



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

**AISLAMIENTO Y ESTRUCTURA DEL COLORANTE ROJO
DE LA RAIZ DE CALIBANUS HOOKERII**

T E S I S.

**QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO.**

PRESENTA.

LEONCIO GUSTAVO GUTIERREZ GARCIA

1 9 8 3



Universidad Nacional
Autónoma de México



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 esta 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.

C A P I T U L O S

I)	INTRODUCCION	1
II)	GENERALIDADES	3
III)	PARTE EXPERIMENTAL	36
IV)	DISCUSION Y RESULTADOS	42
V)	CONCLUSIONES	47
VI)	BIBLIOGRAFIA	49

I) INTRODUCCION

El auge que ha tenido en el mercado mundial, - el empleo de colorantes para la industria alimentaria, - ha levantado grandes polémicas sobre su uso, y ha provocado que se realicen innumerables investigaciones y estudios, acerca de su toxicidad y seguridad que proporcionan al consumidor.

Debido a esto, la Organización Mundial de la Salud (OMS) conjuntamente con la Food and Drug Administration (FDA), realizan periódicamente evaluaciones sobre los resultados obtenidos de las investigaciones hechas, en diferentes países del mundo, y de este modo obtener una conclusión, sobre la seguridad que proporciona el uso de un colorante en alimentos.

Por todo esto, existen divergencias en cuanto al uso de los colorantes sintéticos, y se ha recurrido nuevamente al uso de colorantes naturales, ya que éstos resultan menos tóxicos que los anteriores.

Esto ha ocasionado, que se realicen investigaciones para buscar en plantas, nuevas fuentes de obtención de colorantes naturales, y de ahí que el objetivo de este trabajo, sea el de aislar un nuevo colorante rojo de origen natural de la raíz del Calibanus hookeri y en lo posible contribuir a la elucidación de la estructura.

Otro objetivo que se persigue al realizar este

trabajo, es el de hacer una revisión detallada, sobre los colorantes rojos, cuyo uso esté permitido en el mundo, y los que por la toxicidad que presentan están prohibidos en la actualidad. Dicha revisión incluye desde luego a nuestro país, y de esta forma se podrá observar si México se adhiere a las regulaciones mundiales.

El uso de colorantes rojos en la industria alimentaria, se ha tornado una necesidad debido a que es un colorante tradicional, básico y característico de una gran cantidad de productos alimenticios.

Se ha encontrado que algunos de estos colorantes rojos causan diversas enfermedades al organismo humano, y por todo esto se ha prestado un interés muy especial en su investigación toxicológica y en la manera de obtener más colorante de este tipo.

Como se mencionó anteriormente, para el desarrollo de este trabajo se eligió el Calibanus hookerii planta que comunmente se llama "Sacamecate" y que se encuentra principalmente en los estados de San Luis Potosí, Zacatecas e Hidalgo, en zonas áridas y crece en terreno rocoso (1). Se empleó ésta debido que al realizar diversas extracciones se pudo observar un color rojo muy intenso, además de que este se encontraba en considerable cantidad.

II) GENERALIDADES

1

A principios del siglo XIX, se empezaron a -
usar agentes colorantes en alimentos, para presentarlos -
en forma más atractiva al consumidor. Esto se realizó -
conjuntamente con el desarrollo de la industria alimentar
ria. En 1856, fué sintetizado el primer colorante, pro-
vocando un desarrollo muy rápido de éstos, debido a que -
coloreaba mejor y más uniformemente que los naturales, -
además de que se lograba obtener una variedad de tintes -
(2).

Los colorantes son sustancias que se agregan a
alimentos y bebidas, fijándose a éstos de un modo esta -
ble proporcionándoles ó intensificándoles su color. La
estabilidad ó resistencia de estas sustancias a los agent
es químicos y a la acción de la luz no es la misma para
todas ellas. Varían según su constitución física y quí-
mica, además de las características de la sustancia a la
cual se incorporan. (3)

La función de los colorantes es muy importante
debido a la aceptación ó rechazo que provocan en los pro-
ductos alimenticios. El objetivo de adicionar materia -
les colorantes a los alimentos es un procedimiento que =
se realiza siempre y cuando el alimento sea sano, seguro
y aceptable, asegurando así una mayor uniformidad en el
aspecto y por lo tanto en aceptación. Asimismo, corri-
ge variaciones naturales en color e irregularidades re -

sultantes del almacenamiento, proceso, empaque y distribución del alimento, ayudando a preservar la identidad ó carácter mediante el cual los alimentos son reconocidos.

Los colorantes han recibido especial atención- a lo largo de los años debido a que el uso de éstos necesita tener justificación y además tener la seguridad de que no son tóxicos.

Los colorantes deben consumirse en cantidades- moderadas, para esto la Organización Mundial de la Salud propone que consumiéndolos en cantidades menores de 0.2- g/Kg de alimento ó bebida no causan daño ó peligro alguno. El uso excesivo de estos colorantes provoca daño -- irreversible al individuo. (5)

El empleo de estos aditivos alimenticios no debe utilizarse con la intención de engañar al consumidor- sobre la calidad del alimento y tampoco el uso de éstos- debe reducir el valor nutritivo del alimento.

Dentro de las características que deben cumplir los colorantes empleados en alimentos se encuentran las- siguientes:

- 1.- El colorante debe ser insípido e inodoro ó bien sus propiedades organolépticas ser inofensivas.
- 2.- Debe mezclarse bien con aquellos alimen-

tos a los cuales colorea.

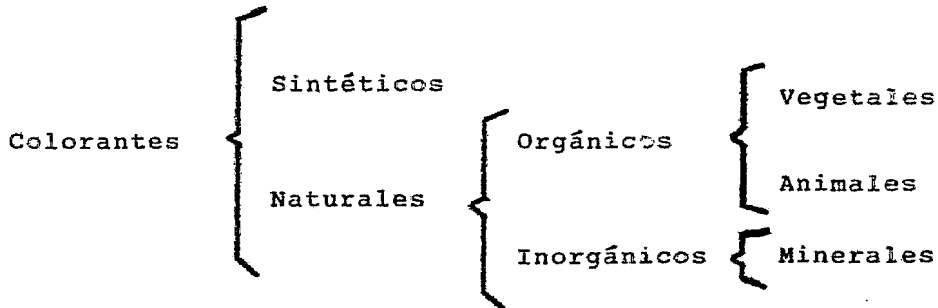
- 3.- Bajo la influencia de la luz, oxidación, reducción, pH y ataque microbiológico debe ser estable.
- 4.- Debe ser compatible con otros componentes del alimento.
- 5.- Su poder tintóreo debe ser elevado.
- 6.- Tiene que ser altamente soluble en agua y otros disolventes polares de grado alimenticio y baratos tales como el alcohol
- 7.- Ser atóxico.

Según especificaciones para el uso de agentes coloreadores, éstos deberán estar libres de impurezas, - incluyendo como impurezas a metales como el zinc, arsénico estaño, etcétera. (4)

Los colorantes serán adicionados a los alimentos ó bebidas sólo después de haber realizado pruebas - apropiadas de farmacología y toxicología, obteniéndose - resultados negativos para evitar peligros en el consumo humano.

Los colorantes para alimentos se clasifican de acuerdo a:

- a) Origen
- b) Aplicación
- c) Intención



Universalmente el recurso del ojo humano es un factor muy importante para la selección de los alimentos.

El color en éstos, provoca que se vean apetecibles y atractivos. El color también se le considera muy especialmente en la satisfacción del paladar humano.

En los últimos años ha surgido en el consumidor una tendencia en dudar de la seguridad en el consumo de los pigmentos sintéticos. Por tal razón, las restricciones ó principios con los que son reglamentados los colorantes son de suma importancia. Todo esto ha renovado el interés en poder emplear los pigmentos naturales como agentes coloreadores en los alimentos. (5)

Las autoridades de la comisión de la Comunidad Económica Europea (EEC) encargada del estudio de los aditivos alimentarios reevaluaron cuidadosamente la utilización de colorantes empleados en alimentos. Después de un tiempo llegaron a la conclusión de que el uso de colorantes sintéticos en el mundo deberá gradualmente ser -

prohibido. (6)

Las principales razones para este propósito - han sido los resultados de las investigaciones clínicas, las cuales han demostrado que los colorantes pueden causar reacciones alérgicas y de hipersensibilidad en el humano. Debido a lo anterior, la Organización Mundial de la Salud ha revisado recientemente las limitaciones existentes para los colorantes usados en productos alimenticios.

Para dicha revisión se han tomado en cuenta - los siguientes principios básicos: (7,8)

- Las investigaciones científicas deben demostrar que el uso de los colorantes no es dañino bajo las condiciones en las que se va a emplear.

- Los colorantes no deben ser adicionados a - productos alimenticios consumidos por niños menores de - 5 años.

- Si es posible, y de preferencia los produc - tos alimenticios básicos, no deberán ser coloreados.

La Organización Mundial de la Salud a través - de recopilaciones obtenidas de los diversos estudios hechos sobre colorantes han concluido que un alto porcenta je de los colorantes sintéticos adicionados a los produc tos alimenticios pueden ser carcinogénicos directa ó in directamente. Considerando esto, propone que esta enfer

medad puede ser provocada por:

- a) Impurezas presentes en el colorante.
- b) Que los colorantes pueden reaccionar con -
los constituyentes de los alimentos, dando-
nuevos compuestos.
- c) Que los colorantes pueden ser convertidos -
metabólicamente por el humano.

Considerando todo lo anterior como base, la -
Organización Mundial de la Salud ha emitido tres puntos-
importantes para poder asegurar el uso de los colorantes
en productos alimenticios, estos son:

- 1) La ruta de administración.
- 2) Que los estudios hechos tengan bases científicas.
- 3) Buena evaluación estadística del origen de tumores. (41)

COLORANTES NATURALES.

El uso de colorantes naturales data desde la antigüedad y el desarrollo inicial de éstos para colorear alimentos, fué conocido con la extracción y formulación de colorantes rojos propios para el uso en confitería, bebidas y productos de repostería.

Un colorante natural es aquel que se obtiene directamente y por medio de extractos de las frutas, flores y vegetales. También existen algunos obtenidos de animales, pero en la actualidad los más usados son los pigmentos de las plantas. Estos en virtud de su existencia natural en plantas comestibles son considerados inofensivos. (9)

Aunque la naturaleza produce una variedad de pigmentos brillantes, sólo algunos parecen ser de valor comercial como colorantes para alimentos. Un inconveniente que se ha presentado es el alto costo de los colorantes y de que los efectos de color obtenidos son inferiores. El rango total de colorantes naturales es muy extenso, e incluye muchas mezclas especiales de extractos de colorantes naturales, designados para el acabado de tintes de colores específicos; se debe tomar en cuenta también las técnicas de procesamiento y las restricciones de legislación impuestas por varios mercados del mundo. (10,11)

Existen varias limitaciones en cuanto a los colorantes naturales y debido a esto no escapan a la atención regulatoria de la Food and Drug Administration (FDA) es por ello que desde el año de 1977, en la actualidad y para el futuro, la FDA requerirá de estudios de los colorantes alimenticios. También necesitará de especifica - ciones químicas y detalles del proceso de producción antes de usar dichos colorantes en la industria de alimentos. Muchos de los colorantes de alimentos están excen - tos de certificación, condicionando su uso a buenas prác - ticas de elaboración y respetando las normas de identi - dad y pureza que al respecto se dictan. (12)

En la actualidad, existen varios problemas - para los productores, ya que deben encontrar colorantes - naturales que sean estables, resistentes a la luz y capa - ces de resistir los procesos a los que sean sometidos, - el problema es especialmente serio para los productores, debido a que los colorantes naturales no son estables al calor y por lo tanto sufren cambios; existen algunos productores de colorantes que dicen que puede resultar vir - tualmente imposible, dar a los productos la misma apa - riencia usando colorantes naturales y usando los sintéticos.

