EXTRACȚIA ȘI IMPLEMENTAREA COLORANȚILOR NATURALI

EXTRACTION AND IMPLEMENTATION OF NATURAL DYES

CZU: 547.97:667.27 **https://doi.org/10.59295/spd2024n.74**

Ciprian COJOCARU,
ORCID: 0009-0001-1520-9793
e-mail: cojocaru.ciprian@usm.md
Institutul de Chimie, Universitatea de Stat din Moldova
Alexandru CIOCÂRLAN,
ORCID: 0000-0002-0776-5095
e-mail: alexandru.ciocarlan@usm.md
Institutul de Chimie, Universitatea de Stat din Moldova

Summary. *This study aims to obtain and characterize natural dyes from local plant sources and agro-industrial waste for use in the food, cosmetic, and pharmaceutical industries. For this purpose, Soxhlet and combined extraction methods were employed, followed by sample concentration and recrystallization. The extraction involved multiple steps to ensure the purity and quality of the dyes. Microscopic and spectral (FT-IR) analyses confirmed the presence of the natural dyes and demonstrating their potential applications. The study highlights the importance of utilizing agro-industrial waste to create sustainable products, thereby reducing environmental impact and promoting the circular economy. By converting waste into valuable resources, this approach contributes significantly to the economic development and environmental sustainability of the Republic of Moldova, supporting local industries and creating new job opportunities.*

Keywords: *natural dyes, extraction, carotenoids, betalains, anthocyanins, chlorophylls*

INTRODUCERE

În prezent protecția mediului a devenit o provocare considerabilă pentru întreaga industrie, deoarece se utilizează un număr semnificativ de coloranți sintetici, care sunt dăunători atât pentru om, cât și pentru mediul înconjurător, de aceea interesul pentru coloranții naturali vegetali, obținuți inclusiv din deșeuri agroindustriale, a crescut semnificativ, deoarece s-a dovedit, că aceștea au efecte favorabile asupra sănătății și mediului încunjurător.

Utilizarea deșeurilor agroindustriale pentru extragerea coloranților naturali reprezintă un mijloc eficient pentru reciclarea resurselor, aliniindu-se astfel la obiectivele economiei durabile și facilitând reducerea impactului dăunător asupra ecosistemelor. Această practică întruchipează conceptul de economie circulară, care se învârte în jurul transformării deșeurilor agroindustriale în coloranți, permițând valorificarea și recircularea resurselor în cadrul lanțului de producție [1].

Coloranții naturali se utilizează în diferite industrii, precum industria alimentară, pentru a îmbunătăți aspectul produselor alimentare, industria farmaceutică pentru diferențierea medicamentele și în adaosurile alimentare, în industria cosmetică, adesea se utilizează în produse precum rujuri, creme, șamponuri, farduri, etc., pentru a le oferi o gamă variată de culori naturale [2].

Avantajele utilizării coloranților naturali este faptul că aceștia au o proveniență naturală, au durabilitatea sporită, provin din surse regenerabile, sunt biodegradabili, ecofriendly și au o proprietate antioxidantă vastă [3].

Pentru studii au fost selectate 5 surse locale ce conțin următorii coloranți:

1. Licopenul este un pigment tetra-terpenic cu structura similară beta-carotenului, cu un conținut mare în tomate, care manifestă următoarele efecte biologice: antidiabetic, cardioprotector, antiinflamator și hepatoprotector [3].

