznam sinteznih barvil, odobrenih v Evropi s strani Evropske agencije državne agencije za hrano in zdravila.....	10
Preglednica 2. Izbrana živila, iz katerih sem ekstrahirala barvila.....	17
Slika 1. Valovna dolžina vidne svetlobe v celotnem spektru elektromagnetnega valovanja (povzeto po sliki na spletni strani OpenProf).	7
Slika 2. Zeleno rastlinsko barvilo klorofil absorbira svetlobo določenih valovnih dolžin (določenih barv), a odbija le svetlobo zelene barve. Zato vidimo zelene liste.	7
Slika 3. Plastenka pijače fanta.	9
Slika 4: Aparatura za gravitacijsko filtracijo.....	12
Slika 5: Aparatura za ekstrakcijo; plast organskega topila (organska faza) z želeno snovjo je označena z zeleno in je nad plastjo vode (vodna faza, označeno s sivo).....	13
Slika 6. pH-lestvica: 1-7 je kislo območje, 7 je nevtralnno, 7-14 je bazično območje (povzeto po sliki na spletni strani OpenProf).....	13
Slika 7. Stojalo za laboratorijsko opremo in lij ločnik.....	15
Slika 8. pH papirčki.	16
Slika 9. Palični mešalnik s sekljalnikom.....	16
Slika 10. Organsko topilo etilacetat.....	18
Slika 11. Izvedba gravitacijske filtracije.	19
Slika 12. Magnetno mešalo s sesekljanimi listi blitve v mešanici vode in etilacetata.	19
Slika 13. Porazdeljevanje barvila beta karoten iz korenčka med etilacetatom (zgoraj) in vodo (spodaj).	22
Slika 14. Porazdeljevanje barvila klorofil iz listov blitve med etilacetatom (zgoraj) in vodo (spodaj).	22
Slika 15. Porazdeljevanje barvila kurkumin iz mlete kurkume med etilacetatom (zgoraj) in vodo (spodaj).....	23
Slika 16. Porazdeljevanje barvila likopen iz kečapa med etilacetatom (zgoraj) in vodo (spodaj).....	23

Slika 17. Porazdeljevanje barvil antocianini iz svežih borovnic med etilacetatom (zgoraj) in vodo (spodaj).....	24
Slika 18. Barva antocianinov v bazičnem (pH=14), rahlo bazičnem (pH=9) in kislem (pH=1).....	24
Slika 19. Porazdeljevanje barvila betalain iz kuhane rdeče pese med etilacetatom (zgoraj) in vodo (spodaj).....	25
Slika 20. Barva betalaina v bazičnem (pH=14), nevtralnem (pH=7) in kislem (pH=1).....	26
Slika 21. Porazdeljevanje barvila karminska kislina med etilacetatom (zgoraj) in vodo (spodaj).....	26
Slika 22. Barva karminske kisline v bazičnem (pH=14), nevtralnem (pH=7) in kislem (pH=1).....	26

Zahvala

Iskreno bi se rada zahvalila mentorici Nataši Arčon Triler, ki mi je prijazen pomagala ter me spodbujala pri izdelavi raziskovalne naloge.

Zahvalila bi se tudi somentorju Marku Anderluhu za prijazen odstop laboratorija na Fakulteti za farmacijo in izposajo laboratorijskih pripomočkov ter za njegovo pomoč.

POVZETEK

Naslov naloge: Umetna in naravna barvila v živilih

Raziskovalka: Živa Anderluh, 7. c

Mentorica: Nataša Arčon Triler – Osnovna šola Valentina Vodnika

Somentor: prof. dr. Marko Anderluh, mag. farm. – Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo

Ključne besede: živila, barvila, ekstrakcija, filtracija, pH indikator

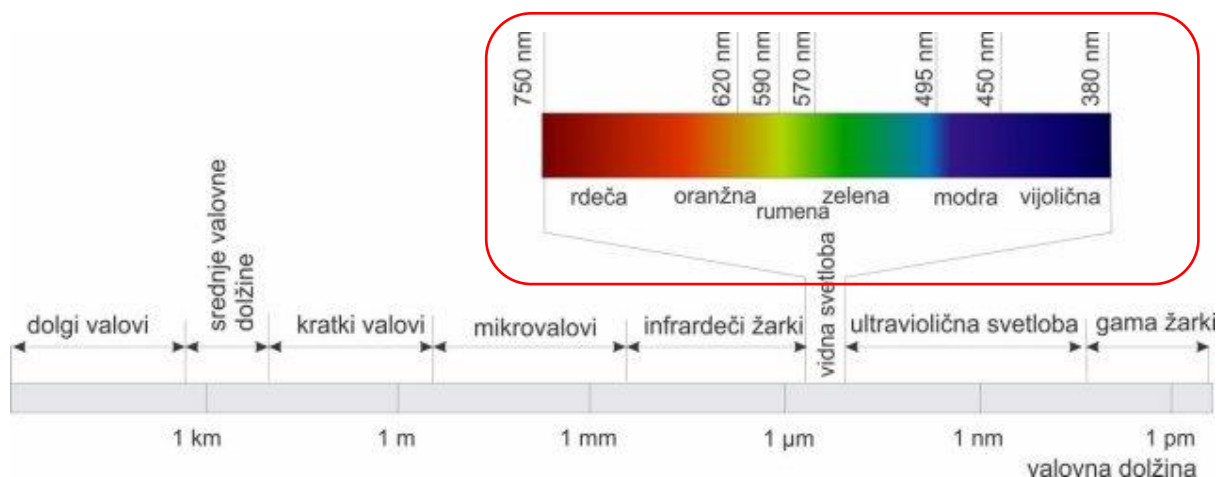
Povzetek naloge:

V vsakdanjem življenju se srečujemo z različnimi barvami, posledično tudi s hrano različnih barv. Svetloba nam omogoča, da vidimo barve. Kar svetloba osvetli, odbije posebno valovno dolžino in mi posledično vidimo »barvo« odbite valovne dolžine. Barvila v hrani so lahko naravnega ali umetnega izvora in se dodajajo živilom predvsem zaradi izboljšanja videza hrane. Proizvajalci lahko živilu dodajo le odobrena barvila z identifikacijsko oznako E. Dandanes se živilska industrija zaradi nižjih cen in širšega nabora v veliki meri poslužuje uporabe sinteznih barvil.

V raziskovalni nalogi sem iz nekaterih živil in prehranskih izdelkov iz trgovin ekstrahirala barvila. Izdelki so bili: sveže korenje, sveža blitva, mleta kurkuma, kuhana rdeča pesa, sveže borovnice in že narejena živila; kečap Felix in rdeče barvilo za hrano s karminsko kislino. Vsebnost barvil v posameznem živilu sem poiskala v ustrezni literaturi ali sem prebrala na oznaki vsebnosti. Barvila sem porazdeljevala med vodno in organsko fazo. Ugotovila sem, da so nekatera barvila topna v organski fazi (olju), nekatera pa v vodni fazi. Barvilom topnim v vodni fazi sem dodala raztopine z različnimi vrednostmi pH. S pH lestvico lahko raztopinam določimo njihov pH. Od 1 do 6 so kisle, pri 7 so nevtralne in od 8 do 14 so bazične raztopine. Ugotovila sem, da vsa izolirana v vodi topna barvila spreminjajo barvo v odvisnosti od pH, zato sklepam, da bi jih lahko uporabili kot pH indikatorje.

