

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA

Identificación y Cuantificación de Colorantes Artificiales: Eritrosina FD& C rojo No. 3 (45430), Amaranto FD& C rojo No. 2 (16184) y Tartrazina FD& C amarillo No.5 (19140), en Conservas de Frutas (Compotas) Importadas de Sudamérica y Distribuidas en Guatemala.

Andrea Isabel Quiñónez Guerrero

Química Farmacéutica

Guatemala, Enero de 2008

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA

Identificación y Cuantificación de Colorantes Artificiales: Eritrosina FD& C rojo No. 3 (45430), Amaranto FD& C rojo No. 2 (16184) y Tartrazina FD& C amarillo No.5 (19140), en Conservas de Frutas (Compotas) Importadas de Sudamérica y Distribuidas en Guatemala.

Informe de Tesis

Presentado por:

Andrea Isabel Quiñónez Guerrero

Para optar al título de

Química Farmacéutica

Guatemala, Enero de 2008

Br. Andrea Isabel Quiñónez Guerrero
AUTORA

Licda. Julia Amparo García Bolaños
ASESORA

Licda. Aylin Santizo Juarez
REVISORA

Lic. Francisco Estuardo Serrano Vives
DIRECTOR
ESCUELA DE QUIMICA FARMACEUTICA

Doctor Oscar Manuel Cobar Pinto
DECANO
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA.

ÍNDICE

	PÁGINA
1. RESUMEN.....	1
2. INTRODUCCIÓN.....	2
3. ANTECEDENTES.....	4
4. JUSTIFICACIÓN.....	14
5. OBJETIVOS.....	15
6. HIPÓTESIS.....	16
7. MATERIALES Y MÉTODOS.....	17
8. RESULTADOS	25
9. DISCUSIÓN DE RESULTADOS	29
10. CONCLUSIONES.....	31
11. RECOMENDACIONES.....	32
12. REFERENCIAS.....	33
13. ANEXOS	
13.1 Anexo I Clasificación de los colorantes según la Evaluación de su toxicidad por el comité mixto FAO/OMS de expertos en aditivos alimentarios.....	38
13.2 Anexo II Identificación por esquemas analíticos y reacciones.....	40
13.3 Anexo III Sistemas de solventes cromatográficos usados en la separación de colorantes.....	41

PÁGINA

13.4 Anexo IV Fotografías del proceso

a. Lana Natural.....	42
b. Metrología.....	43
c. Fijación y Aislamiento de Colorantes.....	44
d. Extracción de Colorantes Artificiales.....	45
e. Identificación de Colorantes Artificiales.....	46
f. Espectros de Cuantificación.....	48

1. RESUMEN

El presente trabajo de investigación consistió en la identificación y cuantificación de colorantes artificiales Eritrosina FD& C rojo No. 3 (45430), Amaranto FD& C rojo No. 2 (16184) y Tartrazina FD& C amarillo No.5 (19149), en conserva de frutas (compotas) importadas de Sudamérica y distribuidas en Guatemala. El objetivo fue verificar si dichos productos cumplen con lo que establece la norma COGUANOR NO. 34 148, en donde no se permite el uso de estos colorantes.

El método utilizado para la extracción del colorante, fue el tradicional con lana desengrasada utilizada anteriormente en otros estudios.

Las muestras fueron clasificadas en cinco grupos, de acuerdo al establecimiento, luego fueron separadas por sabor (manzana, durazno, frutas mixtas y ciruela). Las soluciones extraídas de estas muestras fueron analizadas en cromatografía en capa fina y sílica gel como fase estacionaria, para comparación de valores Rf y color con el estándar, así también con el esquema Rotta-Buzzi el cual identifica y clasifica a los colorantes en su respectiva clase. Se llevó a cabo la cuantificación en un espectrofotómetro ultravioleta/visible.

Según los resultados obtenidos las conservas de frutas (compotas) importadas de Sudamérica y distribuidas en Guatemala cumplen con la norma COGUANOR No. 34148 ya que no se encontraron colorantes artificiales: Eritrosina, Amaranto y Tartrazina en las mismas.

2. INTRODUCCIÓN

La aceptación de ciertos alimentos por el público consumidor es determinada en parte por su apariencia, y de allí la antigua costumbre de colorearlos. La búsqueda de un colorante en un alimento debe tener dos finalidades: descubrir una adulteración sustancial, y determinar si tal o cual colorante es inocuo, perteneciendo, como tal, a la reducida lista de colorantes permitidos (1).

Según la Norma COGUANOR No 34 148 los productos de conservas de frutas no deben llevar como aditivos colorantes artificiales, por esta razón se considera necesario el estudio de estos productos alimenticios que van dirigidos a bebés, y que son distribuidos en los locales tipo 9.99 y las importadoras de la zona 1 de la Ciudad Capital, en donde se puede adquirir éstos, de manera económica en comparación con los supermercados y la población tiene mayor acceso a los mismos por el precio, sin importar qué marca respalda dicho producto.

Las compotas como normativa nacional tienen prohibido el uso de colorantes dentro de sus componentes, ahora bien, según el CODEX ALIMENTARIUS; se permiten unos cuantos y estos a su vez están permitidos a concentraciones bajas, por lo que este estudio no sólo pretende observar la normativa nacional sino las consideraciones internacionales sugerentes al tema.

Las compotas a analizar son de origen Sudamericano y distribuidas en Guatemala, de las cuales se analizaron 4 sabores (Durazno, Manzana, Ciruela y Frutas Mixtas), muestreados al azar en 5 establecimientos y escogidos en base a la comparación visual de los tonos más pigmentados. Los colorantes a identificar fueron la Eritrosina 454030, Amaranto 16255 y Tartrazina 19140, mediante Cromatografía de Capa Fina.

A pesar de la ausencia de colorantes en las muestras se realizó un análisis cuantitativo por medio de una determinación visible con un espectrofotómetro comparados con sus respectivos estándares. La metodología estadística fue descriptiva.

3. ANTECEDENTES

3.1 Definiciones:

Según el Codex Alimentarius la compota o conserva es el producto preparado con un ingrediente de fruta apropiado que puede ser fruta entera, trozos de fruta, pulpa o puré de la fruta con o sin zumo (jugo) de fruta o zumo (jugo) de fruta concentrado como ingrediente(s) facultativo(s), mezclado con un edulcorante carbohidrato, con o sin agua; y elaborado para adquirir una consistencia adecuada (2).

Los colorantes son sustancias que al disolverse en un medio son capaces de impartir un color, sin modificar por ello ninguna de las características del mismo (3).

Los colorantes son aditivos de dos tipos: los colorantes artificiales y los colorantes naturales y se clasifican según la evaluación de su toxicidad (ver Anexo I). El propósito de ser agregados a los productos comestibles, es cambiar el efecto visual y la aceptación por parte del consumidor (3).

3.2 Generalidades sobre Colorantes Artificiales:

Hoy día el empleo de estos aditivos constituye una necesidad comercial, dado que realza el aspecto de los preparados alimenticios.