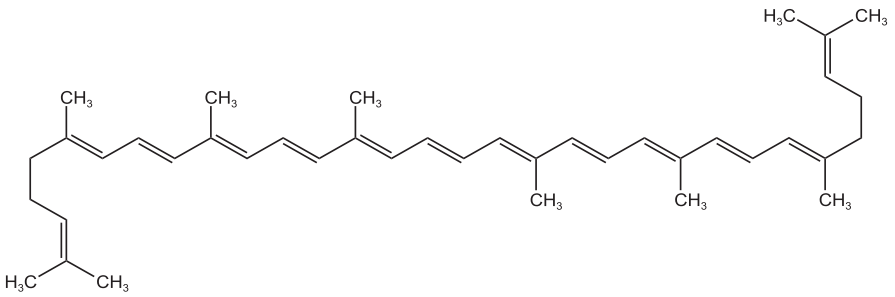


Figura 1. Structura chimică a licopenului

2. *ß*-Carotenul este unul dintre cele mai comune carotenoide, care se obține în mare parte din morcovi, acesta este un antioxidant puternic și acționează ca un precursor al retinolului (vitamina A_1) [3-4].

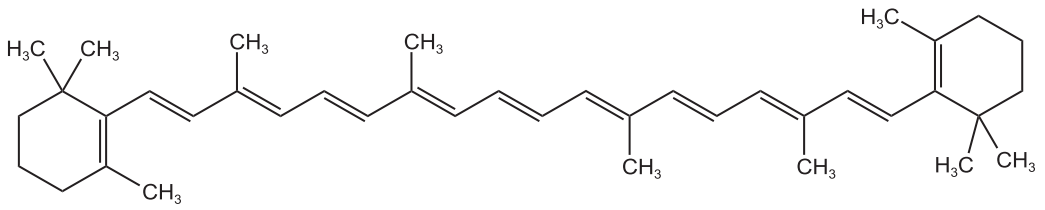


Figura 2. Structura chimică a *ß*-carotenului

3. Betanina este un pigmen natural obținut din sfecla roșie, face parte din clasa betacianinelor, care prezintă efect antiinflamator și îmbunătățește bariera intestinală [4].

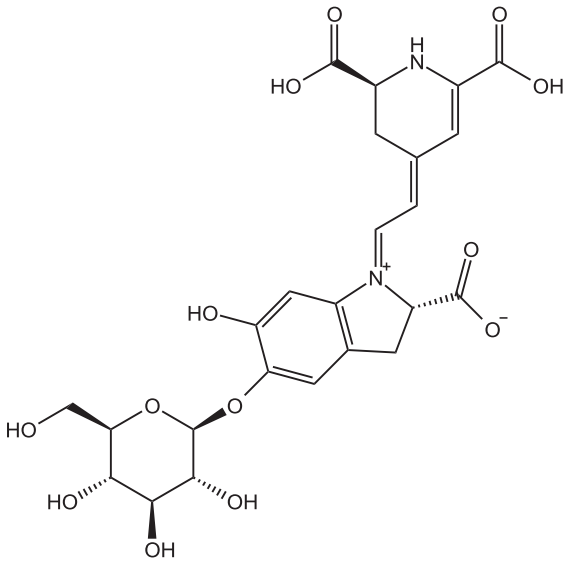
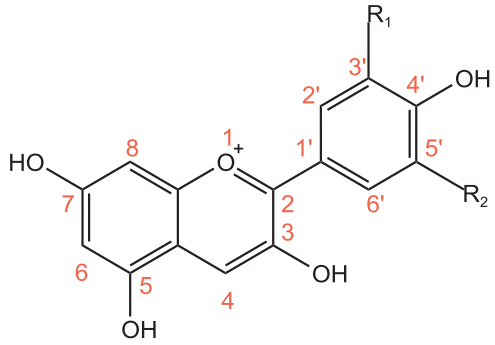


Figura 3. Structura chimică a betaninei

4. Cianidina este unul din antocianii responsabili pentru nuanţele de roşu, violet şi albastru ale fructelor, legumelor și florilor, aceștia manifestă activitate antioxidantă, antiinflamatorie și antitoxică [4].



Fugura 4. Structura chimică generală a unor antociani:
Cianidina (R_1=OH; R_2=H); pelargonidina (R_1=R_2=H); delfinidina (R_1=R_2=OH);
peonidina (R_1=OCH_3; R_2=H); petunidina (R_1=OH; R_2=OCH_3); malvidina (R_1=R_2=OCH_3).