Existe también un número increíble de factores a considerar cuando se usan dichos colorantes naturales-

para colorear alimentos. Uno de éstos, es que la mayoría de colorantes naturales son importados y su abastecimiento es muy limitado. Sin embargo, algunos abastecedores tienen ó hacen un esfuerzo por desarrollar colorantes de buena calidad, y así poder abastecer al gran mercado mundial. Para lograr este fin es probable que se requieran de 2 a 4 años para poder ajustar la capacidad de producción y así atender al total de la demanda potencial. (13,14)

Debido a todos los factores anteriores, se necesitan investigar métodos para reducir el bajo rendimiento con que se obtienen los colorantes naturales, tales como cosechas improvisadas y técnicas de proceso.

Además, las plantas cultivadas deberán dar más concentración de color y contorno pigmentado.

Las técnicas para intensificar el color de las plantas deberán ser adicionalmente investigadas, esto incluye el uso de biorreguladores y de modificaciones químicas después de la extracción del pigmento.

Finalmente, la adición de colorantes naturales a productos donde hay insuficiencia de ingredientes coloreados, se debe hacer para proveer de un grado satisfactorio de color al producto.

Un número de técnicas y requerimientos legislativos fueron cuidadosamente estudiados, durante la formulación.

lación de colorantes para alimentos a partir de las plantas. Todo esto se realizó de acuerdo al tipo de colorantes y técnicas aceptables para la industria de alimentos, estos requerimientos son los siguientes:

- Se necesita que la intensidad del color sea estandarizada para controlar estrictamente los niveles, los cuales pueden ser fácilmente verificados por métodos analíticos.

- Los extractos de las plantas deberán ser procesados, de tal manera que no contengan niveles significativos de otros materiales de plantas, particularmente taninos, gomas y proteínas, los cuales pueden causar problemas de estabilidad en el producto final.

- La variabilidad de colorantes y tintes, deberá ser controlada por el uso de variedades conocidas de plantas cultivadas en zonas de climas similares, conjuntamente con el control de calidad.

- Los colorantes deberán ser aceptables toxicológica y legislativamente.

- Las pruebas siempre deberán hacerse asegurando la estabilidad a la luz y al calor.

- Las características de solubilidad necesitan ser cuidadosamente estudiadas. (15) (16)

En el aspecto toxicológico, la evaluación de extractos vegetales es complicada, debido a la presencia

de muchos compuestos y sustancias. Por todo esto, la descripción de la preparación de los extractos, llega a ser muy importante. Aunque muchos pigmentos naturales tienen una larga historia sobre la seguridad de su uso, para el consumo humano, este factor puede ser difícil de ser verificado por procedimientos toxicológicos modernos.

Los colorantes naturales se dividen ó clasifican de acuerdo a su estructura química en betalaínas, antocianinas, clorofilas, xantinas, flavonoides, etcétera.

En la búsqueda de pigmentos naturales para reemplazar tintes artificiales, se ha encontrado que el pigmento rojo del betabel, justifica su investigación, este pigmento es llamado betalaína y encabeza un grupo grande de pigmentos rojo-violeta. El término de betalaína fue introducido por Mabry y Dreiding en el año de 1968, y dicho término engloba a las betacianinas (pigmento rojo) y a las betaxantinas (pigmentos amarillos), las betalaínas se encuentran en el centrosperma, y dichos extractos son muy estables a la luz y a los agentes químicos. (15,17)

La separación de las betacianinas tiene que ser restringida a técnicas de laboratorio debido a que el rendimiento que se obtiene es bajo para realizarlo a nivel industrial. Todas las betalaínas son solubles en agua, y la preparación de extractos de pigmentos crudos,

está principalmente basada en la solubilidad. La separación de las betacianinas puede realizarse fácilmente -- por cromatografía. (15,19)

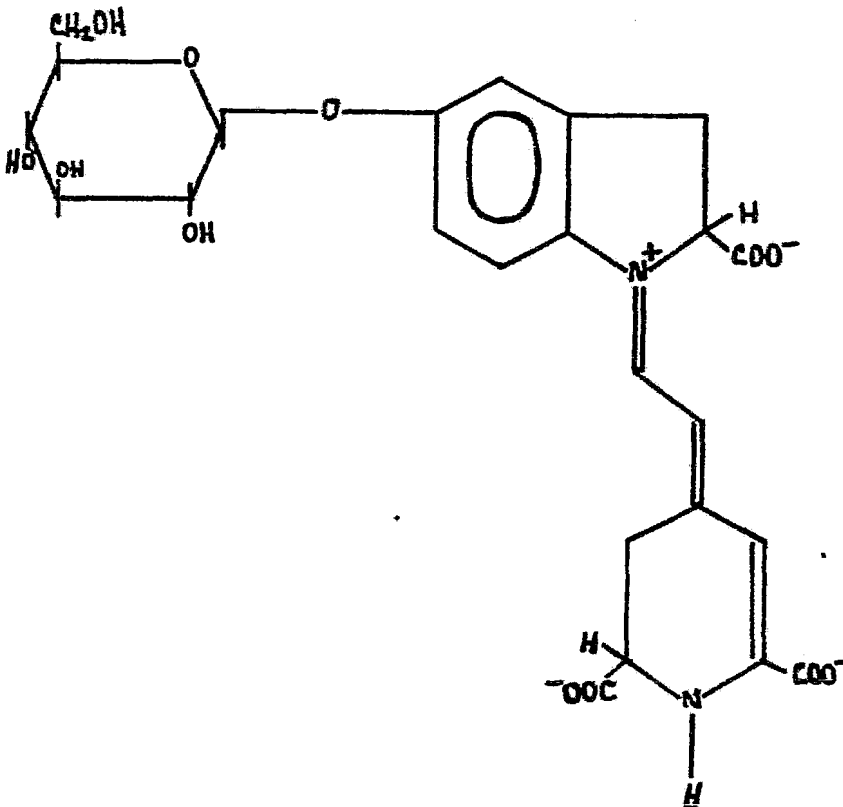
El principal pigmento rojo, betalanina es muy importante como colorante para alimentos y está sujeto a degradación por aire y luz. Este pigmento se emplea en alimentos de uso diario, como en yogurt, helados de crema, gelatina y sorbetes. Dentro de la estabilidad -- del color en los alimentos, éste depende grandemente -- del rango de pH y temperatura. (21)

El poder de colorear de las betalaninas es al to, y con el incremento de su uso y de la fuerza de colorear, éstas podrán llegar a ser competitivas con pigmentos de origen sintético. Tal es la fuerza del tinte de las betalaninas puras, que puede llegar a ser dos ve ces más su poder de colorear que el Rojo no. 2, y el Rojo no. 4. Los extractos del betabel son usados en alimentos sin restricciones, son considerados atóxicos aunque algunos individuos pueden excretarlos por la orina.

La estructura de la betanina fue elucidada -- por Wilcox, en el año de 1965, y constituye cerca del 75-95% del total del contenido del betabel. A continuación se muestra la estructura de una betanina. (22,23)

El porcentaje de este pigmento en betabeles -- depende de la variedad y las condiciones de horticultu-

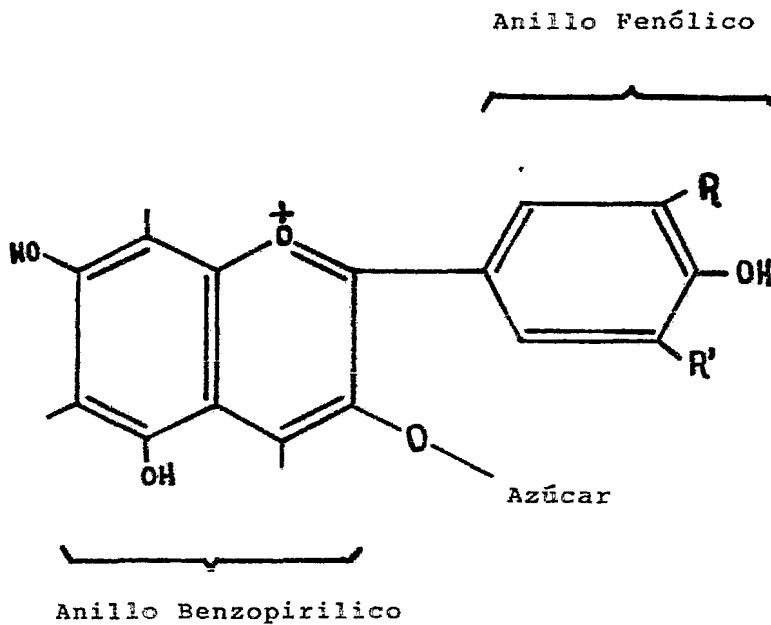
ra.



Existen otros pigmentos naturales como las antocianinas, que se encuentran en las raíces de varias -- plantas. Su escala de color comprende de rojo a violeta- azul, éstas se encuentran en gran cantidad en uvas, fre- sas y en pétalos de muchas flores y hojas.

Estas antocianinas son flavonoides. Existen di

ferentes tipos de sustituyentes, en la fórmula básica - de las antocianinas, y por lo tanto, ésto provoca que - exista una gran variedad de éstas. Las antocianinas son compuestos inestables y por lo tanto no existen en forma libre en las uvas.



Estructura molecular básica de las
antocianinas

Los sustituyentes pueden ser:

Azúcar.- Glucosa, sacarosa, arabinosa, etcétera. Se pueden presentar monosas, diosas y triosas.

R.- Puede ser H, OH, OCH₃.

R'.- Puede ser OH, OCH₃

De acuerdo a estos sustituyentes, es como va--
ría el tipo de antocianinas, sin embargo se considera co
mo el mejor pigmento rojo natural, a la cochinilla, éste
es extraído de los cuerpos secos de los insectos hembras,
Coccus cacti, este pigmento es soluble en agua. (25.26)

COLORANTES SINTETICOS.

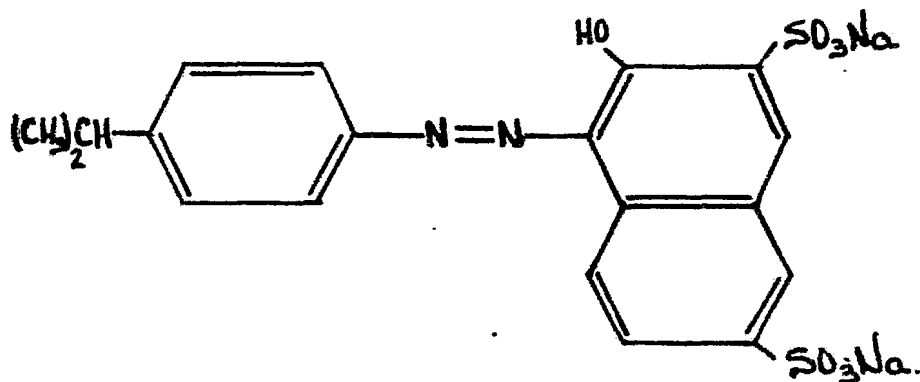
A este grupo pertenecen los colorantes azúcos. Estos incluyen a un gran número de los colorantes que -- aparecen en la lista certificada de la Food and Drug Administration (FDA), y se caracterizan por la presencia -- del grupo funcional Azo ($-N=N-$). Los azocolorantes, -- son pigmentos usados en la industria de alimentos y bebidas, para mantener o modificar el color de los productos, en los cuales se desarrollen cambios durante el proceso. (4,11)

Los colorantes sintéticos, representan la mayoría de los agentes usados por la industria de los alimentos, y debido a su fórmula química, éstos son muy diferentes, por lo tanto hay dificultad en cuanto a su clasificación.