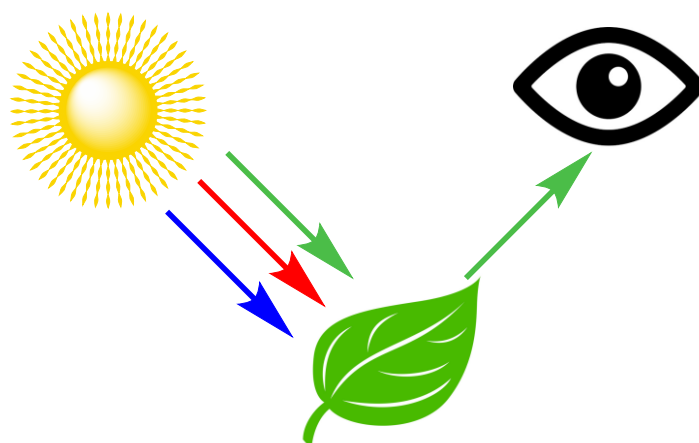
1. UVOD

V vsakdanjem življenju se srečujemo z barvami (oblačila, rastline, živali, predmeti). S pomočjo svetlobe lahko vse to vidimo. **Svetloba** se meri v nanometrih in človek vidi svetlobo kot majhen del celotnega spektra elektromagnetnega valovanja med 400 nm in 700 nm (Slika 1).¹ **Vidna svetloba** je posledica odboja svetlobe od površine predmetov. Kar svetloba osvetli, odbije posebno valovno dolžino in mi posledično vidimo »barvo« odbite valovne dolžine. Tako npr. zeleni listi vsebujejo zeleno barvilo klorofil - ta odbije svetlobo valovne dolžine, ki ustreza zeleni barvi (Slika 2).²



Slika 1. Valovna dolžina vidne svetlobe v celotnem spektru elektromagnetnega valovanja (povzeto po sliki na spletni strani OpenProf).¹

Tudi hrana je različnih barv in oblik. Privlači nas hrana, ki je lepega videza in zato manj gledamo na ceno, energijsko vrednost ali na sestavine nekega živila. Naši predniki so uživali hrano različnih barv, ki jim je vračala zdravje ter pričarala pozitivno vzdušje v prostoru. Danes je popularno hujšanje z hrano različnih barv.³ Vse to je posledica posebnih molekul v hrani – **barvil**.



Slika 2. Zeleno rastlinsko barvilo klorofil absorbira svetlobo določenih valovnih dolžin (določenih barv), a odbija le svetlobo zelene barve, zato vidimo zelene liste.

Vendar barvila v hrani ne vplivajo le na samo barvo, temveč imajo tudi določene učinke na zdravje. Tako npr. klorofil v zelenjavi (Slika 2) vsebuje magnezij, zelo pomemben mineral za normalno delovanje človeškega telesa.⁴

1.1 NAMEN NALOGE

Barvila so lahko naravna ali umetna in jih dodajamo živilom predvsem zaradi izboljšanja videza hrane. Po drugi strani so barvila v naravnih živilih naravno prisotna in imajo namen privabljanja in hkrati zaščite plodov. Barvila lahko iz hrane izločimo in ugotovimo njihove lastnosti: ali se dobro raztapljajo v vodi ali ne, ali se dobro raztapljajo v oljnem ali ne in kako se obnašajo v kisljih ali bazičnih raztopinah.

Namen moje naloge je pregledati seznam barvil v živilih tako naravnega kot umetnega izvora. V prvem, teoretičnem, delu naloge želim opisati, kako živilska industrija loči in označuje barvila: ta se ločujejo ne le po barvah, temveč tudi po posebnih oznakah z začetnico E. Določena barvila so dovoljena za uporabo v prehrani, določena ne. Zato želim ločiti barvila po barvah in primernosti za uporabo v prehrani.

V praktičnem delu naloge želim iz izbranih živil izločiti barvila. Nadalje želim preveriti, ali se ta barvila raztapljajo v vodi ali v organskih topilih, ki se ne mešajo z vodo. Pri barvilih, ki se raztapljajo v vodi, pa želim preveriti, ali se njihova barva spreminja v odvisnosti od kislosti ali bazičnosti vodnega okolja in to povezati s spremembo kemijske strukture barvila. Želim namreč preveriti, ali bi ta barvila lahko uporabljali kot pH indikatorje – spojine, ki menjajo barvo v odvisnosti od kislosti ali bazičnosti vodnih raztopin.

1.2 HIPOTEZE

Pri izdelavi raziskovalne naloge sem si zastavila spodaj navedene hipoteze.

Hipoteza 1: barvila v izbranih živilih lahko ekstrahiram s pomočjo vode in organskega topila etilacetat.

Hipoteza 2: barvila se bodo porazdelila bodisi v organsko bodisi v vodno fazo.

Hipoteza 3: barvila, ki se raztapljajo v vodi, bodo v kislem, nevtralnem ali bazičnem okolju spreminjala barvo.

2. TEORETIČNI DEL

2.1 BARVILA V PREHRANI

Skoraj vsako živilo ima neko barvo, ki je posledica molekul barvila. Barvilo lahko barvo izgubi ob določenih pogojih. Kadar živilo izgubi svojo barvo pri določenih tehnoloških postopkih (toplotna obdelava, skladiščenje...), mu proizvajalci lahko dodajo barvilo, da je privlačnejše za kupca. Proizvajalci lahko živilu dodajo le odobrena barvila z identifikacijsko številko E. Barvila so lahko naravno ali umetno pridobljena. Naravna barvila so lahko rastlinskega ali živalskega izvora. Če so živilu dodani barvni izvlečki, se to že lahko smatra za dodajanje aditivov (Aditivi so snovi, ki v živilu niso prisotne naravno, temveč so mu dodane, da bi podaljšali obstojnost živila.).⁵

Na slovenskem tržišču so najpogosteje uporabljena naravna barvila, npr. kurkumin (E100), košenilja (E120), karamel (E150a), izvleček paprike (E160c), karoteni (E160a).⁵ Ta barvila so lahko naravna ali umetna, kar je odvisno od samega procesa pridelave. Včasih je ceneje barvilo izolirati iz svežega živila (npr. ekstrakt paprike), včasih pa je barvilo lažje sintetizirati v laboratoriju. Umetna barvila v prehrani so prisotna predvsem v prigrizkih, mlečnih izdelkih, pijačah, sladkarijah in desertih. Kot primer bi dala eno priljubljenih pijač – fanta (Slika 3). Fanta ima intenzivno rumeno barvo in pregled sestavin nam razodene, da fanta vsebuje barvila karotene.⁶ Najbrž bi naš vtis o pijači bil drugačen, če bi fanta imela le blede barvo, četudi bi bil okus enak.



