



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

*Facultad de Estudios Superiores
"CUAUTITLAN"*

ANALISIS Y CARACTERIZACION DE LOS COLORANTES EMPLEADOS EN BEBIDAS EMBOTELLADAS NO GASEOSAS (FRUTSI)

T E S I S

Que para obtener el Titulo de:

QUIMICO

Presenta:

José Luis Prado López Miro

Director de Tesis: Q. Rafael García Barrera



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

I N D I C E

| | | |
|----------|---|----|
| CAPITULO | I. INTRODUCCION | 1 |
| CAPITULO | II. GENERALIDADES | |
| | 1.- Definición de colorante aditivo | 5 |
| | 2.- Clasificación de colorantes aditivos | 5 |
| | 3.- Historia (usos y legislación) | 5 |
| | 4.- Propiedades físicas de los colorantes FD&C. | 10 |
| | 5.- Propiedades químicas de los coloran - tes FD&C. | 12 |
| | 6.- Actual situación internacional de los colorantes aditivos. | 18 |
| | 7.- Estructura química de los colorantes aditivos en alimentos. | 30 |
| | 8.- Indicaciones pertinentes de los colo- rantes identificados (nombres genéri- cos, propiedades físicas y toxicidad) | 39 |
| CAPITULO | III. DESARROLLO EXPERIMENTAL | |
| | 1. Determinaciones preliminares. | 45 |
| | 2. Extracción de los colorantes en las bebidas. | 46 |
| | 3. Separación de mezclas de colorantes. | |
| | 3.1. Separación por cromatografía en papel | 47 |
| | 3.2. Separación por cromatografía en capa fina (placas preparativas). | 47 |

I N D I C E

| | | |
|----------|---|----|
| | 4. Identificación de los colorantes extraídos. | |
| | 4.1. Identificación por cromatografía en papel. | 48 |
| | 4.2. Identificación por espectroscopías infrarroja y ultravioleta. | 49 |
| CAPITULO | IV. RESULTADOS. | |
| | 1. Datos preliminares. | 51 |
| | 2. Resultados de la extracción. | 53 |
| | 3. Productos de la separación de colorantes (cromatografía en papel y capa fina). | 54 |
| | 4. Resultados de la identificación de los colorantes en las bebidas empleadas. | |
| | 4.1. Datos obtenidos en la cromatografía en papel. | 54 |
| | 4.2. Resultados de las espectroscopías en el infrarrojo y en el ultravioleta. | 58 |
| CAPITULO | V. DISCUSION Y CONCLUSIONES. | 64 |
| CAPITULO | VI. BIBLIOGRAFIA. | 68 |

I. INTRODUCCION

Objetivo: Establecer con base a la legislación actual e información científica, si el uso de los colorantes empleados en las bebidas utilizadas es el adecuado, y proponer, con base a los resultados las recomendaciones u observaciones pertinentes.

Hipótesis: En México, el uso de los colorantes artificiales en alimentos se ha extendido, siendo factible que se encuentren contenidos en las bebidas empleadas, de esta manera, si se tienen varios colorantes conocidos que puedan ser utilizados como patrones, entonces pueden ser fácilmente identificados por algún método cromato-gráfico y/o espectroscópico.

En la actualidad los aditivos usados en los alimentos, como los colorantes, saborizantes, conservadores y otros que se emplean en la industria alimentaria, son en general de carácter sintético.

Desde hace mucho tiempo, las sustancias denomina - das colorantes se han empleado para producir efectos de color, y el desarrollo industrial que han tenido se ha hecho

extenso e importante. Estos compuestos son de relativo bajo costo, y son empleados en un sinnúmero de alimentos. Así, podemos citar que es de gran importancia el no descuidar los efectos de estas sustancias en el organismo, que son ingeridas a través del consumo de alimentos y bebidas industrializadas.

En algunas ocasiones, ciertos colorantes se han prohibido debido a su toxicidad, ya que para su obtención y extracción, suelen emplearse una gran variedad de disolventes, así como por su propia naturaleza química.

Los colorantes en alimentos son únicos en su aplicación, en las que se usan pequeñas cantidades, la máxima concentración de colorante es de aproximadamente 0.003 a 0.005% de colorante en relación al peso total.

Las bebidas refrescantes representan uno de los productos en que el uso de los colorantes aditivos juegan un papel muy importante. En el uso de estos aditivos se presentan algunas dificultades como lo son la corrosión y la pérdida gradual de color (intensidad).

En México, la aplicación de la legislación de los colorantes aditivos en alimentos está a cargo de la Sección de Asesoría de Alimentos y Bebidas, de la Dirección General de Bienes y Servicios de la Secretaría de Salud. A nivel mundial se pueden destacar por lo menos otros dos organismos que regulan el uso de estos aditivos, como lo son la Oficina Administradora de Fármacos y Alimentos (Food -

and Drug Administration, F.D.A.) que genera la regulación en los Estados Unidos de Norte América, donde sus decisiones y recomendaciones se publican en el Federal Register (F.R.) que es una publicación diaria oficial en los Estados Unidos y que designa los colorantes que registra el Acta de Alimentos, Fármacos y Cosméticos (Food, Drug and Cosmetic Act., FD&C). El otro organismo publicado es la lista de la Comunidad Económica Europea (EEC).

Los organismos antes mencionados han publicado en los últimos años, informes relativos al peligro que representa el consumo de ciertos alimentos por el empleo de colorantes aditivos en los mismos, estudios realizados por estos organismos han comprobado el peligro de carcinogenicidad. Estos informes han sido confirmados de acuerdo a los resultados obtenidos por el comité mixto formado por la Organización Mundial de la Salud y la Organización Mundial para la Agricultura y Alimentación mediante expertos alimentistas en 1958. Con la realización de nuevos estudios, se justifica la eliminación de un número importante de colorantes aditivos, pues representan un peligro de toxicidad para la salud pública al ser usados en los alimentos y bebidas.

La presencia de sustancias cancerígenas en los alimentos, bien podría ser un factor importante en la formación de lo que se considera cáncer espontáneo en el hombre y los animales.

El presente trabajo contempla un estudio analítico para la extracción y caracterización de colorantes aditivos en cuatro diferentes presentaciones de la bebida Frut-si (manzana, uva, mango y naranja). La marca comercial se escogió como consecuencia de la publicidad excesiva y de que los niños son sus principales consumidores, quedando expuestos a los riesgos de toxicidad al ingerir en exceso estos productos.

II. GENERALIDADES

1.- Definición de colorante aditivo.

Por colorante aditivo se entiende, aquella sustancia que se agrega a comestibles y a bebidas con la finalidad de proporcionar o intensificar su color.

2.- Clasificación de colorantes aditivos.

Los colorantes aditivos se clasifican en dos grupos:

- a) Colorantes orgánico naturales: son aquellos cuyo origen es vegetal o animal.
- b) Colorantes orgánico sintéticos: son aquellos cuya materia colorante es uno o más productos intermedios de la destilación de la hulla, o derivados de ésta. Están clasificados casi exclusivamente, dentro de la serie aromática o cíclica, su constitución química es variada y compleja.

3.- Historia (usos y legislación).

El empleo de los colorantes en la industria alimentaria, data desde mucho tiempo, siendo utilizados para proporcionar el color deseado al alimento o cambiar el mismo, pero muchos de estos colorantes han ocasionado efectos tóxicos cuando son ingeridos.

Entre los colorantes sintéticos que producen efectos tóxicos se encuentran los compuestos del tipo azo naptaleno.

Varias son las razones que justifican el uso de estos colorantes, la principal de ellas es el de darle al producto un aspecto agradable o atractivo, que incite a su ingestión generando de esta manera una mayor venta en el mercado. También se utilizan los colorantes para restablecer el color original del alimento después de algún proceso o parte de el.

Los colorantes aditivos para alimentos representan una sola y especial categoría. Estos han sido históricamente legislados y regulados por la Food, Drug and Cosmetic Act., en los Estados Unidos. Desde 1900 se tiene información sobre la aprobación de los colorantes aditivos, siendo siete de éstos los permitidos para uso en alimentos. Los siete colorantes originales permitidos son los siguientes:

| | |
|-----------------|-----------------|
| Amaranto | Amarillo naftol |
| Eritrocina | Anaranjado 1 |
| Indigotina | Ponceau 3R |
| Verde brillante | |

Posteriormente se fueron adicionando nuevos colorantes según la siguiente lista:

| | | | |
|------|---------------------|------|------------------|
| 1916 | Tartrazina | 1929 | Azul brillante |
| 1918 | Amarillo AB&OB | 1950 | Violeta No. 1 |
| 1922 | Verde Guinea | 1959 | Lacas FD&C |
| 1927 | Verde fijo | 1966 | Anaranjado B |
| 1929 | Amarillo crepúsculo | 1971 | FD&C rojo No. 40 |
| 1929 | Ponceau SX | | |

Cabe señalar que el acta de la FD&C 1933, ha remplazado la lista de 1900 y 1906, ampliando la aplicación de los colorantes certificados y creando tres categorías:

Colorantes FD&C (utilizados para alimentos, medicamentos y cosméticos), colorantes D&C (utilizados en medicamentos y cosméticos) y colorantes Ext. D&C (como una extensión de colorantes aplicados a los medicamentos y cosméticos), donde ciertos colorantes quedan restringidos para uso en alimentos. Esta prohibición fué resultado de controversias, además de opiniones de algunos investigadores que limitaron su uso en los alimentos y bebidas.

Otros estudios que plantean limitaciones a los colorantes aditivos, fueron llevados a cabo por la Food and Drug Administration (FDA), así como modificaciones en el uso de los mismos. Esta legislación se aplica según el reglamento establecido el 12 de julio de 1960 que ayudó en gran forma a corregir la inflexibilidad de la antigua ley. La nueva ley consta de dos partes o títulos, como son llamados, el título I es la parte permanente y el título II es la parte provisional.

El título I es la sección más importante, establece reglas uniformes, tanto para los colorantes permanentes, - como para los provisionales. El término de color aditivo es usado para describir "un tinte, pigmento u otra substancia capaz de colorear un alimento, medicamento, cosmético o una parte del cuerpo humano". Esta sección también condiciona las tolerancias o limitaciones que pueda tener un colorante aditivo, así como si puede o no ser usado.

El título II o legislación provisional, está diseñado para permitir el uso de un colorante aditivo circulante dependiendo de las investigaciones científicas que se realicen para determinar si puede o no ser incluido en la lista permanente.

Los estudios farmacológicos para mantener la seguridad de los colorantes FD&C, fueron iniciados en 1957 por - la FDA, usando parte de los fondos obtenidos de los honorarios o derechos por su fabricación. Estas investigaciones revelaron trastornos, tanto en el hombre como en los animales. Estos experimentos fueron generalmente realizados en roedores (ratones y ratas), como el caso del FD&C rojo No. 2, FD&C amarillo No. 6 y el FD&C rojo No. 4. Por los resultados obtenidos se probó solamente la toxicidad del rojo No. 4, quedando restringido su uso y permitiendo adicionarlo solamente en un máximo de 150 ppm a las cerezas marasquino.