Dentro de los colorantes sintéticos que existen en el mercado mundial para colorear alimentos, existen algunos que han sido prohibidos por la Food and Drug Administration (FDA) y la Organización Mundial de la Salud (OMS) debido a la toxicidad que pueden causar. Existen otros que son permitidos para usarse sin restricción alguna. A continuación se expondrán algunas características de éstos, y los lugares donde está permitido su uso. (24,25,26)

En primer término se tiene:

Rojo no. 1.- También llamado Ponceaux 3R, este colorante es la sal disódica del ácido pseudocumil-azo-2-naftol-3,6-disulfónico y cuya estructura es: (3,24)



PM 493.3

La tonalidad de este colorante es escarlata azulo, y está registrado en el Color Index con el número-16 155. Este colorante fue certificado en el año de 1907 y reafirmado su uso en 1940. En el año de 1955 se hicieron estudios (27) y se encontró que éste es un agente hepatotóxico, debido a esto dicho colorante fue retirado -de la lista certificada de la Food and Drug Administration (FDA), para ser usado en alimentos. Se siguieron --realizando estudios y pruebas sobre su toxicidad, encon-

trándose que la ingestión de éste causaba daños en el hígado, ya que se presentaba un aumento en el tamaño de este órgano.

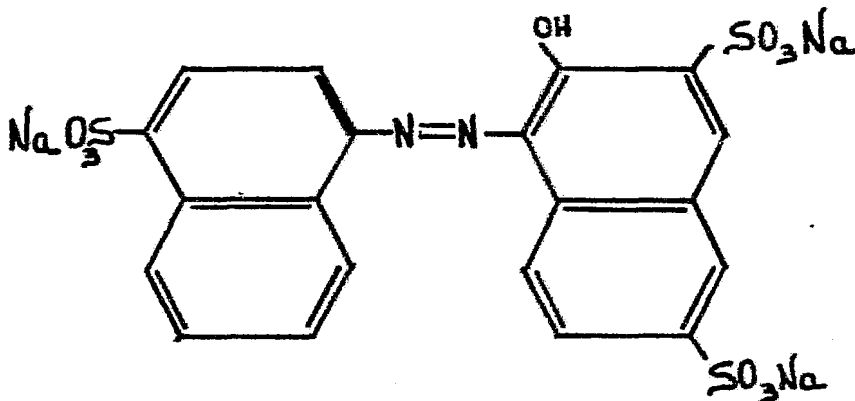
Al ser investigado por la Food and Drug Administration (FDA), se encontró que también producía daños a nivel microscópico en el hepatocito.

En, conclusión, de todos los estudios realizados el comisionado de la Food and Drug Administration (FDA), acordó que la ingestión de este colorante por largos períodos de tiempo puede ser peligroso, y en beneficio para la salud pública determinó, que este colorante fuera retirado definitivamente de la lista provisional de la FDA. Esto ocurrió en el intervalo de 1957 - 1964.

En el año de 1974 dejó de ser usado definitivamente en todo el mundo.

Como se puede observar este colorante fue de los primeros en prohibirse su uso. (28,29)

Rojos no. 2.- También llamado amaranto, este colorante es la sal trisódica del ácido 1 - (4-sulfo-1-naftilazo)-2-naftol-3,6-disulfónico. Su tonalidad es café-rojizo y está registrado en el Color Index con el número 16 185, este colorante apareció por primera vez en el año de 1906, en la lista inicial de colorantes de los Estados Unidos de Norteamérica. La estructura de dicho colorante es la siguiente. (3,24)



PM 604.5

Este colorante ha causado diferentes opiniones sobre si se debe usar, ó no para colorear alimentos, debido a diferentes resultados de estudios hechos en el mundo; por un lado se ha encontrado que puede producir carcinomas en el intestino y glándulas estomacales. También se ha observado la aparición de tumores, por todo esto se ha dicho que es peligrosa su ingestión, la mayoría de los estudios se realizaron durante los años 70's.

También ocasionalmente estudios realizados por científicos rusos, han llegado a considerar que este colorante puede ser cancerígeno. (32)

Debido a que con todos los estudios hechos no se podía comprobar la seguridad de su uso, la Food and Drug Administration (FDA), la Comunidad Económica Europea (EEC) y la Organización Mundial de la Salud (OMS) establecieron una cantidad de ingestión diaria aceptable que era de: 75 mg/Kg de peso. Lo anterior se realizó en el año de 1972.

Se siguieron realizando estudios sobre este colorante y a medida que avanzaban éstos, surgían más dudas sobre su seguridad. Así fue como en el año de 1973, las investigaciones hechas por el Comité de la FDA, llevaron a la conclusión de que dicho colorante incrementa significativamente una variedad del neoplasma maligno. En el año de 1976 la FDA, demanda la realización de estudios adicionales ya que los efectuados hasta el momento los consideraba insuficientes, y por lo tanto, lo eliminó de la lista provisional, argumentando que la seguridad de este colorante no estaba probada. En los países europeos se continuó usando hasta el 31 de Diciembre de 1978, y a partir del 1o. de Enero de 1979, se prohibió su venta. (32)

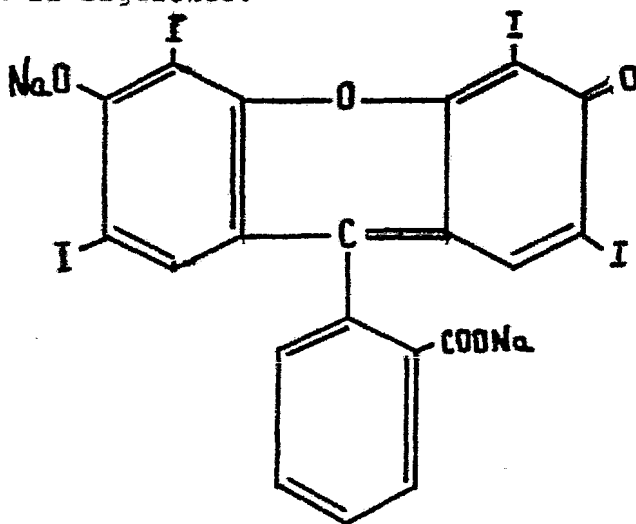
En nuestro país, este colorante se encuentra dentro de la lista provisional de aditivos coloreados de la SSA, y por lo tanto su uso está permitido: la cantidad máxima en que puede usarse éste es de 60 mg/Kg de pe

so. Este se usa para colorear chocolates, limonadas, helados de crema y en material de relleno en confitería.

En el año de 1982, la FDA para proteger la salud pública, reafirmó una vez más que este colorante se retiraba de la lista provisional, y cancelaba su certificación, aunado a esto manifestó que todas las mezclas -- que contengan este aditivo colorante, eran canceladas, y el uso de éste en procesos de alimentos después de 1982 es resultado de adulteraciones. (31)

Se han buscado sustitutos para este colorante, y se ha encontrado que el Rojo no. 40 puede sustituirlo con ventaja. (30,33,34)

Rojo no. 3.- También llamado eritrosina, este colorante es la sal disódica del ácido 9-o-carboxifenil-6-hidroxil-2,4,5,7-tetraiodo-3-isoxantona siendo su -- fórmula la siguiente:



La tonalidad de este colorante va de rojo a café, y se encuentra registrado en el Color Index con el número 45 430, apareció por primera vez en el año de --- 1907 en la lista de los Estados Unidos de Norteamérica, se han realizado estudios para saber si es o no tóxico y se ha encontrado que no produce reacciones, ni alteraciones en el organismo humano.

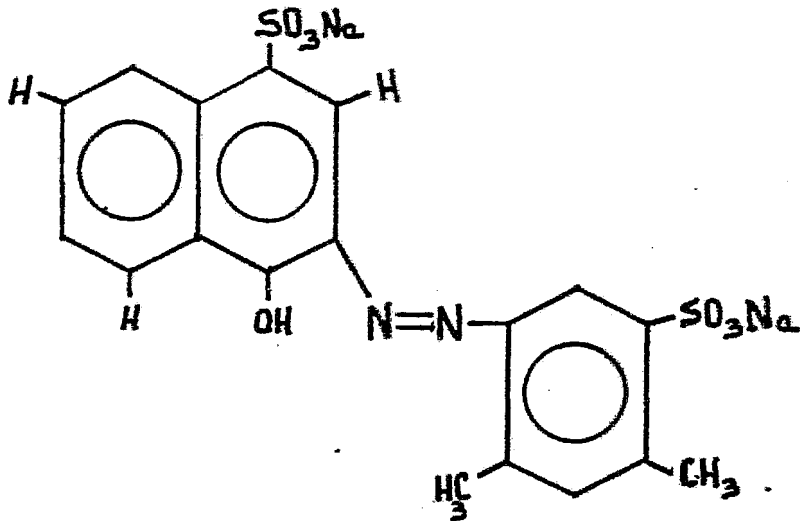
Actualmente se encuentra en la lista provisional, debido a que se siguen realizando y evaluando estudios de toxicidad. La fecha de caducidad para su uso dada por la FDA es 2 de Octubre de 1982, este es un colorante que se encuentra sujeto a certificación.

El empleo de este colorante está permitido por todo el mundo y en nuestro país la SSA permite su uso. Se emplea para colorear chocolates, helados de crema, -- productos de confitería, cereales, cerezas, pasteles y budines.

La máxima cantidad que se permite usar es de - 150 mg/Kg de peso. La seguridad de este colorante es muy buena, y puede usarse para alimentos en general, incluyéndolo en dietas suplementarias. (25,31, 32)

Rojo no. 4.- También llamado Ponceaux sx. éste colorante es la sal disódica del ácido 2-(5-sulfo-2,4 xilazo)-1 naftol-4-sulfónico. La tonalidad de este colorante es rojo oscuro y se encuentra registrado en el Color

Index con el número 14 700. La fórmula de este colorante es la siguiente: (3,24)



PM 416.4

Este colorante apareció por primera vez en la lista de los EUA el 2 de Abril de 1929 y posteriormente fue listado provisionalmente el día 12 de julio de 1960.

Se ha encontrado que produce efectos adversos como hemorragias papilares, en la vejiga urinaria se detectó hinchazón y microorganismos, también se ha encontrado daño en las glándulas suprarrenales, todo se encontró en el año de 1965. Con estos resultados se excluyó de la lista provisional de alimentos. (35)

Por todo esto, los fruticultores de los Estados Unidos de Norteamérica dedicados al cultivo de cere-

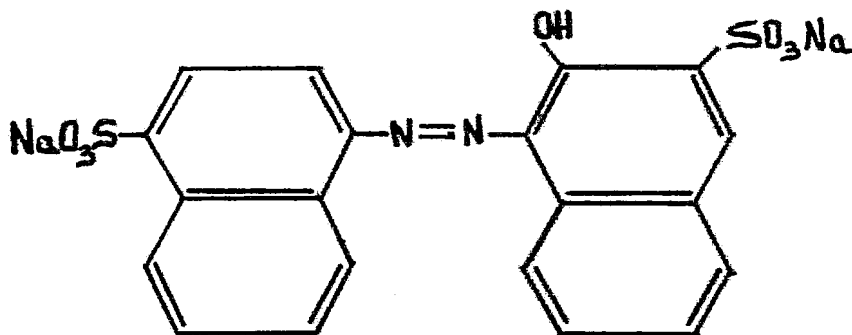
zas, requirieron a la FDA el uso de este colorante y lo lograron, fue cuando en una publicación regular de la -- FDA y del Registro Federal del 19 de Agosto de 1965, el comisionado concluye que este colorante vuelva a la lista provisional para ser usado en alimentos, restringiendo el uso de este colorante sólo a cerezas, a un nivel -- de 150 ppm respecto al peso de las cerezas. Esta cantidad no es dañina para la salud pública.

