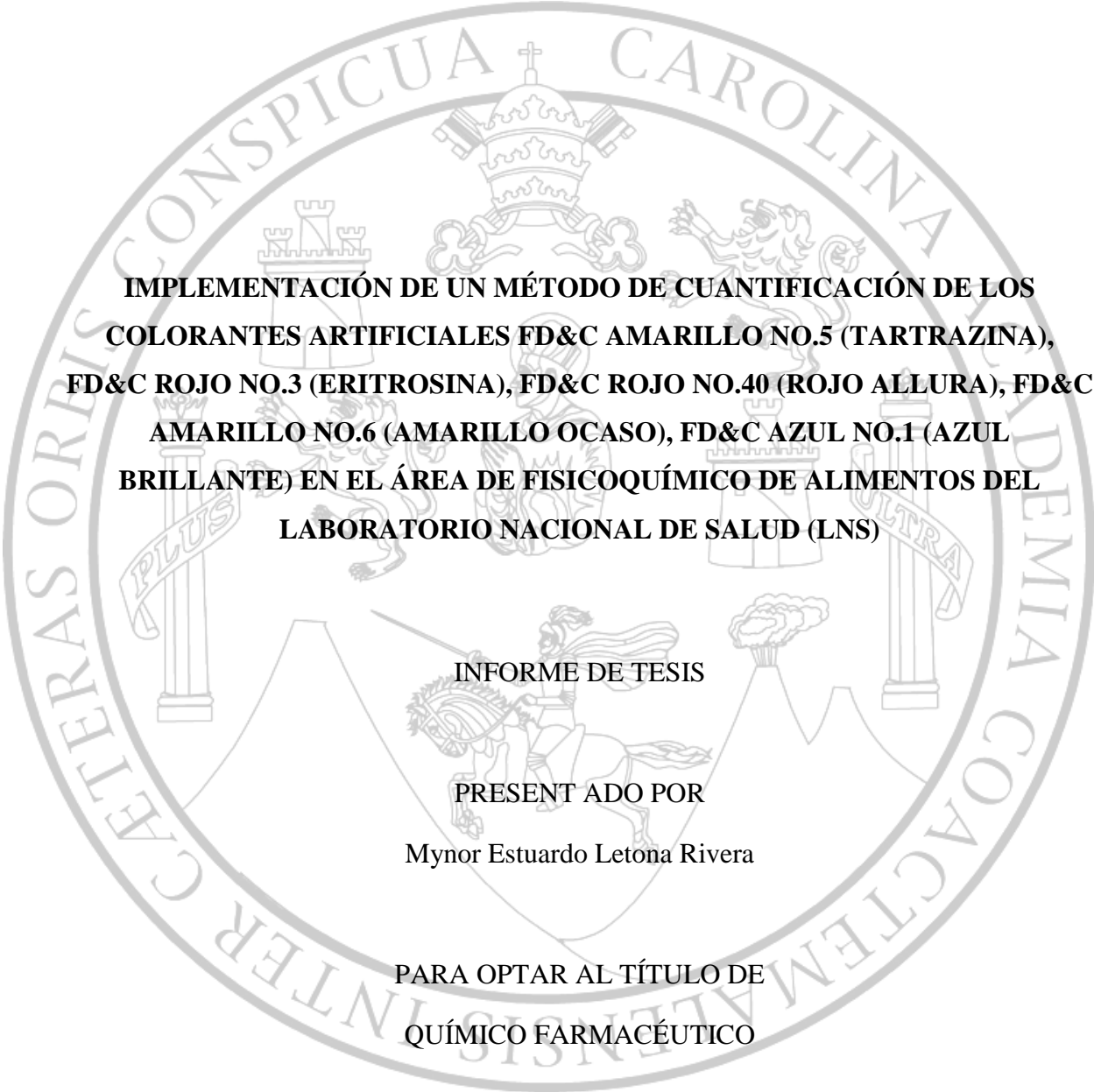


UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA

The seal of the University of San Carlos of Guatemala is a large, circular emblem in the background. It features a central figure of a knight on horseback, holding a lance and a shield. Above the knight is a crown and a cross. The seal is surrounded by Latin text: "CONSPICUA CAROLINA" at the top, "ACADEMIA COACTEM" on the right, "ALLENSTIS INTER" at the bottom, and "CETTERAS ORIS" on the left. There are also smaller inscriptions like "PLUS" and "ULTRA" on banners.

**IMPLEMENTACIÓN DE UN MÉTODO DE CUANTIFICACIÓN DE LOS
COLORANTES ARTIFICIALES FD&C AMARILLO NO.5 (TARTRAZINA),
FD&C ROJO NO.3 (ERITROSINA), FD&C ROJO NO.40 (ROJO ALLURA), FD&C
AMARILLO NO.6 (AMARILLO OCASO), FD&C AZUL NO.1 (AZUL
BRILLANTE) EN EL ÁREA DE FÍSICOQUÍMICO DE ALIMENTOS DEL
LABORATORIO NACIONAL DE SALUD (LNS)**

INFORME DE TESIS

PRESENTADO POR

Mynor Estuardo Letona Rivera

PARA OPTAR AL TÍTULO DE
QUÍMICO FARMACÉUTICO

Guatemala, Febrero 2014

Junta Directiva

Oscar Manuel Cóbar Pinto, Ph.D.	Decano
Lic. Pablo Ernesto Oliva Soto, M.A.	Secretario
Licda. Liliana Vides de Urizar	Vocal I
Dr. Sergio Alejandro Melgar Valladares	Vocal II
Lic. Rodrigo José Vargas Rosales	Vocal III
Br. Fayver Manuel de León Mayorga	Vocal IV
Br. Maily Graciela Córdoba Audón	Vocal V

Dedicatoria

Acto que dedico:

A mis padres

Mynor Letona y Gladys Rivera, por ser de inspiración, apoyo incondicional y un ejemplo de lucha y entrega en todas las áreas de mi vida, en especial en esta. Este logo es para ustedes.

A mi Hermana

Flor de Maria Letona, por ser parte de mi vida y apoyarme en todo momento.

A mi Novia

Heydi Alvarez, Omar Alvarez. por el amor y la inspiración que constantemente nace y renueva mi interior.

A mi Familia

Tios, primos y Abuelo, por brindarme su cariño y apoyo.

A mis Amigos

Jason, Pablo, Jose, Javier, Ricardo, Beatriz, Marilyn, Quiroa, por ser parte de mis tristezas y alegrías y sobre todo por darme el apoyo para culminar esta carrera.

Agradecimientos:

A la Universidad de San Carlos de Guatemala

Por permitirme formar parte de esta casa de estudio, y ser la institución que me brindo el conociendo científico y la oportunidad de formarme como profesional.

El Laboratorio Nacional de Salud, Área de Fisicoquímico de Alimentos.

Por permitirme realizar este trabajo de investigación, y al personal de laboratorio por su apoyo y dirección.

Mis Asesoras y Revisora

Por el tiempo que amablemente dedicaron a la revisión de esta investigación y por su asesoría y orientación.

Contenido

1. RESUMEN	1
2. INTRODUCCIÓN.....	3
3. ANTECEDENTES	4
3.1 Colorantes en Alimentos	4
3.2 Historia Del Uso De Colorantes En Alimentos	5
3.3 Marco Legal.....	7
3.4 Colorantes Artificiales Permitidos Para Su Uso En Alimentos	22
3.5 Métodos Analíticos Utilizados en la Identificación y Cuantificación de Colorantes.....	29
3.6 Estudios Realizados En Guatemala para la Cuantificación e Identificación de Colorantes en Alimentos.....	31
4. JUSTIFICACIÓN.....	36
5. OBJETIVOS	37
6. HIPÓTESIS	38
7. MATERIAL Y MÉTODOS	39
7.1 Universo y muestra	39
7.2 Materiales.....	39
7.3 Procedimiento	40
7.3.1 Preparación de la muestra (extracción)	40
7.3.2 Aislamiento de los Colorantes y Fijación.....	40
7.3.3 Desmontaje	41
7.3.4 Análisis Cuantitativo.....	42
7.3.5 Diseño de Investigación.....	42
8. RESULTADOS	44
9. DISCUSIÓN.....	53
10. CONCLUSIONES	56
11. RECOMENDACIONES	57
12. BIBLIOGRAFÍA.....	58
13. ANEXOS	61

1. RESUMEN

Actualmente los colorantes artificiales representan uno de los grupos de aditivos de mayor utilización en la industria alimenticia esto es debido a que los colorantes naturales poseen un coste mayor, son menos potentes y menos estables que los de síntesis. Se ha mostrado en estudios clínicos que el consumir alimentos con determinados colorantes ocasiona daños en la salud produciéndose reacciones alérgicas, problemas digestivos, insomnio, cáncer e incluso hiperactividad y trastorno de déficit de atención.

En la investigación realizada se implementó un método espectrofotométrico para la cuantificación de los colorantes artificiales FD&C Amarillo No.5 (Tartrazina), FD&C Rojo No.3 (Eritrosina), FD&C Rojo No.40 (Rojo Allura), FD&C Amarillo No.6 (Amarillo Ocaso), FD&C Azul No.1 (Azul brillante) en el área de Fisicoquímico de Alimentos del Laboratorio Nacional de Salud (LNS) a través de la estandarización de la metodología analítica.

Esto se llevó a cabo, como primera parte, realizando un barrido espectrofotométrico con estándares de los colorantes mencionados identificando el máximo de absorbancia para cada colorante. Se evaluó el desempeño del método mediante la medición espectrofotométrica de soluciones problema de los 5 colorantes con una concentración conocida y con los datos se evaluó la linealidad del método para los cinco colorantes, obteniéndose una relación lineal significativa ($p < 0.001$) entre la concentración de cada colorante y la absorbancia.

También con los datos obtenidos se elaboró un perfil de precisión utilizando el coeficiente de variación que representa la variación por parte del analista (repetibilidad) y entre diluciones (reproducibilidad) obteniéndose en todos los casos coeficientes de variación por debajo del 3%, demostrando la buena precisión del método de cuantificación. Además se determinó la exactitud por medio del porcentaje de recuperación y evaluando la relación lineal, en todos los colorantes se obtuvo que dicho porcentaje no difiere significativamente de 100% ($p > 0.05$), donde el intercepto no difiere significativamente de 0 y la pendiente no difiere significativamente de 1 lo que demuestra que el método de cuantificación es exacto.

Por último para contar con una referencia sobre la aplicación del método en muestras reales, se cuantificó los colorantes FD&C Amarillo No.5 (Tartrazina), FD&C Rojo No.3 (Eritrosina), FD&C Rojo No.40 (Rojo Allura), FD&C Amarillo No.6 (Amarillo Ocaso), FD&C Azul No.1 (Azul brillante) en muestras de dulces que reportaban en su etiqueta la presencia de los mismos, pudiendo cuantificar la concentración y evidenciado el buen rendimiento del método.

2. INTRODUCCIÓN

Con la introducción de los alimentos procesados surgió la necesidad de agregar sustancias que proporcionen un color agradable a la vista del público, inicialmente por el uso de colorantes sintéticos en bebidas carbonatadas, alimentos horneados, etc., que poseen como ventajas la estabilidad, disponibilidad de tonos, poder tintórico y pureza. Actualmente los colorantes artificiales representan uno de los grupos de aditivos de mayor utilización en la industria alimenticia, esto es debido a que los colorantes naturales poseen un coste mayor, son menos potentes y menos estables que los de síntesis. Niveles altos de dichos colorantes pueden afectar la seguridad del consumidor produciendo manifestaciones leves como ronchas, dermatitis atópica, asma o gastroenteritis hasta un problema más grave como una toxicidad crónica o incluso choque anafiláctico, siendo los grupos más vulnerables niños y ancianos, es por ello que la preocupación por la seguridad de los alimentos es justificable.

El Laboratorio Nacional de Salud (LNS) es el encargado de velar por que los alimentos, cumplan con los requerimientos indispensables para su consumo, el cual cuenta con personal, equipos e instalaciones que tienen la capacidad para realizar el análisis y diagnóstico que requiere el país para la protección y aseguramiento de la salud pública. Es por ello que es necesaria la implementación de un método de cuantificación de colorantes artificiales que permita medir si las proporciones de dichos colorantes se encuentran en cantidades seguras para el consumidor.

En esta investigación se llevó a cabo la implementación de un método espectrofotométrico para la cuantificación de colorantes artificiales comparándolo con estándares de FD&C Amarillo No.5 (Tartrazina), FD&C Rojo No.3 (Eritrosina), FD&C Rojo No.40 (Rojo Allura), FD&C Amarillo No.6 (Amarillo Ocaso), FD&C Azul No.1 (Azul brillante) con el fin de determinar la precisión y exactitud del método, dicho procedimiento será utilizado por el área de Físicoquímico de Alimentos del Laboratorio Nacional de Salud (LNS) como un procedimiento más para el análisis de dichos compuestos.

3. ANTECEDENTES

3.1 Colorantes en Alimentos

Los colorantes son sustancias de origen natural o artificial que se usan para aumentar el color de los alimentos, ya sea porque el alimento ha perdido color en su tratamiento industrial o bien para hacerlo más agradable a la vista y más apetecible al consumidor. Aquellas sustancias que se añaden o devuelven color a un alimento, e incluyen componentes naturales de sustancias alimenticias y otras fuentes naturales, que son naturalmente consumidas como alimentos por sí mismos y no son habitualmente utilizados como ingredientes característicos en alimentación (Delwiche, 2004).