En febrero de 1965 se realizó la petición a la FDA

para que el FD&C amarillo No. 5 quedara incluido en las listas permanentes, pero a causa de disputas y malas interpretaciones sobre su manufactura la petición no fué tomada en cuenta. Posteriormente en julio de 1969, los colorantes FD&C amarillo No. 5, rojo No. 3 y azul No. 1 fueron puestos en la lista permanente para el uso en alimentos y medicamentos, limitando la aplicación de éstos a alimentos.

Durante el período de 1963 a 1970, los colorantes en alimentos fueron objeto de estudio por los expertos del comité mixto FAO, OMS, quienes realizaron estudios para un buen número de colorantes FD&C, llegando a una conclusión a finales de 1970. Por último, trabajos hechos por dos grupos de científicos soviéticos, demostraron que el FD&C rojo No. 2 es un material capaz de inducir cáncer y efectos nocivos sobre la reproducción animal, quedando prohibido desde el 30 de junio de 1976. De igual manera, como consecuencia de los datos obtenidos en sus investigaciones, el Comisionado de Alimentos y Medicamentos de la FDA concluyó que la ingestión del FD&C rojo No. 1 durante períodos largos, sería perjudicial para la salud pública y con el objeto de protegerla, se canceló el registro provisional para su uso en alimentos, medicamentos y cosméticos. El FD&C rojo No. 4 quedó registrado permanentemente para su uso en medicamentos y cosméticos de aplicación externa, a partir del 27 de octubre de 1976.

Desde entonces, los colorantes FD&C, exceptuando el

rojo No. 40, han sido sometidos a estudios adicionales. - La diferencia entre la lista provisional y la permanente es muy relativa. Estas listas están agrupadas como sigue:

Lista provisional

FD&C rojo No. 4 (para medicamentos y cosméticos de aplicación externa).

FD&C amarillo No. 6

FD&C azul No. 2

FD&C violeta No. 1

FD&C verde No. 3

Carmoisina

Lacas de los colorantes FD&C (excepto la laca FD&C No. 40).

Lista permanente

FD&C amarillo No. 5

FD&C rojo No. 3

FD&C azul No. 1

FD&C rojo No. 40 (y laca)

Anaranjado B (para colorear la cubierta de salchichas).

Cítrico rojo No. 2 (para colorear cáscaras de naranjas).

4.- Propiedades físicas de los colorantes FD&C.

Los colorantes FD&C son solubles en agua y poco solubles en alcohol etílico, generalmente son insolubles en disolventes orgánicos. Para sistemas en condiciones anhidras, la glicerina y el propilén-glicol son usados como disolventes. En general, los colorantes son más solubles en glicerina que en propilén-glicol. Para que se lleve a cabo una buena coloración en los alimentos, las técnicas recomiendan que los colorantes sean previamente solubilizados para adicionarse a los productos. La solubilidad de -

los colorantes FD&C ha sido discutida y analizada, tomando en cuenta la característica del alimento en que se adiciona.

A continuación se presenta una tabla con las solubilidades de los colorantes FD&C en varios disolventes:

Tabla 1

Solubilidad en gramos por litro de disolvente

| Colorante FD&C | Agua | Glicerina | Propilen glicol | Alcohol 95% |
|-------------------|--------|-----------|--------------------|----------------|
| Rojo No. 3 | 119.84 | 224.70 | 217.21 | 13.72 |
| Rojo No. 4 | 71.15 | 41.19 | 11.34 | tinte |
| Rojo No. 40 | 209.72 | 29.96 | 14.98 | tinte |
| Amarillo No. 5 | 131.07 | 209.72 | 39.83 | tinte |
| Amarillo No. 6 | 172.27 | 108.60 | 18.72 | tinte |
| Azul No. 1 | 187.25 | 280.87 | 396.97 | 14.98 |
| Azul No. 2 | 11.23 | 3.74 | indicio | tinte |
| Verde No. 3 | 172.27 | 108.60 | 108.60 | 3.74 |

La mayoría de los colorantes FD&C presentan gran estabilidad a la luz. En estado seco se puede decir que no existe degradación, conservándose intactos durante casi 15 años. Con excepción del FD&C azul No. 2 y el FD&C rojo - No. 3, la estabilidad a la luz al estar mezclados con alimentos es buena.

Los colorantes FD&C pueden ser utilizados en muchas

formas tales como: polvos, granos, pinturas, diluciones, - líquidos (acuosos y no acuosos) y pastas. La forma de uso es específica, de acuerdo a la naturaleza del producto que se desee colorear, de las condiciones del proceso utilizado y de la cantidad de colorante que se necesite.

5.- Propiedades químicas de los colorantes FD&C.

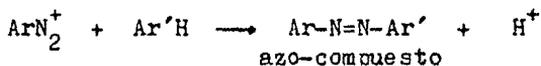
Los colorantes FD&C se clasifican en cuatro grupos que son:

- a) Colorantes azo, entre los que se encuentran los siguientes: FD&C amarillo No. 5, FD&C amarillo No. 6, FD&C rojo No. 4, FD&C rojo No. 40, rojo carmoisina.
- b) Colorantes trifenilmetanos como: FD&C azul No. 1, FD&C verde No. 3 y FD&C violetas No. 1 y 2.
- c) Colorantes tipo fluorescentes: FD&C rojo No. 3.
- d) Colorante índigo sulfonado: FD&C azul No. 2.

Los colorantes azo y trifenilmetanos son fácilmente reducidos a compuestos menos coloridos. El contacto con metales como el zinc, estaño, aluminio y cobre fué antes - un problema en la pérdida de la intensidad de color, pero en la actualidad, con el progreso del procesamiento de alimentos, permite que el contacto con los metales sea mínimo.

Los colorantes azo se pueden sintetizar como cualquier otro compuesto azo, donde, en condiciones apropiadas reaccionan las sales de diazonio con compuestos aromáticos

para dar productos de fórmula general Ar-N=N-Ar , llamados azo-compuestos. En esta reacción conocida como de copulación, se retiene el grupo diazonio en el producto, en contraste con las reacciones de reemplazo, en las que el nitrógeno se pierde.



En general, el anillo aromático ($\text{Ar}'\text{H}$) que ataca al ión diazonio debe contener un grupo electrodonador como $-\text{OH}$, $-\text{NR}_2$, $-\text{NHR}$ o $-\text{NH}_2$. Generalmente la sustitución es en posición "para" con respecto al grupo activante. La copulación es una sustitución electrofílica aromática, en la que el ión diazonio es el agente electrofílico.

En el laboratorio, se ha descubierto que la copulación comprende más que una simple mezcla de la sal de diazonio con un fenol o una amina. La reacción de las sales de diazonio con agua para dar fenoles, compete con cualquier reacción de dichas sales. Si por condiciones poco favorables, la copulación procede lentamente, la formación de fenoles bien puede llegar a ser la reacción principal. Además, el fenol que se forma con la sal de diazonio puede a su vez sufrir la copulación; aún una cantidad relativamente pequeña de este producto indeseado podría contaminar al producto que se quiere obtener (generalmente un colorante), inutilizándolo. En consecuencia, deben elegirse condiciones tales que permitan que la copulación proceda con

la mayor rapidez posible.

Los azo-compuestos son sustancias intensamente coloreadas, pueden ser profundamente amarillas, rojas, anaranjadas, azules y verdes, lo que depende de la estructura específica de la sustancia. Por sus colores, los compuestos azo son de enorme importancia como colorantes de uso industrial.

Los colorantes trifenilmetanos pueden obtenerse por el método de los halogenuros de alquilo substituidos. Donde es posible preparar compuestos con más de un anillo aromático usando alcanos polihalogenados, principalmente por medio de la reacción de alquilación de Friedel-Crafts.

Ciertos colorantes azo pueden actuar como colorantes llamados corrosivos o mordientes. Cuando se fijan a fibras como la lana utilizando el método para colorantes ácidos, son capaces de formar complejos metálicos, como por ejemplo, dicromato de sodio, cromato de sodio o fluoruro de cromo. Dicho tratamiento produce un baño de cromo, generando propiedades estables imprevistas en los colorantes. Las sales de cromo pueden ser aplicadas a la fibra antes de la coloración o después de ésta.

La mayoría de los colorantes pertenecientes a este grupo son monoazo, pero incluye también a unos cuantos colorantes diazo. La gran importancia de este tratamiento se debe, tanto a la estabilidad a la luz como al lavado, y en efecto, con excepción de los violetas brillantes, azu -

les y verdes, éstos cubren por completo el intervalo del espectro de luz.

Según su estructura química, los colorantes mordientes experimentan casos como los siguientes:

1.- En el amarillo alizarina GG, un grupo hidroxilo es situado en la posición orto, donde después de ser tratado con dicromato sobre la fibra, este colorante forma un complejo con el ión cromo (III). Teniendo posteriormente un número de coordinación de seis, y por consiguiente, normalmente dos moléculas de colorante del tipo salicílico son intercambiadas con el ión metálico. Las otras dos posiciones de coordinación son aprovechadas por grupos de la fibra como $-\text{OH}$, $-\text{NH}-$ o $-\text{NH}_2$. Esto es aparentemente la razón de la alta resistencia al lavado de los nuevos compuestos.

2.- La substitución en las dos posiciones orto del grupo azo pueden ser ilustrados por la configuración que se muestra a continuación, donde X representa $-\text{OH}$, $-\text{OCH}_3$, $-\text{COOH}$, $-\text{OCH}_2\text{COOH}$, $-\text{COOC}_2\text{H}_5$, $-\text{NH}_2$, y grupos similares.

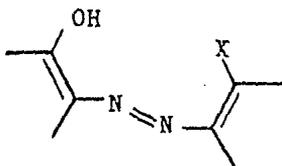


fig. 1

Con la configuración *o,o'*-dihidroxi-azo, existe en principio la posibilidad para el enlace de hidrógeno de ambos grupos hidroxilo con el grupo azo (como se observa en la figura 2), sujetando más fuertemente a uno de los dos.

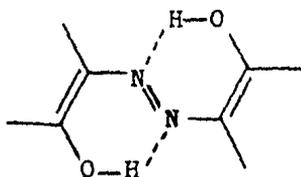
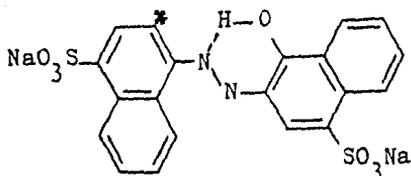


fig. 2

3.- En ciertos colorantes después de haberse aplicado el proceso de cromado son oxidados al igual que la fibra. Dos clases se pueden mencionar, el negro brillante PV (CI negro mordiente No. 9; 16500) exhibe las características de la primera clase. La otra clase incluye colorantes que tienen como componente diazonio al ácido.1-naftil-amino-1-sulfónico, por ejemplo, el cromotrofo FB (CI ácido rojo -- 14; 14720). Como un resultado de la oxidación, en este caso un segundo grupo hidroxilo es introducido dentro de la molécula del colorante en la posición marcada con un asterisco (figura 4), donde después ocurre la formación del complejo de la manera usual.

fig. 4

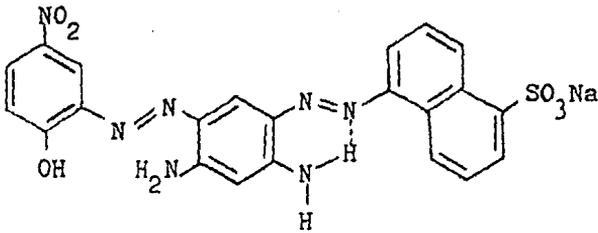


Cromotrofo FB

4.- Algunos colorantes, además de tener un grupo hidroxilo, contienen otro grupo hidroxilo llamado *peri*, por lo cual, en este caso se usa el ácido 4,5-dihidroxi-2,7-naftalendisulfónico como un componente acomplejante, ocurriendo a falta de la oxidación la formación del complejo entre los grupos *perihidroxil*.