Slika 3. Plastenka pijače fanta.⁶

Kot sem že omenila, barva hrane izvira iz posebnih molekul – **barvil**. Nekaj pomembnih naravnih barvil navajam v naslednjih vrsticah:





- **karotenoidi** (E160a) so rdeče, oranžne ali rumene barve; najpogostejši predstavnik je beta-karoten, ki je oranžen in lipofilen, velikokrat se dodaja margarini in sirom,
- **klorofil** (E140) je naravni pigment iz zelenih rastlin, ki ga le-te uporabljajo za sintezo ogljikovih hidratov iz ogljikovega dioksida in vode pod vplivom svetlobe (fotosinteza), pogosto se dodaja živilom z okusom mete in limet (bomboni, sladoled),











- **antocianin** (E163) je zmes spojin in najboljši naravni vir za modre in rožnate barve; poznamo več kot 500 vrst kemijsko različnih antocianinov, ki so topni v vodi in se uporabljajo za živila na vodni osnovi (pijače, želatina, bomboni),
- **kurkumin** (E100, turmeric) je barvilo z močno rumeno barvo in se dodaja gorčici; pridobivajo ga iz podzemnega stebela podzemne rastline kurkuma (latinsko ime *Curcuma longa*)⁷, ki se uporablja tudi kot začimba,
- **likopen** (E160d) je rdeče barvilo iz paradižnika,
- **karminska kislina** (E120) se je še v času Aztekov pridobivala iz žuželk *Dactylopius coccus*, ki živijo na kaktusih; danes se uporablja v vrsti prehrabnenih in kozmetičnih izdelkov (živila jagodnega okusa).⁸

Zdi se mi zelo zanimivo, da barve ne pridelujemo samo iz rastlin, temveč tudi iz žuželk. Tako mi je oče povedal, da so znano italijansko pijačo campari izdelovali z uporabo pikapolonic.⁹ Ta naravna barvila so opustili leta 2006 in danes dodajajo barvila E102, E122 in E133. Zakaj umetna barvila? Danes se živilska industrija v veliki meri poslužuje uporabe sinteznih barvil. Razlog so nižji stroški kemijske sinteze napram stroškom nabiranja in obdelave naravnih virov barvil. Dodatni razlog je širši nabor kemijsko pridobljenih barvil. Kako vem, da je živilo tehnološko oziroma umetno obarvano? Uporabljena barvila za živila morajo biti skladno s »Pravilnikom o splošnem označevanju predpakiranih živil« in »Uredbo o informacijah o živilih potrošnikom« navedena na označbi živila. Barvilo za živila mora biti označeno pod sestavinami s kategorijo in imenom barvila ali E oznako aditiva.¹⁰

Zaradi potencialnih škodljivih učinkov in nedokazane varnosti umetnih barvil, mnogi regulatorni organi v državah po svetu dovolijo le omejeni nabor umetnih barvil za uporabo v živilski industriji.

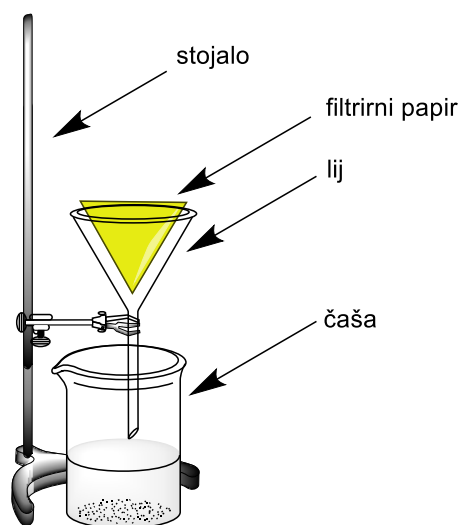
Preglednica 1. Seznam sinteznih barvil, odobrenih v Evropi s strani Evropske državne agencije za hrano in zdravila.¹¹

Ime barvila	E oznaka	Primer
Allura Rrdeče AC	E129	
Amarant	E123	
Brilliant črno BN	E151	
Brilliant modro FCF	E133	

Brown HT	E155	
Carmoizin	E122	
Eritrozin	E127	
Green S	E142	
Indigotin	E132	
Patent Blue V	E131	
Ponceau 4R	E124	
Quinolin rumeno	E104	
Sunset rumeno FCF	E110	
Tatrazin	E102	

2.2 FILTRACIJA

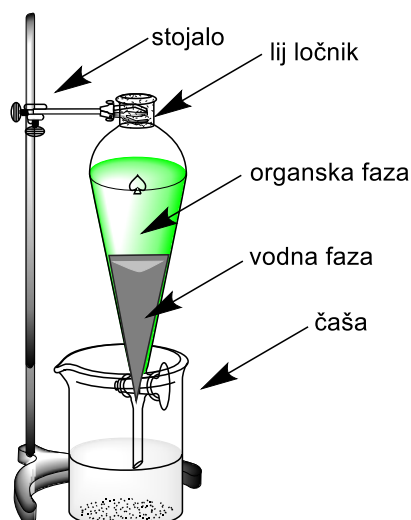
Filtracija je kemijska metoda, s katero ločujemo trdne neraztopljene delce od raztopine. Filtracija suspenzije je pomembna, ker se z njo znebimo netopnih trdnih delcev v suspenziji. Zelo je uporabljena v organski kemiji. Izvedemo jo tako, da tekočino spustimo skozi porozno pregrado, kot je filter papir ali sintrano steklo, pri čemer trdna snov ostane na tej pregradi. V mnogih primerih je gravitacija dovolj, da tekočina preide skozi porozno pregrado, čemur pravimo **gravitacijska filtracija**. Kadar imamo velike količine suspenzije, je gravitacijsko filtriranje prepočasno in uporabimo filtracijo z znižanim pritiskom ali nučanje. Za filtriranje majhnih koščkov iz suspenzije uporabimo gravitacijsko filtracijo s filtrirnim papirjem (Slika 4).¹²



Slika 4: Aparatura za gravitacijsko filtracijo.

2.3 EKSTRAKCIJA

Ekstrakcija v kemijskem smislu pomeni prenos molekul snovi, ki jo želimo ekstrahirati, iz tekoče ali trdne faze v drugo tekočo fazo. Ekstrakcijo pogosto uporabljamo za izolacijo spojin iz reakcijske zmesi ter za ločevanje in čiščenje spojin. V organskem laboratoriju je najpogostejša ekstrakcija organskih spojin iz ene tekoče faze v drugo. Ti dve tekoči fazi sta vodna raztopina in organsko topilo, ki se z vodo ne meša, tehnika pa se imenuje **ekstrakcija tekoče-tekoče**. Pripomočki za ekstrakcijo so stojalo za laboratorijske pripomočke, lij ločnik, ter čaša ali erlenmajerica (Slika 5).¹³ Pri tej ekstrakciji eno snov »izvlečemo« iz npr. vodne raztopine v organsko topilo. Večina organskih topil je manj gosta od vode, zato je plast organskega topila (**organska faza**) z želeno snovjo nad plastjo vode (**vodna faza**).