La Comisión Guatemalteca de Normas (COGUANOR) define a los colorantes como aquellas sustancias, comprendidas dentro de los aditivos alimentarios, que dan color o intensifican el color del producto. (COGUANOR, Aditivos alimentarios permitidos para consumo humano Doc. Tec. NGO 34 192, 2007)

El CODEX Alimentarius entiende por aditivo, cualquier sustancia que normalmente no se consume como alimento y no se usa normalmente como ingrediente característico del alimento, tenga o no valor nutritivo, y cuya adición intencional al alimento, con un fin tecnológico (incluso organoléptico) en la fabricación, elaboración, preparación, tratamiento, envasado, empaquetamiento, transporte o conservación de dicho alimento, resulta, o es de prever que resulte (directa o indirectamente) en que él o sus derivados pasen a ser componente de tales alimentos o afecten las características de éstos. Considerando que dicho término no contempla los contaminantes ni las sustancias añadidas a los alimentos para mantener o mejorar las calidades nutricionales, además no se considera ingrediente característico del alimento. No obstante, los aditivos alimentarios, son ingredientes dado que se agregan deliberadamente a los alimentos y deben ser inocuos durante el tiempo de consumo, es importante saber que el término aditivo no incluye a los contaminantes (Masson-Mathee, 2007).

De acuerdo con la FDA un aditivo colorido es cualquier colorante, pigmento o sustancia obtenida por síntesis o destreza similar o extraída, aislada o derivada, con o sin intermediarios del cambio final de identidad a partir de un vegetal, animal o mineral u otra fuente y que cuando es añadida o aplicada por alimentos, medicamentos o cosméticos, al cuerpo humano o cualquier otra parte, por si misma es capaz (solo a través de reacción con otra sustancia) de impartir color (Masson-Matthee, 2007).

Los colorantes se dividen en dos grandes grupos: colorantes naturales y colorantes artificiales. Todos ellos llevan un número que los identifica (Delwiche, 2004).

Las fórmulas químicas de los colorantes alimenticios suelen ser muy diferentes y es difícil encontrar una clasificación adecuada, aunque se pueden distinguir a qué grupos pertenecen según su estructura química: azoicos, xanténicos, quinoleínicos, trifenil metánicos (colorantes de trifenil metano), indigoides (colorantes índigos), ftalocianínicos (fetaleína), etc. (Delwiche, 2004).

3.2 Historia Del Uso De Colorantes En Alimentos

El hombre ha sabido encontrar en todo momento, las sustancias adecuadas para la tinción de los alimentos: en un principio fueron colorantes vegetales, minerales o animales, reconocidos por la experiencia como inofensivos; hoy el desarrollo de los colorantes sintéticos o artificiales, hace que éstos sean de utilización casi exclusiva, debido a su gran poder de tinción, la estabilidad, brillantez y variabilidad de sus matices y su bajo costo (Schmidt, 1966).

La historia está llena de acontecimientos en el uso del color como un aditivo. Las pinturas de las tumbas de los egipcios que datan de 1500 antes de Cristo muestran escenas en donde se les muestra coloreando los caramelos de la época. En la primera centuria los Romanos decían que coloreaban artificialmente el vino, también se conoce que las especias y condimentos que tenían al menos 500 años como la páprika y azafrán

han sido usados en los alimentos con el único fin de aportar color. (Martin, 2003).

Hasta mediados del siglo XIX, los únicos colorantes que habían eran aquellos derivados de las plantas como añil y rubia (Schmidt, 1966). El fundamento decisivo para el desarrollo de la química moderna de colorantes fue el descubrimiento del fenol y de la anilina en el alquitrán de hulla por el químico alemán Friedlieb Ferdinand Runge en el año 1834. El cual logró aislar la anilina y mediante la oxidación, extrajo de ésta el negro anilina. Aproximadamente, 20 años más tarde *en* 1856 cuando se descubrió por accidente la mauveína por referencia a la flor de malva silvestre, también conocida como púrpura de Perkin, cuando se trataba de sintetizar quinina, se obtuvo un colorante oxidando una anilina que contenía como impurezas *o* y *p*-toluidina. Luego ocurrieron otros descubrimientos de este tipo y surgió así una gran industria en la química del alquitrán de hulla (Konig, 2003).

Los primeros colores se prepararon con anilina y por muchos años a todos los colorantes del alquitrán de hulla se les denominó anilinas, no importando su origen (Konig, 2003). Muchos colorantes del alquitrán de hulla se emplearon de manera original para las sustancias alimenticias y bebidas sin hacer una selección o discriminación si eran inofensivas o tóxicas. Luego de adoptarse la ley de alimentos y drogas en 1906, se establecieron ciertos colorantes permitidos que podían usarse en alimentos, drogas y cosméticos, pero sólo por medio de la certificación de la Administración de Alimentos y Drogas teniendo que cumplir con ciertas especificaciones en el mercado estadounidense (Barrows, Lipman, & Bailey, 2003).

En el año de 1927, en Estados Unidos de América, la responsabilidad de los colorantes fue otorgado a la Food and Drug Administration (FDA), la cual fue llamada antes de este nombre Food, Drug and Insecticide Administration y cambio de nombre en el año de 1930, luego de esto en 1931 los colores aprobados para alimentos eran FD&C Azul No. 1 (azul brillante FCF), FD&C azul No. 2 (Indigotina), FD&C verde No. 3 (verde rápido FCF), FD&C Red No. 3 (Eritrosina), FD&C amarillo No. 5

(Tartrazina), y FD&C amarillo No. 6 (amarillo atardecer). En 1938 la FDA crea la nomenclatura para los colorantes que están certificados como FD&C, D&C y D&C externos (Barrows, Lipman, & Bailey, 2003).

Por medio de los colores permitidos pueden hacerse mezclas para utilizarlos en alimentos, bebidas y preparaciones farmacéuticas, pero para ello necesitan una nueva certificación. Los colores certificados se clasifican en los tres grupos siguientes que son: colorantes FD&C que se pueden usar legalmente en alimentos, drogas y cosméticos, colorantes D&C que se pueden utilizar en drogas y cosméticos y D&C externos que se pueden usar legalmente en drogas y cosméticos de aplicación externa (Remington, 1998).

3.3 Marco Legal

En el Laboratorio Nacional de Salud los lineamientos a seguir respecto a colorantes permitidos en alimentos están determinados por el Reglamento Técnico Centroamericano, Alimentos y Bebidas Procesadas. Aditivos Alimentarios.

3.3.1 Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 67.04.54:10

Para colorantes artificiales: El Nivel máximo corresponde a la concentración más alta de éste respecto de la cual la Comisión del Codex Alimentarius ha determinado que es funcionalmente eficaz en un alimento o categoría de alimentos y ha acordado que es inocua. Los colorantes artificiales cuyo uso se permite en condiciones especificadas para cierta categoría de alimentos o determinados productos alimenticios se muestran en los siguientes cuadros:

Cuadro No. 1: Niveles máximos permitidos para el colorante artificial Amaranto.

AMARANTO INS 123		
No categoría de alimentos	Categoría de alimentos	Nivel máximo
09.3.3	Sucedáneos de salmón, caviar y otros productos pesqueros a base de huevas	30 mg/kg
14.2.4	Vinos (distintos de los de uva)	30 mg/kg
14.2.7	Bebidas alcohólicas saborizadas (p.ej., cerveza, vino y bebidas espirituosas tipo refresco, refrescos con bajo contenido de alcohol)	30 mg/kg

Fuente: Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 67.04.54:10. Anexo de la resolución No. 283-2012 (COMIECO-LXII).

Cuadro No. 2: Niveles máximos permitidos para el colorante artificial Amarillo de quinoleína.

AMARILLO DE QUINOLEINA INS 104		
No categoría de alimentos	Categoría de alimentos	Nivel máximo
01.1.2	Bebidas lácteas, saborizadas y/o fermentadas (p. ej., leche con chocolate, cacao, ponche de huevo, yogur para beber, bebidas a base de suero)	150 mg/kg
01.6.1	Queso no madurado	BPM*
01.6.2.2	Corteza de queso madurado	BPM*
01.6.3	Queso de suero	BPM*
01.6.4	Queso elaborado, fundido	200 mg/kg
01.6.5	Productos similares al queso	BPM*
01.7	Postres lácteos (p. ej., pudines, yogur aromatizado o con fruta)	150 mg/kg
02.4	Postres a base de grasas, excluidos los postres lácteos de la categoría de alimentos 01.7	150 mg/kg
03.0	Hielos comestibles, incluidos los sorbetes	150 mg/kg
04.1.1.2	Frutas frescas tratadas en la superficie	500 mg/kg
04.1.2.4	Frutas en conserva enlatadas o en frasco (pasteurizadas)	200 mg/kg
04.1.2.5	Confituras, jaleas mermeladas	500 mg/kg
04.1.2.6	Productos para untar a base de fruta (p. ej., el chutney, excluidos los productos de la categoría de alimentos 04.1.2.5	500 mg/kg
04.1.2.7	Frutas confitadas	200 mg/kg
04.1.2.8	Preparados a base de fruta, incluida la pulpa, los purés, los revestimientos de fruta y la leche de coco	500 mg/kg
04.1.2.9	Postres a base de fruta, incluidos los postres a base de agua con aromas de fruta	150 mg/kg

04.2.1.2	Hortalizas (incluidos hongos y setas, raíces y tubérculos, legumbres y leguminosas (incluida la soja) y aloe vera), algas marinas y nueces y semillas frescas tratadas en la superficie	500 mg/kg
04.2.2.3	Hortalizas (incluidos hongos y setas, raíces y tubérculos, legumbres y leguminosas y aloe vera) y algas marinas en vinagre, aceite, salmuera o salsa de soya	500 mg/kg
04.2.2.4	Hortalizas (incluidos hongos y setas, raíces y tubérculos legumbres y leguminosas y aloe vera) y algas marinas en conserva, en latas o frascos (pasteurizadas) o en bolsas de esterilización	200 mg/kg
04.2.2.5	Purés y preparados para untar elaborados con hortalizas (incluidos hongos y setas, raíces y tubérculos, legumbres y leguminosas y aloe vera), algas marinas y nueces y semillas (p ej. la mantequilla de maní (cacahuete))	100 mg/kg
04.2.2.6	Pulpas y preparados de hortalizas (incluidos hongos y setas, raíces y tubérculos, legumbres y leguminosas y aloe vera) algas marinas y nueces y semillas (como los postres y las salsas a base de hortalizas y hortalizas confitadas) distintos de los indicados en la categoría de alimentos 04.2.2.5	200 mg/kg
05.1	Productos de cacao y chocolate, incluidos los productos de imitación y los sucedáneos del chocolate	300 mg/kg

Fuente: Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 67.04.54:10. Anexo de la resolución No. 283-2012 (COMIECO-LXII).

*BPM: Buenas Prácticas de Manufactura: la cantidad de aditivo que se añada al alimento se limitará a la dosis mínima necesaria para obtener el efecto deseado. La cantidad de aditivo que pase a formar parte del alimento como consecuencia de su uso en la fabricación, elaboración o envasado de un alimento y que no tenga por objeto obtener ningún efecto físico o técnico en el alimento mismo, se reducirá en la mayor medida que sea razonablemente posible.

Cuadro No. 3: Niveles máximos permitidos para el colorante artificial Amarillo Ocaso.