En 1886 el Congreso de los Estados Unidos de América autorizó la adición de colorantes artificiales a la mantequilla, y para el año 1900 esta práctica se había generalizado a muchos productos alimenticios. Se fundó entonces la Oficina de Química de la Secretaría de Agricultura de los Estados Unidos (USDA), para estudiar la naturaleza y característica de los preservativos y colorantes y su relación con la salud.

En 1907 el Dr. Bernhard C. Hase, experto en colorantes reconoció 7 colorantes sintéticos usados en alimentos. En el período 1916-1929 son 10 los colorantes que figuran en la lista, y en 1938 aparece el acta de la Administración de Alimentos y

Drogas (FDA) con 15 colorantes obtenidos del alquitrán de hulla. Durante los años 1939 a 1950 se añaden a la lista 4 colorantes más. Luego, desde 1956 a 1960, se retiran de ella 4 colorantes, basándose en evaluaciones toxicológicas.

De acuerdo con su toxicidad, los colorantes han sido agrupados en 7 categorías por el Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios (4).

En Centro América y Panamá se aprobaron, para uso alimentario, 14 colorantes sintéticos, pero en el VII Seminario de Control de Drogas y Alimentos para Centro América y Panamá celebrado en Guatemala en junio de 1972, dicha lista se redujo a 5 colorantes (5), de los cuales únicamente tres: amaranto, amarillo crepúsculo F.C.F (“For Coloring Food”) y Tartrazina corresponden a la categoría A de la clasificación de la FAO/OMS (ver anexo 1). Los dos restantes: indigotina y eritrosina, se encuentran clasificados en la categoría B del mismo (ver anexo I). Sin embargo, la industria centroamericana sigue usando el azul brillante F.C.F. incluido en la categoría B. Ensayos toxicológicos de este colorante mostraron que inyectado por vía subcutánea, producía sarcomas locales con una frecuencia de 10 a 15% (6).

Se emplea además el “rosa de bengala” clasificado en la categoría D. No existen datos que permitan evaluar la toxicidad de este colorante.

Se ha encontrado esporádicamente rodamina B catalogada en la categoría CIII (Anexo I) y el anaranjado G.G.N; este último prohibido por las normas alimentarias vigentes en Guatemala.

3.3 Métodos:

El proceso de llegar a caracterizar con exactitud una o varias materias colorantes es a menudo largo y tedioso.

El análisis de mezclas complejas no es sencillo, aún cuando se dispone de métodos cromatográficos y espectrofotométricos, y a pesar de que cada día el uso de colorantes con fines estéticos es más reducido.

Si no se cuenta con métodos estandarizados de trabajo y si en los pasos del proceso analítico de identificación no se incluye al menos un método cromatográfico o espectrofotométrico, los resultados no serán satisfactorios.

La separación por dos o más solventes inmiscibles, como método clásico con identificación individual posterior del colorante o colorantes, es un método oficial útil siempre que se cuide de que la concentración del colorante no sobrepase el límite de 0.1-0.5%. La solución que se obtiene de los alimentos coloreados rara vez requiere dilución, pero si se trata del colorante comercial, debe cuidarse de no sobreponer esta concentración. El pH de la solución debe oscilar alrededor de 2 en medio acético en presencia de un electrolito (ejemplo, cloruro de sodio), para luego someter esta solución a extracciones con alcohol amílico, alcohol amílico en medio clorhídrico, alfa-diclorhidrina, alcohol amílico en medio clorhídrico y agua. Luego, las mezclas de colorantes que han sido extraídas en cada solvente orgánico, según su coeficiente de partición, se separan con otros reactivos específicos, y posteriormente los componentes se identifican individualmente.

La cromatografía es la técnica de separación de uso más amplio. La cromatografía circular sobre papel, la ascendente y en capa fina, son igualmente efectivas. Cuando se

trata de determinaciones cuantitativas, la cromatografía en columna líquida es adecuada.

La cromatografía sobre papel ha alcanzado en general un auge extraordinario, y a veces es el único medio factible para separar e identificar este grupo complejo de colorantes sintéticos (7). Se ha demostrado que casi todas las marcas de papel de calidad son útiles para los fines de separación cromatográfica.

Para la separación e identificación cromatográfica en papel se ha venido utilizando una gran variedad de solventes, desde una solución acuosa al 2 % de NH₄OH. Bandelin y Tuschoff usan una solución acuosa al 2 % de alcohol isobutílico. Ceresa emplea papel Whatman #1 y dos sistemas de solvete, cloruro de amonio-alcohol butílico-alcohol etílico-agua, y una variante que consiste en el agregado de NH₄OH al sistema anterior. Todo método sugerido puede ser reemplazado por otros seccionados convenientemente por expertos (8).

Como se ha mencionado, la identificación positiva de un colorante es casi siempre difícil. Los colorantes azoicos sin sulfonar son más simples de identificar por procedimientos de análisis orgánico cualitativo, no así los sulfonados, debido a que pocas veces pueden obtenerse químicamente puros. A ello se añade el hecho de que en un alimento casi siempre se separan cantidades muy pequeñas de colorantes. En este caso, el análisis se simplifica comparando las propiedades y el comportamiento de la sustancia problema con patrones de reconocida pureza.

Los procedimientos actuales utilizan la cromatografía y la espectrofotometría. Casi siempre se usan ambos; por ejemplo, la presencia de colorantes auxiliares puede impedir la identificación espectrofotométrica del colorante principal.

Por este motivo, antes de recurrir a la espectofotometría, se debe purificar por cromatografía la sustancia a analizar (9).

El Rf de una sustancia es un índice difícil de reproducir. En la práctica hay muchos factores incontrolables que hacen del Rf un índice inseguro. Entre estos factores cabe citar la edad y composición de la mezcla disolvente, calidad de papel, concentración, pH de la solución, temperatura, dirección y tipo y calidad de las sustancias auxiliares que acompañan al colorante principal. Para eliminar muchos de los factores citados siempre deben efectuarse ensayos de cromatografía comparativa. Los cromatogramas deben observarse húmedos y secos, y comparar los tonos de color bajo luz diurna y ultravioleta. Puede también observarse el comportamiento específico y las condiciones del ensayo, así como la presencia de impurezas. Ensayos específicos con ácido y álcalis u otros reactivos apropiados confirman los resultados cromatográficos.

Los requisitos para probar la identidad de un colorantes, comparándolo con patrones, pueden resumirse como sigue: distancias de migración idénticas en diversos disolventes; tono igual a la luz diurna y ultravioleta; cambios iguales de color frente a reactivos químicos, etc.

Uno de los medios más útiles de identificación de colorantes lo constituyen los métodos espectrofotométricos usando las tres regiones del espectro.

Para intentar la identificación de un colorante desconocido se usa la región visible del espectro; muchos colorantes presentan en esta región una absorción característica. Los espectros ultravioleta son también de utilidad, pero el más seguro es el espectro infrarrojo. Este ofrece el inconveniente de que la muestra debe estar libre de impurezas,

en especial de agua, ya que esta absorbe radiaciones infrarrojas que enmascaran la absorción del colorante analizado.