5. Clorofilele sunt pigmenţi verzi prezenţi în plantele superioare, ca de exemplu urzica sau lucerna. Adaosul de clorofilă (-a) în creme, poate ajuta la tratarea diferitelor afecțiuni ale pielii, inclusiv a acneei și a daunelor provocate de arsurile solare [4].

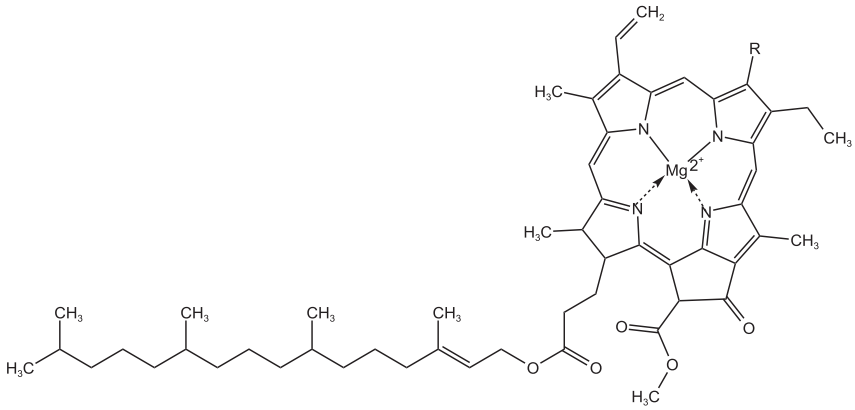


Figura 5. Structura chimică a clorofilelor: a- (R= -CH_3) și b- (-CHO)

MATERIALE ȘI METODE

Reactivi, veselă și utilaje.

Reagenți: Apă distilată, KOH, HCl (de 37%), MeOH (de 96%), diclorometan (DCM), benzen, acetonă, acetat de etil, cloroform și eter de petrol.

Veselă: Baloane cu fundul rotund (250,0, 500,0 și 2,0 L), pâlnie Buchner, tub de sticlă, pahare chimice cu volume diferite, pâlnie de decantare, baghete de sticlă, pipete și biurete de volume diferite, palete, termometru, stative, ceașcă Petri și ceașcă de porțelan.

Aparate și instrumente: Agitator mecanic, moară electrică (Saturn ST-CM1231), extractor Soxhlet, rotovapor (Heidolph), cântar cu o exactitate de 0,001 g, reșou electric (LTHS 250, 500 și 4000), spectrofotometru în infraroșu (PerkinElmer FT-IR, Spectrum 100) și microscop (BIOBASE).

Extracția Soxhlet

Proba supusă analizei se usucă în prealabil, se cântărește cu precizia de 0,001g, apoi se macină până la o fracție omogenă, după care se introduce în extractorul de tip Soxhlet un strat de bumbac, apoi materia primă, apoi încă un un strat de bumbac. În balonul de distilare de 2,0 L, se introduc câteva fierbătoare de portelan poros, iar de-asupra se conectează extractorul de tip Soxhlet. Corpul extractorului se umple cu solvent, turnat prin pâlnie astfel ca prin sifonare, solventul să ajungă în balon, apoi în partea superioară a lui se conectează refrigerentul.

Balonul se încălzește gradual cu un reșou de laborator, în așa fel ca vaporii solventului care se acumulează în balon, să treacă prin tubul lateral al extractorului și să ajungă în refrigerent unde se condensează și cad cu picătura în extractor. Când nivelul solventului acumulat prin condensarea vaporilor în extractor ajunge la nivelul sifonului, extractorul sifonează, iar întreaga cantitate de lichid trece din nou în balon.

Extracția continuă astfel încat să aibă loc 1-4 sifonări pe oră. În mod obișnuit o extracție se consideră încheiată după circa 3-6 ore (sunt și excepții). După finalizarea extracției, solventul din balon se recuperează prin distilare la presiune redusă, folosind un rotovap, astfel obținându-se extractul brut [3, 5].