Dicho colorante se siguió usando y estudiando, hasta que la comisión de la FDA concluyó, que los datos que se tenían hasta ese momento, no permitían el establecimiento de un nivel de seguridad para el uso de este aditivo en alimentos. Fue así como el 23 de septiembre de 1976 emitió que este colorante y las mezclas que lo contenían, no pueden ser usadas. Al ser cancelado su uso, después de esta fecha resulta ser una adulteración. Todo esto se realizó con el fin de proteger la salud pública.

Actualmente no se permite usar este colorante para alimentos en los Estados Unidos de Norteamérica y en varios países de la Comunidad Económica Europea, en nuestro país no está permitido su uso por la SSA. (3,29, 31,36)

Rojo no. 5.- También llamado carmoisina, este colorante es la sal disódica del ácido 2-(4-sulfo-naf-

tilazo)-1-naftol-4-sulfónico y su estructura es la siguiente: (3,37)



PM 502.5

La tonalidad de este color es de rojo a rosa.-
En el año de 1964 el Comité de Estándares de Alimentos, -
clasificó a la carmoisina en el grupo B, como colorante-
cuya evidencia disponible podrá ser considerada como ---
aceptable para usarse en alimentos provisionalmente por-
un tiempo. Pero esta información deberá ser revisada.

En el año de 1965, la FAO conjuntamente con la
OMS por medio de expertos en la materia, colocaron a es-
te colorante en la categoría C, en la cual se encuentran
los colorantes cuyos datos registrados son inadecuados -

para evaluarlo, y por lo tanto no hay información. No se tiene información de este colorante sobre su disponibilidad de ser tóxico por largos períodos.

Se siguieron realizando estudios, y no se encontró hemoglobina o células rojas en la orina, su ingestión no tuvo efecto alguno en exámenes histopatológicos, debido a la gran controversia que existe sobre si es o no tóxico. Su uso está permitido a partir de julio de 1974, en los países de la Comunidad Europea, en Inglaterra y en México, a través de la SSA, sin embargo, en los Estados Unidos de Norteamérica no está permitido su uso. (3,38)

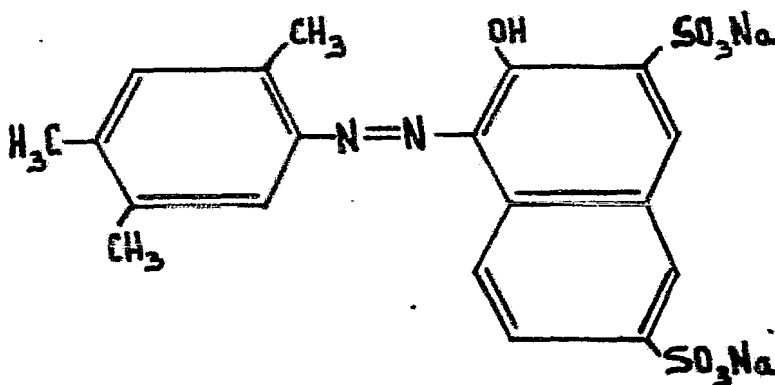
Este colorante se emplea para colorear jamones, confitería, productos de repostería, jaleas, frutas enlatadas, vegetales, salsas y bebidas. (8, 39, 40, 41)

Rojo no. 6.- También llamado Ponceaux 4R, éste es la sal trisódica del ácido 1-(4-sulfo-1,1-naftilazo)2-naftol-6,3-disulfónico. La tonalidad de este colorante es rojo claro, y se encuentra registrado en el Color Index con el número 16 290. Estudios realizados sobre este colorante, han dado como resultado que su ingestión produce reacciones de hipersensibilidad en los humanos, debido a esto, no se permite su uso en los Estados Unidos de Norteamérica, sin embargo, en Europa si está permitido su uso, siempre y cuando se especifique su empleo y -

que la cantidad usada no exceda de 60 mg/Kg de peso, esto fue hasta Enero de 1980. (32)

Este colorante tiene la siguiente estructura:

(3,8)

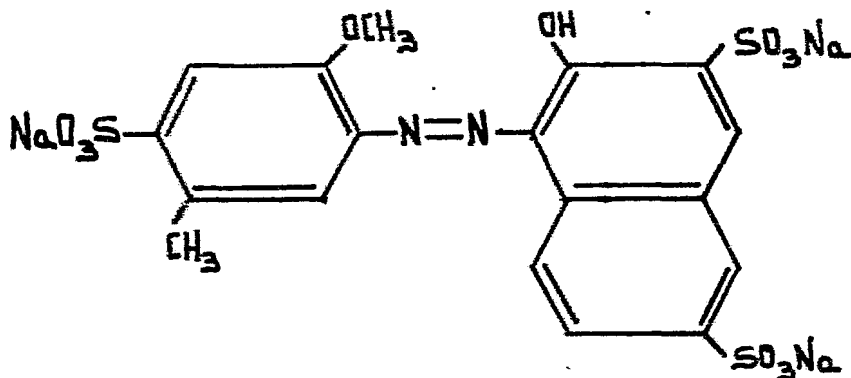


PM 494.5

Este colorante se emplea para colorear bebidas, helados, productos de confitería. En nuestro país si está permitido uso por la SSA. (5,42)

Rojo no. 40.- También conocido como rojo de Allura AC, este colorante es la sal disódica del ácido 6 hidroxí-5-[(2metoxi-5-metil-4-sulfonil) azo]-2-naftalen-sulfónico. La totalidad de este colorante es rojo oscuro y se encuentra registrado en el Color Index con el número 16 035. Este colorante es considerado el mejor sustituto del Rojo no. 2.

su estructura es la siguiente: (3,31)



PM 597.5

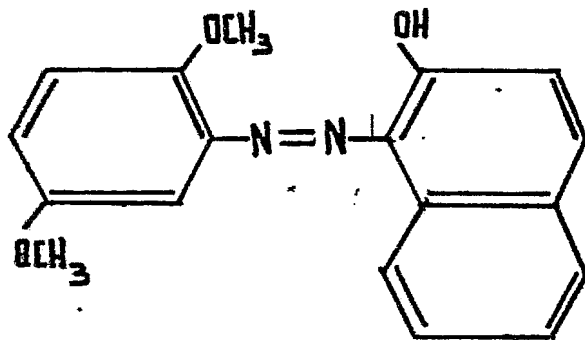
A principios de 1977, se tuvieron resultados de estudios realizados, revelando que la ingestión de este colorante podía causar linfomas, estos estudios no fueron concluyentes, por lo que la FDA convocó a un grupo de expertos de su departamento para que realizaran un estudio exhaustivo. Hasta la fecha los resultados de las pruebas son inciertos, sin embargo, por el sólo hecho de estar en duda su seguridad, la FDA le ha puesto en la lista de aditivos coloreados sujetos a certificación. Este colorante debe ser usado en cantidades adecuadas y permitidas de acuerdo a los estándares hasta el año de 1980. (31,32,33)

En nuestro país, si está permitido su empleo - de acuerdo al Reglamento para Aditivos de la SSA, y se - usa para colorear gelatinas, cerezas, dulces, productos - de confitería, aceites, grasas libres, productos de re - postería, budines, etcétera.

Rojo Limón no. 2.- Es un monoazo 1-(2,5 dimeto xifenilazo)-2-naftol. La tonalidad de este colorante es - rojo anaranjado y se encuentra registrado en el Color In - dex con el número 12 156. Este es un colorante muy espe - cial, debido a que fue aceptado en la lista de aditivos - coloreados sujetos a certificación en Enero de 1972. El - único uso que tiene este colorante es colorear cáscaras - de naranja las que posteriormente no vayan a ser utiliza - das en procesos alimenticios. (33)

Las naranjas coloreadas no deben tener más de - 2 ppm del color, calculado en base al peso de la naranja. Estudios realizados sobre este colorante, revelan que su - ingestión puede causar cáncer, éste fue usado en los Es - tados Unidos de Norteamérica y en nuestro país hasta el - año de 1976. (32)

La estructura de este colorante es la siguien - te: (3,32)



PM 308.5

En la tabla no. 1 se muestra la solubilidad de los colorantes certificados por la FDA; y en la tabla -- no. 2 se observan los países en donde está permitido su uso.

La tabla no. 3 indica los colorantes cuyo uso está permitido hasta Noviembre de 1978 en el mundo; ésta se realizó debido a que en los años 70's se efectuaron - muchos estudios sobre la toxicidad de los colorantes.

TABLA NO. 1.

(SOLUBILIDAD)

NOMBRE OFICIAL DE LA FDA.	H ₂ O	GLICEROL	MeOH	EtOH	PETROLEG	TOLUENO	ACIDO ESTEARI- CO.	ACIDO OLEICO	ACEITE MINERAL
ROJO NO. 3	S	S	S	S	IE	I	IE	IE	IE
ROJO NO. 4	S	S	SS	SS	IE	I	IE	IE	IE
ROJO NO. 40	S	S	S	SS	I	I	I	I	I
ROJO LIMON 2.	I	SS	SS	SS	S	S	S	S	S

Siglas:

- S - Soluble en 1% ó más.
- SS - Poco soluble, menos de 0.25% .
- I - Insoluble.
- IE - Prácticamente Insoluble.

TABLA NO. 2 (COLORANTES PERMITIDOS EN EL MUNDO DE 1964 A 1974.)

COLORANTES	BELGICA	CANADA	DINAMAR.	ALEMANIA	ESPAÑA	FRANCIA	SUIZA	ITALIA	YUGOESL.	LUX.	HUNGRIA	HOLANDA	JAPON	NORUEGA	AUSTRIA	POLONIA	FINLAND.	SUECIA	PORTUGAL	INGLAT.	USA	MEXICO
ROJO NO. 1	* 64 * 74	* 64 * 74	* 64 * 74	* 64 * 74	* 64 * 74	* 64 * 74	* 64 * 74	* 64 * 74	* 64 * 74	* 64 * 74	* 64 * 74	* 64 * 74	* 64 * 74	* 64 * 74	* 64 * 74	* 64 * 74	* 64 * 74	* 64 * 74	* 64 * 74	* 64 * 74	* 64 * 74	* 64 * 74
ROJO NO. 2	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o
ROJO NO. 3	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o
ROJO NO. 4	o	o	o	*	*	*	*	*	*	o	*	o	o	o	o	*	o	o	o	o	o	o
ROJO NO. 5	o	**	o	*	o	o	o	o	o	o	*	o	o	o	o	o	o	o	o	o	**	o
ROJO NO. 6	o	**	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o
ROJO NO. 40	**	**	**	**	**	*	*	**	**	**	*	*	*	**	**	**	*	*	*	**	*	**

Siglas:

- o Autorizado de 1964 a 1974.
- o Autorizado recientemente.
- * Prohibido en 1964 a 1974.
- * Prohibido recientemente.

TABLA NO. 3 (COLORANTES PERMITIDOS EN EL MUNDO HASTA 1978)

COLORANTES	EC	BELGICA	GFR	CHEC.	DINAMAR	GDR	INGLAT.	FINLAND	USA	ITALIA	NORUEGA	AUSTRIA	POLONIA	PORTUG.	RUMANIA	SUIZA	SUECIA	ESPAÑA	HUNGRIA	YUGOESL	JAPON	MEXICO
ROJO NO. 1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ROJO NO. 2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+
ROJO NO. 3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+
ROJO NO. 4	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ROJO NO. 5	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+	-	+	+	-	+	-	-	+	-	+	-	+
ROJO NO. 6	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
ROJO NO. 40	+	+	-	-	-	+	+	-	+	-	+	+	-	+	-	-	+	+	+	+	-	+

Siglas:

+ Permitidos.