5.- Los colorantes con ligandos *o,o'*-hidroxiaminoazo u *o,o'*-hidroxicarboxiazos son importantes para matices amarillos; en dichos casos, el ácido antranílico diazotizado es usado ventajosamente con varios componentes acomplejantes. Los colorantes con ligandos *o,o'*-hidroxiaminoazo son también empleados para matices verdes y cafés; por ejemplo, el monocromo café BC (CI café mordiente 1; 20110), es asimétrico al colorante azul negro naftol B, siendo colorantes diazo como se muestra en la figura 5.

fig. 5



Monocromo café BC

6.- Actual situación internacional de los colorantes aditivos.

No existe protocolo internacional alguno para la aprobación de colorantes, como consecuencia, la lista de los colorantes aditivos permitidos en un país es únicamente aceptada por éste, siendo muchas veces controlada esta lista por las opiniones de unos cuantos técnicos y de presiones nacionalistas del citado país.

De esta manera, la carencia de un convenio o pacto internacional ha ocasionado que se tomen varias listas de colorantes aditivos.

Los países originales de la Comunidad Económica Europea: Alemania, Francia, Italia, Holanda, Bélgica y Luxemburgo, tenían una lista de 18 colorantes aditivos permitidos en alimentos, con la entrada de países como el Reino Unido, Irlanda y Dinamarca se tuvieron problemas de unifor

midad en las listas de los nuevos países. Por lo tanto hu
bo que revisar éstas.

Para este propósito la Comisión de la EEC creó el -
Consejo de Científicos del Comité de Alimentos (SCF). Los
directivos de la Comisión de la EEC de países miembros, in
corporaron el contenido de su legislación nacional y base-
dos en la recomendación de la SCF elaboraron la lista de -
colorantes permitidos en alimentos. No obstante, un país
miembro puede restringir el uso de un colorante en un ali-
mento sin recibir negativas de la directiva. De esta mane-
ra, un objetivo de la Comisión de la EEC es señalar el uso
particular de todos los colorantes en alimentos.

Como parte del análisis de la lista original de la
EEC, la SCF en 1975 estableció los colorantes aceptables -
para su uso cotidiano en alimentos. Esta clasificación -
fué la siguiente:

1. Colorantes en que se ha establecido su uso cotidiano y
que por consiguiente son toxicológicamente aceptados en a-
limentos con los límites que se indican a continuación:

| Colorante | EEC No. | Adición mg/kg |
|---------------------|---------|---------------|
| Eritrocina | E 127 | 0 - 2.5 |
| Indigotina | E 132 | 0 - 5 |
| Rojo 2 G | - | 0 - 0.1 |
| Amarillo crepúsculo | E 110 | 0 - 2.5 |
| Tartrazina | E 102 | 0 - 7.5 |

2. Colorantes en los que se ha establecido uso cotidiano provisional y que por consiguiente, son toxicológicamente aceptados dentro de estos límites:

| Colorante | EEC No. | Adición mg/Kg |
|--------------------|---------|---------------|
| Amaranto | E 123 | 0 - 0.75 |
| Carmoisina | E 122 | 0 - 2 |
| Negro brillante PN | E 151 | 0 - 0.75 |
| Azul brillante FCF | - | 0 - 2.5 |
| Café FK | - | 0 - 0.05 |
| Verde S | E 142 | 0 - 5 |
| Azul patente V | E 131 | 0 - 2.5 |
| Ponceau 4R | E 124 | 0 - 0.15 |
| Quinolina amarilla | E 104 | 0 - 0.5 |

3. Colorantes que debido a la falta de información no se han admitido como cotidianos y que por tanto, no son toxicológicamente aceptables para su uso en alimentos:

| Colorante | EEC No. |
|--------------------|---------|
| Rojo alura | - |
| Negro 7984 | E 152 |
| Café chocolate FB | - |
| Crisoína S | E 103 |
| Rojo fijo E | - |
| Amarillo fijo AB | - |
| Azul indantreno RS | E 130 |

| Colorante | EEC No. |
|----------------|---------|
| Anaranjado G | - |
| Anaranjado GGN | E 111 |
| Anaranjado RN | - |
| Ponceau 6R | E 126 |
| Escarlata GN | E 125 |
| Violeta 6B | - |

4. Las decisiones sobre el café chocolate HT y amarillo - 2G, fueron pospuestas dependiendo de los análisis que se realizan actualmente.

Posteriormente, la Comisión de la EEC suprimió siete colorantes sintéticos el 1 de enero de 1977, concediendo la manufactura de esos colorantes hasta el 1 de enero de 1978. Esos colorantes son:

| | |
|-------|--------------------|
| E 103 | Crisoína |
| E 105 | Amarillo fijo AB |
| E 111 | Anaranjado GGN |
| E 125 | Escarlata GN |
| E 126 | Ponceau 6R |
| E 130 | Azul indantreno RS |
| E 152 | Negro 7984 |

La Comisión de la EEC ordenó también la realización de estudios a una variedad de colorantes que se encuentran en la lista de la EEC.

En el Reino Unido, una organización de asociaciones de comercios, industrias fabricantes de colorantes y usuarios, han creado una caja de fondos económicos para realizar estudios sobre la toxicidad de varios colorantes. El Subcomité de Colorantes de la Asociación Química Industrial (CIA), ha llevado a cabo diferentes estudios sobre los siguientes colorantes:

Amaranto

Carmoisina

Ponceau 4R

Azul brillante FCF

Café chocolate HT

Verde S

Quedando en la actualidad comprobada la toxicidad del colorante amaranto y esperando por verificar la situación de otros colorantes aditivos en los alimentos.

En nuestro país, la legislación sobre uso y control de los colorantes aditivos es aplicada por la Secretaría de Salud. Creando de esta manera una lista de colorantes autorizados para su empleo en la fabricación de productos de belleza y productos farmacéuticos, esta lista es la siguiente:

| Nombre | Código No. | Otros nombres | Restricciones |
|--|------------|---|-----------------------------------|
| <u>Amarillos</u> | | | |
| Amarillo No.1 M y C | 13065 | Amarillo metanilo, D C amarillo 1, Tropaolina G | uso externo |
| Amarillo No.5 M y C | 19140 | Tartrazina | con restricciones |
| Amarillo No.6 M y C | 15985 | Amarillo crepúsculo, amarillo alimentos, naranja oro S, F, D C amarillo 6 | sin restricción |
| Amarillo No.7 M y C son dos compuestos di- ferentes | 45530 | Fluoresceína 3.6, fluorandiol, D C amarillo 7, amari- llo ácido CL 73 | uso externo los dos compuestos |
| | 10316 | D C amarillo 7 exter- no, amarillo naftol S | |
| Amarillo No.8 M y C | 45350 | Uranina, D C amarillo 8, xanteno, amarillo ácido CL 73 | uso externo |
| Amarillo No.10 M y C | 47005 | Amarillo WS quinolina, D C amarillo 10, ama- rillo brillante, ama- rillo de alimentos 13 | uso externo |
| Amarillo No.11 M y C | 47000 | Amarillo quinolina SS, D C amarillo 11 | uso externo |

| Nombre | Código No. | Otros nombres | Restricciones |
|---------------------------|------------|---|---|
| <u>Anaranjados</u> | | | |
| Anaranjado No.4 M y C | 15510 | Naranja II, naran- ja ácida II, D C naranja 4, naranja G | uso externo no más del 0.1% |
| Anaranjado No.5 M y C | 45370 | Dibromofluoresceína, rojo solvente 72, D C naranja 5 | uso externo en enjuagues bucales y gen- tífricos |
| Anaranjado No.10 M y C | 45425 | Diyodofluoresceína, D C naranja 10 | sin restricción |
| Anaranjado No.11 M y C | 45425 | Eritrocina amarillen- ta Na, eritrocina a- marillenta sódica, D C naranja 11 | uso externo |
| Anaranjado No.17 M y C | 12075 | Naranja permanente, D C naranja 17, naranja pereston, pigmento naranja 5 | uso externo |

Azules

| | | | |
|-----------------------|-------|--|--|
| Azul No. 1 A M y C | 42090 | Azul brillante FCF, azul patentado A C, F, D C azul 1 | sin restricción |
| Azul No. 2 M y C | 73015 | Indigotina, D C azul 2, indigo carmina, azul alimentos 2 | uso externo para colorear suturas qui- rúrgicas |

| Nombre | Código No. | Otros nombres | Restricciones |
|---|----------------------------------|---|--|
| Azul No. 4 M y C | | Alfazurina F C, D C azul 4, azul 205 | para colorear su turas quirúrgi - cas |
| Azul No. 6 M y C | 73000 | Indigo, D C azul 6, indigo sintéti co, azul pálido | para colorear su turas quirúrgi - cas |
| Azul No. 9 M y C | 69825 | Azul carbantreno, D C azul 9, azul indantreno, azul pálido 6 | para colorear su turas quirúrgi - cas |
| <u>Blancos</u> | | | |
| Dióxido de titanio | 7789 | Pigmento blanco 6 | sin restricción |
| <u>Cafés</u> | | | |
| Caramelo | | Azúcar quemada | sin restricción |
| Caroteno alfa, beta gamma | 75130 | Carotenoide, café natural 5, beta caroteno | sin restricción la forma beta u- nicamente |
| Oxido de fierro y óxido de fie- rro hidratado | 77439 77491 77492 77499 | | uso interno no - más de 5 mg. de fierro elemental por día |
| <u>Negros</u> | | | |
| Negro carbón | 77266 | Carbón vegetal, gas negro, negro chimenea | sin restricción |

| Nombre | Código No. | Otros nombres | Restricciones |
|-----------------------|------------|--|--|
| <u>Rojos</u> | | | |
| Rajo No. 3 A M y C | 45430 | Eritrocina, eritrocina J, F, D C rojo 3, rojo 14 de alimentos, primrosa soluble | sin restricción |
| Rajo No. 4 M y C | 14700 | Ponceau SX, D C rojo 4 | uso externo |
| Rajo No. 6 M y C | 15850 | Litol rubin B, D C rojo 6, CI. pigmento rojo 57, litol rubin BK, litol rubin BNa | sin restricción |
| Rajo No. 7 M y C | 15850 | Litol rubin B C A, D C rojo 7, resole rubin B C A, litorubin B C A, rojo No. 202 | uso externo en cosméticos |
| Rajo No. 8 M y C | 15535 | Rajo laca C, D C rojo 3, rojo laca C Na | uso externo en juagues bucales y dentífricos |
| Rajo No. 9 M y C | 15535 | Rajo laca C Ba, D C rojo 9, rojo laca - Ba, rojo bordeaux | uso externo |
| Rajo No. 10 M y C | 15630 | Litol rojo, D C rojo 10, litol rojo CA | uso externo |
| Rajo No. 11 M y C | 15630 | Litol C A, D C rojo 11, litol rojo CA | uso externo |