Extracția licopenei

Materia primă, tomatele soiului Cherry (*Lycopersicon esculentum* L.), a fost supusă stoarcerei, iar deșeul rămas a fost congelat și păstrat până la extracție.

Mai întâi deșeurile de tomate (m= 720,0 g) se trec într-un balon cu fundul rotund (2,0 L), în care se adaugă apă V= 720 mL. Apoi la agitarea mecanică se adaugă soluția apoasă alcalină (pH=10), obținută prin dizolvarea KOH (120,0 g) în apă distilată (1,2 L). Amestecul obținut este încălzit și agitat timp de 1 oră la t^0=50-57°C. După răcire, conținutul balonului se filtrează printr-un filtru dublu de bumbac. Apoi se neutralizează cu o soluție acidulată, alcătuită din HCl (125,0 mL) în apă distilată (720,0 mL), adăugată treptat în porțiuni, se lasă peste noapte. Apoi sedimentul roșu se filtrează prin hârtie de filtru, se usucă și se cântărește [3].

Urmează apoi recristalizarea dintr-un amestec format din MeOH și benzen în raport 1:1. Mai întâi extractul se dizolvă în benzen (5,0 mL), apoi treptat (cu picătura) se adaugă MeOH (5,0 mL) și se ține la reflux timp de 15 min. După răcire, balonul se lasă în frigider la 7°C pentru a accelera cristalizarea [3].

Cristalele se separă prin filtrare, iar filtratul se concentrează până la volum mic, fiind supus cristalizării repetate, iar cristalele obținute se usucă [3].

Extracția β-carotenului

Reziduul obţinut după prelucrarea morcovilor (*Daucus carota* L.) (143,2 g) și DCM (1,0 L), se introduc într-un extractor de tip Soxhlet (vezi extracția Soxhlet) și se extrag timp de 6 ore (o sifonare durează 45 min). După concentrarea extractului brut până la volum mic, acesta se trece într-un balon cu volum mai mic [3, 5].

Urmează apoi recristalizarea dintr-un amestec format din MeOH și benzen în raport 1:1. Mai întâi extractul se dizolvă în benzen (5,0 mL), apoi treptat (cu picătura) la soluția formată se adaugă MeOH (5,0 mL), iar amestecul format se refluxează timp de 15 min. După răcire, balonul se lasă în frigider la 7°C pentru a accelera cristalizarea.

Cristalele se separă prin filtrare, iar filtratul se concentrează până la volum mic, fiind supus cristalizării repetate, iar cristalele obținute se usucă [3, 5].

Extracția betaninei

Reziduul obţinut după prelucrarea sfeclei roșie (*Beta vulgaris* L.) (101,0 g) și MeOH (620,0 mL), se introduc într-un extractor de tip Soxhlet (vezi extracția Soxhlet) și se extrag timp de 8 ore (o sifonarea durează 40 min). După concentrarea extractului brut până la volum mic, jumătate din extractul brut se trece într-o ceașcă Petri și se lasă la uscat [5].

Recristalizarea se realizează din MeOH (2,0 mL), în care se dizolvă extractul brut (2,5 g), iar soluția obținută se refluxează timp de 15 minute. După răcire, balonul se lasă în frigider la 7°C pentru a accelera cristalizarea. Cristalele se separă prin filtrare și se usucă [5]. În urma extracției și concentrării, s-a fost obținut extractul brut de betanină.

Extracția cianidinei

Extracția a fost efectuată folosind ca materie primă (*Sambucus ebulus* L.) fructele de boz (100,0 g) și MeOH (1,0 L) acidulat cu acid ascorbic sau HCl până la un pH= 3-4. Cianidina a fost extrasă folosind un extractor de tip Soxhlet (vezi extracția Soxhlet) timp de 6 ore (o sifonarea durează 75 min). După concentrarea extractului brut până la volum mic, jumătate din extractul brut se trece într-o ceașcă Petri și se lasă la uscat, iar cealaltă se trece într-un recipient ermetic și se pune la păstrare la o temperatură de 7°C [5]. În urma extracției și concentrării, a fost obținut extractul brut de antociani.