AMARILLO OCASO FCF INS 110		
No categoría de alimentos	Categoría de alimentos	Nivel máximo
01.1.2	Bebidas lácteas, saborizadas y/o fermentadas (p. ej., leche con chocolate, cacao, ponche de huevo, yogur para beber, bebidas a base de suero)	300 mg/kg
01.6.1	Queso no madurado	300 mg/kg
01.6.2.2	Corteza de queso madurado	300 mg/kg
01.6.3	Queso de suero	BPM*
01.6.4	Queso elaborado, fundido	200 mg/kg
01.6.5	Productos similares al queso	300 mg/kg
01.7	Postres lácteos (p. ej., pudines, yogur aromatizado o con fruta)	300 mg/kg
02.1.2	Grasas y aceites vegetales	BPM*
02.1.3	Manteca de cerdo, cebo, aceite de pescado y otras grasas de origen animal	300 mg/kg
02.1.4	Mezcla de aceites y/o grasas de origen animal y vegetal. Mezclas de las categorías 2.1.2 y 2.1.3	BPM*
02.2.1.1	Mantequilla y mantequilla concentrada	300 mg/kg
02.2.1.2	Margarina y productos similares	BPM*
02.4	Postres a base de grasas, excluidos los postres lácteos de la categoría de alimentos 01.7	50 mg/kg

03.0	Hielos comestibles, incluidos los sorbetes	50 mg/kg
04.1.2.5	Confituras, jaleas mermeladas	300 mg/kg
04.1.2.6	Productos para untar a base de fruta (p. ej., el chutney, excluidos los productos de la categoría de alimentos 04.1.2.5)	300 mg/kg
04.1.2.7	Frutas confitadas	200 mg/kg
04.1.2.8	Preparados a base de fruta, incluida la pulpa, los purés, los revestimientos de fruta y la leche de coco	300 mg/kg
04.1.2.9	Postres a base de fruta, incluidos los postres a base de agua con aromas de fruta	200 mg/kg
04.1.2.11	Rellenos de fruta para panadería	300 mg/kg
04.2.1.2	Hortalizas (incluidos hongos y setas, raíces y tubérculos, legumbres y leguminosas (incluida la soja) y aloe vera), algas marinas y nueces y semillas frescas tratadas en la superficie	300 mg/kg
04.2.2.2	Hortalizas (incluidos hongos y setas, raíces y tubérculos, legumbres y leguminosas y aloe vera), algas marinas y nueces y semillas desecadas	300 mg/kg
04.2.2.6	Pulpas y preparados de hortalizas (incluidos hongos y setas, raíces y tubérculos, legumbres y leguminosas y aloe vera) algas marinas y nueces y semillas (como los postres y las salsas a base de hortalizas y hortalizas confitadas) distintos de los indicados en la categoría de alimentos 04.2.2.5	50 mg/kg
04.2.2.7	Productos a base de hortalizas (incluidos hongos y setas, raíces y tubérculos, legumbres y leguminosas y aloe vera) y algas marinas fermentadas, excluidos los productos fermentados de soja de la categoría 12.10	200 mg/kg
05.1	Productos de cacao y chocolate, incluidos los productos de imitación y sucedáneos del chocolate	400 mg/kg
05.2	Dulces distintos de los indicados en las categorías de alimentos 05.1, 05.3 y 05.4, incluidos los caramelos duros y blandos, los turrones etc.	400 mg/kg

Fuente: Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 67.04.54:10. Anexo de la resolución No. 283-2012 (COMIECO-LXII).

*BPM: Buenas Prácticas de Manufactura: la cantidad de aditivo que se añada al alimento se limitará a la dosis mínima necesaria para obtener el efecto deseado. La cantidad de aditivo que pase a formar parte del alimento como consecuencia de su uso en la fabricación, elaboración o envasado de un alimento y que no tenga por objeto obtener ningún efecto físico o técnico en el alimento mismo, se reducirá en la mayor medida que sea razonablemente posible.

Cuadro No. 4: Niveles máximos permitidos para el colorante artificial Azul Brillante.

AZUL BRILLANTE FCF INS 133		
No categoría de alimentos	Categoría de alimentos	Nivel máximo
01.1.2	Bebidas lácteas, saborizadas y/o fermentadas (p. ej., leche con chocolate, cacao, ponche de huevo, yogur para beber, bebidas a base de suero)	150 mg/kg
01.6.1	Queso no madurado	100 mg/kg
01.6.2.2	Corteza de queso madurado	100 mg/kg
01.6.3	Queso de suero	200 mg/kg
01.6.4	Queso elaborado, fundido	200 mg/kg
01.6.5	Productos similares al queso	200 mg/kg

01.7	Postres lácteos (p. ej., pudines, yogur aromatizado o con fruta)	150 mg/kg
02.1.2	Grasas y aceites vegetales	200 mg/kg
02.1.3	Manteca de cerdo, cebo, aceite de pescado y otras grasas de origen animal	200 mg/kg
02.1.4	Mezcla de aceites y/o grasas de origen animal y vegetal. Mezclas de las categorías 2.1.2 y 2.1.3	200 mg/kg
02.2.1.2	Margarina y productos similares	200 mg/kg
02.3	Emulsiones grasas, principalmente del tipo agua en aceite, incluidos los productos a base de emulsiones grasas mezcladas y/o saborizadas	100 mg/kg
02.4	Postres a base de grasas, excluidos los postres lácteos de la categoría de alimentos 01.7	150 mg/kg
03.0	Hielos comestibles, incluidos los sorbetes	150 mg/kg
04.1.1.2	Frutas frescas tratadas en la superficie	500 mg/kg
04.1.2.4	Frutas en conserva enlatadas o en frasco (pasteurizadas)	200 mg/kg
04.1.2.5	Confituras, jaleas mermeladas	500 mg/kg
04.1.2.6	Productos para untar a base de fruta (p. ej., el chutney, excluidos los productos de la categoría de alimentos 04.1.2.5	500 mg/kg

Fuente: Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 67.04.54:10. Anexo de la resolución No. 283-2012 (COMIECO-LXII).

Cuadro No. 5: Niveles máximos permitidos para el colorante artificial Azul Patente V.

AZUL PATENTE V INS 131		
No categoría de alimentos	Categoría de alimentos	Nivel máximo
05.2.1	Caramelos duros	50 mg/kg
05.2.2	Caramelos blandos	50 mg/kg
05.3	Goma de mascar	300 mg/kg

Fuente: Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 67.04.54:10. Anexo de la resolución No. 283-2012 (COMIECO-LXII).

Cuadro No. 6: Niveles máximos permitidos para el colorante artificial Carmines.

CARMINES INS 120		
No categoría de alimentos	Categoría de alimentos	Nivel máximo
01.1.2	Bebidas lácteas, saborizadas y/o fermentadas (p. ej., leche con chocolate, cacao, ponche de huevo, yogur para beber, bebidas a base de suero)	150 mg/kg
01.2.1.2	Leches fermentadas (simples), tratadas térmicamente después de la fermentación	150mg/Kg
01.6.1	Queso no madurado	BPM*

01.6.2.1	Queso madurado, incluida la corteza	125 mg/kg
01.6.2.2	Corteza de queso madurado	BPM*
01.6.3	Queso de suero	BPM
01.6.4.2	Queso fundido aromatizado, incluido el que contiene fruta, hortalizas, carne etc.	100 mg/kg
01.6.5	Productos similares al queso	100 mg/kg
01.7	Postres lácteos (p. ej., pudines, yogur aromatizado o con fruta)	150 mg/kg
02.1.2	Grasas y aceites vegetales	500 mg/kg
02.1.3	Manteca de cerdo, sebo, aceite de pescado y otras grasas de origen animal	BPM*
02.1.4	Mezcla de aceites y/o grasas de origen animal y vegetal. Mezclas de las categorías 2.1.2 y 2.1.3	500 mg/kg
02.2.1.3	Mezclas de mantequilla y margarina	500 mg/kg
02.2.2	Emulsiones con menos del 80% de grasa	500 mg/kg
02.3	Emulsiones grasas, principalmente del tipo agua en aceite, incluidos los productos a base de emulsiones grasas mezcladas y/o saborizadas	500 mg/kg
02.4	Postres a base de grasas, excluidos los postres lácteos de la categoría de alimentos 01.7	150 mg/kg
03.0	Hielos comestibles, incluidos los sorbetes	150 mg/kg
04.1.1.2	Frutas frescas tratadas en la superficie	500 mg/kg
04.1.2.4	Frutas en conserva enlatadas o en frasco (pasteurizadas)	200 mg/kg
04.1.2.5	Confituras, jaleas mermeladas	200 mg/kg
04.1.2.6	Productos para untar a base de fruta (p. ej., el chutney, excluidos los productos de la categoría de alimentos 04.1.2.5	500 mg/kg
04.1.2.7	Frutas confitadas	200 mg/kg
04.1.2.8	Preparados a base de fruta, incluida la pulpa, los purés, los revestimientos de fruta y la leche de coco	500 mg/kg
04.1.2.9	Postres a base de fruta, incluidos los postres a base de agua con aromas de fruta	150 mg/kg

Fuente: Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 67.04.54:10. Anexo de la resolución No. 283-2012 (COMIECO-LXII).

*BPM: Buenas Prácticas de Manufactura: la cantidad de aditivo que se añada al alimento se limitará a la dosis mínima necesaria para obtener el efecto deseado. La cantidad de aditivo que pase a formar parte del alimento como consecuencia de su uso en la fabricación, elaboración o envasado de un alimento y que no tenga por objeto obtener ningún efecto físico o técnico en el alimento mismo, se reducirá en la mayor medida que sea razonablemente posible.

Cuadro No. 7: Niveles máximos permitidos para el colorante artificial Eritrosina.

ERITROSINA INS 127		
No categoría de alimentos	Categoría de alimentos	Nivel máximo
01.1.2	Bebidas lácteas, saborizadas y/o fermentadas (p. ej., leche con chocolate, cacao, ponche de huevo, yogur para beber, bebidas a base de suero)	300 mg/kg
01.6.2.2	Corteza de queso madurado	100 mg/kg
01.6.4.2	Queso fundido aromatizado, incluido el que contiene fruta, hortalizas, carne etc.	100 mg/kg
01.7	Postres lácteos (p. ej., pudines, yogur aromatizado o con fruta)	300 mg/kg
02.1.2	Grasas y aceites vegetales	300 mg/kg
02.1.3	Manteca de cerdo, cebo, aceite de pescado y otras grasas de origen animal	300 mg/kg
02.1.4	Mezcla de aceites y/o grasas de origen animal y vegetal. Mezclas de las categorías 2.1.2 y 2.1.3	300 mg/kg

Fuente: Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 67.04.54:10. Anexo de la resolución No. 283-2012 (COMIECO-LXII).

Cuadro No. 8: Niveles máximos permitidos para el colorante artificial Indigotina.

INDIGOTINA INS 132		
No categoría de alimentos	Categoría de alimentos	Nivel máximo
01.6.2.2	Corteza de queso madurado	100 mg/kg
01.6.3	Queso de suero	200 mg/kg
01.6.4	Queso elaborado, fundido	200 mg/kg
01.6.5	Productos similares al queso	200 mg/kg
01.7	Postres lácteos (p. ej., pudines, yogur aromatizado o con fruta)	300 mg/kg
02.1.2	Grasas y aceites vegetales	200 mg/kg
02.1.3	Manteca de cerdo, cebo, aceite de pescado y otras grasas de origen animal	200 mg/kg
02.1.4	Mezcla de aceites y/o grasas de origen animal y vegetal. Mezclas de las categorías 2.1.2 y 2.1.3	200 mg/kg
02.2.1.2	Margarina y productos similares	200 mg/kg
02.4	Postres a base de grasas, excluidos los postres lácteos de la categoría de alimentos 01.7	300 mg/kg
03.0	Hielos comestibles, incluidos los sorbetes	300 mg/kg
04.1.2.4	Frutas en conserva enlatadas o en frasco (pasteurizadas)	200 mg/kg

04.1.2.5	Confituras, jaleas mermeladas	500 mg/kg
04.1.2.6	Productos para untar a base de fruta (p. ej., el chutney, excluidos los productos de la categoría de alimentos 04.1.2.5)	500 mg/kg
04.1.2.7	Frutas confitadas	200 mg/kg
04.1.2.8	Preparados a base de fruta, incluida la pulpa, los purés, los revestimientos de fruta y la leche de coco	500 mg/kg
04.1.2.9	Postres a base de fruta, incluidos los postres a base de agua con aromas de fruta	300 mg/kg
04.1.2.11	Rellenos de fruta para panadería	300 mg/kg
04.2.2.3	Hortalizas (incluidos hongos y setas, raíces y tubérculos, legumbres y	500 mg/kg

Fuente: Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 67.04.54:10. Anexo de la resolución No. 283-2012 (COMIECO-LXII).

Cuadro No. 9: Niveles máximos permitidos para el colorante artificial Marrón HT.

MARRON HT INS 155		
No categoría de alimentos	Categoría de alimentos	Nivel máximo
01.1.2	Bebidas lácteas, saborizadas y/o fermentadas (p. ej., leche con chocolate, cacao, ponche de huevo, yogur para beber, bebidas a base de suero)	150 mg/kg
01.6.1	Queso no madurado	BPM*
01.6.2.2	Corteza de queso madurado	BPM*
01.6.3	Queso de suero	BPM*
01.6.4	Queso elaborado, fundido	200 mg/kg
01.6.5	Productos similares al queso	BPM*
01.7	Postres lácteos (p. ej., pudines, yogur aromatizado o con fruta)	150 mg/kg
02.4	Postres a base de grasas, excluidos los postres lácteos de la categoría de alimentos 01.7	150 mg/kg
03.0	Hielos comestibles, incluidos los sorbetes	150 mg/kg
04.1.1.2	Frutas frescas tratadas en la superficie	500 mg/kg
04.1.2.4	Frutas en conserva enlatadas o en frasco (pasteurizadas)	200 mg/kg
04.1.2.5	Confituras, jaleas mermeladas	500 mg/kg
04.1.2.6	Productos para untar a base de fruta (p. ej., el chutney, excluidos los productos de la categoría de alimentos 04.1.2.5)	500 mg/kg
04.1.2.7	Frutas confitadas	200 mg/kg
04.1.2.8	Preparados a base de fruta, incluida la pulpa, los purés, los revestimientos de fruta y la leche de coco	500 mg/kg
04.1.2.9	Postres a base de fruta, incluidos los postres a base de agua con aromas de fruta	150 mg/kg

04.2.1.2	Hortalizas (incluidos hongos y setas, raíces y tubérculos, legumbres y leguminosas (incluida la soja) y aloe vera), algas marinas y nueces y semillas frescas tratadas en la superficie	500 mg/kg
04.2.2.3	Hortalizas (incluidos hongos y setas, raíces y tubérculos, legumbres y leguminosas y aloe vera) y algas marinas en vinagre, aceite, salmuera o salsa de soya	500 mg/kg
04.2.2.4	Hortalizas (incluidos hongos y setas, raíces y tubérculos, legumbres y leguminosas y aloe vera) y algas marinas en conserva, en latas o frascos (pasteurizadas) o en bolsas de esterilización	200 mg/kg
04.2.2.6	Pulpas y preparados de hortalizas (incluidos hongos y setas, raíces y tubérculos, legumbres y leguminosas y aloe vera) algas marinas y nueces y semillas (como los postres y las salsas a base de hortalizas y hortalizas confitadas) distintos de los indicados en la categoría de alimentos 04.2.2.5	200 mg/kg
05.1.4	Productos de cacao y chocolate	80 mg/kg
05.1.5	Productos de imitación y sucedáneos del chocolate	80 mg/kg
05.2	Dulces distintos de los indicados en las categorías de alimentos 05.1, 05.3 y 05.4, incluidos los caramelos duros y blandos, los turrones etc.	300 mg/kg
05.3	Goma de mascar	300 mg/kg
05.4	Decoraciones (p.ej., para productos de panadería fina), revestimientos (que no sean de fruta) y salsas dulces	500 mg/kg
06.3	Cereales para el desayuno, incluidos los copos de avena	200 mg/kg
06.5	Postres a base de cereales y almidón (p.ej. pudines de arroz, pudines de mandioca)	150 mg/kg
07.2	Productos de panadería fina (dulces, salados, aromatizados) y mezclas	200 mg/kg
08.0	Carne y productos cárnicos, incluidos los de aves de corral y caza	500 mg/kg
09.1.1	Pescado fresco	300 mg/kg

Fuente: Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 67.04.54:10. Anexo de la resolución No. 283-2012 (COMIECO-LXII).