| Nombre | Código No. | Otros nombres | Restricciones |
|----------------------|------------|---|---|
| Rojo No. 12 M y C | 15630 | Litol rojo B A, D C rojo 12, pigmento rojo 49 | uso externo |
| Rojo No. 13 M y C | 15630 | Litol rojo S R, D C rojo 13, rojo F B | uso externo |
| Rojo No. 17 M y C | 26100 | Rojo toney, D C rojo 17, sudan III | uso externo |
| Rojo No. 19 M y C | 45170 | Rodamina B, D C rojo 19, rodamina | uso externo en- juagues bucales y dentífricos |
| Rojo No. 21 M y C | 45380 | Tetrabromofluores- ceína, D C rojo 21, rojo ácido 87 | sin restricción |
| Rojo No. 22 M y C | 45380 | Eosina Y S, D C rojo 22, eosina G | sin restricción |
| Rojo No. 27 M y C | 45410 | Tetraclorotetrabro- mofluoresceína, D C rojo 27, solvente - rojo 48, floxina O | sin restricción |
| Rojo No. 28 M y C | 45410 | A Floxina B, D C ro- jo 28 | sin restricción |
| Rojo No. 30 M y C | 73360 | Rosa helindona C N, D C rojo 30, vat rojo 1 | sin restricción |

| Nombre | Código No. | Otros nombres | Restricciones |
|------------------------|------------|---|--|
| Rojo No. 31 M y C | 15800 | Rojo laca brillante R, D C rojo 31, rojo brillante 64 (Ca), pigmento rojo 64 (Ca) | uso externo |
| Rojo No. 33 M y C | 17200 | Fucsina ácida D, D C rojo 33, magenta B ácido fuerte, rojo 10 B, rojo naftalona B, fucsina B ácido fuerte | uso externo enjuagues bucales y dentífricos |
| Rojo No. 34 M y C | 15880 | Marrón fuerte, D C rojo 34, pigmento rojo - 63, laca bordeaux (Ca) | uso externo |
| Rojo No. 36 M y C | 12085 | Rojo flama, D C rojo 36, rojo permatón, pigmento rojo 4 | sin restricción |
| Rojo No. 37 M y C | 45170 | Estearato de rodamina B, D C rojo 37, estearato rojo en alimentos | uso externo enjuagues bucales y dentífricos |
| Rojo No. 39 M y C | | D C rojo 39, rojo alba | uso externo en soluciones germicidas no más del 0.1% |
| Rojo No. 40 A M y C | 16035 | Rojo alura A C, rojo de alimentos 17, F, D C rojo 40 | sin restricción |

| Nombre | Código No. | Otros nombres | Restricciones |
|------------------------|---------------|---|---|
| Rojo natural No. 4 | 75470 | Cochinilla, ácido carmínico | sin restricción |
| Rojo cítrico No. 2 | | | para colorear la cáscara de naran ja no más de 2 - pom |
| <u>Verdes</u> | | | |
| Verde No. 1 M y C | 10020 | Verde naftol B, D C verde 1 | uso externo |
| Verde No. 3 A M y C | 42053 | Verde firme F C F, F, D C verde 3, azul alimentos CL | sin restricción |
| Verde No. 5 M y C | 61570 | Alizarina cianina, verde F, D C verde 5, verde firme AG | para colorear su turas quirúrgi - cas |
| Verde No. 6 M y C | 61565 | Verde quinizarina, D C verde 6, verde base aliza - rina cianina, ver- de oleoso firme 6B, verde solvente 3 | para colorear su turas quirúrgi - cas |
| Verde No. 8 M y C | 59040 | Verde piramina con- centrado, D C verde 3, verde solvente 7 | uso externo |

| Nombre | Código No. | Otros nombres | Restricciones |
|--------|---------------|---------------|---------------|
|--------|---------------|---------------|---------------|

Violetas

| | | | |
|--------------------------|-------|---|--------------------|
| Violeta No. 1 A M y C | 42640 | Violeta lana 5 B N, F, D C violeta 1, violeta ácido 6 B | sin restricción |
| Violeta No. 2 M y C | 60725 | Alizuro1 púrpura S S + D C azul No. 3, D C violeta 2 | uso externo |

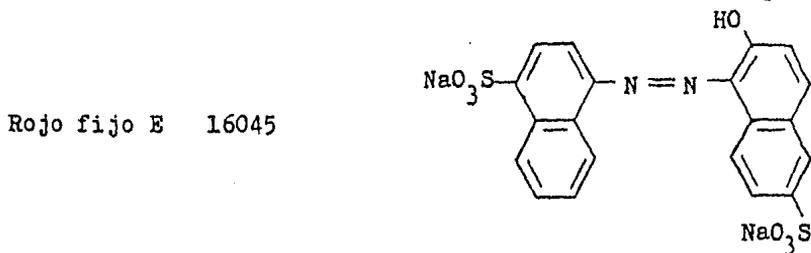
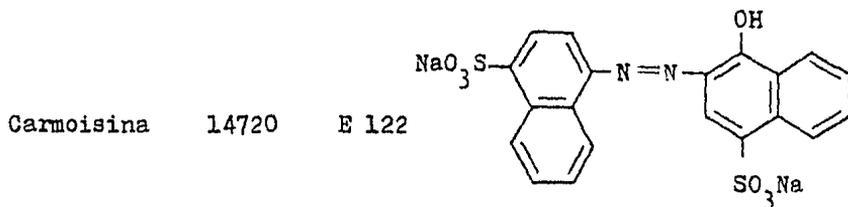
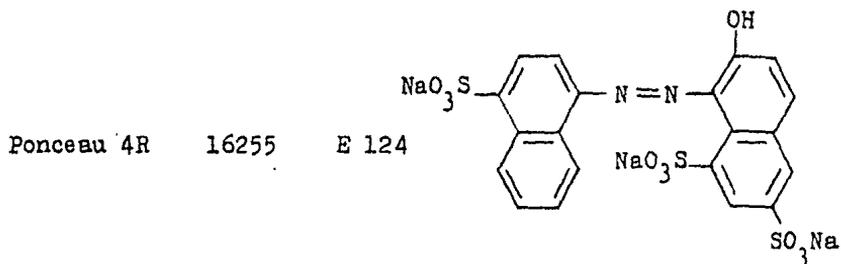
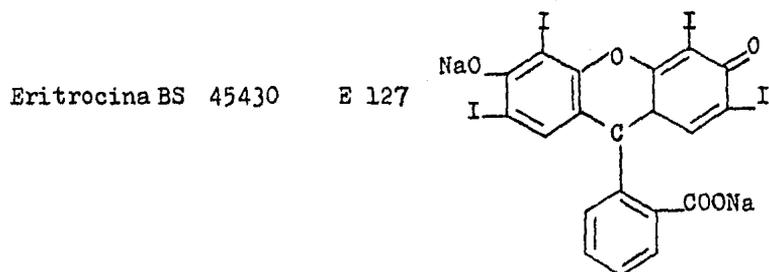
La publicación de esta lista fué realizada por la -
entonces Secretaría de Salubridad y Asistencia, el 17 de -
septiembre de 1981.

7.- Estructura química de los colorantes aditivos en ali-
mentos.

A continuación se presenta una lista con las estruc-
turas de los colorantes aditivos en alimentos, que hasta -
la fecha no han sido prohibidos por algún organismo como -
consecuencia de su toxicidad:

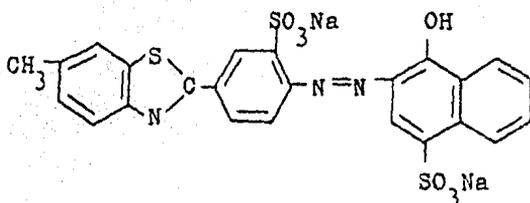
ROJOS

Nombre CI No. EEC No. Estructura

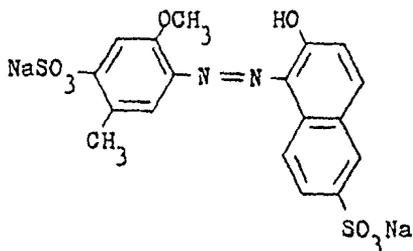


Nombre CI No. EEC No. Estructura

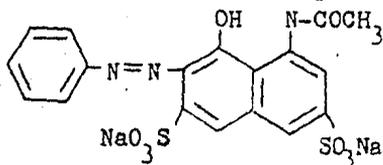
Rojo FB 14780 -



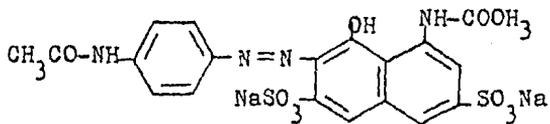
Rojo alura 16035 -



Rojo G2 18050



Rojo 6B 18055



| Nombre | CI No. | EEC No. | Estructura |
|--------------------------------|--------|---------|------------|
| Fucsina ácida | 17200 | - | |
| Eosina | 45380 | - | |
| Rosa bengala | 45440 | - | |
| <u>ANARANJADOS Y AMARILLOS</u> | | | |
| Anaranjado RN | 15970 | - | |

| Nombre | CI No. | EEC No. | Estructura |
|------------------------------|--------|---------|------------|
| Amarillo acei- toso GG | 11920 | - | |
| Tartrazina | 19140 | - | |
| Amarillo 2G | 18965 | - | |
| Amarillo cre- púsculo FCF | 15985 | E 110 | |