- No permitidos.

III) P A R T E.

E X P E R I M E N T A L

ABREVIATURAS.

- ccf.- Cromatografía en capa fina
RMN.- Resonancia magnético nuclear
IR .- Infrarrojo
UV .- Ultravioleta
EM .- Espectrometría de masas
pf .- Punto de fusión

NOTAS

- 1) ccf.- Se realizó en placas de gel de sílice 60 de --
Merck.
- 2) La columna se empacó con gel de sílice de 0.063 a --
0.200 mm de Merck.
- 3) ccf.- Se realizó en placas de gel de sílice de Kie--
selgur de Merck.
- 4) Las placas de ccf se revelaron con H_2SO_4 5N.

APARATOS EMPLEADOS

- RMN.- Espectrómetro Varian EM 390 - 90 MH
IR .- Perkin Elmer 599 - B
UV .- Perkin Elmer 202
EM .- Hewlet Packard
pf .- Büchi SMP - 20

Se partió de un extracto metanólico obtenido de las raíces del Calibanus hookerii (Sacamecate), planta de la familia de las Liliaceas que se encuentra en la parte desértica del Estado de San Luis Potosí, dicho extracto se encontraba seco (en polvo) y presentaba una coloración rojo oscura. No presentaba ningún olor ni característica especial. (1)

Dicho extracto fue obtenido de acuerdo a el diagrama número 1. Se realizaron pruebas de disolución con diferentes disolventes como hexano, benceno, cloroformo, acetato de etilo, acetona y metanol, en todos los casos se realizó una disolución en frío y en caliente, así fue como se encontró que el metanol era el disolvente más adecuado.

Con la muestra disuelta, se procedió a buscar el eluyente adecuado para lograr una buena separación de los componentes, esto se realizó por medio de ccf (nota 1). Para esto se emplearon placas de gel de sílice, y se usaron eluyentes de diferente polaridad, tales como hexano, benceno, cloroformo, acetato de etilo, acetona y metanol. Se ensayaron diferentes mezclas, y así fue como se llegó a un eluyente en el cual se observaba la mejor separación. Este fue cloroformo:acetato de etilo (1:1). La separación no fue tan clara como se esperaba y se procedió a aplicar la muestra en una placa de 10cm-

x 20cm de gel de sílice, para así lograr y observar mejor el corrimiento de la muestra.

Realizadas las pruebas anteriores y observando que se podía lograr una buena separación de dichos componentes usando como eluyente inicial cloroformo, después cloroformo:acetato de etilo (1:1) y finalmente acetato de etilo, se hizo una cromatografía en columna, usando para esto una columna de vidrio de 1m de largo por 7cm de diámetro y usando como soporte 1Kg de gel de sílice.

Se aplicaron 10g del extracto disueltos en metanol. El primer disolvente usado para empezar a eluir la muestra a través del soporte fue cloroformo, recogiendo con éste 370 fracciones de 20 ml, el control se hizo por ccf cada 5 tubos, a partir del tubo 371 se cambió de eluyente usándose la mezcla de cloroformo:acetato de etilo (1:1), se usó hasta el tubo 1005. A partir del tubo 1006 hasta el tubo 1610 se empleó acetato de etilo puro, después de esto se procedió a secar la columna.

Como resultado de la cromatografía en columna se obtuvieron finalmente 26 fracciones diferentes. Con éstas se realizó un control y fue como se pudo observar y seleccionar 4 fracciones, que presentaban una coloración rojo oscura. En el control realizado se observaron manchas bien delineadas y separadas, además de que en cada fracción las manchas que se observaban eran po -

cas.

A las fracciones seleccionadas, se les realizaron pruebas con diferentes eluyentes como hexano, benceno, cloroformo, acetato de etilo, acetona y metanol, para así lograr separar el colorante rojo, aunado a esto se realizó una técnica para intentar separar las estelas que aparecían, esto se realizó por ccf en placas de 20cm de largo para lograr una buena separación, y se pasó 2 veces el mismo eluyente (CHCl_3 :ACOET 1:1) en la placa, lo único hecho entre elución y elución fue eliminar en la estufa el disolvente.

Con esto se pudo observar como usando una mezcla de cloroformo:acetato de etilo (1:1), como eluyente se lograba que el color rojo permaneciera en el punto de aplicación, y los componentes extras se separaban en forma de estela de éste, observando esto se procedió a realizar una mejor separación por medio de cromatografía en columna.

Con los antecedentes anteriores se procedió a montar la columna de 20cm de largo, usando como soporte Kieselgur, la cantidad usada fue de 10g; se aplicaron -- 0.1173g de muestra, previamente disuelta en metanol. El primer eluyente usado, para empezar a eluir la muestra a través del soporte, fue la mezcla de cloroformo:acetato de etilo (1:1), se fueron colectando fracciones de 1 ml-

y a la vez se fue realizando un control por ccf, empleando como eluyente cloroformo:acetato de etilo en una proporción (2:8), no se logró una buena separación de los colorantes por lo cual fue necesario eluir primeramente con acetona y después eluirla con una mezcla de cloroformo:metanol (7:3), con ésta se logro aislar el colorante rojo en el punto de aplicación.

En el tubo número 48 ya no apareció nada y se pasó metanol a través de la columna, para eluir todo el colorante rojo.

Como resultado de la cromatografía en columna se obtuvieron 7 fracciones diferentes, a las que se les realizó un control, de acuerdo a lo observado en éste se pudo conocer que una fracción estaba completamente libre de impureza alguna (X-1)., entonces se procedió a comprobarlo realizando una placa bidimensional (figura no. 1). Esta se realizó y se observó que efectivamente la muestra coloreada estaba pura. Se corrió un espectro de RMN usando como disolvente agua deuterada y otro empleando sulfóxido de dimetilo.

El IR se efectuó en pastilla con bromuro de potasio; y en el UV la muestra se disolvió en metanol. Finalmente se corrió un EM.

También se separó una cantidad de muestra para determinar el punto de fusión

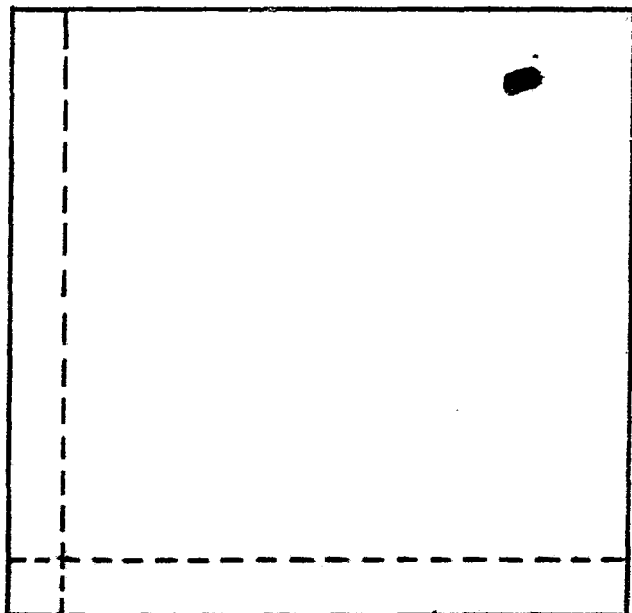


Fig 1. Placa bidimensional, que muestra la pureza del colorante.

Soporte: Gel de sílice (Kieselgur)

Eluyente:Cloroformo.

DIAGRAMA N.º 1

RAICES SECAS Y MOLIDAS
(51 g)

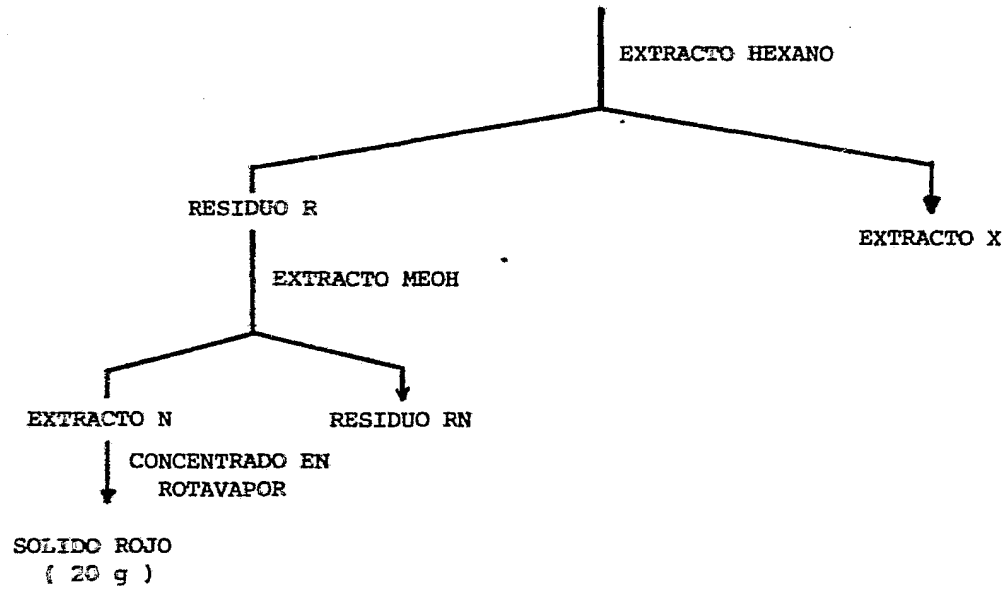
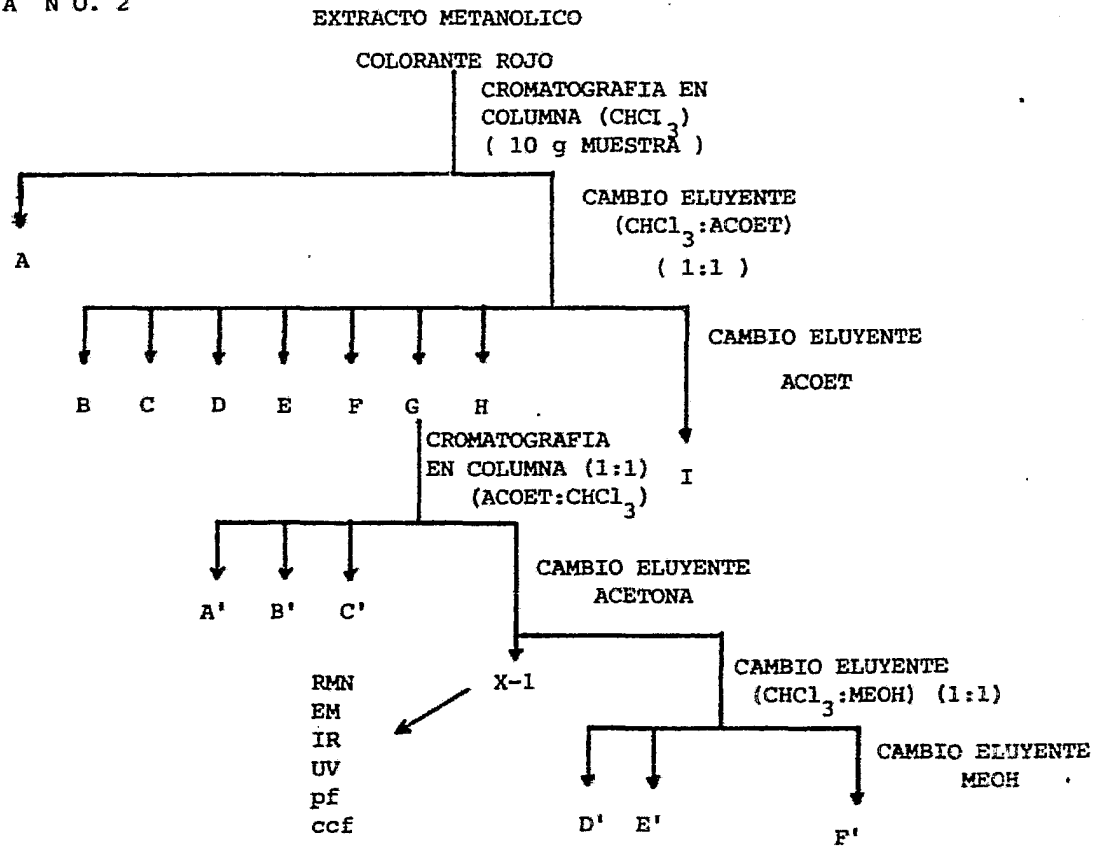