*BPM: Buenas Prácticas de Manufactura: la cantidad de aditivo que se añada al alimento se limitará a la dosis mínima necesaria para obtener el efecto deseado. La cantidad de aditivo que pase a formar parte del alimento como consecuencia de su uso en la fabricación, elaboración o envasado de un alimento y que no tenga por objeto obtener ningún efecto físico o técnico en el alimento mismo, se reducirá en la mayor medida que sea razonablemente posible.

Cuadro No. 10: Niveles máximos permitidos para el colorante artificial Negro brillante.

NEGRO BRILLANTE PN INS 151		
No categoría de alimentos	Categoría de alimentos	Nivel máximo
01.6.2.2	Corteza de queso madurado	BPM*
01.6.4	Queso elaborado, fundido	100 mg/kg
01.7	Postres lácteos (p. ej., pudines, yogur aromatizado o con fruta)	150 mg/kg
02.4	Postres a base de grasas, excluidos los postres lácteos de la categoría de alimentos 01.7	150 mg/kg
03.0	Hielos comestibles, incluidos los sorbetes	150 mg/kg

04.1.2.4	Frutas en conserva enlatadas o en frasco solo para frutas rojas (pasteurizadas)	200 mg/kg
04.1.2.7	Frutas confitadas	200 mg/kg
04.1.2.9	Postres a base de fruta, incluidos los postres a base de agua con aromas de fruta	150 mg/kg
05.2	Dulces distintos de los indicados en las categorías de alimentos 05.1, 05.3 y 05.4, incluidos los caramelos duros y blandos, los turrones etc.	300 mg/kg
05.3	Goma de mascar	300 mg/kg

Fuente: Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 67.04.54:10. Anexo de la resolución No. 283-2012 (COMIECO-LXII).

*BPM: Buenas Prácticas de Manufactura: la cantidad de aditivo que se añada al alimento se limitará a la dosis mínima necesaria para obtener el efecto deseado. La cantidad de aditivo que pase a formar parte del alimento como consecuencia de su uso en la fabricación, elaboración o envasado de un alimento y que no tenga por objeto obtener ningún efecto físico o técnico en el alimento mismo, se reducirá en la mayor medida que sea razonablemente posible.

Cuadro No. 11: Niveles máximos permitidos para el colorante artificial Óxido de hierro.

OXIDOS DE HIERRO		
Oxido de hierro negro	INS 172i	
Oxido de hierro rojo	INS 172ii	
Oxido de hierro amarillo	INS 172iii	
No categoría de alimentos	Categoría de alimentos	Nivel máximo
01.6.2.2	Corteza de queso madurado	100 mg/kg
01.6.4	Queso elaborado, fundido	50 mg/kg
01.7	Postres lácteos (p. ej., pudines, yogur aromatizado o con fruta)	100 mg/kg
02.4	Postres a base de grasas, excluidos los postres lácteos de la categoría de alimentos 01.7	350 mg/kg
03.0	Hielos comestibles, incluidos los sorbetes	300 mg/kg
04.1.1.2	Frutas frescas tratadas en la superficie	1000 mg/kg
04.1.2.4	Frutas en conserva enlatadas o en frasco (pasteurizadas)	300 mg/kg
04.1.2.5	Confituras, jaleas mermeladas	200 mg/kg
04.1.2.6	Productos para untar a base de fruta (p. ej., el chutney, excluidos los productos de la categoría de alimentos 04.1.2.5	500 mg/kg
04.1.2.7	Frutas confitadas	250 mg/kg
04.1.2.9	Postres a base de fruta, incluidos los postres a base de agua con aromas de fruta	200 mg/kg
05.2	Dulces distintos de los indicados en las categorías de alimentos 05.1, 05.3 y 05.4, incluidos los caramelos duros y blandos, los turrones etc.	200 mg/kg

05.3	Goma de mascar	10000 mg/kg
05.4	Decoraciones (p.ej., para productos de panadería fina), revestimientos (que no sean de fruta) y salsas dulces	100 mg/kg
06.2	Harinas y almidones	300 mg/kg
06.3	Cereales para el desayuno, incluidos los copos de avena	75 mg/kg
06.5	Postres a base de cereales y almidón (p.ej. pudines de arroz, pudines de mandioca)	75 mg/kg
07.2	Productos de panadería fina (dulces, salados, aromatizados) y mezclas	100 mg/kg
08.4	Tripas comestibles (p.ej., para embutidos)	1000 mg/kg
09.2.5	Pescado y productos pesqueros ahumados, desecados, fermentados y/o salados, incluidos moluscos, crustáceos y equinodermos	250 mg/kg
09.3.3	Sucedáneos de salmón, caviar y otros productos pesqueros a base de huevas	100 mg/kg
10.1	Huevos frescos	BPM*
12.2.2	Aderezos y condimentos	1000 mg/kg

Fuente: Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 67.04.54:10. Anexo de la resolución No. 283-2012 (COMIECO-LXII).

*BPM: Buenas Prácticas de Manufactura: la cantidad de aditivo que se añada al alimento se limitará a la dosis mínima necesaria para obtener el efecto deseado. La cantidad de aditivo que pase a formar parte del alimento como consecuencia de su uso en la fabricación, elaboración o envasado de un alimento y que no tenga por objeto obtener ningún efecto físico o técnico en el alimento mismo, se reducirá en la mayor medida que sea razonablemente posible.

Cuadro No. 12: Niveles máximos permitidos para el colorante artificial Rojo Allura.

ROJO ALLURA AC		INS 129
No categoría de alimentos	Categoría de alimentos	Nivel máximo
01.1.2	Bebidas lácteas, saborizadas y/o fermentadas (p. ej., leche con chocolate, cacao, ponche de huevo, yogur para beber, bebidas a base de suero)	300 mg/kg
01.6.2.2	Corteza de queso madurado	100 mg/kg
01.6.4	Queso elaborado, fundido	100 mg/kg
01.6.4.2	Queso fundido aromatizado, incluido el que contiene fruta, hortalizas, carne, etc.	100 mg/kg
01.6.5	Productos similares al queso	300 mg/kg
01.7	Postres lácteos (p. ej., pudines, yogur aromatizado o con fruta)	300 mg/kg
02.1.2	Grasas y aceites vegetales	500 mg/kg
02.1.3	Manteca de cerdo, cebo, aceite de pescado y otras grasas de origen animal	500 mg/kg

02.1.4	Mezcla de aceites y/o grasas de origen animal y vegetal. Mezclas de las categorías 2.1.2 y 2.1.3	500 mg/kg
02.2.1.1	Mantequilla y mantequilla concentrada	300 mg/kg
02.2.1.2	Margarina y productos similares	300 mg/kg
02.4	Postres a base de grasas, excluidos los postres lácteos de la categoría de alimentos 01.7	300 mg/kg
03.0	Hielos comestibles, incluidos los sorbetes	300 mg/kg
04.1.1.2	Frutas frescas tratadas en la superficie	500 mg/kg
04.1.2.4	Frutas en conserva enlatadas o en frasco (pasteurizadas)	200 mg/kg
04.1.2.5	Confituras, jaleas mermeladas	500 mg/kg
04.1.2.6	Productos para untar a base de fruta (p. ej., el chutney, excluidos los productos de la categoría de alimentos 04.1.2.5	500 mg/kg
04.1.2.7	Frutas confitadas	300 mg/kg
04.1.2.8	Preparados a base de fruta, incluida la pulpa, los purés, los revestimientos de fruta y la leche de coco	800 mg/kg
04.1.2.9	Postres a base de fruta, incluidos los postres a base de agua con aromas de fruta	300 mg/kg
04.1.2.11	Rellenos de fruta para panadería	800 mg/kg
04.2.1.2	Hortalizas (incluidos hongos y setas, raíces y tubérculos, legumbres y leguminosas (incluida la soja) y aloe vera), algas marinas y nueces y semillas frescas tratadas en la superficie	500 mg/kg
04.2.2.3	Hortalizas (incluidos hongos y setas, raíces y tubérculos, legumbres y leguminosas y aloe vera) y algas marinas en vinagre, aceite, salmuera o salsa de soya	500 mg/kg
04.2.2.4	Hortalizas (incluidos hongos y setas, raíces y tubérculos legumbres y leguminosas y aloe vera) y algas marinas en conserva, en latas o frascos (pasteurizadas) o en bolsas de esterilización	200 mg/kg
04.2.2.6	Pulpas y preparados de hortalizas (incluidos hongos y setas, raíces y tubérculos, legumbres y leguminosas y aloe vera) algas marinas y nueces y semillas (como los postres y las salsas a base de hortalizas y hortalizas confitadas) distintos de los indicadas en la categoría de alimentos 04.2.2.5	200 mg/kg
05.1.3	Productos para untar a base de cacao, incluidos rellenos a base de cacao	300 mg/kg
05.1.4	Productos de cacao y chocolate	300 mg/kg
05.1.5	Productos de imitación y sucedáneos del chocolate	300 mg/kg
05.2	Dulces distintos de los indicados en las categorías de alimentos 05.1, 05.3 y 05.4, incluidos los caramelos duros y blandos, los turrones etc.	348 mg/kg
05.3	Goma de mascar	467 mg/kg
05.4	Decoraciones (p.ej., para productos de panadería fina), revestimientos	500 mg/kg

Fuente: Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 67.04.54:10. Anexo de la resolución No. 283-2012 (COMIECO-LXII).

Cuadro No. 13: Niveles máximos permitidos para el colorante artificial Rojo de Azorrubina.

ROJO DE AZORRUBINA (CARMOISINA) INS 122		
No categoría de alimentos	Categoría de alimentos	Nivel máximo
05.2.1	Caramelos duros	50 mg/kg
05.2.2	Caramelos blandos	50 mg/kg
05.3	Goma de mascar	50 mg/kg
14.1.4.1	Bebidas a base de agua saborizadas con gas	50 mg/kg

Fuente: Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 67.04.54:10. Anexo de la resolución No. 283-2012 (COMIECO-LXII).

Cuadro No. 14: Niveles máximos permitidos para el colorante artificial Tartracina.