En la aplicación de métodos espectrofotométricos, los espectros se obtienen siempre variando los solventes, y si se usa uno solo, se hará en diversas condiciones.

Del estudio de toda la curva resultante y no sólo de la localización de la máxima absorción, es factible obtener una caracterización definitiva (10).

3.4 Generalidades en el Análisis de Colorantes:

Las distintas etapas en el análisis de colorantes son las siguientes: extracción, aislamiento, separación e identificación.

3.4.1 Extracción: Esta constituye la primera etapa en la marcha de la identificación del colorante, y consiste en extraerlo del alimento soporte. El procedimiento de extracción lo determinará la naturaleza del alimento. El agua es el solvente más utilizado, pero debido a que los colorantes se fijan con gran afinidad a ciertas sustancias como productos lácteos, grasas, conservas de carne, etc; es necesario recurrir a solventes orgánicos.

3.4.2 Aislamiento: Una vez extraídos, se les aisla fijándolos por tinción sobre fibras de lana previamente desengrasada, aprovechando la afinidad que los colorantes sintéticos tienen con las fibras textiles. Se ha utilizado igualmente fibras de algodón, seda, etc. Este aislamiento se efectúa generalmente en medio ácido acético o clorhídrico.

3.4.3 Separación: Para desmontar los colorantes fijados, la fibra teñida se trata con soluciones amoniacales cuya concentración varía entre 2 y 25%. Luego las soluciones se concentran para efectuar el ensayo cromatográfico. Este puede ser circular o ascendente, en cilíndros de cierre esmerilado o en cámaras apropiadas (10).

Los cromatogramas secos deben observarse comparativamente para determinar el tono del color o colores obtenidos, así como también la intensidad de los mismos. Ambos factores son importantes en el proceso de identificación. Es necesario comparar las distancias de migración de las manchas de color. Luego de obtener el o los colorantes puros a través de cromatografía circular o ascendente, se procede a la identificación.

3.4.4 Identificación: Esta puede efectuarse sobre las manchas de color en el papel cromatográfico, o sobre las soluciones acuosas de las mismas. Para este propósito son de utilidad los esquemas de Rota-Buzzi, Green, Mathewson y Loomis. Generalmente ésta identificación por esquemas analíticos se lleva a cabo por exposición de cada colorante a la acción de ácidos y bases fuertes, reactivos específicos, y reacciones de oxidación y reducción. Finalmente, se efectúan los ensayos espectrofotométricos (10).

3.5 Estudios Realizados:

Como se mencionó con anterioridad para poder clasificar a los colorantes es necesario un estudio toxicológico; estudios han concluido que la eritrosina tiene participación en la inhibición de la toma de yodo mediante la tiroides, lo que puede estar involucrado con los tumores de esta glándula. El comité encargado de la verificación de estos estudios considera que el desarrollo de estos tumores es debido a un efecto hormonal, sin embargo estos datos no han sido comprobados (11).

El color amaranto produce reacciones alérgicas como urticaria recurrente o angioedema (12). Mientras que la tartrazina puede causar picazón o sensibilidad la cual ha sido clasificada como una reacción de hipersensibilidad y no como una reacción alérgica verdadera, la cual sería más grave. Por esta razón se obliga al fabricante a declarar en la etiqueta si esta utilizando colorantes y cuales son estos para que los consumidores hipersensibles puedan evitarlo (13).

Estos estudios han demostrado que las dosis diarias que se pueden consumir de Eritrosina, Amaranto y Tartrazina en humanos son de 0-0.25, 0-0.5 y 0.75 mg/Kg peso, respectivamente (14) (15).

En Guatemala no existen estudios de colorantes en alimentos en conserva para lactantes

(compotas). Pero se han realizado estudios para la determinación de colorantes artificiales en alimentos y se han descrito los pasos generales para el análisis de productos lácteos y grasas; productos de panadería y repostería; productos de confitería, algodones, refrescos no carbonatados, gelatinas, helados y jarabes. Como resultado de estos análisis, se comprobó que la mayoría de los colorantes utilizados en la fabricación de los alimentos mencionados corresponden a los autorizados por las normas establecidas, pero se encontraron además, en algunos alimentos, colorantes que han sido eliminados de las listas oficiales por sus efectos tóxicos.

En el año 2002 Ingrid Escalante Santos en su tesis Ad Gradum titulada “Identificación y Cuantificación del Colorante Amarillo FD y C No. 5 (tartrazina) en refrescos no carbonatados que se comercializan en Guatemala” concluye que el colorante sintético mayoritario identificado en la fabricación de refrescos sabor naranja, mandarina y piña es el Amarillo FD y C No. 5 (tartrazina) (16).

En el año 1987 Eugenia Rodas en su tesis Ad Gradum titulada “Identificación de colorantes artificiales utilizados en caramelos típicos de Guatemala” concluye que un elevado porcentaje de los caramelos blandos típicos y algodones de azúcar de Guatemala, contienen colorantes artificiales no autorizados por el Ministerio de Salud Pública.

En el año 1986 Odette Aguilar en su tesis Ad Gradum titulada “Identificación y Cuantificación de colorantes artificiales en helados que se consumen en la ciudad de Guatemala” concluye que el amarillo no. 5, el amarillo no. 6 y el rojo no. 2 son los colorantes identificados y autorizados para uso alimentario en Guatemala; sin embargo se identificaron dos colorantes no autorizados los cuales fueron el rojo No. 40 y el azul No.1.

3.6 Generalidades de las Compotas:

Lo primero que hay que saber de las compotas es que son dulces de frutas cuyos únicos ingredientes son frutas, agua y azúcar. Claro que estos ingredientes tienen que estar dentro de las recetas en una correcta proporción para que se logre una preparación excelente.

A continuación se especifican los pasos básicos a seguir para lograr la preparación de compotas o dulces éxitosamente:

Escoger la fruta que este madura y firme, aunque no demasiado madura, pues impedirá que la compota llegue a su punto, y es susceptible de fermentar y enmohecercer. Se debe por otra parte, si la fruta esta demasiado verde, estará escasa de sabor, por ello elegir la fruta casi madura. La proporción de 1 kilo de azúcar por 1 kilo de frutas, no es la medida para todas las compotas, generalmente las frutas que tienen más pectina, necesitan menos azúcar para llegar a su punto. Cocinar lentamente la fruta, y agregar el azúcar hasta que la fruta esté suave; algunas frutas se endurecen al añadirles el azúcar. Revolver lentamente a fuego bajo, hasta que ésta se disuelva, entonces aumentar el fuego para que hierva rápidamente. No remover la compota cuando ya está hirviendo pues bajará la temperatura y no logrará el punto justo.