DIAGRAMA NO. 2



D I S C U S I O N

Y

R E S U L T A D O S

El trabajo efectuado para lograr la separación del colorante X-1, se realizó a través de varias cromatografías en serie, debido a que la mezcla original mostraba infinidad de manchas, además de presentarse varios compuestos rojos. El criterio seguido para la separación, fue escoger de la primera columna la fracción roja más abundante y además aquella que mostraba menor número de manchas. Fue necesario recolectar numerosas fracciones pequeñas debido a que la mezcla mostraba en infinidad de manchas juntas y por lo mismo la velocidad de goteo de la columna fue baja.

En la búsqueda de los medios adecuados para resolver las mezclas de los colorantes, fue necesario probar numerosas mezclas de posibles eluyentes, y esto dio como resultado el poder tener en la columna el eluyente más adecuado para separar los componentes. No siempre se logró esto, y por lo tanto se pasaron varios eluyentes a través de la misma columna algunas veces.

En el presente trabajo se pretendía elucidar la estructura del colorante rojo (X-1), de punto de fusión 196°C - 198°C . Como los espectros de resonancia magnética nuclear obtenidos no se pueden interpretar completamente debido a la baja sensibilidad del aparato empleado, y a la dificultad de disolución de la muestra, ya que fue necesario correrlos en sulfóxido de dimetilo (es

pectro no. 2) y en MeOH deuterado (espectro no. 3), eliminándose la posibilidad de observar todas las señales, sólo se discutirá el espectro de IR que es el que más información nos da, junto con el de UV.

El espectro de masas (espectro no. 1), no se puede interpretar debido a que no se encuentra presente el ión moléculas y solo se obtuvo una parte del espectro que muestra un patrón de fragmentación para un alcano:

$\frac{m}{z}$ 43, 57, 71, ya que hay pérdidas de 14 unidades de masa y un patrón de fragmentación de alquenos: $\frac{m}{z}$ 41, 55, 69, 83 y 97.

El espectro de UV (espectro no. 4), muestra 2 bandas, una a 282 nm y una máxima absorción a 230 nm (máx.). Este espectro no se hizo cuantitativamente, y por lo tanto no se pudieron calcular las extinciones moleculares correspondientes a las 2 bandas. Este espectro nos da información acerca de la estructura, puesto que la absorción en 230 podría corresponder al sistema:

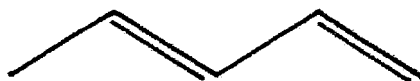


cuya base es 217 nm.

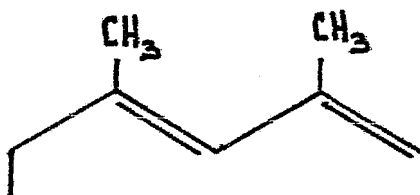
El espectro de IR (espectro no. 5), muestra una banda ancha a 3420 cm^{-1} , esta corresponde al estiramiento de alcoholes. (45)

En 2920 cm^{-1} , hay una banda (S) que corresponde al estiramiento de C-H de alcanos, existiendo además un hombro en 2840 cm^{-1} , se observa además una banda ancha (m) en 1635 cm^{-1} , la cual corresponde a dobles enlaces C=C. En 1450 cm^{-1} y 1380 cm^{-1} hay 2 bandas (m) correspondientes a CH_3 y a metileno. En 970 cm^{-1} hay una banda fina, que corresponde a deformación de C-H de alqueno transdisustituido, en 1050 cm^{-1} hay una banda (S) doble, que corresponde a la deformación de OH de alcohol primario. En 1250 cm^{-1} y 1220 cm^{-1} existen bandas (m) que corresponden a la deformación de OH de alcohol secundario.

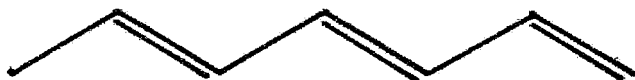
El espectro de UV muestra una absorción máxima en 230 nm, esto corresponde como se dijo al sistema:



con sustituyentes, por lo tanto parte de la molécula podría ser:



La absorción calculada para este sistema sería 232 nm, de acuerdo con la literatura (44), la absorción en 282 nm debe corresponder a un sistema:



con varios sustituyentes.

Los grupos CH_2 presentan en el IR una absorción en 1450 cm^{-1} , la ausencia de una banda (m) en 720-800 cm^{-1} indica que no existen cadenas de 4 grupos CH_2 y esto indica que el compuesto no puede ser cíclico.

Con los datos obtenidos de los espectros hechos a la muestra X-1, no podemos llegar a la conclusión de una estructura alifática y sólo podemos decir que el compuesto es alifático, teniendo dobles enlaces conjugados y grupos OH.

Es necesario obtener mayor cantidad de este colorante y efectuar los estudios espectroscópicos completos (IR, UV, RMN-H, RMN-C Y EM). Se sugiere que este último espectro se haga por introducción directa y a baja temperatura para lograr un ión molecular visible.

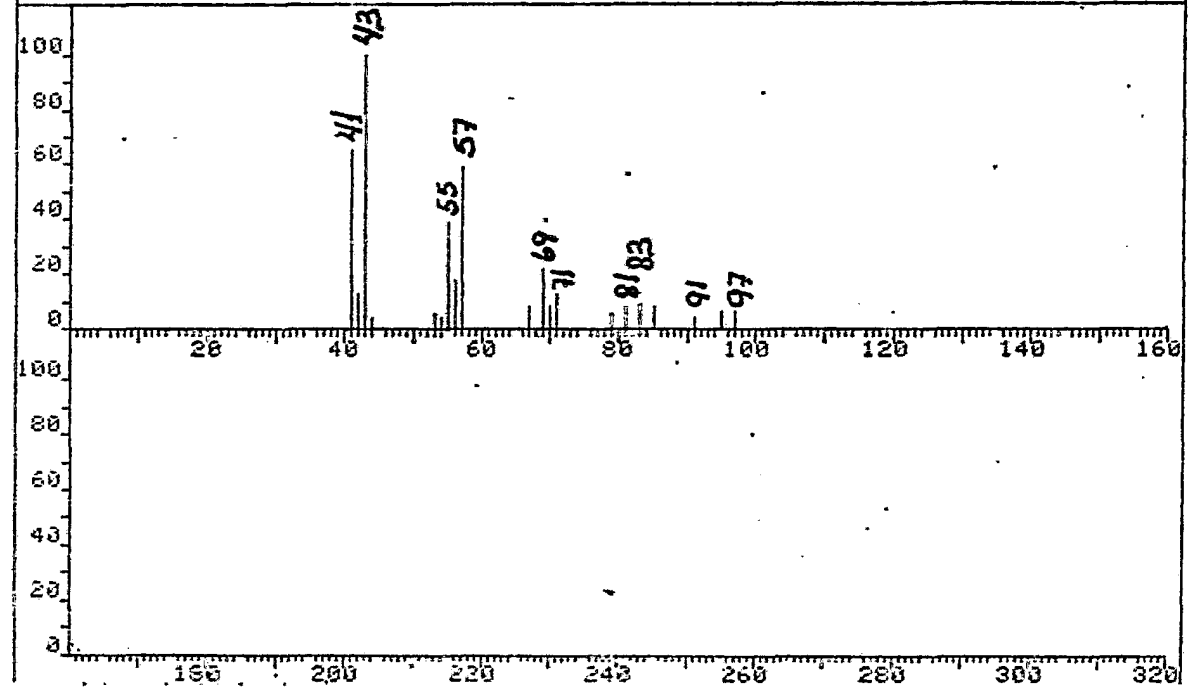
No es posible en el presente trabajo, calcular el rendimiento de la columna, ni el porcentaje en que se encuentra el colorante, debido a que no se extrajo com -

pletamente de todas las fracciones de la cromatografía -
en columna en que estaba presente. Estas fracciones puede
den ser un punto de partida para el siguiente trabajo --
que pretenda obtener mayor cantidad de dicho colorante.

E.M.

Ext. 1

PKN 5299	SPECTRUM 47	RETENTION TIME 1.9	
LARGST 4: 43.2, 100.0	41.1, 65.6	57.2, 58.8	55.2, 38.4
LAST 4: 85.2, 7.6	91.1, 4.0	95.2, 6.4	97.2, 6.4
			PAGE 1 Y = 1.00