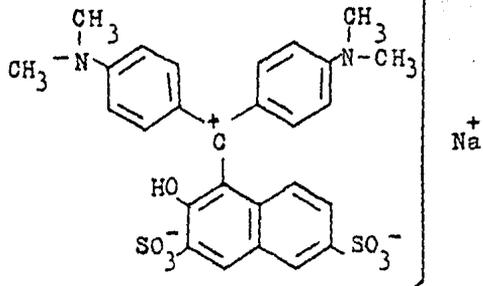
Nombre CI No. EEC No. Estructura

VERDES

Verde S

44090

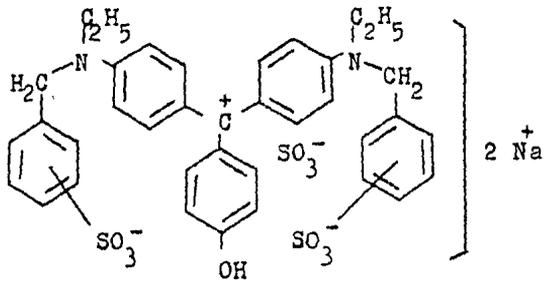
E 142



Verde fijo
FCF

42053

-

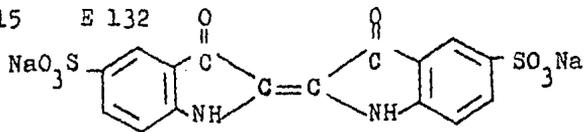


AZULES

Indigo car-
mina

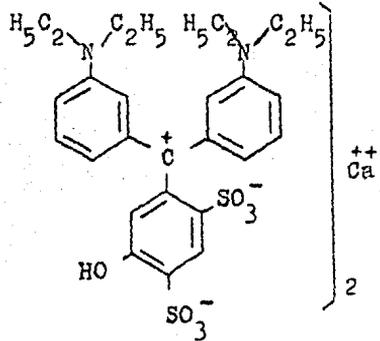
73015

E 132

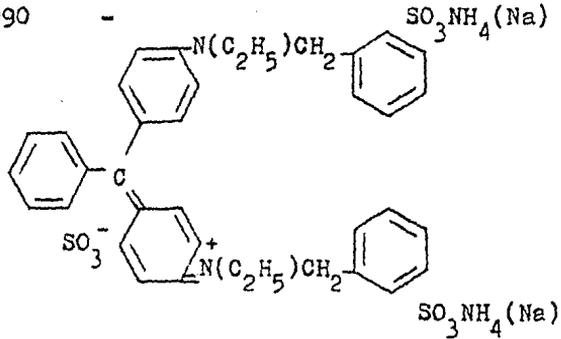


Nombre CI No. EEC No. Estructura

Azul patente 42015 E 131



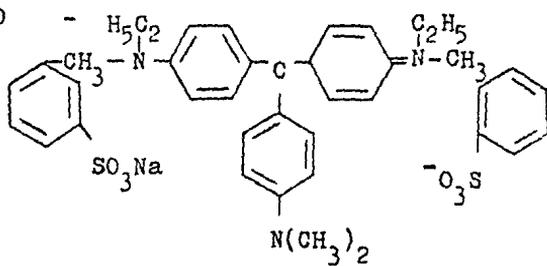
Azul brillante 42090
FGF



VIOLETAS

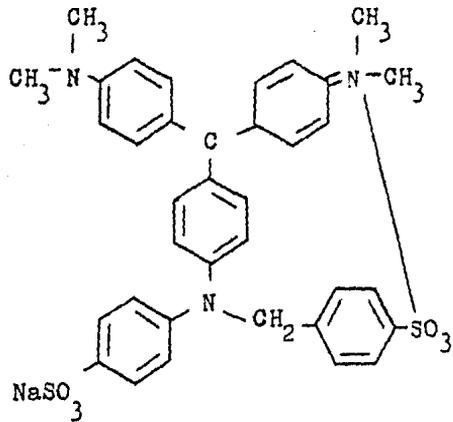
Violeta 6B

42640



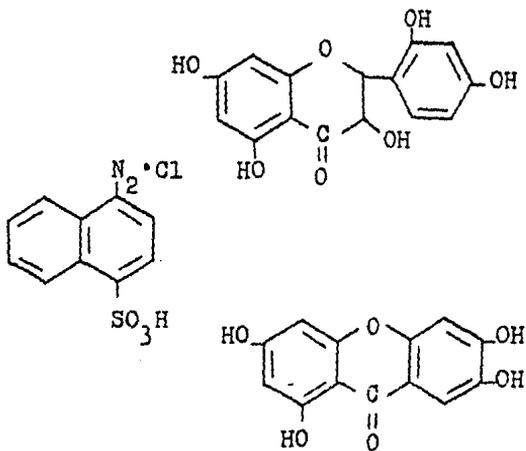
Nombre CI No. EEC No. Estructura

Violeta BNP 42580 -

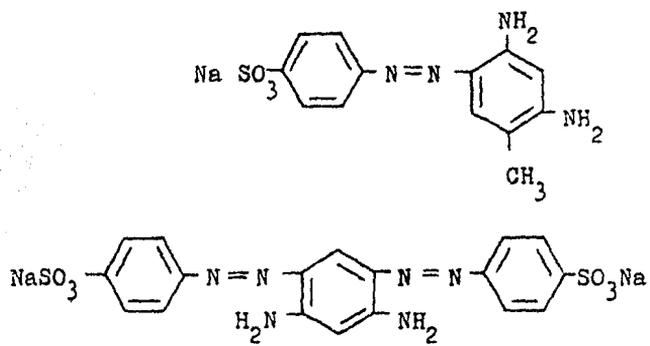


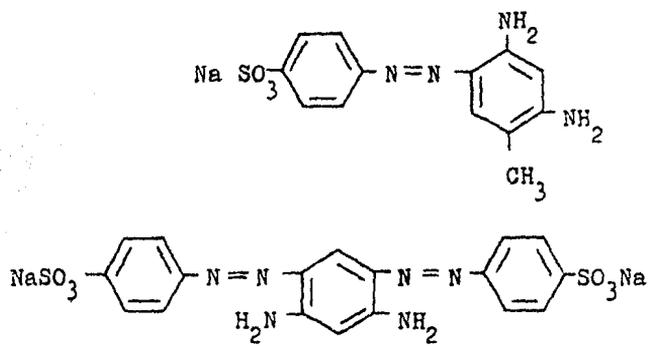
CAFES

Café chocolate -
PB -

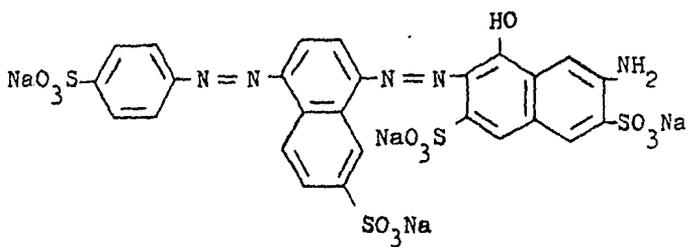


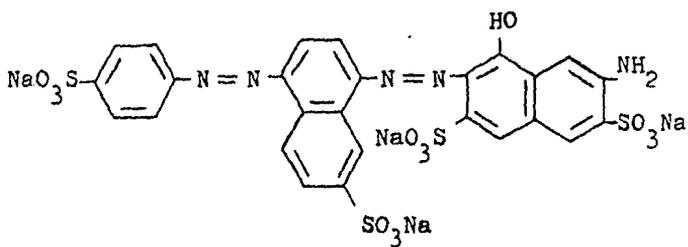
| Nombre | CI No. | EEC No. | Estructura |
|--------|--------|---------|------------|
|--------|--------|---------|------------|

| | | | |
|---------|---|---|---|
| Café FK | - | - |  |
|---------|---|---|---|



NEGROS

| | | | |
|----------|-------|-------|---|
| Negro BN | 28440 | E 151 |  |
|----------|-------|-------|---|



8.- Indicaciones pertinentes de los colorantes identificados (nombres genéricos, propiedades físicas y toxicidad).

Generalmente el colorante utilizado para darle el color a las bebidas de manzana (amarillo ocre) es el conocido como color caramelo, que es un material resultante de un calentamiento controlado de azúcares.

Los carbohidratos que se pueden utilizar para la obtención del color caramelo son:

Dextrosa
Azúcar invertida
Lactosa
Jarabe de malta
Melaza
Almidón hidrolizado
Sacarosa

La producción de este colorante resulta muy económico, presenta muy buena estabilidad y mejor coloración que los azo colorantes, pero lo mas importante, es que puede ser usado sin ninguna restricción, ya que es un producto natural y por tanto, la toxicidad que pueda producir es mucho menor que la de los colorantes sintéticos.

La extrafarmacopea Martindale contiene información sobre el uso y efectos que producen ciertos colorantes sintéticos aditivos para alimentos, por lo que a continuación se presenta ésta, además de otros nombres genéricos o químicos así como propiedades físicas de los colorantes utilizados en las bebidas Frutsi para su identificación:

Carmoisina.

Conocido también como azorrubina, colorante para alimentos rojo 3, cuyo color index es el No. 14720. Su nombre químico es sal disódica 4-hidroxi-3-(4-sulfonato-1-naftilazo)naftalen-1-sulfonato, y su fórmula condensada --
 $C_{20}H_{12}N_2Na_2O_7S_2 = 502.4$

Propiedades físicas. Polvo café rojizo, soluble 1 parte en 3 de agua formando una solución rojo magenta, ligeramente soluble en alcohol y prácticamente insoluble en aceites vegetales. Estable en presencia de sales de fierro y a la luz.

Usos. La Gran Bretaña y la Comunidad Económica Europea utiliza temporalmente a este colorante como aditivo en alimentos, tomándose como aceptable por debajo de 1.25 mg por kilogramo de peso en un consumo diario.

Toxicidad. En realidad no existen muchos reportes de sus efectos tóxicos debido a su uso limitado, en la actualidad se siguen realizando estudios sobre sus efectos en el metabolismo.

Amarillo crepúsculo FCF.

Conocido también como anaranjado S, amarillo anaranjado S, colorante para alimentos amarillo 3, FD&C amarillo No. 6, cuyo color index es el No. 15935. Su nombre químico es sal disódica 6-hidroxi-5-(4-sulfonatofenilazo)naftalen-2-sulfonato, y tiene la fórmula condensada $C_{16}H_{10}N_2Na_2O_7S_2 = 452.4$

Propiedades físicas. Polvo anaranjado rojizo, soluble 1 parte en 3 de agua, ligeramente soluble en alcohol y glicérol.

Usos. Este colorante es permitido en Gran Bretaña, la Comunidad Económica Europea y los Estados Unidos para su uso en alimentos y medicinas.

Toxicidad. Junto con otros azo colorantes, benzoatos y aspirina produce hipersensibilidad y otros trastornos.

Tartrazina.

Llamado también amarillo tartrazol, colorante para alimentos 4, FD&C amarillo No. 5, con color index No. 19140. Su nombre químico es sal trisódica 5-hidroxi-1-(4-sulfonatofenil)-4-(4-sulfonatofenilazo)pirazol-3-carboxilato y de fórmula condensada $C_{16}H_9N_4Na_3O_9S_2 = 534.4$

Propiedades físicas. Polvo anaranjado-amarillo, soluble 1 parte en 6 de agua, ligeramente soluble en alcohol, prácti

camente insoluble en aceites vegetales. No es alterado -- por ácidos y álcalis débiles, ni por la luz en solución -- neutra.

Usos. La tartrazina es un colorante permitido en la Gran Bretaña, la Comunidad Económica Europea y los Estados Unidos para su uso en alimentos y medicamentos. Con el amarillo crepúsculo forma una solución como sustituto para la coloración del azafrán.

Toxicidad. Muchas reacciones de hipersensibilidad por la ingestión de productos coloreados con tartrazina se han reportado, además de shock anafiláctico, rinitis, urticaria y visión borrosa.

III. DESARROLLO EXPERIMENTAL

La metodología aplicada ofrece una forma sencilla y confiable para todo laboratorio de química, satisfaciendo los lineamientos del método científico respecto a la precisión y reproducibilidad.

Bebidas de una misma marca comercial "Frutsi" (naranja, manzana, mango y uva) fueron utilizados como objeto de estudio para el análisis y caracterización de los colorantes aditivos empleados, siendo éstos de fácil adquisición en cualquier expendio comercial de abarrotes.