TARTRACINA INS 102		
No categoría de alimentos	Categoría de alimentos	Nivel máximo
01.1.2	Bebidas lácteas, saborizadas y/o fermentadas (p. ej., leche con chocolate, cacao, ponche de huevo, yogur para beber, bebidas a base de suero)	300 mg/kg
01.3.2	Blanqueadores de bebidas	300 mg/kg
01.6.2.2	Corteza de queso madurado	100 mg/kg
01.6.4	Queso elaborado, fundido	200 mg/kg
01.6.5	Productos similares al queso	300 mg/kg
01.7	Postres lácteos (p. ej., pudines, yogur aromatizado o con fruta)	300 mg/kg
02.1.2	Grasas y aceites vegetales	300 mg/kg
02.1.3	Manteca de cerdo, cebo, aceite de pescado y otras grasas de origen animal	300 mg/kg
02.1.4	Mezcla de aceites y/o grasas de origen animal y vegetal. Mezclas de las categorías 2.1.2 y 2.1.3	300 mg/kg
02.2.1.1	Mantequilla y mantequilla concentrada	300 mg/kg
02.2.1.2	Margarina y productos similares	300 mg/kg
02.4	Postres a base de grasas, excluidos los postres lácteos de la categoría de alimentos 01.7	300 mg/kg
03.0	Hielos comestibles, incluidos los sorbetes	300 mg/kg
04.1.2.4	Frutas en conserva enlatadas o en frasco (pasteurizadas)	200 mg/kg

04.1.2.5	Confituras, jaleas mermeladas	500 mg/kg
04.1.2.6	Productos para untar a base de fruta (p. ej., el chutney, excluidos los productos de la categoría de alimentos 04.1.2.5)	500 mg/kg
04.1.2.7	Frutas confitadas	300 mg/kg
04.1.2.8	Preparados a base de fruta, incluida la pulpa, los purés, los revestimientos de fruta y la leche de coco	500 mg/kg
04.1.2.9	Postres a base de fruta, incluidos los postres a base de agua con aromas de fruta	300 mg/kg
04.1.2.11	Rellenos de fruta para panadería	300 mg/kg
04.2.2.4	Hortalizas (incluidos hongos y setas, raíces y tubérculos legumbres y leguminosas y aloe vera) y algas marinas en conserva, en latas o frascos (pasteurizadas) o en bolsas de esterilización	200 mg/kg
04.2.2.6	Pulpas y preparados de hortalizas (incluidos hongos y setas, raíces y tubérculos, legumbres y leguminosas y aloe vera) algas marinas y nueces y semillas (como los postres y las salsas a base de hortalizas y hortalizas confitadas) distintos de los indicados en la categoría de alimentos 04.2.2.5	200 mg/kg
04.2.2.7	Productos a base de hortalizas (incluidos hongos y setas, raíces y tubérculos, legumbres y leguminosas y aloe vera) y algas marinas fermentadas, excluidos los productos fermentados de soja de la categoría 12.10	500 mg/kg
05.1	Productos de cacao y chocolate, incluidos los productos de imitación y los sucedáneos del chocolate	300 mg/kg
05.2	Dulces distintos de los indicados en las categorías de alimentos 05.1, 05.3 y 05.4, incluidos los caramelos duros y blandos, los turrones etc.	300 mg/kg
05.3	Goma de mascar	300 mg/kg
05.4	Decoraciones (p.ej., para productos de panadería fina), revestimientos	500 mg/kg

Fuente: Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 67.04.54:10. Anexo de la resolución No. 283-2012 (COMIECO-LXII).

Cuadro No. 15: Niveles máximos permitidos para el colorante artificial Verde S

VERDE S (VERDE BRILLANTE BS) INS: 142		
No categoría de alimentos	Categoría de alimentos	Nivel máximo
05.3	Goma de mascar	300 mg/kg

Fuente: Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 67.04.54:10. Anexo de la resolución No. 283-2012 (COMIECO-LXII).

Cuadro No. 16: Niveles máximos permitidos para el colorante artificial Verde Solido

VERDE SOLIDO FCF INS 143		
No categoría de alimentos	Categoría de alimentos	Nivel máximo
01.1.2	Bebidas lácteas, saborizadas y/o fermentadas (p. ej., leche con chocolate, cacao, ponche de huevo, yogur para beber, bebidas a base de suero)	100 mg/kg

01.7	Postres lácteos (p. ej., pudines, yogur aromatizado o con fruta)	100 mg/kg
02.1.2	Grasas y aceites vegetales	BPM*
02.1.3	Manteca de cerdo, cebo, aceite de pescado y otras grasas de origen animal	BPM*
02.1.4	Mezcla de aceites y/o grasas de origen animal y vegetal. Mezclas de las categorías 2.1.2 y 2.1.3	BPM*
02.4	Postres a base de grasas, excluidos los postres lácteos de la categoría de alimentos 01.7	100 mg/kg
03.0	Hielos comestibles, incluidos los sorbetes	100 mg/kg
04.1.2.4	Frutas en conserva enlatadas o en frasco (pasteurizadas)	200 mg/kg
04.1.2.5	Confituras, jaleas mermeladas	400 mg/kg
04.1.2.6	Productos para untar a base de fruta (p. ej., el chutney, excluidos los productos de la categoría de alimentos 04.1.2.5)	100 mg/kg
04.1.2.7	Frutas confitadas	100 mg/kg
04.1.2.8	Preparados a base de fruta, incluida la pulpa, los purés, los revestimientos de fruta y la leche de coco	100 mg/kg
04.1.2.9	Postres a base de fruta, incluidos los postres a base de agua con aromas de fruta	100 mg/kg

Fuente: Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 67.04.54:10. Anexo de la resolución No. 283-2012 (COMIECO-LXII).

*BPM: Buenas Prácticas de Manufactura: la cantidad de aditivo que se añada al alimento se limitará a la dosis mínima necesaria para obtener el efecto deseado. La cantidad de aditivo que pase a formar parte del alimento como consecuencia de su uso en la fabricación, elaboración o envasado de un alimento y que no tenga por objeto obtener ningún efecto físico o técnico en el alimento mismo, se reducirá en la mayor medida que sea razonablemente posible.

Con la sanción de la Ley de alimentos y drogas de 1906, el departamento de agricultura de los E.E.U.U. estableció normas por las cuales unos pocos colorantes se empezaron a conocer como colorantes permitidos, ciertos colores de estos pueden usarse en alimentos, drogas y cosméticos, pero solo después de que la FDA certifica que cumplen ciertas especificaciones.

De esta lista de colorantes permitidos pueden producirse otros colores por combinación o mezcla, que pueden usarse en alimentos, bebidas y preparaciones farmacéuticas. Las combinaciones de colorantes deben recertificarse.

Entre los colores permitidos están los colorantes FD&C, que pueden usarse legalmente en alimentos, drogas y cosméticos.

Los colorantes D&C extremos, que legalmente sólo pueden usarse en drogas y cosméticos de uso externo (Remington, 1998).

3.4 Colorantes Artificiales Permitidos Para Su Uso En Alimentos

3.4.1 Tartrazina: FD&C Amarillo No.5:

- **Origen:** Colorante sintético pirazolona. (COGUANOR, Aditivos alimentarios permitidos para consumo humano Doc. Tec. NGO 34 192, 2007)

- **Función & Especificaciones:** Colorante amarillo alimentario. Polvo de color amarillo; deberá ser soluble en agua. (COGUANOR, Aditivos alimentarios. Colorantes artificiales. Especificaciones. Doc. Tec. NGO 34 148, 2007)

- **Ingesta diaria:** Máximo 7.5 mg/kg de peso corporal.

- **Efectos colaterales:** La tartrazina es un colorante azoico capaz de producir reacciones adversas en un pequeño porcentaje (alrededor del 10%) de entre las personas alérgicas a la aspirina. En estos casos, la tartrazina también induce síntomas de intolerancia. Está implicada en un gran porcentaje de casos de síndrome de ADHD (hiperactividad) en los niños, cuando ha sido utilizada en combinación con los benzoatos (E210-215). En un estudio controlado doble ciego realizado en niños cuyo mal comportamiento se atribuía, según sus padres, a la ingesta de aditivos alimentarios, se dio a ingerir a los niños productos con colorantes alimentarios (amaranto, amarillo oca y tartrazina) en dosis muy superiores a la ingesta diaria estimada. Aunque los investigadores del estudio detectaron un empeoramiento de los indicadores del comportamiento tras ingerir los colorantes alimentarios, los padres no apreciaron diferencia entre los periodos en que tomaban colorantes y los que tomaban placebo. Otro estudio similar detectó una asociación dependiente de la dosis entre la ingesta de tartrazina y los cambios de comportamiento (irritabilidad, inquietud y alteraciones del sueño) (Sweetman, 2008).

Actualmente, también se sabe que la tartrazina es uno de los principales culpables en la hiperactividad en los niños, ya que es el colorante de tono rojo amarillento más utilizado en jugos artificiales, gelatinas, bebidas gaseosas, conservas y caramelos (Suarez, 2007).

Esta sustancia afecta directamente a la conducta de los niños por dos mecanismos, genera una reacción pseudo-alérgica en el organismo y la consecuente liberación de histamina. Cuando la tartrazina llega al torrente sanguíneo afecta directamente a las células para que liberen histamina sin activar al sistema inmune. Por ello, no se manifiestan los síntomas propios de la alergia como dilatación de capilares, baja en la presión sanguínea, incremento en la secreción de jugos gástricos y picazón. Pero sí se evidencian cambios anímicos, irritabilidad, insomnio y ansiedad en los niños (Suarez, 2007).

Así mismo, las personas asmáticas también pueden experimentar síntomas luego del consumo de este aditivo, ya que se sabe actúa como un agente liberador de histamina. (Sanders, 2012) Existen numerosos informes sobre casos de reacciones a este colorante del tipo angioedema, asma, urticaria y shock anafiláctico. Algunos de los casos descritos reflejan una sensibilidad cruzada, especialmente con AAS. (Sweetman, 2008)

- **Advertencia:** En el rótulo de los alimentos que contengan tartrazina debe designarse en forma completa, es decir, por su nombre común, por su nombre químico y por el número índice de color; adicionalmente, se podrá designar por un nombre sinónimo. Tal exigencia se debe a que el colorante tartrazina ha mostrado propiedades alergénicas para algunas personas. (COGUANOR, Aditivos alimentarios permitidos para consumo humano Doc. Tec. NGO 34 192, 2007)

3.4.2 **Amarillo Ocaso o Crepúsculo: FD&C Amarillo No.6:**

- **Origen:** Colorante sintético monoazo. (COGUANOR, Aditivos alimentarios permitidos para consumo humano Doc. Tec. NGO 34 192, 2007)
- **Función & Especificaciones:** Colorante amarillo alimentario. Polvo o gránulos de color rojo anaranjado y deberá ser soluble en agua. (COGUANOR, Aditivos alimentarios. Colorantes artificiales. Especificaciones. Doc. Tec. NGO 34 148, 2007)
- **Ingesta diaria:** Máximo 2.5 mg/kg de peso corporal.
- **Efectos colaterales:** En 1984 se acusó a este colorante de ser cancerígeno, aunque esta afirmación no llegara a demostrarse. También debido a que es un colorante azoico, puede provocar intolerancia en las personas que se ven afectadas por los salicilatos. Además, es un liberador de histamina, y puede intensificar los síntomas del asma. También está implicado en casos de hiperactividad en niños cuando ha sido utilizado en combinación con los benzoatos (Sanders, 2012) . Se han notificado reacciones de hipersensibilidad como dolor cólico intenso y edema angioneurótico en pacientes que tomaron preparados que contenían este colorante (Sweetman, 2008).

3.4.3 **Amaranto: FD&C Rojo No.2:**

- **Origen:** Colorante sintético monoazo. (COGUANOR, Aditivos alimentarios permitidos para consumo humano Doc. Tec. NGO 34 192, 2007)
- **Función & Especificaciones:** Colorante rojo alimentario. Polvo o gránulos, de color castaño rojizo a castaño rojizo oscuro; deberá ser soluble en agua y casi insoluble en etanol. (COGUANOR, Aditivos alimentarios.

Colorantes artificiales. Especificaciones. Doc. Tec. NGO 34 148, 2007)

- **Ingesta diaria:** Máximo 0.5 mg/kg de peso corporal.
- **Efectos colaterales:** Debido a que es un colorante azoico puede provocar intolerancia en aquellas personas que se vean afectadas por los salicilatos. Además, es un liberador de histamina, y puede intensificar los síntomas del asma. También está implicado en casos de hiperactividad en niños cuando es utilizado en combinación con los benzoatos. Se ha establecido una conexión entre el consumo de amaranto y la producción de tumores en ratas, pero aún no está comprobada en los seres humanos. No obstante, muchos países han restringido su uso y se hallan a la espera de mayores pruebas, viéndose la IDA reducida hasta 0.5 mg/kg (Sanders, 2012).
- **Advertencia:** Este colorante rojo amaranto se ha utilizado como aditivo alimentario desde principios de siglo. Sin embargo, a partir de 1970 se cuestionó la seguridad de su empleo (Haveland Smith, 1982). Aunque en los primeros estudios en animales se hallaron pruebas de carcinogenicidad del amaranto, los estudios posteriores no confirmaron estos resultados y en el Reino Unido está aprobado su uso como colorante alimenticio (Sweetman, 2008). La administración estadounidense, al no considerarlo plenamente seguro, lo prohibió en 1976. En la Unión Europea está aceptado su uso, pero algunos países como Francia e Italia lo han prohibido. La tendencia parece ser en todo caso la de eliminarlo progresivamente de la listas autorizadas para cada alimento, de tal modo que finalmente, aunque esté autorizado genéricamente, no pueda utilizarse en la realidad (Haveland Smith, 1982).

3.4.4 Rojo Allura: FDC Rojo No.40:

- **Origen:** Colorante sintético monoazo (COGUANOR, Aditivos alimentarios permitidos para consumo humano Doc. Tec. NGO 34 192, 2007).