Slika 5: Aparatura za ekstrakcijo; plast organskega topila (organska faza) z želeno snovjo je označena z zeleno in je nad plastjo vode (vodna faza, označeno s sivo).

2.4 pH VREDNOST

pH je merilo za koncentracijo oksonijevih ionov v raztopini in s tem posledično za njeno kislost ali alkalnost. Pojem pH je uvedel danski kemik Søren Peder Lauritz Sørensen. Kratica pH je zložena iz potenc (nemško potenc) in kemijske oznake za vodik, H.

Faktor pH je definiran kot:

$$\text{pH} = -\log_{10} [\text{H}_3\text{O}^+]$$

Pri tem je $[\text{H}_3\text{O}^+]$ molarna koncentracija oksonijevih ionov (pogosto zapisano tudi $[\text{H}^+]$). pH se navadno izraža kot brezrazsežno število med 1 in 14. Raztopine s pH manjšim do 7 so kisle, pri 7 nevtralne in nad 7 so bazične (Slika 6).¹⁴



Slika 6. pH-lestevica: 1-7 je kislno območje, 7 je nevtralno, 7-14 je bazično območje (povzeto po sliki na spletni strani OpenProf).¹⁵

2.5 pH INDIKATORJI

pH indikator nam z barvno spremembo da vedeti, kako koncentrirani so oksonijevi ioni (H_3O^+) v dani raztopini. To merilo nam pomaga ugotoviti, če je naša vodna raztopina kislina, bazična ali nevtralna. Glede na prevladovanje ionov lahko ugotovimo kislost oz. bazičnost raztopine.

Velja:

- kislota raztopina [$\text{H}_3\text{O}^+ > \text{OH}^-$]
- nevtralna raztopina [$\text{H}_3\text{O}^+ = \text{OH}^-$]
- bazična raztopina [$\text{H}_3\text{O}^+ < \text{OH}^-$]

pH indikatorji spremenijo barvo glede na kislost ali bazičnost raztopine, saj se jim spremeni kemijska struktura. Najbolj uporabljeni pH indikatorji so lamuksov papir, metiloranž in fenolftalein.

3. EKSPERIMENTALNI DEL

3.1 MATERIAL

Pri raziskovanju sem uporabila več laboratorijskih pripomočkov:

- 10 ml merilna pipeta,
- 100 ml erlenmajerice,
- 100 ml lij ločnik (slika 7),
- navaden lij,
- papir za filtracijo,
- steklena palčka,
- epruvete,
- stojalo za epruvete,
- stojalo za laboratorijsko opremo (Slika 7),



Slika 7. Stojalo za laboratorijsko opremo in lij ločnik.

- čaše,
- magnetno mešalo (IkaMag),
- indikatorski pH papirčki (Slika 8),



Slika 8. pH papirčki.

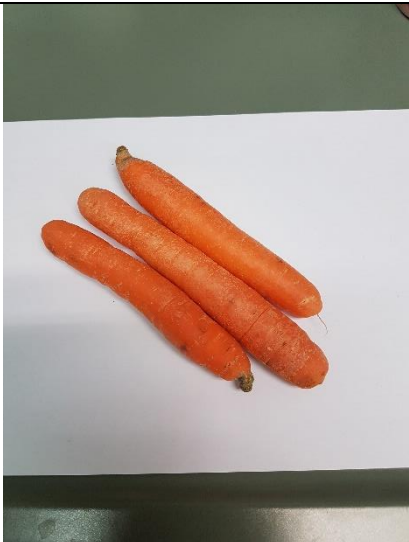





- pinceta,
- uporabila pa sem tudi palični mešalnik, ki ne sodi pod laboratorijsko opremo (Slika 9).




Slika 9. Palični mešalnik s sekljalnikom.

Izbrala sem nekaj naravnih in že pripravljenih živil z že naravno močno barvo, ki so navedena v Preglednici 2.

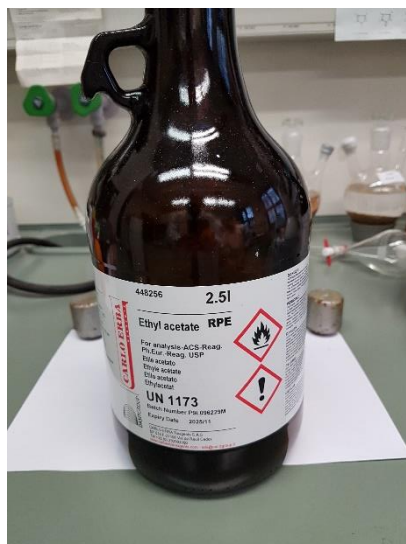
Preglednica 2. Izbrana živila, iz katerih sem ekstrahirala barvila.

<p>sveže korenje iz trgovine Mercator</p>		<p>sveža blitva iz trgovine Hofer</p>	
<p>mleta kurkuma proizvajalca Kotanyi</p>		<p>kuhana rdeča pesa proizvajalca Orto</p>	
<p>sveže borovnice iz trgovine Hofer</p>		<p>kečap proizvajalca Felix</p>	

<p>rdeče barvilo za hrano Dr. Oetker (vsebuje karminsko kislino)</p>			
--	---	--	--

Ostale potrebščine:

- organsko topilo etilacetat



Slika 10. Organsko topilo etilacetat.

3.2 METODE

Filtracija

Izvajala sem prej opisano klasično graviracijsko filtracijo (Slika 11).¹¹



Slika 11. Izvedba gravitacijske filtracije.

Mešanje

Za mešanje sem uporabila magnetek, ki sem ga dala v časo. Čašo sem položila na magnetno mešalo (Slika 12).



Slika 12. Magnetno mešalo s sesekljanimi listi blitve v mešanici vode in etilacetata.

Ekstrakcija

Ekstrakcijo tekoče-tekoče sem izvajala tako, kot sem prej opisala.¹²

Pipetiranje

Pipetiranje sem izvajala s stekleno pipeto in pipetirno žogico.

3.2 EKSPERIMENTALNI DEL

3.3.1 Izolacija barvila betakaroten iz korenja

Narezala sem 20 g korenčka, ga stresla v palični mešalnik, dodala 50 ml vode ter vse skupaj zmešala v gosto kašo. V stekleni čaši sem kaši dodala 50 ml etilacetata (organsko topilo). Vse skupaj sem premešala in precedila čez filtrirni papir. Nato sem precejeni del zlila v lij ločnik in počakala pol minute. Precejena zmes se je razdelila; v zgornji plasti je bil obarvani etilacetat, v spodnji plasti pa voda z izredno majhnimi koščki korenja. Vodo s koščki korenja sem odlila od obarvanega etilacetata. Etilacetat je bil lepo rumeno obarvan. Da pa bi dokazala, da so karoteni topni izključno v organski fazi, sem obarvanemu etilacetatu (v liju ločniku) dolila vodo in fazi sta se ločili.