Extracția clorofilelor

Lucerna (*Medicago sativa* L.) mărunțită (100,0 g) și MeOH (650,0 mL), se introduc într-un extractor de tip Soxhlet (vezi subcapitolul 2.2) și se extrage timp de 3 ore (o sifonarea durează 15 min). După concentrarea extractului brut până la volum mic, acesta se trece într-un creuzet [5].

Apoi pentru purificarea extractul brut se adaugă în porțiuni egale acetonă (11 x 10,0 mL), apoi extractul se transferă într-o pâlnie de decantare și la el se adaugă eter de petrol (2 x 55,0 mL) și H_2O în volume egale (2 x 55,0 mL), după se agită bine, iar după separarea fazelor, cea inferioară (soluția mamă) se culege într-un vas aparte, iar cea superioară ce conține clorofilele în eter de petrol se spală de 2 ori cu apă distilată (100,0 mL) sau până la dispariția fluorescenței [5].

Această etapă se repetă încă de 2 ori pentru faza inferioară colectată (soluția mamă), utilizând ½ din volumul precedent de eter de petrol:H_2O.

După concentrarea extractului ce conține clorofile, acesta se transferă într-o ceașcă Petri și se lasă la uscat. În urma extracției, concentrării și separării, a fost obținut extractul brut dintr-un amestec de clorofile (-a) și (-b).

Prezența pigmenților de interes - în extractele obținute din sursele naturale menționate a fost confirmată prin analiza spectrală FT-IR. Spectroscopia în infraroșu cu transformare Fourier (FTIR) este o tehnică analitică utilizată pentru confirmarea anumitor grupări funcționale și a structurii moleculelor de interes în general.

REZULTATE ȘI DISCUȚII

Rezultatele extracțiilor: Probele de *β*-caroten, betanină, cianidină, clorifile (-a) și (-b), au fost obținute prin extracția Soxhlet, iar proba de licopen printr-o metodă combinată, apoi după concentrarea probelor, s-au obținut extracte brute, în care predomină următorii pigmenți cianidina, clorofilele (-a) și (-b), licopenul și *β*-carotenil.

În urma acestor extracții au fost obținute următoarele rezultate:

1. Licopen - masa cristalelor de licopen extrase din tomatele soiului Cherry (*Lycopersicon esculentum* L.), constituie 14,119 g, iar randamentul extracției este de 1,9 %.

2. *β*-Caroten - după extracția *β*-carotenului din morcovi (*Daucus carota* L.), a fost obținut amestec brut (1,371 g) și cristale (0,193 g), randamentul procesului fiind 1,1%.

3. Betanina - după finisarea extracției, a fost calculat conținutul de betanină extrasă din sfecla roșie (*Beta vulgaris* L.), care constituie 0,26 g, iar η extracției este de 0,3%.

4. Cianidina - a fost obținut extract brut (30,577 g) de antociani în care predomină cianidina, extrasă din fructele de boz (*Sambucus ebulus* L.), iar η extracției este de 30,6%.

5. Clorofilele - în urma extracției, concentrării și separării extractului brut obținut din lucernă (*Medicago sativa* L.), masa amestecului clorofilic obținut este de 1,524 g, iar randamentul procesului constituie de 1,5%.



Figura 6. Coloranții și produsele obținute

Interpretarea analizei spectrale în IR:

1. Licopen: **Spectrul IR (cm^{-1}, ATR):** $C_{40}H_{56}$, M= 536,89 g/mol

Grupările alifatice (-CH_3, -CH_2-, >CH-): 2917, 2849, 1462, 1377, 1295; Legături duble conjugate (^{H}>C=C<$_{H}$), configurație trans-(*E*): 1709, 1080, 947, 843, 720.