- **Función & características:** Colorante rojo alimentario. Polvo de color rojo oscuro; deberá ser soluble en agua e insoluble en etanol (COGUANOR, Aditivos alimentarios. Colorantes artificiales. Especificaciones. Doc. Tec. NGO 34 148, 2007).
- **Ingesta diaria:** Máximo 7 mg/kg. de peso corporal.
- **Efectos colaterales:** Debido a que es un colorante azoico puede provocar intolerancia en aquellas personas que se vean afectadas por los salicilatos. Además, es un liberador de histamina, y puede intensificar los síntomas del asma. Así mismo, está implicado en la producción de hiperactividad en niños, cuando es utilizado en combinación con los benzoatos. Cuando está presente en altas concentraciones, uno de sus productos de degradación causa cáncer de vejiga en los animales (Sanders, 2012).
- **Advertencia:** Este colorante se utiliza desde la década de 1980, sobre todo en Estados Unidos, (con el código FD&C Red #40), donde se introdujo para sustituir al amaranto, siendo el más utilizado en este país. Se ha introducido recientemente en las listas de la Unión Europea, para eliminar problemas comerciales (Sanders, 2012).

3.4.5 **Eritrosina: FD&C Rojo No.3:**

- **Origen:** Colorante sintético rojo que contiene yodo. Colorante xanteno. (COGUANOR, Aditivos alimentarios permitidos para consumo humano Doc. Tec. NGO 34 192, 2007)
- **Función & características:** Colorante rojo alimentario. Polvo de color rojo, deberá ser libremente soluble en agua y soluble en etanol (COGUANOR, Aditivos alimentarios. Colorantes artificiales. Especificaciones. Doc. Tec.

NGO 34 148, 2007).

- **Ingesta diaria:** Máximo 0.1 mg/kg de peso corporal.
- **Efectos colaterales:** Se conocen pocos efectos secundarios originados por su consumo en las concentraciones usadas normalmente en los alimentos. Unos pocos incidentes han reportado un incremento en la hiperactividad, así como una posible conexión con mutagenicidad. La eritrosina causa un aumento de la fotosensibilidad en las personas sensibles a la luz solar. En altas concentraciones interfiere con el metabolismo del yodo. Sin embargo, estas concentraciones no pueden ser alcanzadas a través del consumo de alimentos (Sanders, 2012).
- **Advertencia:** Una característica peculiar de este colorante es la de incluir en su molécula 4 átomos de yodo, lo que hace que este elemento represente más de la mitad de su peso total. El principal riesgo sanitario de su utilización es su acción sobre la tiroides, debido a su alto contenido en yodo. Aunque en su forma original se absorbe muy poco, no se conoce bien hasta qué punto el metabolismo de las bacterias intestinales puede producir su descomposición, originando sustancias más sencillas, o yodo libre, que sean más fácilmente absorbibles (Calvo, 2007). Aunque los estudios en animales indicaron que la eritrosina podía afectar a la glándula tiroides, las autoridades sanitarias, al cotejar estos datos con estudios posteriores, concluyeron que este colorante no es genotóxico ni mutagénico, y aprobaron su uso como colorante alimenticio (Sweetman, 2008).

3.4.6 **Indigotina: FD&C Azul No.2:**

- **Origen:** Colorante azul, presente de forma natural en el arbusto *Indigofera tinctoria*, aunque comercialmente es producido de manera sintética. Colorante indigoide (COGUANOR, Aditivos alimentarios permitidos para consumo humano Doc. Tec. NGO 34 192, 2007).

- **Función & características:** Colorante azul alimentario. Polvo de color azul; deberá ser libremente soluble en agua y solo ligeramente soluble en etanol (COGUANOR, Aditivos alimentarios. Colorantes artificiales. Especificaciones. Doc. Tec. NGO 34 148, 2007).
- **Ingesta diaria:** Máximo 5 mg/kg de peso corporal.
- **Efectos colaterales:** Raramente ocurren efectos colaterales en las concentraciones utilizadas en los alimentos. Se han descrito muy pocos casos de reacciones alérgicas debidas al acoplamiento del colorante a las proteínas (corporales). También puede actuar como un liberador de histamina (Sanders, 2012).

3.4.7 Azul brillante FCF: FD&C Azul No.1:

- **Origen:** Colorante sintético trifenilmetano (COGUANOR, Aditivos alimentarios permitidos para consumo humano Doc. Tec. NGO 34 192, 2007).
- **Función & características:** Colorante azul alimentario. Polvo de color azul claro y deberá ser soluble en agua (COGUANOR, Aditivos alimentarios. Colorantes artificiales. Especificaciones. Doc. Tec. NGO 34 148, 2007).
- **Ingesta diaria:** Máximo 12.5 mg/kg de peso corporal.
- **Efectos colaterales:** Raramente ocurren efectos colaterales en las concentraciones utilizadas en los alimentos. Se han reportado algunos casos de reacciones alérgicas (Sanders, 2012). Se ha descrito coloración azulada de la piel, inicialmente atribuida a cianosis, en niños que habían recibido grandes cantidades de este colorante en alimentación enteral (Sweetman, 2008).

3.5 Métodos Analíticos Utilizados en la Identificación y Cuantificación de Colorantes.

3.5.1 Cromatografía

La cromatografía es la técnica de separación de uso más amplio. La cromatografía circular sobre papel, la ascendente y en capa fina, son igualmente efectivas. Cuando se trata de determinaciones cuantitativas, la cromatografía en columna líquida es adecuada (Valderrama, 2007).

La cromatografía sobre papel ha alcanzado en general un auge extraordinario, y a veces es el único medio factible para separar e identificar este grupo complejo de colorantes sintéticos. Se ha demostrado que casi todas las marcas de papel de calidad son útiles para los fines de separación cromatográfica (Valderrama, 2007).

3.5.2 Espectrofotometría Visible y Ultravioleta

La espectrofotometría es un método que establece la técnica para la identificación y cuantificación de sustancias por medio de la lectura con un detector de absorción ultravioleta y visible. La espectrofotometría se basa en la medida de la absorción por las diferentes sustancias de una radiación electromagnética de longitudes de onda situadas en una banda definida y estrecha, esencialmente monocromática. La banda espectral empleada en las mediciones se extiende desde las longitudes de onda corta de la zona ultravioleta hasta la visible del espectro. Por cuestiones prácticas este intervalo espectral puede considerarse como si estuviera constituido por dos zonas, la ultravioleta de 190nm a 380 nm y la visible a 380nm a 780 nm (Holler & Skoog, 2001).

La espectrofotometría en la zona visible (que antes solía llamarse colorimetría), es la medida de la absorción de luz visible, que generalmente no es monocromática pero que se selecciona mediante el empleo de filtros

pigmentados o de interferencia. En general, los espectros ultravioleta y visible de una sustancia, no tienen un alto grado de especificidad, sin embargo son muy adecuados para las valoraciones cuantitativas y en el caso de muchas sustancias constituyen un medio útil de identificación adicional (Secretaría de Salud, 2004).

La energía de un haz radiante disminuye en relación con la distancia que viaja a través de un medio absorbente. También disminuye en relación con la concentración de iones o moléculas absorbentes presentes en el medio. Estos dos factores determinan la proporción de la energía incidente total que es transmitida adicional (Secretaría de Salud, 2004).

La disminución de la energía radiante de radiación monocromática que pasa a través de un medio absorbente homogéneo, se establece cuantitativamente por la ley de Beer-Lambert (Holler & Skoog, 2001):

$$A = abc = \text{Log } 10 (1/T)$$

Donde:

A= absorbancia, Logaritmo en base 10 del inverso de la transmitancia (T)

Entre los términos descriptivos usados anteriormente se incluye densidad óptica y extinción (Holler & Skoog, 2001).

a= Absortividad: Cociente de dividir la absorbancia (A) entre el producto de la concentración de la sustancia (c), y la longitud de la trayectoria de la energía luminosa (b)

b= Longitud de la trayectoria expresada en centímetros.

c= Concentración de la sustancia expresada en gramos por litro.

T= Transmitancia: Cociente de dividir la energía radiante transmitida por la

sustancia presente en el medio entre la energía radiante incidente (Holler & Skoog, 2001).

3.6 Estudios Realizados En Guatemala para la Cuantificación e Identificación de Colorantes en Alimentos.

- 3.6.1 Vallejos, E. (2012) en estudio de Tesis Ad Gradum de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala, **“Estandarización del Método para la Cuantificación del Colorante Amarillo F&D No.5 (Tartrazina) de Salsa de Tomate tipo Ketchup que se Distribuyen en Guatemala”** los objetivos primordiales del estudio fueron la determinación de la cantidad de amarillo FD&C No. 5 (tartrazina) en salsas de tomate tipo ketchup producidas en la ciudad de Guatemala así como estandarizar la metodología analítica para la cuantificación de dicho colorante en salsa tipo ketchup utilizando el espectrofotómetro UV/VIS. Luego del análisis instrumental se concluyó que el mayor número de muestras analizadas sobrepasan los límites establecidos por GOGUANOR NGO 34215.
- 3.6.2 Cristales, I. (2009) en estudio de Tesis Ad Gradum de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala, **“Identificación de Colorantes Artificiales en Refrescos de Leche, Empacados en Envase Tetra Brick con Sabor Chocolate, Fresa, Vainilla y Variedades, Según Normas GOGUANOR NGO 34039 y NGO 34192, que se Consumen en la Ciudad Capital”** Este informe tuvo como objetivo, determinar si los colorantes artificiales en los refrescos de leche están sujetos a la norma COGUANOR NGO 34192 aditivos alimentarios permitidos para consumo humano y a la norma COGUANOR 34039 que es la norma de etiquetado de productos alimenticios envasados para consumo humano, además de verificar el porcentaje de grasa láctea en los refrescos de leche para asegurar que hayan sido catalogados como tales. Al concluir la evaluación se determinó que los refrescos de leche evaluados no cumplieron con la

normativa NGO 34 039 de Etiquetado de Producto Alimenticios Envasados para Consumo Humano; que indica que deben estar presentes en la etiqueta todos los ingredientes incluyendo los aditivos alimentarios (colorantes), ya que se encontró presencia de colorantes artificiales en cromatografía de capa fina.

- 3.6.3 Corzo, L. (2008) en estudio de Tesis Ad Gradum de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala, **“Determinación de la Presencia de Colorantes Amarillo FD&C No.5 (Tartrazina) no Declarado en la Etiqueta de Salsa de Tomate tipo Ketchup que se Produce en Guatemala”** el objetivo principal de la investigación fue la verificación que las salsas de tomate tipo ketchup que no registran en la etiqueta como parte de sus ingredientes al colorante amarillo FD&C No.5 (tartrazina) contienen o no dicho colorante, comprobando por medio de identificación utilizando la técnica de cromatografía en capa fina que no todos los productores guatemaltecos de salsas de tomate tipo ketchup cumplen con la ley del consumidor y usuario ya que aunque no registran dicho colorante en la etiqueta, estos son agregados. En dicho documento se concluyó que seis de ocho de las muestras analizadas cumplen con la ley del derecho del consumidor y usuario, y dos de seis de las muestras analizadas no cumplen con dicha ley ya que no registran en su etiqueta dichos colorantes y estos son agregados al producto.
- 3.6.4 Rodríguez, S. (2008) en el estudio de Tesis Ad Gradum de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala, **“Identificación y Cuantificación de Colorantes Artificiales en Refrescos en Polvo Elaborados y/o Distribuidos en Guatemala”**, en esta investigación se identificaron y cuantificaron los colorantes artificiales utilizados en los refrescos en polvo de mayor consumo fabricados y/o distribuidos en Guatemala, determinando si los refrescos en polvo cumplen con lo que establecen las normas COGUANOR NGO 34 192, NGO 34 148 y NGO 34

187; el método utilizado para la extracción de los colorantes, fue el tradicional con lana desengrasada, las soluciones extraídas de estas muestras fueron analizadas en cromatografía en capa fina y sílica gel como fase estacionaria, por último se prepararon soluciones estándar de cada uno de los colorantes identificados en las muestras en estudio, con estos estándares se determinó la curva de calibración de cada colorantes con el fin de obtener por medio de regresión lineal la concentración de los colorantes empleando el espectrofotómetro UV-Visible. Según los resultados obtenidos se determinó que los colorantes utilizados para la elaboración de los refrescos en polvo en estudio si se encuentran identificados en la etiqueta, y los mismos fueron utilizados en las cantidades permitidas por las normas COGUANOR NGO 34 148 y 34 192.

- 3.6.5 Quiñones, A. (2008) en el estudio de Tesis Ad Gradum de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala, **“Identificación y Cuantificación de Colorantes Artificiales: Eritrosina FD & C rojo No. 3 (45430), Amarillo FD & C rojo No. 2 (16184) y Tartrazina FD & C amarillo No. 5 (19140), en conservas de Frutas (compotas) Importadas de Sudamérica y Distribuidas en Guatemala”**, el objetivo de la misma trata sobre la evaluación de la calidad y el cumplimiento de la norma COGUANOR No 34 148 de productos tipo conserva de fruta y determinar la presencia o ausencia de colorantes artificiales como aditivo así como la cuantificación de los colorantes previamente mencionados, para ello se empleó un método de extracción del colorante con lana desengrasada para luego ser identificadas por medio de cromatografía en capa fina y luego cuantificadas en un espectrofotómetro ultravioleta/visible. En dicho estudio se logró determinar que conservas de Frutas (compotas) Importadas de Sudamérica cumplen con la norma COGUANOR No 34 148 y no poseen colorantes artificiales.