3.3.2 Izolacija barvila klorofil iz blitvinih listov

10 blitvinih listov sem dala v palični mešalnik, dolila sem 50 ml vode ter vse zmešala v gosto kašo. V stekleni čaši sem kaši dodala 50 ml etilacetata. Vse skupaj sem premešala in precedila čez filtrirni papir. Nato sem precejeni del zlila v lij ločnik in počakala pol minute. Precejena zmes se je razdelila; v zgornji plasti je bil obarvani etilacetat, v spodnji plasti pa voda z izredno majhnimi koščki blitve. Vodo s koščki blitve sem odlila od obarvanega etilacetata. Etilacetat je bil lepo zeleno obarvan. Da pa bi dokazala, da je klorofil topen v organski fazi (organski fazi), sem obarvanemu etilacetatu (v liju ločniku) dolila vodo, fazi premešala in počakala, da se ločita.

3.3.3 Izolacija barvila kurkumin iz kurkume

1 g mlete kurkume sem dala v čašo in dolila 50 ml vode ter zmešala. V stekleno čašo sem zmesi dodala 50 ml etilacetata. Vse skupaj sem premešala in precedila čez filtrirni papir. Nato sem precejeni del zlila v lij ločnik in počakala pol minute. Precejena zmes se je razdelila; v zgornji plasti je bil obarvani etilacetat, v spodnji plasti pa voda z mleto kurkumo. Vodo z mleto kurkumo sem odlila od obarvanega etilacetata. Etilacetat je bil lepo rumeno obarvan. Da pa bi dokazala, da je kurkumin topen v organski fazi (organski fazi), sem obarvanemu etilacetatu (v liju ločniku) dolila vodo, fazi premešala in počakala, da se ločita.

3.3.4 Izolacija barvila likopen iz kečapa

V 5 g kečapa sem dolila sem 50 ml vode ter vse pomešala. V stekleni čaši sem zmesi dodala 50 ml etilacetata. Vse skupaj sem premešala in precedila čez filtrirni papir. Nato sem precejeni del zlila v lij ločnik in počakala pol minute. Precejena zmes se je razdelila; v zgornji plasti je bil obarvani etilacetat, v spodnji plasti pa voda z malo kečapa. Vodo z malo kečapa sem odlila od obarvanega etilacetata. Etilacetat je bil lepo oranžno obarvan. Da pa bi dokazala, da je likopen topen v organski fazi, sem obarvanemu etilacetatu (v liju ločniku) dolila vodo, fazi premešala in počakala, da se ločita.

3.3.5 Izolacija barvil antocianinov iz borovnic

30 g borovnic sem dala v palični mešalnik, dolila sem 50 ml vode ter vse zmešala v gosto kašo. V stekleni čaši sem kaši dodala 50 ml etilacetata. Vse skupaj sem premešala in precedila čez filtrirni papir. Nato sem precejeni del zlila v lij ločnik in počakala pol minute. Precejena zmes se je ločila. Obarvano vodo sem odlila od neobarvanega etilacetata.

Z barvili, ki so topna v vodni fazi, pa sem naredila še en poizkus, in sicer v tri epruvete sem dodala po 5 ml obarvane vodne faze ter v prvo epruveto s pomočjo pipete dodala 1,67 ml 4 mol/L NaOH (s pH približno 14), v drugo epruveto sem s pomočjo dodala 1,67 ml raztopine NaHCO₃ (s pH približno 9) v tretjo epruveto pa sem dodala 1,67 ml 1 mol/L HCl (s pH približno 14).

3.3.6 Izolacija barvila betalain iz kuhane rdeče pese

30 g kuhane rdeče pese sem dala v palični mešalnik, dolila sem 50 ml vode ter vse zmešala v gosto kašo. V stekleni čaši sem kaši dodala 50 ml etilacetata. Vse skupaj sem precedila čez filtrirni papir. Nato sem precejeni del zlila v lij ločnik in počakala sem pol minute, da se plasti ločita. Obarvano vodo sem ločila od etilacetata.

Z barvili, ki so topna v vodni fazi, pa sem naredila še en poizkus, in sicer sem v tri epruvete dodala po 5 ml obarvane vodne faze, v prvo epruveto sem s pomočjo pipete dodala 1,67 ml 4 mol/L NaOH (s pH približno 14), v drugo epruveto sem s pomočjo pipete dodala 1,67 ml vode, v tretjo epruveto pa sem dodala 1,67 ml 1 mol/L HCl (s pH približno 14).

3.3.7 Lastnosti karminske kisline iz rdeče barve za hrano

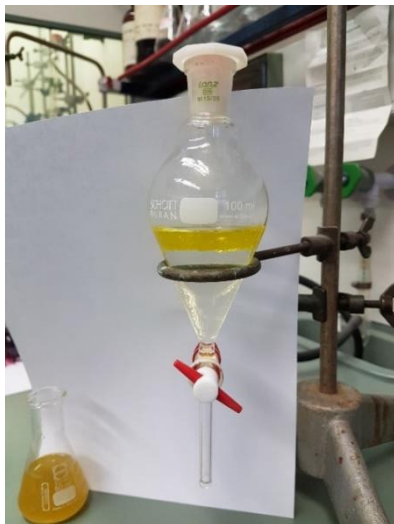
1 ml rdečega barvila za hrano sem dolila 50 ml vode ter zmešala. V stekleni čaši sem raztopini dodala 50 ml etilacetata. Nato sem precejeni del zlila v lij ločnik in počakala pol minute. Precejena zmes se je ločila. Obarvano vodo sem ločila od etilacetata.

Z barvili, ki so topna v vodni fazi, pa sem naredila še en poizkus, in sicer v tri epruvete sem dodala po 5 ml obarvane vodne faze, v prvo epruveto sem s pomočjo pipete dodala 1,67 ml 4 mol/L NaOH (s pH približno 14), v drugo epruveto sem s pomočjo pipete dodala 1,67 ml vode, v tretjo epruveto pa sem dodala 1,67 ml 1 mol/L HCL (s pH približno 14).

4. REZULTATI

4.1 IZOLACIJA BARVILA BETA KAROTEN IZ KORENČKA

Po ločitvi faz je ostala zelo rumeno obarvana zgornja plast karotenov v etilacetatu, spodnja vodna plast pa je ostala praktično neobarvana (Slika 13).



Slika 13. Porazdeljevanje barvila beta karoten iz korenčka med etilacetatom (zgoraj) in vodo (spodaj).