Espectro No. 1

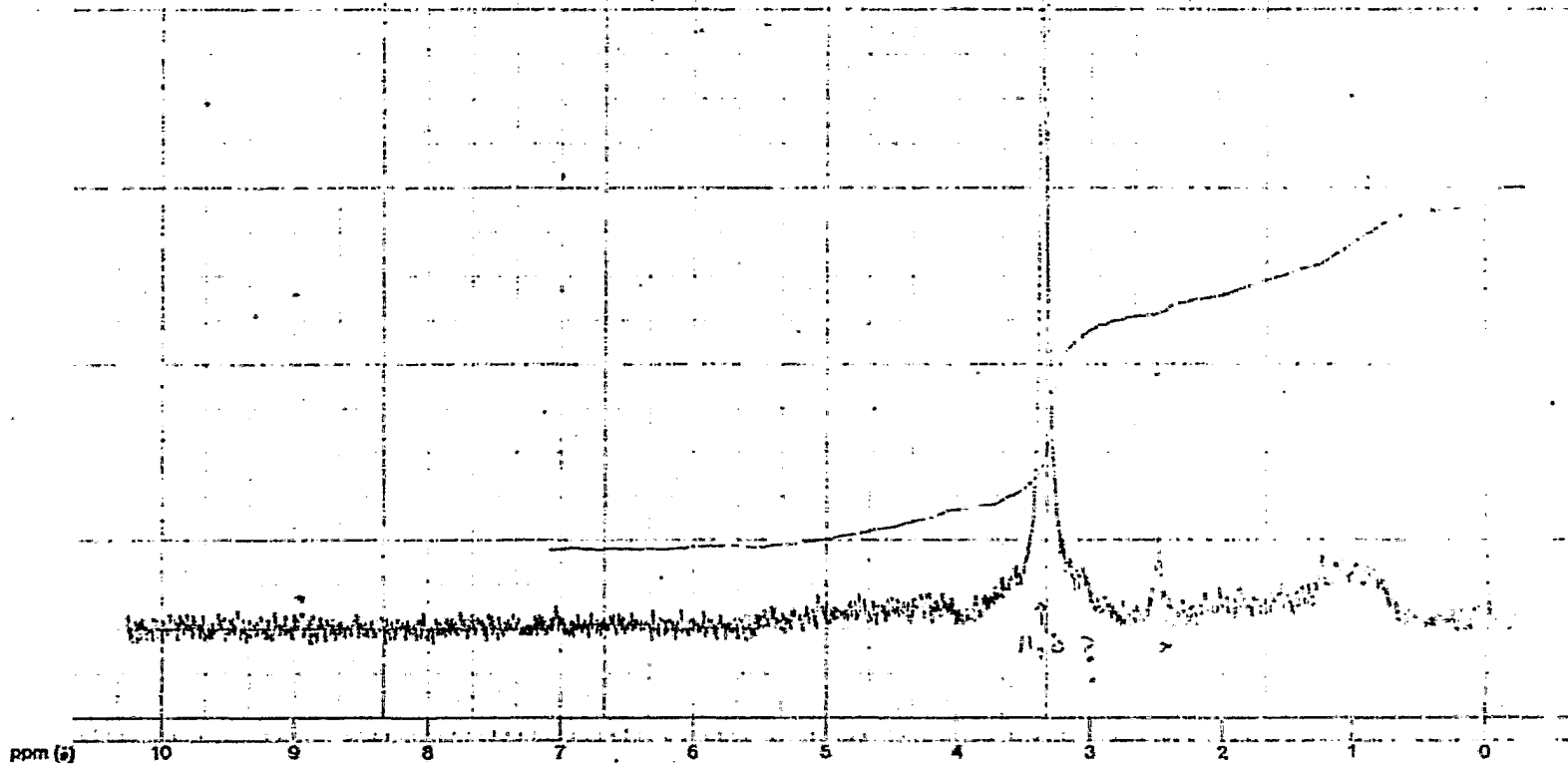
START OF SWEEP

YI-D

END OF SWEEP

10ppm	900Hz	750	600	450	300	150
5ppm	450	375	300	225	150	75
2ppm	180	150	120	90	60	30

Varian Instrument Division



LOCK POS. _____ ppm SPECTRUM AMPL. 5x1000 SWEEP TIME 5 min NUCLEUS ¹H SAMPLE Quercus l. G. INTEGRATE Align

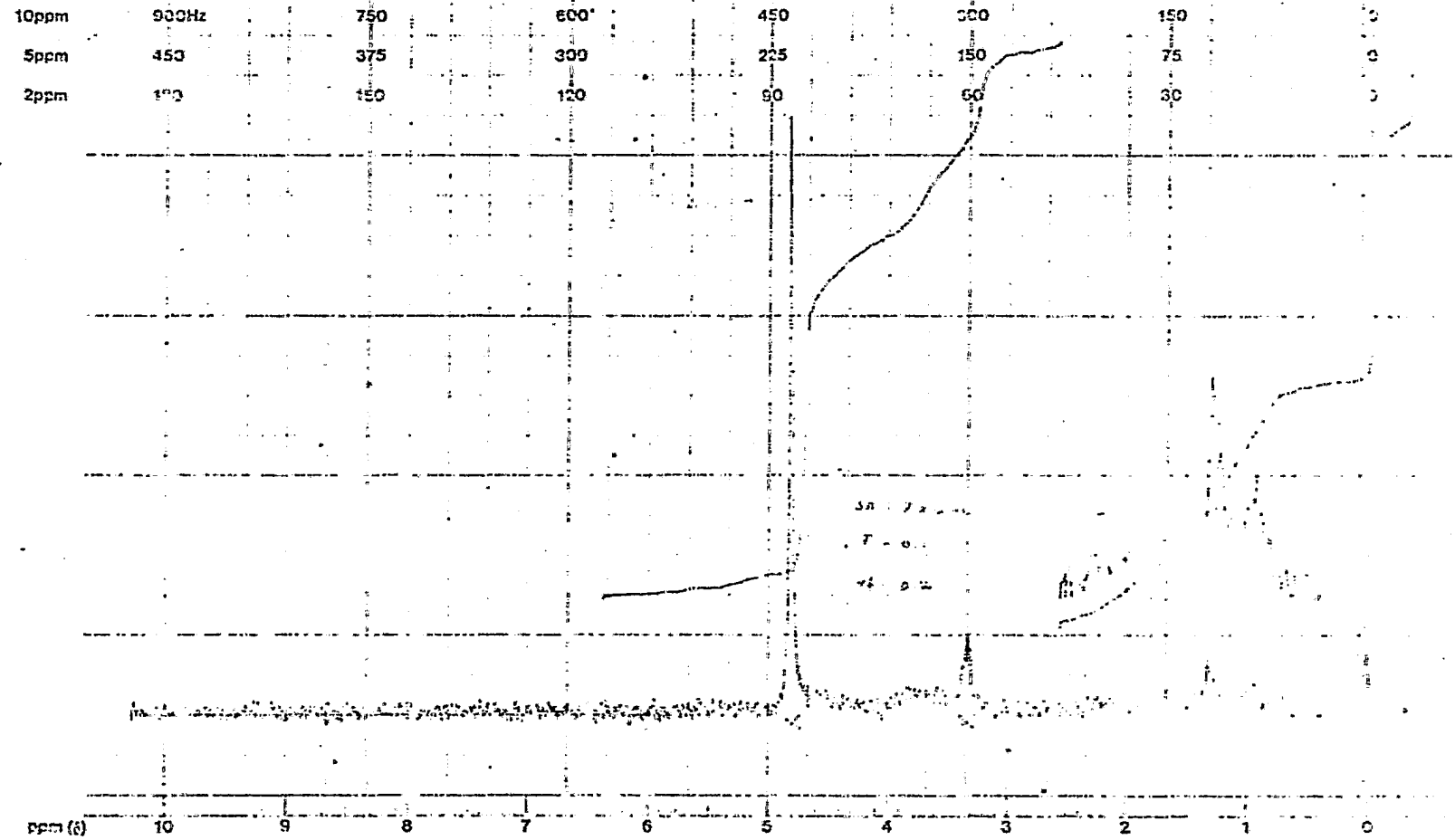
LOCK POWER _____ mG FILTER 0.05 sec SWEEP WIDTH 10 ppm ZERO REF. TMS Espectro No. 2 7-10-60

RECOUPLE POS. _____ ppm DECOUPLING POWER _____ mG EF POWER 0.1 mG END OF SWEEP 0 ppm SAMPLE TEMP. A C 70°

DMS_o

END OF SWEEP

START OF SWEEP



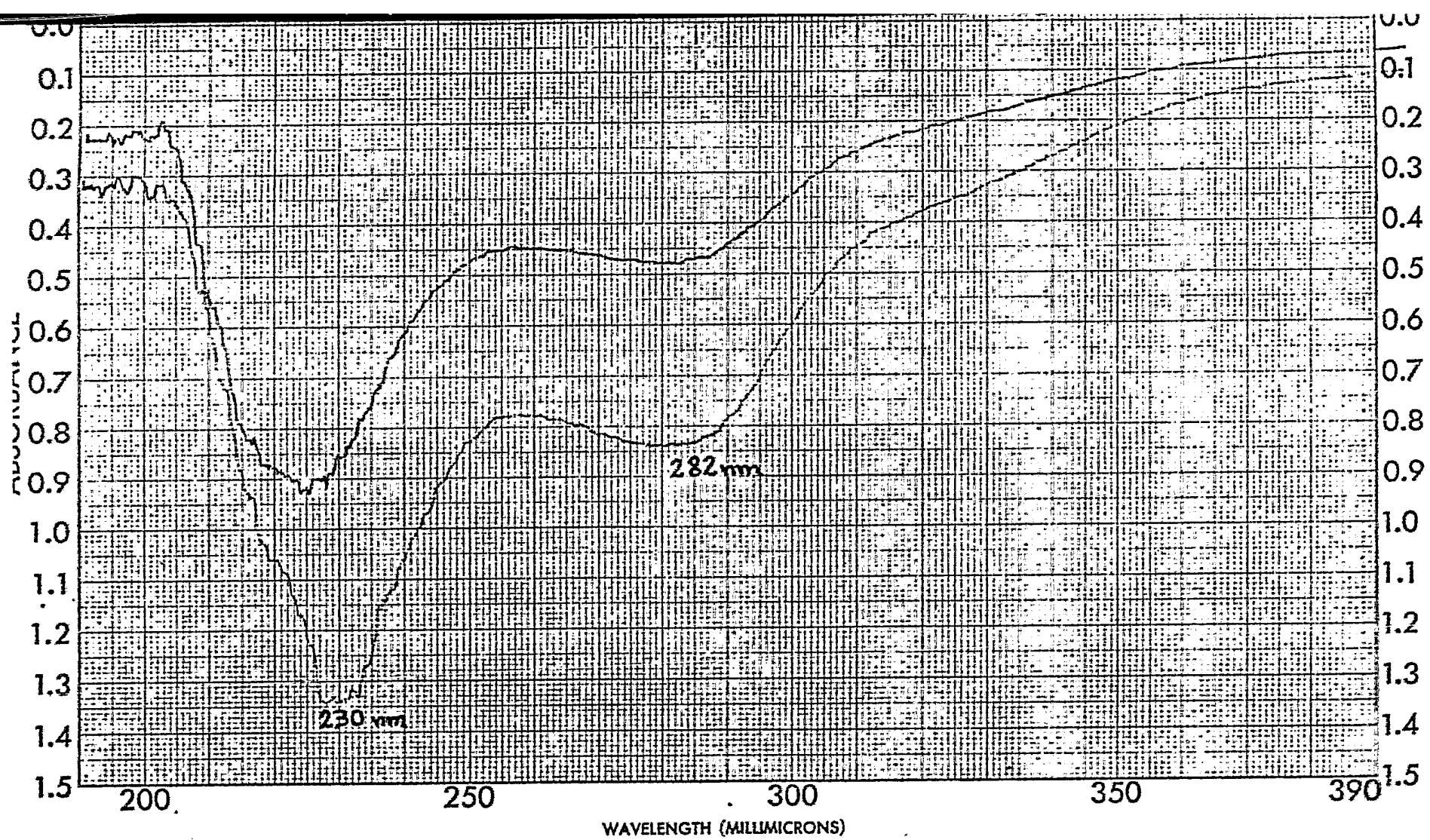
varias in moment de p... p... p...

... .. SPECTROMETER

LOCK POS. _____ ppm SPECTRUM AMPL. x 1000 _____ SWEEP TIME 5 min NUCLEUS: H SAMPLE 6 bottles of ...