Utilizar una olla grande y de boca ancha, que permita trabajar cómodamente, ya que algunos dulces al hervir suben y pueden desbordarse de la misma. Comenzar a probar el punto una vez que el azúcar se ha añadido, si el dulce se cocina de más, nunca alcanzará el punto exacto, o se azucará. La precisión en el tiempo y la intensidad de la cocción es muy importante, pues un exceso puede provocar, por ejemplo, una pérdida considerable de la pectina de la fruta. Esperar hasta enfriar ligeramente y revolver suavemente, para que los pedazos de fruta se distribuyan por todo el contenido y verter inmediatamente dentro de los frascos esterilizados y cubiertos con un círculo de papel encerado. Al final de la cocción es muy usual añadir a las mermeladas pectina en polvo, que se adquiere en establecimientos especializados en dietética. Llenar los frascos dejando $\frac{1}{2}$ centímetro bajo el borde. Tapar herméticamente y almacenar en un sitio frío, oscuro y seco.

4. JUSTIFICACIÓN

Las compotas son productos alimenticios de alto consumo en la ciudad de Guatemala debido a lo fácil de adquirir y manipular, éstas son consumidas sobre todo por parte de la población infantil. Según la Norma COGUANOR No 34 148 los productos de conservas de frutas (compotas) no deben llevar como aditivos colorantes artificiales, ya que pueden provocar reacciones alérgicas (17). Por lo que se considera necesario el análisis de este tipo de productos, principalmente los que son distribuidos en los locales tipo 9.99 y las importadoras de la zona 1 de la Ciudad Capital, en donde se puede adquirir éstos de manera económica en comparación con los supermercados y la población tiene mayor acceso a los mismos por el precio, sin importar qué marca respalda dicho producto.

Debido a que el producto es de alto consumo y sus principales clientes son niños menores a los dos años, con todos los sistemas (inmune, gástrico, etc.) inmaduros o bien incipientes, es necesario evaluar qué tanto cumplen estos productos importados las normativas nacionales; en las cuales el uso de colorantes artificiales como aditivos en conserva de frutas esta prohibido; además de evaluar si los tienen, en qué porcentaje y en qué concentración se encuentran para determinar su residualidad y por ende su repercusión en la toxicidad crónica de estos compuestos. De allí la importancia de este estudio.

5. OBJETIVOS

5.1 General

- 5.1.1 Evaluar la calidad y cumplimiento de la norma COGUANOR No 34 148 de productos tipo conserva de Frutas (compotas), importadas de Sudamérica y distribuidas en Guatemala.
- 5.1.2 Determinar la presencia o ausencia de colorantes artificiales como aditivos en conserva de frutas (Compotas), importadas de Sudamérica y distribuidas en Guatemala.

5.2 Específicos

- 5.2.1 Verificar si las conservas de frutas de manzana, durazno, frutas mixtas y ciruela contienen como aditivos colorantes artificiales Eritrosina FD& C rojo No. 3 (45430), Amaranto FD& C rojo No. 2 (16184) y Tartrazina FD& C amarillo No.5 (19149).
- 5.2.2 Cuantificar los colorantes artificiales Eritrosina FD& C rojo No. 3 (45430), Amaranto FD& C rojo No. 2 (16184) y Tartrazina FD& C amarillo No.5 (19140) dependiendo de la presencia de los mismos, en conservas de frutas (compotas) de manzana, durazno, frutas mixtas y ciruela.

6. HIPÓTESIS

Las conservas de frutas (compotas) de manzana, durazno, frutas mixtas y ciruela, importadas de Sudamérica y distribuidas en Guatemala, no poseen colorantes artificiales por lo que cumplen con la Norma COGUANOR No. 34 148.

7. MATERIALES Y MÉTODOS

7.1 UNIVERSO DE TRABAJO: Conservas de frutas importadas de Sudamérica y distribuidas en la zona 1 de la Ciudad Capital de Guatemala.

Muestra: Lo constituyó la recolección de Conservas de frutas (compotas) con sabores de manzana, durazno, frutas mixtas y ciruela importadas de Sudamérica y distribuidas en la zona 1 de la Ciudad Capital de Guatemala.

7.2 MEDIOS:

7.2.1 Recursos Humanos:

7.2.1.1 Autor: Br. Andrea Isabel Quiñónez Guerrero.

7.2.1.2 Asesor: Licda. Julia Amparo García Bolaños.

7.2.1.3 Revisor: Licda. Aylin Santizo Juárez

7.2.1.4 Colaboración de otros profesionales relacionados con el tema a investigar:

Licda. Sully Cruz

Lic. Darwin Tení

7.2.1.5 Fuentes bibliográficas consultadas: CEDOF (Centro de documentación de Farmacia, INCAP (Instituto de Centro América y Panamá), Centro de Documentación de la Universidad del Valle de Guatemala.

7.2.2 Recursos Materiales:

7.2.2.1 Muestras de compotas de sabores de Manzana, Durazno, Frutas Mixtas y Ciruela importadas de Sudamérica.

7.2.2.2 Instalaciones del Departamento de Análisis Aplicado.

7.2.2.3 Equipo de Laboratorio:

Balanza Analítica

Estufa Eléctrica

Horno

Equipo general para cromatografía en capa fina.

Mechero Bunsen

Espectrofotómetro UV-Visible

7.2.2.4 Materiales de Laboratorio:

Beakers de 250 mL

Probetas de 50 mL

Buretas de 50 mL

Pipetas de 1 mL y 10 mL

Micropipetas

Balón aforado de 10 mL

Microcapilares

Lana desengrasada

Papel filtro

Fósforos

Lana natural desengrasada.

Varilla de vidrio

Masking tape.

7.2.2.5 Reactivos:

Agua desmineralizada

Ácido Acético Glacial

Acetato Sódico

Alcohol Anhidro

n-Butanol

Citrato de sodio.

Hidróxido de Amonio

Estándares de colorantes artificiales.

Etanol

7.3 PROCEDIMIENTO:

7.3.1 Recopilar la información y bibliografía de campo referente al uso y demanda de conserva de frutas (compotas).

7.3.2 Elaborar una lista de los sabores de compotas más pigmentadas, que son distribuidas en los lugares tipo 9.99, e importadas desde Sudamérica y confirmar si entre la lista generada, se encuentran los sabores seleccionados.

7.3.3 Establecer la presencia de los colorantes Eritrosina FD& C rojo No. 3, Amaranto FD& C rojo No. 2 y Tartrazina FD& C amarillo No.5

7.3.4 Recolectar las muestras y enumerar según el distribuidor.

7.3.4.1 Preparación del estándar de colorante artificial:

Pesar 0.05 g de estándar y disolverlo con 8 ml de agua desmineralizada, agregar esta solución dentro de un tubo de ensayo, perfectamente identificado.

7.3.4.2 Preparar las muestras (extracción):

a) En un beaker de 50 mL pesar aproximadamente 5 gramos de muestra macerada (si es sólida), 40 a 50 mL de muestra (si es líquida).

b) Dejar reposar durante 10 minutos.