Prišla sem do sklepa, da so karoteni (E160a) barvila močne rumene barve, ki so topni v organski fazi (olju).

4.2 IZOLACIJA BARVILA KLOROFIL IZ BLITVINIH LISTOV

Po ločitvi faz je ostala zelo zeleno obarvana zgornja plast klorofila v etilacetatu, spodnja vodna plast pa je ostala praktično neobarvana (Slika 14).

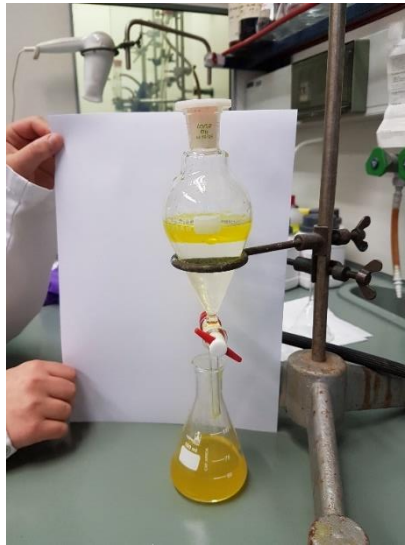


Slika 14. Porazdeljevanje barvila klorofil iz listov blitve med etilacetatom (zgoraj) in vodo (spodaj).

Prišla sem do sklepa, da je klorofil (E140) barvilo močne zelene barve, ki je zelo dobro topen v organski fazi.

4.3 IZOLACIJA BARVILA KURKUMIN IZ KURKUME

Po ločitvi faz je ostala rumeno obarvana zgornja plast kurkumina v etilacetatu, spodnja vodna plast pa je ostala praktično neobarvana (Slika 15).

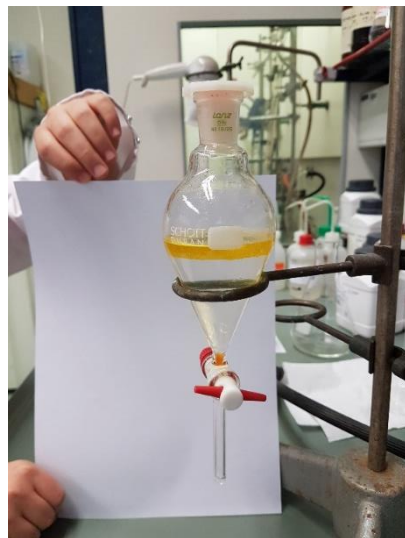


Slika 15. Porazdeljevanje barvila kurkumin iz mlete kurkume med etilacetatom (zgoraj) in vodo (spodaj).

Prišla sem do sklepa, da je kurkumin (E100) barvilo rumene barve, ki je zelo dobro topen v organski fazi.

4.4 IZOLACIJA BARVILA LIKOPEN IZ KEČAPA

Po ločitvi faz je ostala oranžno obarvana zgornja plast likopena v etilacetatu, spodnja vodna plast pa je ostala praktično neobarvana (Slika 16).

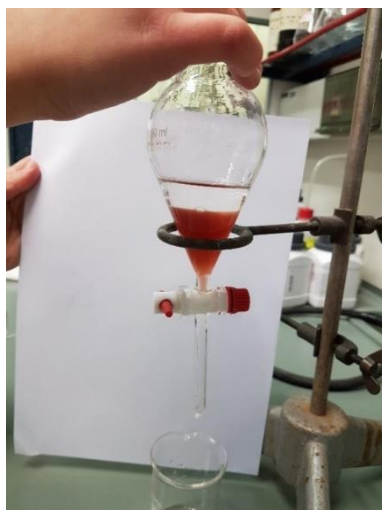


Slika 16. Porazdeljevanje barvila likopen iz kečapa med etilacetatom (zgoraj) in vodo (spodaj).

Prišla sem do sklepa, da je likopen (E160d) barvilo oranžne barve, ki je zelo dobro topno v organski fazi.

4.5 IZOLACIJA BARVIL ANTOCIANINOV IZ BOROVNIC

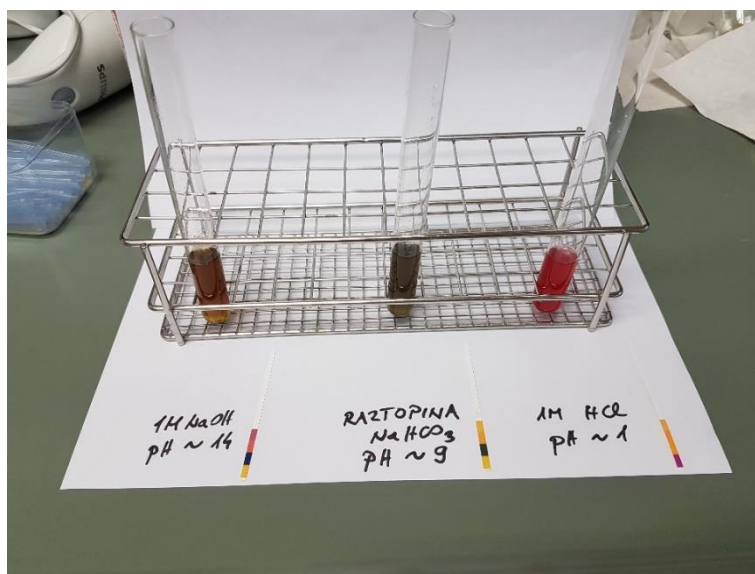
Po ekstrakciji in ločitvi faz sem opazila naslednje - v zgornji plasti je bil neobarvan etilacetat, v spodnji plasti pa obarvana vodna raztopina (Slika 17).



Slika 17. Porazdeljevanje barvil antocianini iz svežih borovnic med etilacetatom (zgoraj) in vodo (spodaj).

Prišla sem do sklepa, da so antocianini (E163) barvilo vijolične barve, ki so zelo dobro topni v vodni fazi.

Vodno raztopino barvila sem nalila v 3 epruvete in dodajala raztopine kislin ali baz (Slika 18). V prvi epruveti (kjer sem vodi obarvani z antocianini dodala 4 mol/L NaOH do pH=1) se je raztopina obarvala rjavo-rumeno. V drugi epruveti (kjer sem obarvani vodi dodala raztopino NaHCO₃ do pH=9) se je raztopina obarvala temno zeleno. V tretji epruveti (kjer sem obarvani vodi dodala 4 mol/L HCl do pH=1) se je raztopina obarvala roza-rdeče.



Slika 18. Barva antocianinov v bazičnem (pH=14), rahlo bazičnem (pH=9) in kislem (pH=1).

Iz spremembe barv sklepam, da antocianini spreminjajo svojo kemijsko strukturo v odvisnosti od kislosti oz. bazičnosti raztopine, zato antocianine lahko uporabljamo za ločevanje med kislimi in bazičnimi raztopinami. Samo pri raztopini antocianinov sem opazila bistveno drugačno barvo v raztopini, ki je rahlo bazična (z dodatkom NaHCO_3) – dobili smo kar barvo, ki je bila različna od tiste v zelo kislem in zelo bazičnem, kar mi je bilo še posebej zanimivo.