- 3.6.6 Escalante, I. (2002) en el estudio de Tesis Ad Gradum de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala, **“Identificación de Colorantes Amarillo FD&C No.5 (Tartrazina) en Refrescos No Carbonatados que se Comercializan en Guatemala”**, esta investigación tuvo como objetivo principal la identificación y cuantificación del colorante Amarillo FD&C No.5 y corroborar que este cumpliera con lo que establece la norma COGUANOR NGO 342115 y 6097 para ello se analizaron ocho marcas de refrescos que se fabrican en el área metropolitana, determinado la posible presencia cuali-cuantitativa del colorante mencionado, esto se llevó a cabo utilizando para la extracción del colorante un método tradicional con lana desengrasada para ser analizadas por medio de la técnica de cromatografía en capa fina, luego de identificar el colorante se procedió a la cuantificación empleando una serie de estándares de colorantes Amarillo No.5 para luego hacer las lecturas correspondientes en el espectrofotómetro, determinando la concentración por medio de la función para determinar concentraciones que tienen el microprocesador del espectrofotómetro con relación a una concentración cero para un blanco. Según los resultados obtenidos se encontró que el colorante Amarillo FD&C No.5 es utilizado en las cantidades permitidas por las normas COGUANOR en las muestras analizadas puesto que en la mayoría de los casos está mezclado con otros colorantes artificiales o naturales. No así en el etiquetado ya que la mayoría no contiene la información mínima que requiere la norma COGUANOR NGO 4215.
- 3.6.7 Aguilar, O. (1989) en el estudio de Tesis Ad Gradum de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala, **“Identificación y Cuantificación De Colorantes Artificiales en Helados que se consumen en la ciudad de Guatemala”**, se determinó si los colorantes artificiales utilizados en la fabricación de helados en la ciudad de Guatemala pertenecen a la lista de colorantes autorizados por el gobierno a propuesta de

la COGUANOR estos se emplean a la concentración permitida, no mayor del 0.01% utilizando para la identificación la técnica de cromatografía en capa fina y posteriormente un análisis espectrofotométrico para su cuantificación, se logró determinar 5 colorantes artificiales, de los cuales 3 corresponden a los colorantes permitidos para ser usados como aditivos alimentarios en Guatemala, luego del análisis estadístico se encontró que las concentraciones de colorantes artificiales autorizados se encuentran abajo del límite máximo permitido.

4. JUSTIFICACIÓN

Debido al uso en cantidades excesivas de los colorantes artificiales en la industria alimenticia es necesario contar con métodos de cuantificación ya que dichos colorantes a cantidades no controladas pueden producir desde un ligero problema alérgico; debido a la idiosincrasia del consumidor, hasta un problema de toxicidad crónica o aguda, siendo los más vulnerables niños y personas de avanzada edad.

Con la implementación de este método de cuantificación se obtendrán procedimientos adicionales a los que ya se emplean en el Laboratorio Nacional de Salud, adecuados a las condiciones del Laboratorio, además de proporcionar herramientas que brinden información, para estudios posteriores en cuanto a la evaluación de concentraciones de colorantes artificiales en alimentos, y el cumplimiento de estas con las normas vigentes.

Siendo el Laboratorio Nacional de Salud el encargado de efectuar los análisis necesarios para la evaluación de la conformidad de los alimentos, medicamentos y productos afines, a través de la implementación de normas nacionales e internacionales, asegurando la protección de la salud pública, sanidad agropecuaria y medio ambiente, este trabajo tendrá un gran impacto en la población guatemalteca.

Por todo lo anteriormente mencionado, se hace necesaria la realización de este estudio y así mismo contribuir con datos que beneficien a la sociedad Guatemalteca.

5. OBJETIVOS

5.1 General

Implementar un método espectrofotométrico de cuantificación de colorantes artificiales en muestras de alimentos que son analizados en el área de Físicoquímico de Alimentos del Laboratorio Nacional de Salud (LNS).

5.2 Específicos

- 5.2.1 Evaluar el desempeño del método de cuantificación por medio de mediciones con estándares de concentraciones conocidas de los colorantes FD&C Amarillo No.5 (Tartrazina), FD&C Rojo No.3 (Eritrosina), FD&C Rojo No.40 (Rojo Allura), FD&C Amarillo No.6 (Amarillo Ocaso), FD&C Azul No.1 (Azul brillante).
- 5.2.2 Cuantificar los colorantes FD&C Amarillo No.5 (Tartrazina), FD&C Rojo No.3 (Eritrosina), FD&C Rojo No.40 (Rojo Allura), FD&C Amarillo No.6 (Amarillo Ocaso), FD&C Azul No.1 (Azul brillante) en muestras de dulces comerciales seleccionados por conveniencia que reporten en su etiqueta la presencia de dichos colorantes, utilizando el método espectrofotométrico de cuantificación de colorantes.
- 5.2.3 Identificar las ventajas y desventajas de la aplicación del método de cuantificación espectrofotométrica en el área de físicoquímico de alimentos.

6. HIPÓTESIS

Por ser un estudio descriptivo no se hace necesario la formulación de una hipótesis.

7. MATERIAL Y MÉTODOS

7.1 Universo y muestra

Muestras de dulces comerciales que reporten en su etiqueta la presencia de los colorantes FD&C Amarillo No.5 (Tartrazina), FD&C Rojo No.3 (Eritrosina), FD&C Rojo No.40 (Rojo Allura), FD&C Amarillo No.6 (Amarillo Ocaso), FD&C Azul No.1 (Azul brillante), seleccionados por CONVENIENCIA.

7.2 Materiales

7.2.1 Equipo

- Balanza Analítica
- Espectrofotómetro UV-Visible
- Estufa
- Campana de extracción

7.2.2 Cristalería

- Beakers de 50 mL
- Pipeta de 1 mL y 10 mL
- Micropipetas
- Balón aforado de 10 mL
- Masking tape

7.2.3 Reactivos

- Agua desmineralizada
- Hidróxido de sodio

- Ácido Acético
- Hidróxido de Amonio

7.2.4 Estándares de Colorantes

- FD&C Rojo No.3 (Eritrosina)
- FD&C Rojo No.40 (Rojo Allura)
- FD&C Amarillo No.6 (Amarillo Ocaso)
- FD&C Azul No.1 (Azul brillante)

7.2.5 Otros

- Guantes de Latex
- Marcadores
- Lapicero
- Cuaderno de apuntes
- Toalla de papel absorbente

7.3 Procedimiento

7.3.1 Preparación de la muestra (extracción)

En un beaker de 50 mL se pesaron aproximadamente 5 gramos de muestra macerada (si es sólida), y se dejaron reposar durante 10 minutos.

7.3.2 Aislamiento de los Colorantes y Fijación

Se Filtra la muestra a través de algodón, al filtrado se le agregaron 7 gotas de ácido acético al 96% y un pedazo de lana desengrasada (lana natural desengrasar con una solución de hidróxido de sodio al 15% y

luego lavar con alcohol suficiente para eliminar el restante de grasa que pueda quedar en la lana; por último lavar con abundante agua desmineralizada para terminar de limpiarla). Se calentó suavemente por 20 minutos sin que hierva.

Se dejó enfriar la solución para luego sacar la lana y lavarla con agua desmineralizada fría para fijar los colorantes, hasta que no se perciba olor a ácido acético.

7.3.3 Desmontaje

Si la lana presentaba coloración se trasladó a un beaker y se le agregaron 7 gotas de hidróxido de amonio concentrado (amoníaco) y 10 mL de agua desmineralizada (si se sospecha de la presencia de colorantes azules, utilizar carbonato de sodio al 15% en lugar de amoniaco ya que la indigotina (colorante azul) es destruida por el amoniaco). Se calentó la solución suavemente por 20 minutos y se dejó enfriar a temperatura ambiente. Por último se exprimó la lana perfectamente sobre la solución y se llevó a 25 mL en un balón aforado con agua desmineralizada. Esta solución contiene los posibles colorantes presentes en la muestra.

Si la muestra a analizar contiene un porcentaje alto de grasas, es recomendable después de la extracción, acidificar la solución con ácido acético o clorhídrico en cantidad suficiente hasta obtener un pH de 5.5 a 6.0. Luego para obtener un mejor aislamiento de los colorantes, a la solución acidificada previamente, agregar de 3 a 5 gramos de lana desgrasada, calentar a 60 °C y dejar en contacto por tiempo suficiente, aproximadamente de 20 a 30 minutos, de tal manera que se trate de extraer todos los colorantes.

Remover la lana de la solución y lavar con suficiente agua desmineralizada. Colocar en un beaker y agregar 5 mL de una solución compuesta por alcohol, agua y amoníaco (10:10:1). Calentar por 5 minutos, Remover la lana y lavar con agua desmineralizada sobre el vaso original, para una extracción completa.

7.3.4 Análisis Cuantitativo

7.3.4.1 Se prepararon soluciones estándares a partir de una solución madre de 0.025% de cada uno de los colorantes artificiales a analizar.

7.3.4.2 En cinco balones aforados de 50 mL, se midieron de 1 a 5 mL de la solución madre y se aforo a 50 mL con agua desmineralizada, para realizar la curva de calibración, (se ejecutó este procedimiento con cada uno de los colorantes artificiales).

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

7.3.4.4 Se construyó una curva de calibración de cada colorante artificial, con los estándares de cada colorante por separado, por lo menos con cinco concentraciones diferentes, y se evaluó el desempeño del método.

7.3.5 Diseño de Investigación

Este estudio se realizó en dos fases:

En la primera fase, el desempeño del método se evaluó mediante la medición espectrofotométrica de soluciones problema de los 5

colorantes, con una concentración conocida, cada medición se realizó 5 veces para cada colorante.

Con los datos obtenidos se elaboró un perfil de precisión utilizando el coeficiente de variación que representa la variación por parte del analista (repetibilidad) y entre diluciones (reproducibilidad).

La exactitud del método se evaluó por medio del porcentaje de recuperación y un sistema de regresión lineal, construida con los datos de concentración reportada versus concentración esperada de solución estándar.

Hipótesis estadísticas:

- Prueba para la pendiente

$$H_0: \beta = 1.0 \quad H_a: \beta \neq 1.0$$

- Prueba para el intercepto

$$H_0: \alpha = 0.0 \quad H_a: \alpha \neq 0.0$$

Para ambas hipótesis establecidas se utilizó la prueba estadística de la distribución t (de Student).

En la segunda fase del estudio, se cuantifico los colorantes presentes en muestras de dulces comerciales que reporten en su etiqueta la presencia de los colorantes FD&C Amarillo No.5 (Tartrazina), FD&C Rojo No.3 (Eritrosina), FD&C Rojo No.40 (Rojo Allura), FD&C Amarillo No.6 (Amarillo Ocaso), FD&C Azul No.1 (Azul brillante), seleccionados por conveniencia con el fin de tener una referencia sobre la aplicación y el rendimiento del método en muestras reales, los resultados se presentaron en una forma descriptiva, reportando media, mediana, desviación estándar y rango.

8. RESULTADOS

Con la finalidad de identificar la longitud de onda en la que presentan el máximo de absorción se realizó un barrido espectrofotométrico con diluciones de estándares de los colorantes a evaluar.

Cuadro No. 1: Longitud de onda en la que presentaron mayor absorbancia cada estándar de colorante artificial.

Colorante	Max. Absorbancia
FD&C Amarillo No.5 (Tartrazina)	429 nm
FD&C Rojo No.3 (Eritrosina)	528 nm
FD&C Rojo No.40 (Rojo Allura)	501 nm
FD&C Amarillo No.6 (Amarillo Ocaso)	482 nm
FD&C Azul No.1 (Azul Brillante)	622 nm

Fuente: Datos experimentales. Área de Fisicoquímico de Alimentos, LNS. 2012-2013

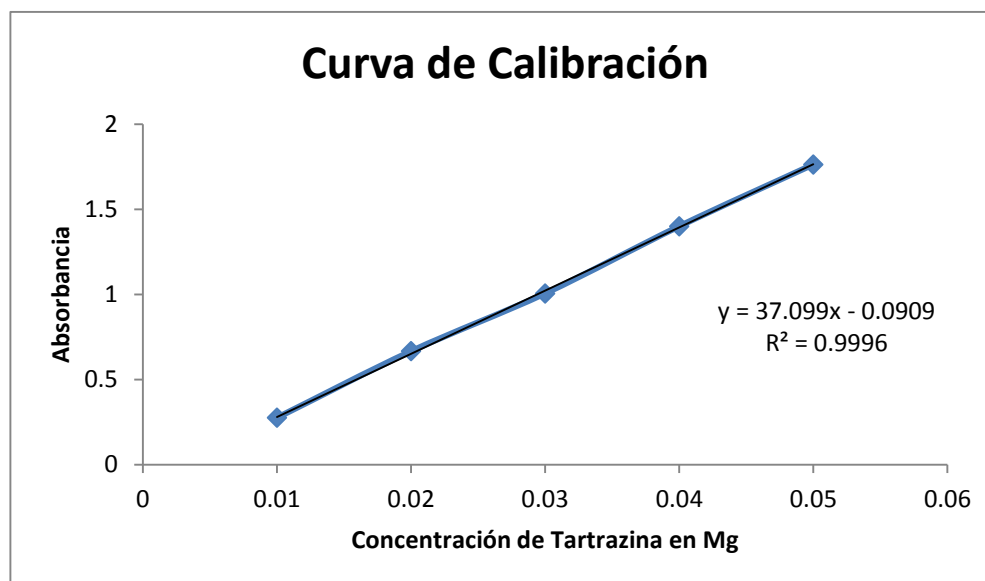
8.1 Evaluación de Linealidad

Para la evaluación de linealidad del método se llevó a cabo una curva de calibración para cada colorante esperándose un coeficiente de determinación cercano a uno, con la finalidad de establecer la relación entre la concentración de cada colorante (variable independiente) y la absorbancia (variable dependiente) que representa la respuesta analítica. En todos los casos la linealidad fue significativa ($p < 0.001$) como se observa en las tablas de la estadística de regresión.