Reactivos y equipo:

ácido clorhídrico 0.1 N
amoníaco (solución diluida)
isobutanol (marca Baker, grado reactivo)
etanol (marca Baker, grado analítico)
acetona anhidra (Baker, grado analítico)
cloruro de calcio anhidro (Mellinckrodt, para desecadores)
metanol (Baker, grado analítico)
bromuro de potasio (Baker, grado reactivo)
agua destilada
solución diluida de sosa
sílica gel preparada en cloroformo-metanol 7:3 (Merck)
cloroformo (Baker, grado analítico)

lana pura, blanca, lavada con una solución diluída de -
sosa y después con agua.

vasos de precipitados de 100 ml

vasos de precipitados de 250 ml

vasos de precipitados de 500 ml

pipetas capilares

pipetas graduadas

matraces de bola de 100 ml con tapón esmerilado

cuadros de 2 x 6 cm (como placas cromatográficas)

picnómetro

vidrio de reloj de 12.5 cm de diámetro

cápsulas de porcelana

probeta graduada

cámara cromatográfica

deseccador

parrilla

espátula

electrodo de calomel (Corning)

electrodo de vidrio (Corning)

potenciómetro Corning, Modelo 12

refractómetro de Abbe Bausch & Lomb.

rotavapor Janke & Kunkel Kika-werk modelo 7313

espectrofotómetro infrarrojo Perkin Elmer modelo 599 B

espectrofotómetro ultravioleta visible Beckman modelo

25

piseta

1. Determinaciones preliminares.

Generalmente suelen realizarse una serie de exámenes preliminares a las bebidas como las determinaciones de color, sabor, olor, pH, sólidos solubles totales y densidad, para conocer las propiedades originales de las muestras.

Procedimiento :

Se toman de 30 a 40 ml de cada una de las muestras a analizar y se colocan por separado en un vaso de precipitados de 100 ml. Anotar las observaciones correspondientes al color, olor, sabor y apariencia.

Se calibra el aparato y se toman los valores de pH a cada una de las muestras, realizando las precauciones de bebidas. Anotar los valores.

Para determinar los sólidos solubles totales, se toma una pequeña muestra con una pipeta capilar y se coloca en el refractómetro para observar el valor en la escala de grados brix, se limpia el lugar de aplicación de la muestra y se coloca la siguiente. Se anotan los valores observados.

Posteriormente, se pesa en una balanza analítica el picnómetro lleno de agua destilada, se repite la operación pesando el picnómetro con cada una de las muestras. Reportar los valores de densidad obtenidos.

2. Extracción de los colorantes en las bebidas.

Procedimiento :

Se toman 150 ml de cada una de las muestras y se colocan por separado en un vaso de precipitados de 250 ml. Se acidifican con unas gotas de HCl 0.1 N y se introducen unas tiras de lana de unos 50 cm de largo en cada vaso, se hierve durante 5 minutos o más, hasta que las soluciones queden casi sin coloración. Se saca la lana de cada vaso y se lava con agua destilada fría; se pasan a otros vasos de precipitados de 250 ml. Se añaden de 30 a 40 ml de agua destilada, y se alcaliniza con unas gotas de amoníaco diluido y hervir ligeramente hasta que la lana desprenda el colorante. Si la coloración de la lana todavía es intensa, se agrega un poco más de agua destilada y se alcaliniza con otras gotas más. Se saca la lana de cada vaso con cuidado, dejándola escurrir y se filtra el contenido.

3. Separación de mezclas de colorantes.

Muchas veces, para poder obtener una coloración deseada suelen mezclarse 2 o más colorantes y cuando se quiere realizar su separación ésta ya no resulta fácil.

Generalmente para llevar a cabo la separación de colorantes se requiere de métodos cromatográficos como la cromatografía en papel y la cromatografía en capa fina, utilizando como eluyente ideal una mezcla de compuestos, permitiendo que la separación se lleve a cabo.

3.1. Separación por cromatografía en papel.

Procedimiento :

Se cortan tiras de papel Whatman No. 1 de 5 x 18 cm, se trazan las líneas de aplicación a 1 cm de la orilla inferior de los papeles y se aplican las muestras (con los colorantes extraídos) utilizando pipetas capilares en el centro de cada papel correspondiente. Cuando las aplicaciones de las muestras estén secas, se colocan las tiras de papel en la cámara cromatográfica que contiene como eluyente el sistema isobutanol-etanol-agua 1:2:1 (debe prepararse la mezcla inmediatamente antes de usarse); los papeles quedarán suspendidos de un hilo colocado en la parte superior de la cámara y el borde inferior de los papeles debe quedar sumergido en el eluyente hasta 0.5 cm. Se tapa la cámara y se deja correr el eluyente una distancia de 10 a 12 cm. Se sacan los cromatogramas y se deja evaporar el eluyente. Anotar las distancias recorridas por muestras y eluyente.

3.2. Separación por cromatografía en capa fina (placas preparativas).

Procedimiento :

Se elaboran las placas preparativas y con las pipetas capilares se aplican las muestras utilizadas en la cromatografía en papel a 1 cm de la parte inferior de las pla

cas, sumergiéndose en un vaso de precipitados de 500 ml y que contiene como eluyente el sistema isobutanol-etanol-agua 1:2:1 hasta quedar sumergida en éste a 0.5 cm. Se tapa el vaso con un vidrio de reloj dejando correr el eluyente la mayor distancia posible del borde superior. Se sacan las placas, dejando evaporar el eluyente. Anotar las distancias recorridas por las muestras y eluyente.

4. Identificación de los colorantes extraídos.

Los métodos más utilizados para la identificación de los colorantes suelen ser los cromatográficos y los espectroscópicos.

En este trabajo se utilizó la cromatografía en papel y las espectroscopías infrarrojo y ultravioleta por la disponibilidad de muestras patrones.

4.1. Identificación por cromatografía en papel.

Procedimiento :

Las muestras obtenidas de la extracción se identifican de la siguiente manera: se cortan tiras de papel Whatman No. 1 de 5 x 20 cm, se traza la línea de aplicación a 1 cm de la orilla inferior en cada uno de los papeles y se aplican las muestras correspondientes en cada tira con pipetas capilares a una distancia de 1 cm, y se colocan dos o tres patrones. Cuando las aplicaciones de muestras y patrones estén secos, se colocan las tiras de papel en la cá

mara cromatográfica que contiene como eluyente el sistema isobutanol-etanol-agua 1:2:1 (preparándose la mezcla inmediatamente antes de usarse); los papeles deberán quedar -- suspendidos de un hilo colocado en la parte superior de la cámara y los bordes inferiores de los papeles deben quedar sumergidos en el eluyente 0.5 cm. Se tapa la cámara cromatográfica y se deja correr el eluyente a una distancia de 10 a 12 cm. Se sacan los cromatogramas y se deja evaporar el eluyente. Interpretar y reportar los colorantes contenidos en las muestras extraídas.

4.2. Identificación por espectroscopías infrarroja y ultravioleta.

Procedimiento :

Las muestras obtenidas en la extracción, son colocadas por separado en un matraz de bola de 100 ml para evaporar la mayor cantidad de agua posible mediante un rotavapor, calentando en baño maría a 50°C. Se raspan los interiores de los matraces procurando extraer todo el contenido y se depositan por separado en cápsulas de porcelana.

Una vez concentrado el producto, se colocan las cápsulas de porcelana en un desecador que contiene cloruro de calcio anhidro. Se deja el tiempo necesario hasta que -- pierda la humedad. Se raspa suavemente con una espátula el borde de los cristales formados para extraerlos lo más secos posible y de esta forma separarlo de la muestra que

podiera haber quedado más humedecida en su interior. Se introducen en pequeños frascos para muestra tapándolos perfectamente.

Los cristales recolectados de cada colorante son llevados a espectroscopía infrarroja junto con su patrón escogido (según los resultados de la cromatografía en papel), utilizando pastillas de bromuro de potasio (KBr).

De la misma forma otra pequeña muestra de cada colorante y su patrón respectivo es disuelto por separado a la misma concentración en metanol. Correr los espectros ultravioleta visible utilizando la misma carta para su patrón.

Comparar los espectros obtenidos en infrarrojo como ultravioleta visible de cada muestra con su patrón.

IV. RESULTADOS

1. Datos preliminares.

a) Observaciones :

Tabla 2

| Bebida | Color | Olor | Sabor | Apariencia |
|---------|------------------|---------------------------|---|--|
| manzana | amarillo ocre | a manzana, dulce ácido | dulce con li- gero sabor a manzana | cristalina clara |
| mango | amarillo | mango dulce | dulce, sabor mango | turbidez, pequeños s ^ó lidos sus- pendidos |
| uva | rojo vino | dulce ácido | dulce y ácido con ligero sa bor a uva | ligeramente turbio |
| naranja | anaranjado | ácido, naran ja | a naranja y á cido | clara y cristalina |

b) Datos obtenidos en la determinación del pH.

El número de determinaciones hechas a cada muestra fué de 3, obteniendo los valores numéricos reportados en la tabla siguiente:

Tabla 3

| <u>Bebida</u> | <u>valor de pH</u> |
|---------------|--------------------|
| manzana | 6.3 |
| mango | 6.75 |
| uva | 6.9 |
| naranja | 6.9 |

c) Valores obtenidos en la determinación de sólidos solubles totales.

A continuación se muestra una tabla con los valores promedio de 2 determinaciones:

Tabla 4

| <u>Bebida</u> | <u>Grados Brix</u> |
|---------------|--------------------|
| manzana | 11.3 |
| mango | 12.4 |
| uva | 12.4 |
| naranja | 12.15 |

d) Datos obtenidos en la determinación de la densidad.

Se realizaron 2 determinaciones por muestra, reportando el valor numérico promedio.

Tabla 5

| Bebida | Densidad |
|---------|----------|
| manzana | 1.0198 |
| mango | 1.0192 |
| uva | 1.02 |
| naranja | 1.021 |

2. Resultados de la extracción.

Los colorantes fueron extraídos en su totalidad en las bebidas de uva, naranja y mango, donde el producto, -- después de la filtración, presentaba características de líquido cristalino y claro (en los tres casos).

En la bebida de manzana no se extrajo colorante alguno, pues la lana no presentó coloración como en los demás casos.

3. Productos de la separación de colorantes (cromatografía en papel y capa fina).

En una de las bebidas (mango) se encontró mezcla de colorantes, la cual presentó una separación de manchas, una de color amarillo y la otra anaranjada. Esta separación ocurrió solamente en la cromatografía en papel, utilizando una gran concentración de colorante para hacer más clara dicha observación. En la de capa fina no se observó separación alguna.