4.6 IZOLACIJA BARVILA BETALAIN IZ KUHANE RDEČE PESE

Po ekstrakciji in ločitvi faz sem opazila naslednje - v zgornji plasti je bil neobarvan etilacetat, v spodnji plasti pa obarvana vodna raztopina (Slika 19).

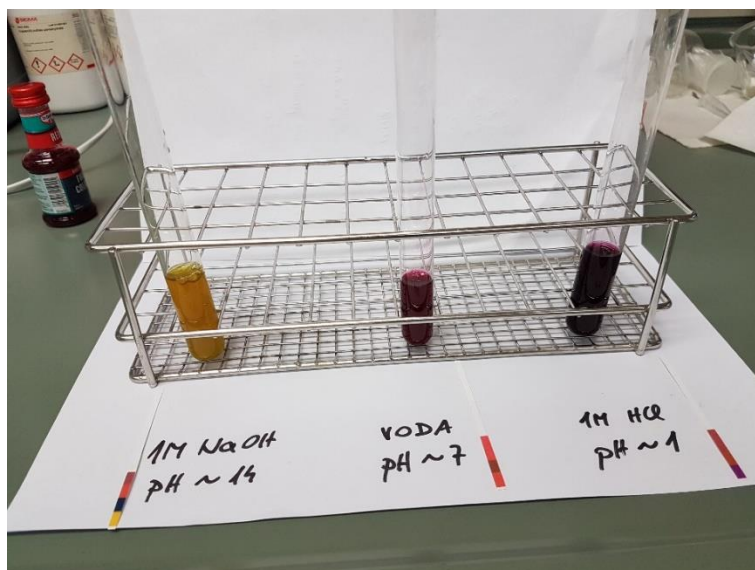


Slika 19. Porazdeljevanje barvila betalain iz kuhane rdeče pese med etilacetatom (zgoraj) in vodo (spodaj).

Prišla sem do sklepa, da je betalain (E162) barvilo rdeče-vijolične barve, ki je zelo dobro topno v vodni fazi.

Vodno raztopino barvila sem nalila v 3 epruvete in dodajala raztopine kislin ali baz (Slika 20). V prvi epruveti (kjer sem vodi obarvani z betalainom dodala 4 mol/L NaOH do $\text{pH}=1$) se je raztopina obarvala oranžno. V drugi epruveti (kjer sem obarvani vodi dodala še malo vode) je raztopina ostala enake barve (rdeče-vijolično). V tretji epruveti (kjer sem obarvani vodi dodala 4 mol/L HCl do $\text{pH}=1$) se je raztopina obarvala intenzivno rdeče-vijolično.

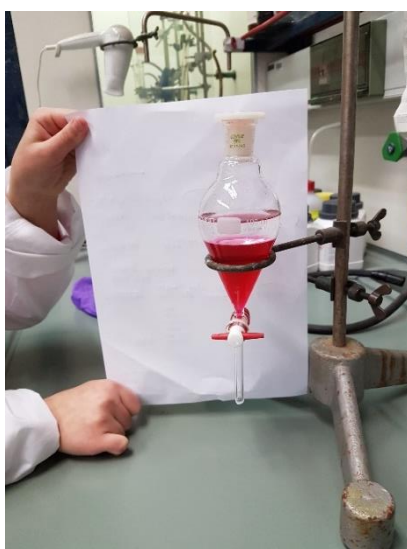
Iz spremembe barv sklepam, da betalain spreminja svojo kemijsko strukturo v odvisnosti od bazičnosti oz. kislosti raztopine. Barva se malo spremeni pri prehodu iz nevtralnega v kislo, pri prehodu v bazično pa se močno spremeni (iz rdeče-vijolične v oranžno), zato betalain lahko uporabljamo za ločevanje med kislimi in bazičnimi raztopinami.



Slika 20. Barva betalaina v bazičnem ($\text{pH}=14$), nevtralnem ($\text{pH}=7$) in kislem ($\text{pH}=1$).

4.7 LASTNOSTI KARMINSKE KISLINE IZ RDEČE BARVE ZA HRANO

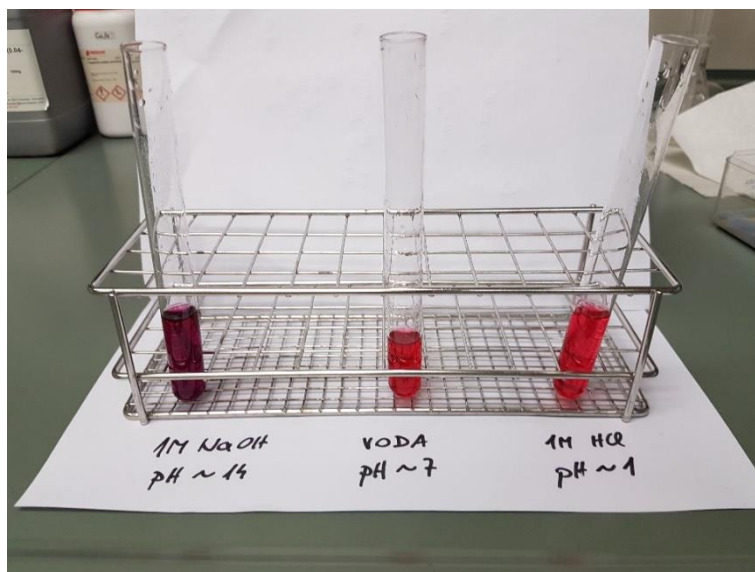
Po ekstrakciji in ločitvi faz sem opazila naslednje - v zgornji plasti je bil neobarvan etilacetat, v spodnji plasti pa obarvana vodna raztopina (Slika 21).



Slika 21. Porazdeljevanje barvila karminska kislina med etilacetatom (zgoraj) in vodo (spodaj).

Prišla sem do sklepa, da je karminska kislina (E120) barvilo rdeče barve, ki je topno v vodni fazi.

Vodno raztopino barvila sem nalila v 3 epruvete in dodajala raztopine kislin ali baz (Slika 22). V prvi epruveti (kjer sem vodi obarvani s karminsko kislino dodala 4 mol/L NaOH do $\text{pH}=1$) se je raztopina obarvala vijolično. V drugi epruveti (kjer sem obarvani vodi dodala še malo vode) je raztopina ostala enake barve (roza). V tretji epruveti (kjer sem obarvani vodi dodala 4 mol/L HCl do $\text{pH}=1$) je raztopina ostala roza barve.



Slika 22. Barva karminske kisline v bazičnem ($\text{pH}=14$), nevtralnem ($\text{pH}=7$) in kislem ($\text{pH}=1$).