7.3.4.3 Aislamiento de los Colorantes y Fijación:

a) Filtrar la muestra a través de algodón.

b) Al filtrado, agregar un pedazo de lana cruda (lana natural se desengrasa con una solución de hidróxido de sodio al 15 % y luego se lava con alcohol suficiente para eliminar el restante de grasa que puede quedar en la lana; por último se lava con abundante agua destilada para terminar de limpiarla. Se debe tomar en cuenta que el lavado a través de los solventes debe de ser rápido ya que si se sumerge la lana excesivamente, se logra la degradación de los mismos, porque se desnaturalizan las proteínas) y aproximadamente 7 gotas de ácido acético concentrado.

c) Calentar en una estufa, hasta que hierva la solución. Retirar de la estufa y dejar enfriar.

Nota: Si se tienen muchas muestras, tener precaución de colocarlas separadas entre sí, para que no se contaminen unas con otras, al momento de calentar y hervirlas.

d) Una vez a temperatura ambiente, lavar la lana con agua potable eliminar el ácido acético (es decir que no se perciba el olor a ácido acético).

7.3.4.4 Desmontaje:

- Si el color de la lana es blanco (o sin color aparente), reportar como No Detectado.
- Si la lana tiene coloración colocarla de nuevo en el beaker y agregarle 7 gotas de hidróxido de amonio concentrado y 10 mL de agua destilada, dejar que salga el color de la lana.
- Sacar la lana y descartarla.

- Filtrar con papel filtro en un beaker de 10 mL, concentrar el extracto coloreado, colocando el beaker en la estufa teniendo cuidado de no calentar en exceso y consumir el extracto.

Nota: Se debe trabajar del inciso “b” y “c” de asilamiento y fijación de colorantes en campana de extracción.

7.3.4.5 Separación de Colorantes:

Ya aislados los colorantes se separan por cromatografía en papel, mediante un sistema de solventes adecuados. Para lo cual se toma la muestra con un microcapilar y se aplica sobre la placa, junto con los patrones disponibles de Eritrosina FD& C rojo No. 3 (45430), Amaranto FD& C rojo No. 2 (16184) y Tartrazina FD& C amarillo No.5 (19140).

7.3.4.6 Identificación de Colorantes:

Por comparación de valores Rf y color, en los cromatogramas.

Por el esquema de Rotta-Buzzi que clasifica a los colorantes en su respectiva clase. Esto se basa en el comportamiento de los colorantes frente a un agente reductor.

Esquema de Rotta-Buzzi:

- Realizar los ensayos en soluciones acuosas 1:1000.
- Agregar 4 ó 5 gotas de ácido clorhídrico a 5 mL de esta solución, 4 ó 5 gotas de SnCl₂ al 2 %.
- Agitar y calentar a ebullición.
- Observar los cambios producidos.

Si hay decoloración, neutralizar con hidróxido de potasio. Si el colorante no se reoxida después de 5 minutos, éste pertenece a la clase I (en esta clase están los que poseen los siguientes grupos funcionales: nitro, nitroso, azoico, oxi-azo e hidrazo). Si el colorante se reoxida, pertenece a la clase II, entre los que se encuentran los colorantes indigoideos o indiquinoicos. Si no ocurre la decoloración. Esto indica que los colorantes presentes no son reducibles. Mezclar con hidróxido de potasio al 20%. Si después de esta operación se produce decoloración o precipitación, el colorante pertenece a la clase III, entre la cuales están los amido derivados del di y fenilmetano. Si no hay decoloración o precipitación el compuesto corresponde a la clase IV, entre los que están: los no aminados del difenil-metano, oxiacetonas y colorantes naturales.

7.3.5 La información de la identificación de los colorantes usados en conserva de frutas (compotas), se va a analizar y comparar con datos existentes en la literatura, con el objeto de establecer su presencia.

7.3.6 Análisis Cuantitativo:

7.3.6.1 Se prepararon las soluciones estándares a partir de una solución madre de 0.025% de cada uno de los colorantes artificiales (Eritrosina FD& C rojo No. 3, Amaranto FD& C rojo No. 2 y Tartrazina FD& C amarillo No.5).

7.3.6.2 En cinco balones aforados de 50 mL, se midieron de 1 a 5 mL de la solución madre y se aforaron a 50 mL, para realizar la curva de calibración, se realizó este procedimiento con cada uno de los colorantes artificiales (Eritrosina FD& C rojo No. 3, Amaranto FD& C rojo No. 2 y Tartrazina FD& C amarillo No.5).

7.3.6.3 Se realizó un barrido en el UV-VIS para identificar la longitud de onda a la cual el colorante posee mayor absorbancia de cada colorante artificial.

7.3.6.4 Se realizó la curva de calibración de cada colorante artificial (Eritrosina FD& C rojo No. 3, Amaranto FD& C rojo No. 2 y Tartrazina FD& C amarillo No.5), con los estándares de cada colorante por separado, por lo menos con cinco concentraciones diferentes.

7.3.6.5 Se realizaron las lecturas correspondientes en el espectrofotómetro a longitudes de onda apropiadas contra un estándar.

7.4 DISEÑO ESTADÍSTICO:

7.4.1 Elaborar una lista de los sabores de compotas pigmentadas de acuerdo a los colorantes a evaluar. Serán 3 colorantes artificiales, en compotas de una marca y cuatro sabores diferentes (manzana, durazno, frutas mixtas y ciruela).

7.4.2 Agrupar por cada sabor producido.

7.4.3 Asignar por establecimiento de venta y por sabor un número correlativo, con el fin de identificar el colorante usado para conferir un color específico.

No. De Marcas registradas: 01

No. De establecimientos: 05

Sabores que se fabrican

No. De Marcas

Manzana	1
Durazno	1
Frutas mixtas	1
Ciruela	1

7.4.4 La selección de las muestras fue por conveniencia en función de los establecimientos.

Análisis de los Datos: Estadística descriptiva de positivos o negativos (frecuencias) por cada colorante (tablas y gráficas), se hizo una cuantificación y se compararon con la norma para reportar si cumple o no.

8. RESULTADOS

8.1 ANÁLISIS CUALITATIVO

Por comparación de valores Rf, colores estándares de Amaranto (rojo No. 2), Eritrosina (rojo No. 3); Tartrazina (amarillo No. 5) y según el esquema de Rotta-Buzzi el 100% de las muestras analizadas de compotas importadas de Sudamérica y distribuidas en Guatemala no poseen dichos colorantes artificiales.

Tabla No. 1 Identificación de Colorante Artificial: Amaranto FD& C rojo No. 2 (16184) en Compotas importadas de Sudamérica.

NÚMERO DE ESTABLECIMIENTO	SABOR	COLORANTE A IDENTIFICAR	RESULTADO
1	(a)*	Amaranto (Rojo No. 2)	Negativo
1	(b)*		Negativo
1	(c)*		Negativo
1	(d)*		Negativo
2	(a)*		Negativo
2	(b)*		Negativo
2	(c)*		Negativo
2	(d)*		Negativo
3	(a)*		Negativo
3	(b)*		Negativo
3	(c)*		Negativo
3	(d)*		Negativo
4	(a)*		Negativo
4	(b)*		Negativo
4	(c)*		Negativo
4	(d)*		Negativo
5	(a)*		Negativo
5	(b)*		Negativo
5	(c)*		Negativo
5	(d)*		Negativo

- * la literal (a) corresponde a compota de Manzana.
 (b) Durazno.
 (c) Frutas Mixtas.
 (d) Ciruela.