2. *β*-Caroten: **Spectrul IR (cm^{-1}, ATR):** $C_{40}H_{56}$, M= 536,89 g/mol

Grupările alifatice (-CH_3, -CH_2-, >CH-): 2920, 2849, 1454, 1360, 1241; Legături duble conjugate (^{H}>C=C<$_{H}$), configurație trans-(*E*) ;i >C=C< din ciclohexena: 1741, 1066, 963, 827, 723.

3. Betanină: **Spectrul IR (cm^{-1}, ATR):** $C_{24}H_{26}N_2O_{13}$, M= 550,47 g/mol

Grupările alifatice (-CH_3, -CH_2-, >CH-): 2931, 1394, 1339, 924; Grupări >C=N: 1628; Grupări –C-O-, C-O-C, -COOH 1045, 1250, 3286; Legături duble conjugate (^{H}>C=C<$_{H}$), configurație trans-(*E*) ;i >C=C< din ciclohexena: 1741, 1066, 963, 827, 723.

4. Cianidina: Spectrul IR (cm^{-1}, ATR): $C_{15}H_4O_6$, M= 287,14 g/mol

Grupările alifatice (-CH_3, -CH_2-, >CH-): 2923, 2852, 1365; Legături duble conjugate (^{H}>C=C<$_{H}$): 1028, 918, 817, 772; Grupări C-O-C: 1250; Grupări >C=O: 1734.

5. Clorofila: Spectrul IR (cm^{-1}, ATR): $C_{55}H_{72}MgN_4O_5$, M= 536,89 g/mol

Grupările alifatice (-CH_3, -CH_2-, >CH-): 2923, 2853, 1377; Legături duble conjugate (^{H}>C=C<$_{H}$): 1709, 970, 721; Grupări -OH: 3393, 1241, 1066; Grupări >C=O: 1739; Grupări >C=N: 1650.

CONCLUZII

1. Valorificarea și prelucrarea surselor naturale, inclusiv a deșeurilor agroindustriale, poate avea un impact major asupra mediului ambiant și financiar al Republicii Moldova, această practică permite reciclarea eficientă a resurselor și poate duce la o utilizare mai rațională și mai eficientă a materiilor prime, reducând dependența de noile resurse.
2. Prin simularea utilizării deșeurilor agroindustriale locale, din sursele vegetale locale au fost obținuți 5 coloranți, analizați prin diferite metode precum: microscopia și spectroscopia în infraroșu (FT-IR) care au demonstrat prezența coloranților studiați în extractele obținute și structura celor cristalini, iar potențialul de colorare a pigmenților obținuți a fost demonstrat prin încorporarea acestora în diferite produse.

REFERINȚE

1. COJOCARU, C. Deșeul - sursă de venit. În: *Chimia ecologică și a mediului*, Chișinău: CEP USM, 2022, Ed. 20, pp. 21-23. ISBN 978-9975-62-467-1
2. JEEL, D., CHAUCHAN, J., MANKAD, A. Natural Colourants. În: *International association of biologicals and computational digest*, Gujarat, India, Vol. 2, 2023, pp. 261-270. ISSN: 2583-3995
3. COJOCARU, C. Valorificarea deșeurilor agroindustriale de tomate prin obținerea Licopenului. În: *Chimia ecologică și a mediului*, Chișinău: CEP USM, 2023, Ed. 21, pp. 22-23. ISBN 978-9975-62-606-4
4. GHENDOV-MOȘANU, A. Utilizarea coloranților naturali în industria alimentară. În: *Meridian Ingineres*, 2017, nr. 3, pp. 26-35. ISSN 1683-8537
5. LUXSIKA, N., SAKAMON, D., NAPHAPORN, C. Natural colorants: Pigment stability and extraction yield enhancement via utilization of appropriate pretreatment and extraction methods. În: *Food Science and Nutrition, Bangkok*, Thailand, nr. 15 (57), 2017, pp. 3243-3259. ISSN: 1549-7852. În: https://doi.org/10.1080/10408398.2015.1109498