Iz spremembe barv sklepam, da karminska kislina spreminja svojo kemijsko strukturo v odvisnosti od kislosti oz. bazičnosti raztopine, pri čemer je enaka barva v nevtralnem in kislem. Zato karminsko kislino lahko uporabljamo za ločevanje med kislimi in bazičnimi raztopinami.

5. RAZPRAVA

Pri opravljanju raziskovalne naloge sem prišla do različnih zanimivih spoznanj.

V literaturi (in kot sem prej že opisala) sem poiskala seznam barvil. Ugotovila sem, da imajo čisto vsa barvila identifikacijsko številko s črko E na začetku.

Prva hipoteza se glasi: barvila v izbranih živilih lahko ekstrahiram s pomočjo vode in organskega topila etilacetat. V laboratoriju sem potrdila prvo hipotezo. Vsako barvilo v živilu se je raztopilo v vodni fazi ali v organski fazi, kar sem dokazala z barvo posamezne faze.

Druga hipoteza se glasi: barvila se bodo porazdelila bodisi v organsko fazo bodisi v vodno fazo. V laboratoriju sem potrdila drugo hipotezo. Vsako barvilo se je porazdelilo v eni od faz, nobeno pa se ni porazdelilo v obe fazi hkrati. To je zanimivo opažanje in mi da slutiti, da se snovi (barvila) obnašajo tako, da imajo raje ali vodno okolje ali organsko (oljnato) okolje. Najbrž sem s tem potrdila pravilo, ki se glasi: podobno se topi v podobnem.¹⁶ Lahko rečemo, da imajo barvila beta karoten, klorofil, kurkumin in likopen raje organsko okolje, antocianini, betalain in karminska kislina pa raje vodno okolje.

Tretja hipoteza se glasi: barvila, ki se raztapljajo v vodi, bodo v kislem, nevtralnem ali bazičnem okolju spreminjala barvo. V laboratoriju sem potrdila tretjo hipotezo. Barvila antocianini, betalain in karminska kislina (ki so topna v vodi) so zares spremenila barvo ob prisotnosti raztopin z različnimi pH vrednostmi. Indikatorji pH so snovi, ki spreminjajo barvo v kisli, nevtralni ali bazični raztopini.¹⁷ Antocianini, betalain in karminska kislina spreminjajo barvo v kisli, nevtralni ali bazični raztopini in so zato indikatorji pH. To je najbrž posledica neke spremembe v njihovi strukturi, da absorbirajo različno svetlobo, kar mi vidimo kot spremembo barve.

6. ZAKLJUČEK

V raziskovalni nalogi sem iz nekaterih živil in prehranskih izdelkov iz trgovin ekstrahirala barvila. Izdelki so bili: sveže korenje, sveža blitva, mleta kurkuma, kuhana rdeča pesa, sveže borovnice ter že narejena živila kečap in rdeče barvilo za hrano s karminsko kislino. Vsebnost barvil v posameznem živilu sem poiskala v ustrezni literaturi ali sem prebrala na oznaki vsebnosti. Barvila sem porazdeljevala med vodno in organsko fazo. Ugotovila sem, da so nekatera barvila topna v organski fazi (olju), nekatera pa v vodni fazi in da jih lahko izvlečemo z uporabo metode ekstrakcije. Ugotovila sem, da imajo barvila beta karoten, klorofil, kurkumin in likopen raje organsko okolje, antocianini, betalain in karminska kislina pa raje vodno okolje. Barvilom topnim v vodni fazi sem dodala raztopine z različnimi pH vrednostmi. Ugotovila sem, da vsa izolirana v vodi topna barvila spreminjajo barvo v odvisnosti od pH. Antocianini, betalain in karminska kislina spreminjajo barvo v kisli, nevtralni ali bazični raztopini in so zato indikatorji pH.

7. VIRI IN LITERATURA

- ¹ Spletna stran OpenProf - Svetloba: <https://si.openprof.com/wb/svetloba?ch=3039>. Dostopano 29.2.2020.
- ² Spletna stran Wikipedia - Chlorophyll: <https://en.wikipedia.org/wiki/Chlorophyll>. Dostopano 1.3.2020
- ³ Spletna stran Vizita.si – Bodite zdravi z barvami: <https://vizita.si/alergije/bodite-zdravi-z-barvami.html>. Dostopano 29.2.2020.
- ⁴ V: VOVK, Tomaž (ur.), OBREZA, Aleš (ur.). *Prehranska dopolnila I : minerali in vitamini : podiplomsko izobraževanje*. Ljubljana: Fakulteta za farmacijo. 2009. ISBN - 978-961-6378-20-8.
- ⁵ Spletna stran Prehrana.si: <https://www.prehrana.si/sestavine-zivil/aditivi-v-zivilih/barvila>. Dostopano 29.2.2020.
- ⁶ Spletna stran Spar.si: <https://www.spar.si/online/fanta-orange-zero-15l/p/565903>. Dostopano 2.3.2020.
- ⁷ Spletna stran Wikipedija - kurkuma: <https://sl.wikipedia.org/wiki/Kurkuma>. Dostopano 29.2.2020.
- ⁸ Spletna stran Ninamvseeno.org: <http://www.ninamvseeno.org/aditivi.aspx?group=100>. Dostopano: 2.3.2020.
- ⁹ Spletna stran Alcademics.com: <https://www.alcademics.com/2017/07/campari-is-made-differently-around-the-world-cochineal-coloring-abv-eggs.html>. Dostopano 2.3.2020.
- ¹⁰ Spletna stran Nacionalnega inštituta za javno zdravje nijz.si: <https://www.nijz.si/sl/kaj-so-barvebarvila-za-zivila-0>. Dostopano 2.3.2020.
- ¹¹ Pérez-Ibarbia L, Majdanski T, Schubert S, Windhab N, Schubert US. Safety and regulatory review of dyes commonly used as excipients in pharmaceutical and nutraceutical applications. *Eur J Pharm Sci.* 2016; 93: 264-273.
- ¹² F. Požgan, B. Štefane. Uvod v laboratorijsko organsko kemijo. Ljubljana: Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo, 2009; str 41-43.
- ¹³ F. Požgan, B. Štefane. Uvod v laboratorijsko organsko kemijo. Ljubljana: Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo, 2009; str 86-93.
- ¹⁴ Spletna stran Wikipedija - pH: <https://sl.wikipedia.org/wiki/PH>. Dostopano 2.3.2020.
- ¹⁵ Spletna stran OpenProf – pH: https://si.openprof.com/wb/ph_izra%C4%8Duni_in_ph_indikatorji?ch=642. Dostopano 2.3.2020.
- ¹⁶ Spletna stran ekemija – topnost in pravilo topnosti: http://ekemija.osbos.si/e-gradivo/4-sklop/topnost_in_pravilo_topnosti.html. Dostopano 3.3.2020.
- ¹⁷ Spletna stran ekemija – topnost in pravilo topnosti: <http://www.osbos.si/ekemija/e-gradivo/7-sklop/indikatorji.html>. Dostopano 3.3.2020.