Tabla No. 2 Identificación de Colorante Artificial: Eritrosina FD& C rojo No. 3 (45430) en Compotas importadas de Sudamérica.

NÚMERO DE ESTABLECIMIENTO	SABOR	COLORANTE A IDENTIFICAR	RESULTADO
1	(a)*	Eritrosina (Rojo No. 3)	Negativo
1	(b)*		Negativo
1	(c)*		Negativo
1	(d)*		Negativo
2	(a)*		Negativo
2	(b)*		Negativo
2	(c)*		Negativo
2	(d)*		Negativo
3	(a)*		Negativo
3	(b)*		Negativo
3	(c)*		Negativo
3	(d)*		Negativo
4	(a)*		Negativo
4	(b)*		Negativo
4	(c)*		Negativo
4	(d)*		Negativo
5	(a)*		Negativo
5	(b)*		Negativo
5	(c)*		Negativo
5	(d)*		Negativo

- * la literal (a) corresponde a compota de Manzana.
 (b) Durazno.
 (c) Frutas Mixtas.
 (d) Ciruela.

Tabla No. 3 Identificación de Colorante Artificial: Tartrazina FD& C amarillo No.5 (19149) en Compotas importadas de Sudamérica.

NÚMERO DE ESTABLECIMIENTO	SABOR	COLORANTE A IDENTIFICAR	RESULTADO
1	(a)*	Tartrazina (Amarillo No. 5)	Negativo
1	(b)*		Negativo
1	(c)*		Negativo
1	(d)*		Negativo
2	(a)*		Negativo
2	(b)*		Negativo
2	(c)*		Negativo
2	(d)*		Negativo
3	(a)*		Negativo
3	(b)*		Negativo
3	(c)*		Negativo
3	(d)*		Negativo
4	(a)*		Negativo
4	(b)*		Negativo
4	(c)*		Negativo
4	(d)*		Negativo
5	(a)*		Negativo
5	(b)*		Negativo
5	(c)*		Negativo
5	(d)*		Negativo

* la literal (a) corresponde a compota de Manzana.

(b) Durazno.

(c) Frutas Mixtas.

(d) Ciruela.

Tabla No. 4 Esquema de Rota-Buzi

NÚMERO DE ESTABLECIMIENTO	SABOR	RESULTADO
1	(a)*	Positivo para colorantes naturales
1	(b)*	Positivo para colorantes naturales
1	(c)*	Positivo para colorantes naturales
1	(d)*	Positivo para colorantes naturales
2	(a)*	Positivo para colorantes naturales
2	(b)*	Positivo para colorantes naturales
2	(c)*	Positivo para colorantes naturales
2	(d)*	Positivo para colorantes naturales
3	(a)*	Positivo para colorantes naturales
3	(b)*	Positivo para colorantes naturales
3	(c)*	Positivo para colorantes naturales
3	(d)*	Positivo para colorantes naturales
4	(a)*	Positivo para colorantes naturales
4	(b)*	Positivo para colorantes naturales
4	(c)*	Positivo para colorantes naturales
4	(d)*	Positivo para colorantes naturales
5	(a)*	Positivo para colorantes naturales
5	(b)*	Positivo para colorantes naturales
5	(c)*	Positivo para colorantes naturales
5	(d)*	Positivo para colorantes naturales

* la literal (a) corresponde a compota de Manzana, b) Durazno, (c) Frutas Mixtas (d) Ciruela.

9. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Se observó que las 20 muestras analizadas cada una por triplicado, no poseen colorantes artificiales que provocan reacciones alérgicas tales como Amaranto, Eritrosina y Tartrazina. Esto se comprobó durante el proceso de separación de los colorantes ya que no se identificó ninguno de los mismos (Anexo IVe); y por lo tanto la cuantificación salió nula. Esta separación se realizó con diferentes mezclas de solventes (según anexo No. III) de las cuales se observó mejor separación de colorantes estándares con la fase móvil A y B.

Durante el aislamiento y fijación de colorantes no se observó cambio en el color de la lana natural y la solución permaneció transparente, pero al llevar a cabo el desmontaje de los colorantes con hidróxido de amonio concentrado más agua destilada en la única muestra que se observó un tenue color amarillento fue en la muestra sabor ciruela (ver anexo IV inciso d), sin embargo, la identificación no muestra presencia de colorantes artificiales. Se estimó que estos son colorantes naturales, esto se comprobó con el sistema de Rotta-Buzi. Este método permite clasificar a los colorantes en su respectiva clase basándose en el comportamiento de los colorantes frente a un agente reductor como el hidróxido de potasio, en las 20 muestras no ocurrió la decoloración; esto indica que los colorantes presentes no son reducibles, entonces se mezcló la muestra con hidróxido de potasio al 20%, como no existió decoloración ni precipitación el compuesto corresponde a la clase IV, entre los que se encuentran: colorantes naturales, esto coincide con la etiqueta del producto que

menciona no contener colorantes artificiales. También se estima que el color característico de cada sabor de compota sea producido por el color natural de la fruta con la que es elaborada.

A pesar de dar un resultado negativo en la identificación, se consideró necesario el procedimiento de cuantificación debido a que el producto es de alto consumo porque son fáciles de adquirir y manipular y sus principales clientes son niños menores a los dos años, con todos los sistemas (inmune, gástrico, etc.) inmaduros o bien incipientes, por esta razón fue necesario confirmar con este ensayo la ausencia de colorantes artificiales para saber que tanto cumplen estos productos importados las normativas nacionales.

Las muestras se analizaron en el espectrofotómetro ultravioleta y visible a longitudes de onda de: 433, 521, 523 correspondientes al colorante artificial tartrazina, eritrosina y amaranto respectivamente, dichas longitudes equivalen al barrido de los estándares analizados de los colorantes en mención y no se observó ningún colorante (ver anexo IV inciso f). Por lo que los productos de conservas de frutas (compotas) importadas de Sudamérica y distribuidas en Guatemala sabor de manzana, durazno, frutas mixtas y ciruela cumplen con la Norma COGUANOR No 34 148, en donde se menciona la prohibición de colorantes artificiales como aditivos en este tipo de producto alimenticio.