LOCK POWER _____ mG FILTER 0.05 sec SWEEP WIDTH 10 ppm ZERO REF. TMS Espectro No. 3 ... 8-VII-83

... POS. _____ ppm RF POWER 0.05 mG END OF SWEEP 0 ppm SAMPLE TEMP. A C ... HCO SPECTROMETER 7633

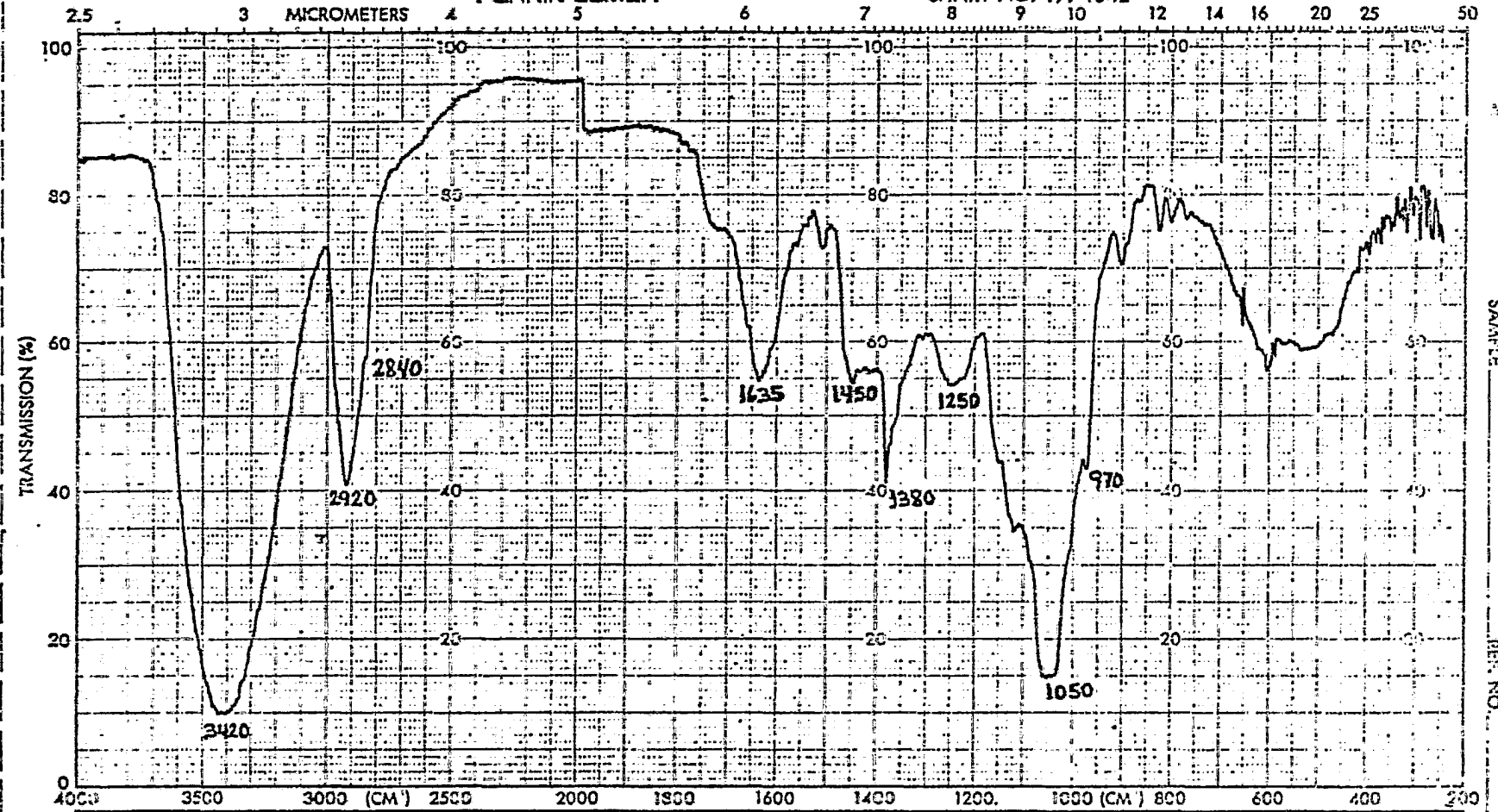


UV

Spectro No. 4

PERKIN-ELMER

CHART NO. 199-1042

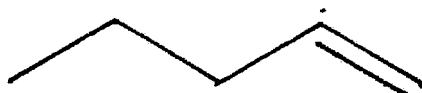


IR

Espectro No. 5

V) CONCLUSIONES

Se aisló de la planta Calibanus hookerii (li-liácea), un colorante puro rojo, cuyo punto de fusión -- fue de 196°C-198°C de cuya estructura sólo se pueden pro-
poner los siguientes grupos:


 CH_3
 OH

Esto fue debido a que la cantidad aislada no -- fue suficiente para efectuar los estudios espectroscópi-
cos necesarios, y a la alta dificultad de disolución de-
la muestra para RMN, habiéndose impurificado una conside-
rable cantidad con sulfóxido de dimetilo.

Es necesario aislar más colorante, principian-
do por separarlo de las fracciones resultantes de las --
cromatografías en columna que se hicieron en el presente
trabajo.

Se recomienda continuar este trabajo hasta llegar a elucidar la estructura completa del compuesto X-1, ya que aparentemente no contiene grupos funcionales tóxicos y por lo tanto sigue abierta la posibilidad de que se pueda emplear para colorear alimentos.

Como se puede observar, el uso de colorantes sintéticos tienen una marcada ventaja sobre los colorantes naturales en el sentido de su gran poder para colorear, su mayor uniformidad y estabilidad, únicamente el inconveniente que se ha encontrado a nivel mundial es el de su toxicidad y debido a esto es que se están realizando numerosas investigaciones, para encontrar en los productos naturales nuevas fuentes de obtención de colorantes para alimentos.

VI) BIBLIOGRAFIA

- 1) Tesis: Estudio preliminar de la corteza y raíces de -
una especie del genero del genero Calibanus.
Sánchez Ortega Amada Rosa.
Valdez Anaya Irais.
Univ. de Puebla (1982)
- 2) Balasubramanian, T; Neelakantan, S. Indian Farming.
How Safe are the Food Colours.
30, 3, 17-18 (1980)
- 3) Código Sanitario Mexicano.
19ª Edición. Sección Aditivos Alimentarios.
663-670. Ed. Porrúa (1983)
- 4) Tesis: Síntesis de proceso para la obtención de colo-
rantes naturales a partir de flor de jamaica, flor de
cempazuchitl y betabel para la industria alimentaria.
Roberto Barranco Fdez. ; León Lawrence Kraige.
Univ. Iberoamericana (1978)
- 5) Weeissler Alfred. Food Technology.
FDA Regulation of Food Colors.
29, 5, 38, 46 (1975)
- 6) Food Aditives and The Consumer.
Comunidad Económica Europea, Lux. 1980.
ISBN 92-825-1232-0.
Pag. 21, 22, 49.
- 7) Who/Food Additives.
Revista no. 1

(1978)

- 8) Farmacopea Nacional de los Estados Unidos Mexicanos.
Dir. General de Control de Alimentos, Bebidas y Medicamentos SSA.
4^{ta} Edición. (1974)
- 9) Tesis: Estudio de los Colorantes del Betabel (β -vulgaris).
Villegas Ramírez Ma. de Lourdes.
UNAM (1979)
- 10) Philip, T. Food Prod Development.
Utilization of plant pigments as food colorants.
9, 3, 50-56. (1973)
- 11) Dupaigne P. Fruits.
Red dyes of natural origin.
29, 12, 797-814. (1974)
- 12) V. Elbe; Klement, J.H.; Amundson, C.H. J Food Science.
Evaluation of betalain pigments as sausage colorants.
39, 128-132. (1974)
- 13) V Elbe; Maing I.Y. J Food Science.
Color Stability of Betanin.
39, 334-337. (1974)
- 14) V. Elbe; Maing I.Y. J Food Science.
Analysis of betacyanins in red table beets.
32, 932-934. (1972)
- 15) V. Elbe J.H. Food Technology.

- Stability of betalains as food colors.
29, 5, 42-43. (1975)
- 16) Tesis: Pigmentos de tuna cardena como posibles colorantes Alimenticios.
Antonio y Sergio Valadez Villarreal.
Univ. La Salle (1980)
- 17) Maing I.Y. J Food Science.
Betalains as a Food Colorant.
34, 1, 226. (1973)
- 18) Weller T.A.; Lasure, L.L. J Food Science.
Betalains in Beetroot Tissue Culturs.
47, 1, 162-163. (1982)
- 19) Adams J.P. and V Elbe. J Food Science.
Isolation and Purification of Betalains.
42, 2, 410-415. (1977)
- 20) Moise Riboh. Food Engineering.
Natural Colors. What Works. What Doesn't.
May 1977. Pag 66-72.
- 21) J.H. Pasch; V. Elbe and R.J. Sell. Journal Milk Food Technology.
Betalains as a Colorant in Dairy Products.
38, 1, 25-28. (1975)
- 22) V. Elbe J.H.; Maing I.Y. Cereal Science Today.
Betalains as possible food colorants of meat substitutes. 18, 9, 263-264, 316-317. (1973)

- 23) Pasch J.H.; V.Elbe J.H. Science.
Betanine Degradation as Influenced by Water Activity
191, 4229, 450-451. (1976)
- 24) Zuckerman,S.; Senackerib,J.; Kirk-Other. Encyclop. -
Chem. Technology.
Colorantes for food, drug and cosmetics.
6, 561-596. (1976)
- 25) Auszug aus "Eurufood".
Food Colours Development.
No. 101. Sweden (1976)
- 26) Henry,B.S. Food Procesing Industry.
Colours,- Alternatives to synthetics.
49, 588, 46-47. (1980)
- 27) Tesis: Estudio de los colorantes artificiales FDA --
usados en alimentos.
Viades Trejo Josefina.
UNAM (1977)
- 28) USA Patente No. 4 139 645
Weiner,R.E. "Red Dye"
USA (1979)
- 29) Furia T.E.
Current Aspects of Food Colorants.
C.R.C. Press Inc.
Cleveland (1977)
- 30) Diario Oficial; Miercoles 17 Sept. 1975.

Norma de la Secretaria de Industria y Comercio.

Rojo No. 2 Pag 4.

México (1975)

- 31) Code of Federal Regulations. .
Part 1 to 99; April 1, 1982.
Published by. The Office The Federal Register National.
Archives and Records Service.
General Services Administration.
Pag. 268-271, 294-301, 304.
- 32) New Swedish Regulations on Food Colors.
31 December, 1979.
Pag. 1-3. Sweden (1979)
- 33) Dinnesen Niel. Food Technology.
Toxicology and Regulations of Natural Colors.
29, 5, 40, (1975)
- 34) Boffey Philip M. Science.
Color Additives: Botched Experiment Leads to Banning
of Red Dye No. 2.
191, 4229, 450-451 (1976)
- 35) Color Additives. FDA Red No. 4; Termination of provi
tional Listing and Certification.
Federal Register; Thursday, 3 Sept. 1976.
41, 186, 41852-41853, 41855, 41867.
Washington (1976)

- 36) USA Patente No. 3 873 739
Jenkins, F.P. "Foods Containing Red Dye"
USA (1975)
- 37) I.F. Gammt; Madge Farmer and P. Graso. Fd. Cosmet. -
Toxicology.
Acute and short-term toxicity studies on carmoisine.
5, 179-180. (1967)
- 38) The Japanese Standards of Food Additives.
2nd. Edition.
Pag. 227-244. (1970)
Published by. Japan Food Hygiene Association.
- 39) Mason P.L.; Gannt I.F.; Hardy J. Fd. Cosmet. Toxicology.
logy.
Long-term toxicity studies of carmoisine in mice.
12, 5/6, 601-607. (1974)
- 40) P. Grasso and S.D. Gangolli. Fd. Cosmet. Toxicology.
Short-term study on carmoisine in the miniature pig.
7, 1-7. (1969)
- 41) Fairweather F.A.; Swann C.A. Proceedings of the Nutrition Society.
tion Society.
Food Additives and Cancer.
40, 1, 21-30. (1981)
- 42) Tesis: Química de algunos aditivos usados en la industria alimentaria.
Garnica Lara Alejandro.

UNAM (1979)

- 43) Pasch J.H.; V. Elbe J.H.; Dinnesen N. Food Prod. De-
velopment.

Betalains as Natural Food Colorants.

9, 9, 38, 42-45. (1975)

- 44) Pretsch Clerc Seilb Simon.

Strukturaufklärung Organischer Verbindungen.

Zweite Auflage.

Springer-Verlag.

Berling(1981.)

- 45) John R Dyer.

Applications of absorption spectroscopy of organic -
compounds.

Prentice-Hall International, INC.

London(1965.)