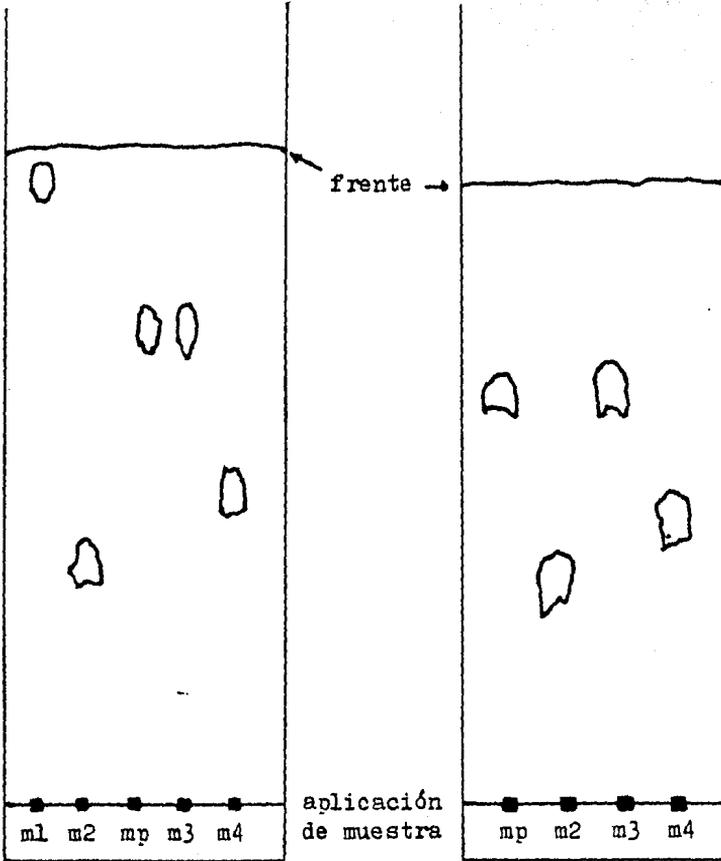
Las demás muestras de colorantes no sufrieron separación alguna, por lo que no se trata de mezclas.

4. Resultados de la identificación de los colorantes en las bebidas empleadas.

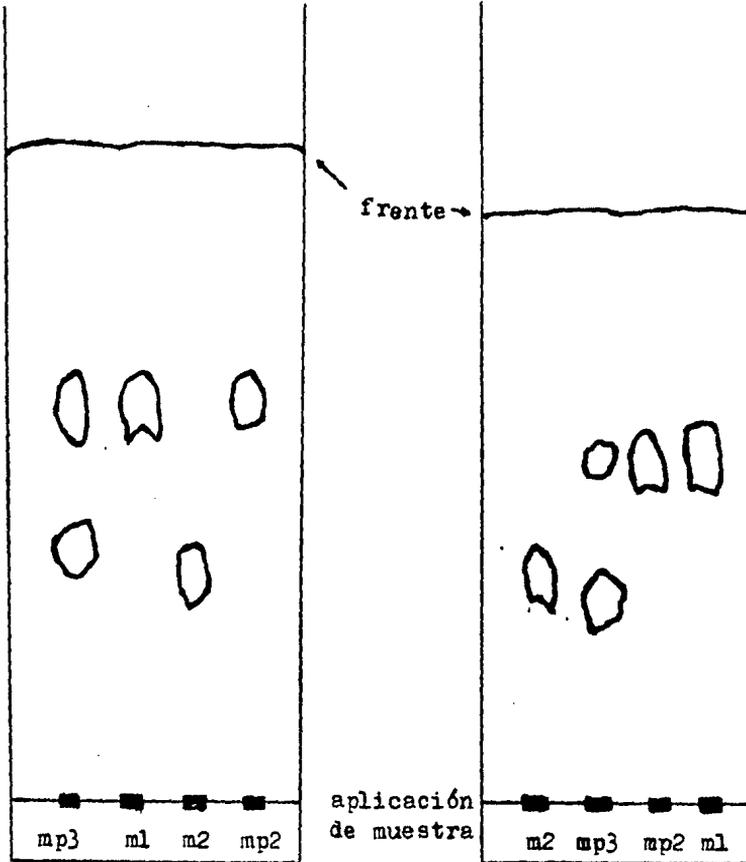
4.1. Datos obtenidos en la cromatografía en papel.

Los cromatogramas obtenidos son presentados a continuación junto con los valores de los Rf calculados para los colorantes, en el sistema isobutanol-etanol-agua 1:2:1 que fué utilizado como eluyente ideal en las cromatografías realizadas.

Rojo (sabor uva)



Anaranjado (sabor naranja) y amarillo (sabor mango)



Las siguientes tablas contienen los valores promedio de los Rf de los colorantes, calculados después de haberse realizado 3 determinaciones.

Tabla 6
rojo (uva)

| Colorante | Rf valor promedio |
|---------------------|-------------------|
| mp muestra problema | .720 |
| m1 rojo eritrocina | .939 |
| m2 rojo amaranto | .372 |
| m3 rojo carmoisina | .721 |
| m4 rojo ponceau | .469 |

Tabla 7
amarillo (mango) y anaranjado (naranja)

| Colorante | Rf valor promedio |
|---|----------------------------|
| mp2 muestra problema (sabor naranja) | .607 |
| mp3 muestra problema (sabor mango) | .607, .401 (separación) |
| m1 amarillo crepúsculo | .609 |
| m2 amarillo tartrazina | .379 |

4.2. Resultados de las espectroscopías en el infrarrojo y en el ultravioleta.

Los espectros realizados fueron comparados con los patrones respectivos de las muestras, escogidos según los resultados obtenidos de la cromatografía en papel.

En los espectros obtenidos en el infrarrojo para -- los colorantes utilizados en los sabores de uva y naranja, se muestran las absorciones y las bandas características -- de los grupos funcionales más representativos que aparecen en las regiones correspondientes al infrarrojo.

Colorante rojo (sabor uva). El espectro obtenido se muestra en la página 60, siendo Xp la muestra patrón (rojo carmoisina) y Xm la muestra problema.

A: alargamiento O-H enlazamiento de hidrógeno intermolecular.

B: alargamiento enlace C=C aromático

C: alargamiento enlace N=N

D: alargamiento enlace S=O

E: alargamiento enlace C-N

F: alargamiento enlace C-H fuera del plano.

Colorante amarillo-anaranjado (sabor naranja). El espectro obtenido se presenta en la página 61, donde Xp es el --

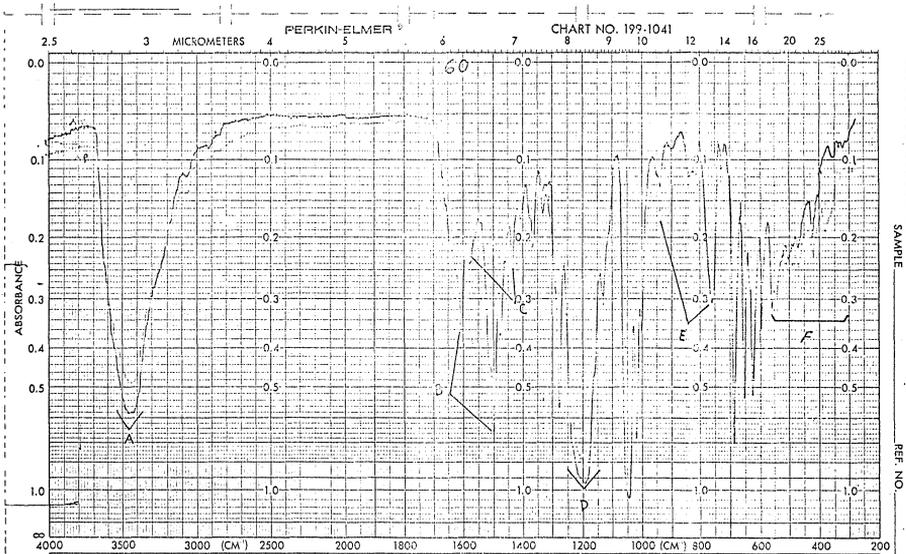
espectro de la muestra patrón (amarillo crepúsculo) y X_m representa el de la muestra problema:

- A: alargamiento O-H enlazamiento de hidrógeno intermolecular
- B: alargamiento enlace C=C aromático
- C: alargamiento enlace N=N
- D: alargamiento enlace S=O
- E: alargamiento enlace C-N
- F: alargamiento enlace C-H fuera del plano.

Con respecto a los resultados obtenidos en la región comprendida del ultravioleta visible para el colorante rojo utilizado en la bebida sabor uva, en la página 62 se muestra el espectro obtenido, donde X_p es el espectro correspondiente a la muestra patrón y X_m es el espectro de la muestra problema.

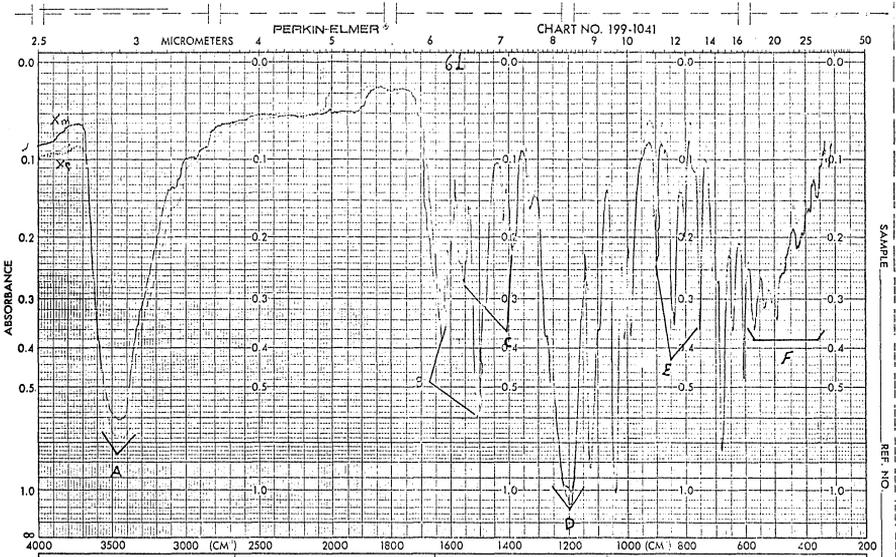
De igual manera, el espectro obtenido para el colorante anaranjado se muestra en la página 63, siendo X_p el espectro de la muestra patrón y X_m el de la muestra problema.

Todas las muestras patrones fueron adquiridas en una misma empresa fabricante de colorantes para alimentos - (DEIMAN) ubicada en Acatl 320, C.P. 02760 México, D.F.



| | | | | | |
|-------------------------------|--|--------------------------|--|-----------------------|------------------------------|
| ABSCISSA | | ORDINATE | | SCAN TIME <u>12</u> | REP. SCAN <u>SINGLE BEAM</u> |
| EXPANSION <u>10x</u> | | EXPANSION <u>ABS</u> | | MULTIPLIER <u>1</u> | TIME DRIVE <u>DATE</u> |
| SAMPLE <u>Rojo Canhoisina</u> | | REMARKS <u>PASTILLA</u> | | SLIT PROGRAM <u>N</u> | OPERATOR <u>DATE</u> |
| SAMPLE ORIGIN | | SOLVENT | | CELL PATH | |
| | | CONCENTRATION <u>KBr</u> | | REFERENCE <u>ALKE</u> | |

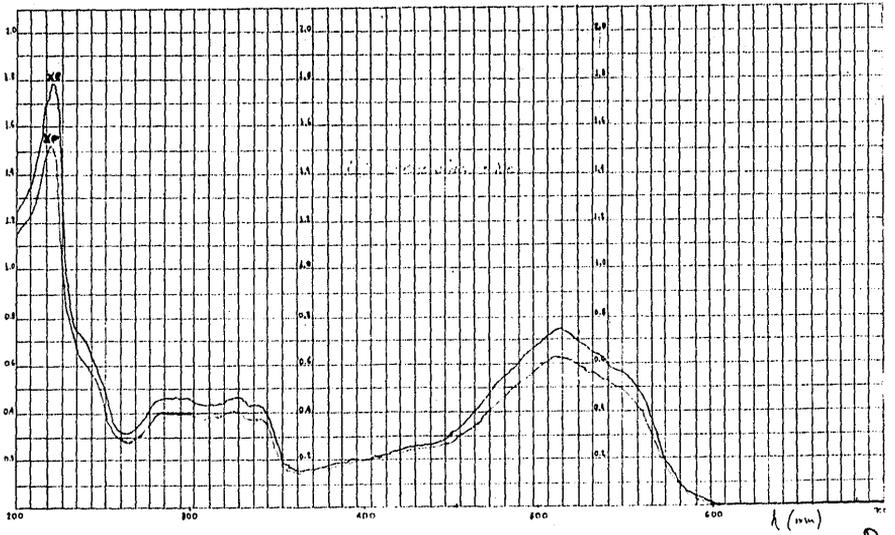
SAMPLE REF. NO.