10. CONCLUSIONES

- 10.1 Las muestras de compotas de sabor manzana, durazno, frutas mixtas y ciruela importadas de Sudamérica y distribuidas en Guatemala no poseen colorantes artificiales: Eritrosina FD& C rojo No. 3 (45430), Amaranto FD& C rojo No. 2 (16184) y Tartrazina FD& C amarillo No.5 (19149), como aditivos.
- 10.2 Las muestras de conservas de frutas (compotas) de manzana, durazno, frutas mixtas y ciruela, importadas de Sudamérica y distribuidas en Guatemala, no poseen colorantes artificiales por lo que cumplen con la Norma COGUANOR No. 34 148.
- 10.3 Según el sistema de Rotta-Buzzi las muestras poseen colorantes naturales.
- 10.4 De acuerdo al ensayo de cuantificación de los colorantes artificiales Eritrosina FD& C rojo No. 3 (45430), Amaranto FD& C rojo No. 2 (16184) y Tartrazina FD& C amarillo No.5 (19149), el resultado de las muestras dió negativo.

11. RECOMENDACIONES

11.1 A pesar que la norma COGUANOR No. 34 148 permite el uso de colorantes naturales en estos productos, se considera necesario la cuantificación e identificación de vitaminas en las conservas de frutas (compotas).

11.2 Otro elemento a evaluar sería la presencia de insecticidas en compotas debido a las distintas formas en que se cultivan frutas y vegetales.

11.3 La cuantificación de pectina como adulterante de la fórmula ya que se observaron algunas muestras más espesas que otras.

12. REFERENCIAS

1. Reyes EC. Separación e Identificación de Colorantes Artificiales en Alimentos Toxi-infección de Origen Alimentario. Guatemala: INCAP, 1976. (p.314-335).
2. CODEX stan 78-1981 normas del CODEX para compotas (conserva de frutas) y jaleas.
3. Larry A. Michael D. John H. Food Aditives. Second edition. New York: Marcel Dekker, 2002. (p. 477-497)
4. Normas de Identidad y de Pureza para los Aditivos Alimentarios y Evaluacion de su Toxicidad: Colores Alimentarios y Algunos Antimicrobianos y Antioxidantes, 8º Informe del Comité Mixto FAO/OMS de expertos en Aditivos Alimentarios, Ginebra, 8-17 de diciembre de 1964. Roma, Italia, Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, 1966. (FAO: Reuniones sobre Nutricion, Informe No. 38).
5. Normas Sanitarias de Alimentos. Cambios acordados oficialmente por el VII Seminario de Control de Drogas y Alimentos para Centro América y Panamá. Guatemala, junio de 1972. Washington; Organización Panamericana de la Salud, junio de 1972, 14 p.
6. Normas de Identidad y de Pureza para los Aditivos Alimentarios y Evaluacion de su Toxicidad: Colores Alimentarios y Algunos Antimicrobianos y Antioxidantes, 8º Report of the joint FAO/WHO expert comite on Food Additives, wld Hlth org techn. Rep. Ser;1974 No. 557. (FAO Nutrition 1974 No. 54).
7. Joint FAO/WHO Expert Committee on food additives. Guide to specifications general notices, analytical techniques, Identification tests, test solutions, other reference materials. Rome 1991.

8. Roger Word, Foster, Andrea Damant and Pauline KEy. Analytical Methods for Food Additives. England: Publishing Limited, 2004.
9. Specifications for Identity and Purity of Food Colours. Rome: Food and Agruculture Organization of the United Nations, 1984. 145 p. (p. 9, 71, 10, 11, 33, 75, 134).
10. Joint FAO/WHO Expert Committee on food additives. Guide to specifications general notices, analytical techniques, Identification tests, test solutions, other reference materials. Rome 1991.
11. Normas de Identidad y de Pureza para los Aditivos Alimentarios y Evaluación de su Toxicidad: Colores Alimentarios y Algunos Antimicrobianos y Antioxidantes, 8º Informe del Comité Mixto FAO/OMS de expertos en Aditivos Alimentarios, Ginebra, 8-17 de diciembre de 1964. Roma, Italia, Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, 1966. (FAO: Reuniones sobre Nutrición, Informe No. 38).
12. Normas de Identidad y de Pureza para los Aditivos Alimentarios y Evaluacion de su Toxicidad: Colores Alimentarios y Algunos Antimicrobianos y Antioxidantes,8º Report of the joint FAO/WHO expert comite on Food Additives, wld Hlth org techn. Rep. Ser;1974 No. 557. (FAO Nutrition 1974 No. 54).
13. Guerra L. Mex 2000. Los refrescos y su impacto en la nutrición. Consultado septiembre 2007. Disponible en Mi pediatra. Com/Com. Mx/infantil/refrescos, Htlm.
14. Escalante IE. Identificación y Cuantificación del Colorante Amarillo FD y C No. 5 (tartrazina) en refrescos no carbonatados que se comercializan en Guatemala. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala, (tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 2002. 35p.
15. Normas de Identidad y de Pureza para los Aditivos Alimentarios y Evaluacion de su Toxicidad: Colores Alimentarios y Algunos Antimicrobianos y Antioxidantes,8º Report of the joint FAO/WHO expert comite on Food Additives, wld Hlth org techn. Rep. Ser;1974 No. 557. (FAO Nutrition 1974 No. 54).
16. Escalante IE. Identificación y Cuantificación del Colorante Amarillo FD y C No. 5 (tartrazina) en refrescos no carbonatados que se comercializan en Guatemala.

- Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala, (tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 2002. 35p.
17. Comisión Guatemalteca de Normas (COGUANOR). Aditivos Alimentarios; Colorantes Artificiales, Especificaciones. Guatemala: Ministerio de Economía. Doc. Tec. NGO 34 148, 1997 (p. 48-50).
18. Baldizon E.P. Identificación de Colorantes Artificiales en Alimentos. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala, (tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 1972. 34 p.
19. Roger Word, Foster, Andrea Damant and Pauline KKey. Analytical Methods for Food Additives. England: Publishing Limited, 2004.
20. Comisión Guatemalteca de Normas (COGUANOR). Aditivos Alimentarios; Colorantes Artificiales, Especificaciones. Guatemala: Ministerio de Economía. Doc. Tec. NGO 34 148, 1997 (p. 48-50).
21. Guerra L. Mex 2000. Los refrescos y su impacto en la nutrición. Consultado septiembre 2007. Disponible en Mi pediatra. Com/Com. Mx/infantil/refrescos, Htlm.
22. Normas de Identidad y de Pureza para los Aditivos Alimentarios y Evaluacion de su Toxicidad: Colores Alimentarios y Algunos Antimicrobianos y Antioxidantes,9º Report of the joint FAO/WHO expert comite on Food Additives, wld Hlth org techn. Rep. Ser;1975 No. 576. (FAO Nutrition 1975 No. 55)
23. Tucux SC. Identificación y Cuantificación de Colorantes Artificiales en Productos de Confitería (Caramelos). Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala, (tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 1984. 49 p. (p.2-8, 12- 28).
24. Hand Book of U.S. Colorants for foods, drugs and cosmetics. 4^a edition. Edit. Americhem 1994 pp 99.
25. Torres ME. Determinación de Pigmentos Colorantes en Gelatinas. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala, (tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 1984. 40 p. (p.2-5).
26. Slowing KV. Establecimientos de Métodos para la Investigación de Colorantes en Bebidas Gaseosas no Alcohólicas Guatemala: Universidad de San Carlos de

Guatemala, (tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 1982.
49 p. (p. 5-7).