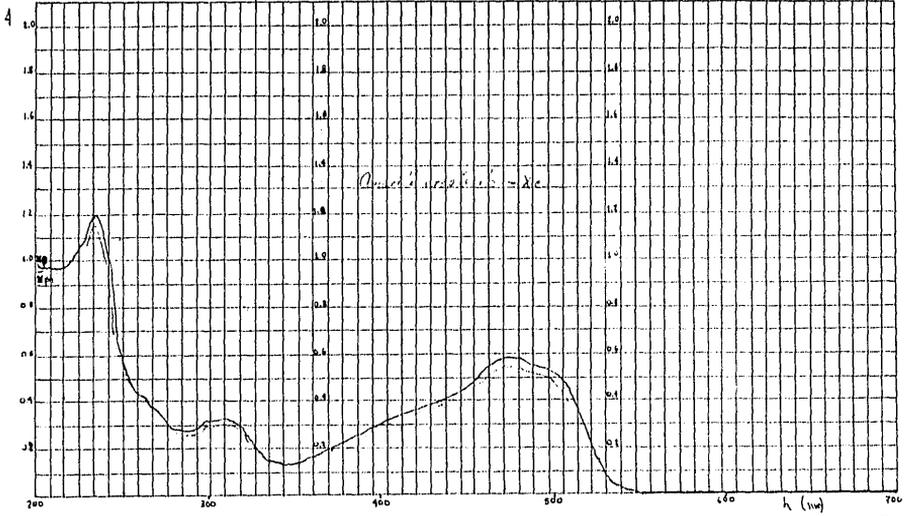


| | | | | | |
|----------------------------|-------------------------|----------|------------------------|--------------------------|-----------------------|
| EXPANSION | ABSCISSA | ORDINATE | SCAN TIME <u>12</u> | REP. SCAN | SINGLE BEAM |
| <u>Amarillo crepusculo</u> | | | MULTIPLIER <u>1</u> | TIME DRIVE | |
| SAMPLE <u>...</u> | REMARKS <u>pastilla</u> | % T | SPLIT PROGRAM <u>N</u> | OPERATOR | DATE |
| ORIGIN | | | SOLVENT | CONCENTRATION <u>KBr</u> | CELL PATH |
| | | | | | REFERENCE <u>Aire</u> |

SAMPLE REF. NO.

A





V. DISCUSION Y CONCLUSIONES.

Durante la parte experimental surgieron varios contratiempos como fué el de obtener fibra de lana cien por ciento pura ya que si se trata de alguna mezcla de fibras, la extracción de los colorantes no se lleva a cabo. Otra dificultad fué el de poder lograr la separación adecuada de la mezcla de colorantes contenida en la bebida sabor mango, ya que la proporción en que se encuentra el colorante anaranjado con respecto al amarillo es muy pequeña, y por tanto, la cantidad de muestra que se requiere es muy grande para poder concentrar la solución con los colorantes en forma adecuada. Por último, otro contratiempo fué el de poder secar adecuadamente los colorantes para que no existiera interferencia en los espectros corridos, por lo que fué necesario dejar las muestras en el desecador durante 24 días.

Los colorantes utilizados en las bebidas Frutsi, -- son colorantes orgánico sintéticos, excepto en la bebida -- sabor manzana, que al no haberse extraído colorante alguno en la fibra de lana, implica que no existe colorante utilizado de este tipo, siendo muy probable que el colorante empleado para la coloración de esta bebida sea el conocido -- como color caramelo.

Con respecto a los colorantes identificados en las

otras bebidas, básicamente son dos; el amarillo crepúsculo (FD&C amarillo No. 6) y el colorante para alimentos rojo 3 (carmoisina), donde según los espectros obtenidos, se pudo comparar a cada muestra problema con su patrón respectivo, observando que las diferencias entre los espectros fueron mínimas, principalmente los espectros corridos en el infrarojo. Mientras que en los espectros ultravioleta visible, las diferencias observadas en los espectros problema con respecto a sus patrones, son básicamente debidas a la concentración, en donde ésta era de 19 ppm aproximadamente para todas las muestras, y por lo tanto, es muy difícil pesarse con precisión las cantidades que tuvieron que utilizarse para que la intensidad de coloración de las muestras no rebasara el máximo de absorbancia que registra el aparato, contando con una balanza analítica con precisión hasta la diezmilésima de gramo.

Por otra parte, existe un colorante que mezclado con el amarillo crepúsculo es utilizado para dar la coloración amarilla a la bebida sabor mango, a pesar de no haber sido identificado, debido a la gran cantidad de muestra que se necesita para poder separarlo satisfactoriamente y que aún separándolo no se puede asegurar que se encuentre en forma pura para poder identificarlo por algún método espectral. Probablemente este colorante sea el amarillo tartrazina (FD&C amarillo No. 5) que junto con el amarillo No. 6 puede obtenerse cualquier tono entre amarillo

y anaranjado. Además, la bibliografía recomienda el uso de estos colorantes para la obtención de algún tono en especial para su uso en bebidas de coloración amarilla.

En realidad casi todos los colorantes sintéticos -- producen algún efecto tóxico al ser ingeridos, y mas aún -- si éstos no son restringidos a pequeñas cantidades en su consumo diario, estando generalmente contenidos en refrescos, gelatinas, dulces, embutidos, cosméticos y otros.

Cabe señalar que el uso de muchos colorantes tóxicos aún no ha sido prohibido por la falta de estudios que comprueben las lesiones que ocasionan. En nuestro país la lista de colorantes permitidos por la Secretaría de Salud no especifica si ciertos colorantes pueden o no ser utilizados en los alimentos, o en que cantidades son tolerados para su uso en cosméticos y medicamentos.

Por lo tanto, existe riesgo de toxicidad al no ser controlado adecuadamente el uso de los colorantes sintéticos aditivos en alimentos, ya que inclusive existe la probabilidad de que muchas personas (particularmente niños), consuman con exageración bebidas que contengan colorantes sintéticos.

No obstante, las bebidas analizadas de la marca comercial Frutsi, cumplen no solamente con la lista de colorantes permitidos por la Secretaría de Salud, sino que también satisfacen las propuestas por la FD&C y la EEC, empleando (lo que parece estar de acuerdo con la información

contenida en este trabajo) los colorantes más tolerados en su uso.

Así, el uso adecuado de los colorantes como aditivos en alimentos depende en gran parte de la información que se vaya obteniendo de los análisis recientes de toxicidad, y que por ningún motivo se puede especular con la producción de los mismos cuando éstos atentan contra la salud pública, aun cuando sea muy imprescindible el uso de alguno de ellos.

De esta manera, se puede concluir que el trabajo -- realizado ha cumplido con el objetivo planteado y que además se comprobó la hipótesis propuesta de manera satisfactoria.

Por último, el estudio elaborado aporta la información necesaria que puede ser utilizada, para establecer medidas de precaución adecuadas en el consumo excesivo de productos elaborados con colorantes sintéticos que puedan ocasionar daños a la salud.

VI. BIBLIOGRAFIA.

- 1.- Code of Federal Regulations. (21, Food and Drugs, Parts 1 to 9, revised as of April 10. 1973), publicado por The Office of the Federal Register, National Archives and Record Service, General Service Administration, Washington, (1973).
- 2.- Color Index. Publicado por the Society of Dyers and Colourists, Vol. 5, 3a ed., Inglaterra, (1971).
- 3.- Evaluación de los Peligros de Carcinogénesis que Entañan los Aditivos Alimentarios. Quinto informe del Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios, Organización Mundial de la Salud, Serie de Informes Técnicos, No. 220, Ginebra, (1961).
- 4.- Federal Register. Publicado por The Office of the Federal Register, National Archives and Record Service, General Service Administration, Vol. 37, Washington, - feb. 24, (1972).
- 5.- Furia, Thomas E., Handbook of Food Additives, 2a ed., - Vol. 11, CRC Press Inc. (1980).
- 6.- Ibidem.,
Vol. 41, No. 186, sept. 23, (1976).

- 7.- Norma Oficial Mexicana. ALIMENTOS.- BEBIDAS NO ALCOHO
LICAS - BEBIDAS Y REFRESCOS - CLASIFICACION Y DEFINI -
CIONES., NOM-F-439-1983, Dirección General de Normas,
Secretaría de Comercio y Fomento Industrial.
- 8.- The Extra Pharmacopeia Martindale. 23a ed., publicado
por The Pharmaceutical Press, Londres (1982).
- 9.- Morrison, Robert T. and Boyd, Robert N., Química Orgá-
nica, Fondo Educativo Interamericano, S.A., (1976), --
p.p. 792-796.
- 10.-Silverstein, Robert M., Bassler G. Clayton and Morrill
Terance C. Identificación Espectrométrica de Compues-
tos Orgánicos, Editorial Diana, México, (1982).
- 11.-Solomons, T.W. Graham, Química Orgánica,
Editorial Limusa, México, (1979), p.p. 336 - 339.
- 12.-Enciclopedia Británica, 25a ed., Londres (1973).
- 13.-Kirk-Othner, Encyclopedia of Chemical Technology, 2a -
ed. Vol. 2, Editorial Board, E.U.A., (1963), p.p. 878
- 907.
- 14.-Association of Official Analytical Chemist, Methods -
of Analysis, William Horwitz Editor, 12a ed., (1975).

- 15.- Sadtler, Research Laboratories, Inc., Subsidiary of -
Block Engineering, Inc.
- 16.- The Merck Index, 9a ed., publicada por Merck & Co, -
Inc. Rahway N.J. U.S.A., (1976).
- 17.- Viades Trejo, Josefina, Colorantes que se consideran
nocivos para la salud humana, México, (1977), Tesis -
UNAM. Fac. Química.
- 18.- Cassir Khury M. Folleto: Métodos cromatográficos teo-
ría y aplicaciones. FES-C. UNAM, (1982).
- 19.- LISTA DE COLORANTES AUTORIZADOS POR LA S.S.A. PARA SU
EMPLEO EN LA FABRICACION DE PRODUCTOS DE BELLEZA Y -
PRODS. FARMACEUTICOS, México, (1981).