27. Aguilar de Von Ahn. OS. Identificación y Cuantificación de Colorantes Artificiales en Helados que se Consumen en la Ciudad de Guatemala. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala, (tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia)1986. 47 p.
28. Jo Chang, Rosmary. Identificación Colorantes envasados no gaseosos que se distribuyen en la ciudad de Guatemala. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala, (tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 1993.
49 p.
29. Yamada M, Kawahara A, Nakazawa H. Análisis of raw materials, intenmediates and subsidiary colours in Food Yellow No 5. Tokio August 2000. (p: 666-74)
30. Extracción con Lana FAO Food and Nutrition Papers. Manual of Food Quality Control. Vol. No. 2. Additives, contaminants, techniques. 1979, p 48.

13. ANEXOS

13.1 Anexo I

CLASIFICACIÓN DE LOS COLORES SEGÚN LA EVALUACIÓN DE SU TOXICIDAD POR EL COMITÉ MIXTO FAO/OMS DE EXPERTOS EN ADITIVOS ALIMENTARIOS

Categoría A.

Colores que se han visto son aceptables para emplearlos en los alimentos. Para estos colores se ha establecido una ingestión diaria admisible máxima.

La inclusión de un color en esta categoría no debe interpretarse en el sentido de que ello signifique que no sea necesario hacer más investigaciones sobre el mismo, pues la prosecución de las investigaciones es precisa, sobre todo en vista de la posibilidad de que el progreso científico permita disponer de medios más exactos y delicados de determinación de la toxicidad de tal color. Son particularmente necesarias nuevas investigaciones en lo que concierne a los efectos de los colores sobre la reproducción y el feto.

En la categoría A se han incluido los colores siguientes:

Colorante	Número índice Color	Ingestión diaria admisible para el hombre en mg/kg de peso corporal
Amaranto	16185	0-1.5
Amarillo ocaso FCF	15985	0-5.0
Tartrazina	19140	0-7.5

Categoría B.

Colores para los cuales los datos de que se dispone no son totalmente suficientes para poder incluir aquellos en la categoría A.

Colorante	Número índice Color	Ingestión diaria admisible para el hombre en mg/kg de peso corporal
Azul Brillante F.C.F.	42090	0-12.50
Eritrosina	45430	0-1.25
Indigotina	73015	0-2.50

Categoría C.I.

Colores para los cuales los datos de que se dispone son inadecuados para evaluar aquéllos, pero acerca de los cuales existen bastantes datos detallados concernientes a los resultados de ensayos prolongados.

Categoría C.II.

Colores para los cuales los datos de que se dispone son inadecuados para evaluar aquéllos, y acerca de los cuales prácticamente no existen datos referentes a la toxicidad prolongada.

Se consideran incluídos en esta categoría los ensayos prolongados, hechos para descubrir la formación de tumores, que no van acompañados de otros estudios prolongados.

Categoría C. III.

Colores para los cuales los datos de que se dispone son inadecuados para evaluar aquéllos, pero que indican la posibilidad de efectos perjudiciales.

Categoría D.

Colores para los cuales prácticamente no se dispone de datos sobre su toxicidad.

Categoría E.

Colores que se han visto son perjudiciales y que no deben usarse en los alimentos

13.2 Anexo II

IDENTIFICACIÓN POR ESQUEMAS ANALÍTICOS Y REACCIONES

Esquema de Loomis

Este esquema se basa en reacciones generales y especiales de los colorantes que el autor agrupa por color.

Esquema de Green

Basado en reacciones de reducción con hidrosulfito de sodio, y de oxidación con persulfato de potasio, en este esquema los colorantes se dividen en básicos, salinos ácidos, e insolubles en agua.

Método de Mathewson

Después del fraccionamiento se efectúan reacciones con cianuro de potasio y reacciones de óxido-reducción con bromo y ácido nitroso (diazotación y copulación).

Métodos Espectrofotométricos, Visible y Ultravioleta

A los extractos del colorante tratados con solventes (acetona y agua), en presencia de bicarbonato de sodio 0.05 N y utilizando testigos, se les determina la densidad óptica en las longitudes de onda de máxima pureza. Este método también es de utilidad para colorantes auxiliares y dosificaciones cuantitativas.

Método Infrarrojo

El espectro infrarrojo se puede obtener de soluciones acuosas de colorante purificado usando celdas especiales. Si es posible aislar el colorante libre de toda contaminación, el espectro puede obtenerse en pastillas de bromuro de potasio. Estas pastillas se preparan homogeneizando 0.5 mg del colorante con bromuro de potasio, previamente secado, en un

mortero de ágata. Si la cantidad de colorante fuese muy poca, pude hacerse una micropastilla.

13.3 Anexo III

SISTEMAS DE SOLVENTES CROMATOGRÁFICOS USADOS EN LA SEPARACIÓN DE COLORANTES

FASE MÓVIL A

Citrato de Sodio	2g
Hidróxido de Amonio	20 mL
Agua Desmineralizada	80 mL

Útil para colorantes artificiales Rojos y Amarillos

FASE MÓVIL B

n-Butanol	50 mL
Etanol	25 mL
Hidróxido de Amonio	10 mL
Agua Desmineralizada	15 mL

Útil para colorantes artificiales Rojos

FASE MÓVIL C

Acetato de Sodio	02 g
Hidróxido de Amonio	20 mL
Agua Desmineralizada	80 mL

Útil para todos los colorantes artificiales

FASE MÓVIL D

n-Butanol	40 mL
Ácido Acético Glacial	10 mL

Aqua Desmineralizada 50 mL

Útil para colorante Rodamina y Cristal Violeta

13.4 Anexo IV

FOTOGRAFIAS DEL PROCESO

a. LANA NATURAL



Lana de chivo, después de lavar con una solución de hidróxido de sodio al 15 %.



Lana de chivo después del proceso de secado.

b. METROLOGIA



Peso de muestras.



Muestras identificadas de acuerdo al establecimiento y sabor.

c. FIJACIÓN Y AISLAMIENTO DE COLORANTES ARTIFICIALES



Aislamiento y fijación de colorantes artificiales en medio ácido.



Desmontaje en medio básico.

d. EXTRACCIÓN DE COLORANTES ARTIFICIALES



Extracción de colorantes en Medio Básico, de izquierda a derecha muestras de manzana, durazno, frutas mixtas y ciruela respectivamente.



e. IDENTIFICACIÓN DE COLORANTES ARTIFICIALES



Fase móvil: Citrato de sodio, Hidróxido de Amonio y Agua desmineralizada, útil para colorantes artificiales Rojos y Amarillos.



Fase móvil: n-Butanol, Etanol, Hidróxido de Amonio y Agua Desmineralizada , útil para colorantes artificiales Rojos.

Cromatoplaca seca después de la corrida de estándares y analitos.