Cuadro No.2: Estadísticas de regresión de los colorante evaluados.

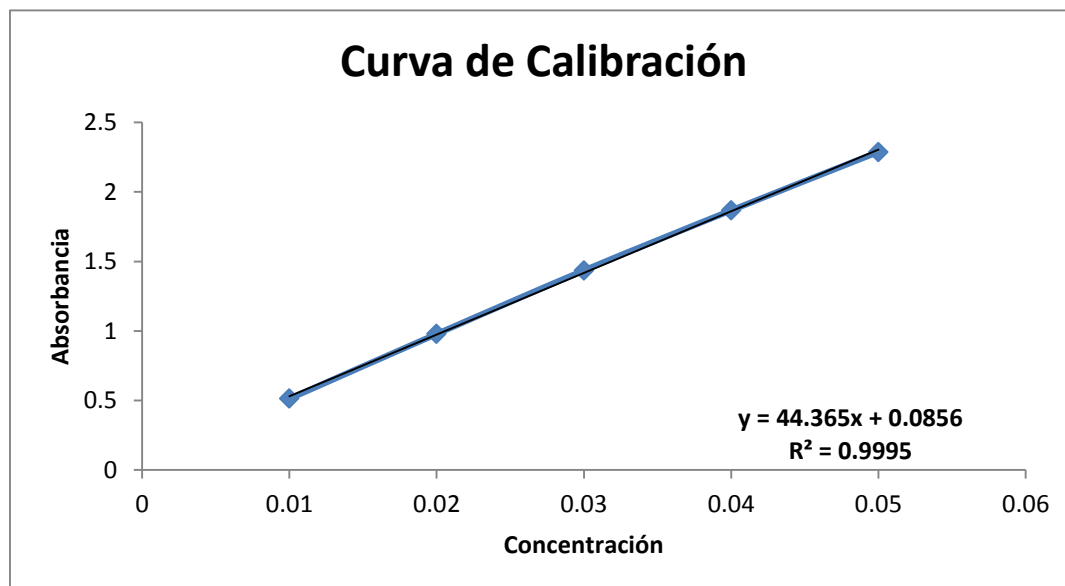
Colorante	Ecuación	Coefficiente de determinación R ²	Valor p
FD&C Amarillo No.5 (Tartrazina)	$y = 37.099x - 0.0909$	0.9996	3.53E-06
FD&C Rojo No.40 (Rojo Allura)	$y = 44.365x + 0.0856$	0.9995	4.65E-06
FD&C Amarillo No.6 (Amarillo Ocaso)	$y = 44.011x + 0.0294$	0.9999	3.72E-07
FD&C Azul No.1 (Azul Brillante)	$y = 116.73x + 0.1041$	0.9998	4.70E-07
FD&C Rojo No.3 (Eritrosina)	$y = 60.68x + 0.2229$	0.9995	5.21E-06

Fuente: Datos experimentales. Área de Físicoquímico de Alimentos, LNS. 2012-2013

Gráfica No. 1: Curva de Calibración para el colorante FD&C Amarillo No.5 (tartrazina)

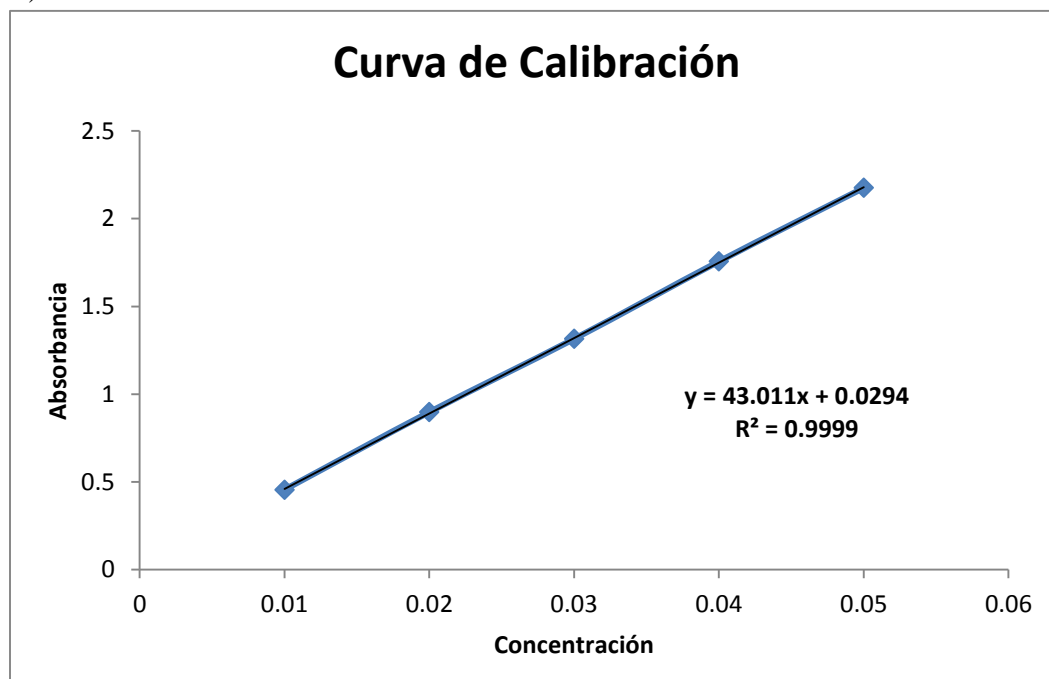
Fuente: Datos experimentales. Área de Físicoquímico de Alimentos, LNS. 2012-2013

Gráfica No. 2: Curva de Calibración para el colorante FD&C Rojo No.40 (Rojo Allura)



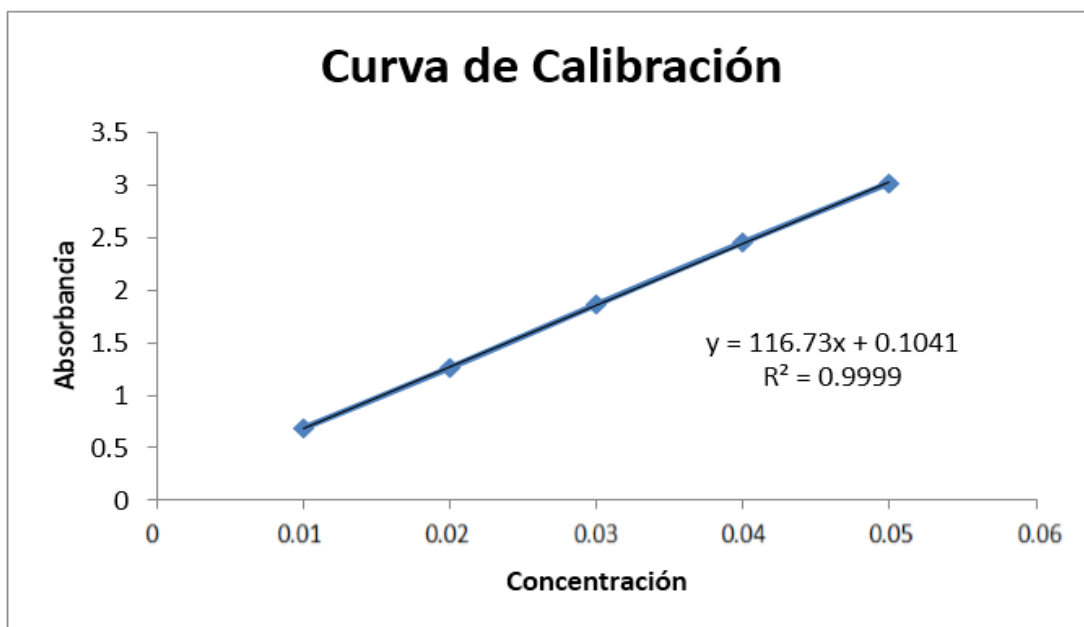
Fuente: Datos experimentales. Área de Físicoquímico de Alimentos, LNS. 2012-2013

Gráfica No. 3: Curva de Calibración para el colorante FD&C Amarillo No.6 (Amarillo Ocaso)



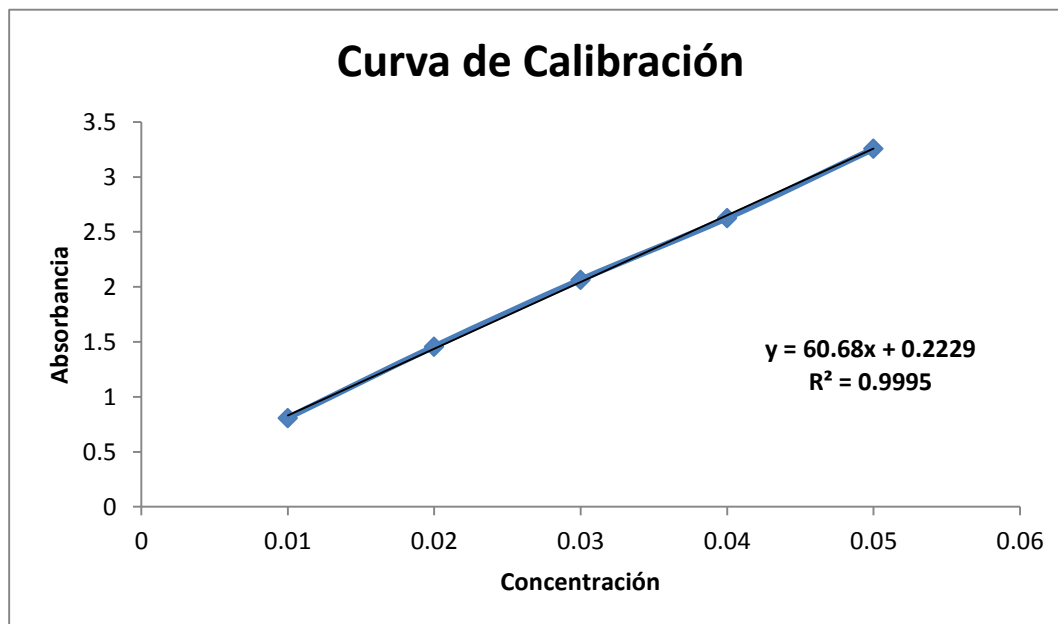
Fuente: Datos experimentales. Área de Físicoquímico de Alimentos, LNS. 2012-2013

Gráfica No. 4: Curva de Calibración para el colorante FD&C Azul No.1 (Azul Brillante)



Fuente: Datos experimentales. Área de Físicoquímico de Alimentos, LNS. 2012-2013

Gráfica No. 5: Curva de Calibración para el colorante FD&C Rojo No.3 (Eritrosina)



Fuente: Datos experimentales. Área de Físicoquímico de Alimentos, LNS. 2012-2013

8.2 Evaluación de Precisión

La precisión del método para cada colorante se evaluó por medio del perfil de precisión utilizando cinco concentraciones y realizando cinco repeticiones de cada una. Obteniéndose para todos los colorantes coeficientes de variación menores al 3%.

Cuadro No. 3: Perfil de la Precisión por medio del colorante FD&C Amarillo No.5 (Tartrazina)

Concentración Teórica	Promedio Concentración reportada	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación (%)
0.01	0.0099630	3.6603E-05	0.36738375
0.02	0.0199854	0.00015875	0.79434363
0.03	0.0299990	0.00027635	0.92121085
0.04	0.0399620	0.00025908	0.64826773
0.05	0.0499334	0.00018578	0.37205433

Fuente: Datos experimentales. Área de Físicoquímico de Alimentos, LNS. 2012-2013

Cuadro No. 4: Perfil de la Precisión por medio del colorante FD&C Rojo No.40 (Rojo Allura)

Concentración Teórica	Promedio Concentración reportada	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación (%)
0.01	0.0099582	0.00010643	1.06879205
0.02	0.0200335	0.00025781	1.28688573
0.03	0.0297280	0.00028193	0.94836634
0.04	0.0397930	0.00044192	1.11054066
0.05	0.0498483	0.00083371	1.6724908

Fuente: Datos experimentales. Área de Físicoquímico de Alimentos, LNS. 2012-2013

Cuadro No. 5: Perfil de la Precisión por medio del colorante FD&C Amarillo No.6 (Amarillo Ocaso)

Concentración Teórica	Promedio Concentración reportada	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación (%)
0.01	0.0098941	2.2719E-05	0.22962252
0.02	0.0200120	0.00014254	0.71228779
0.03	0.0298692	0.00018984	0.63555778
0.04	0.0400048	0.00010477	0.26190227
0.05	0.0500165	8.6281E-05	0.17250533

Fuente: Datos experimentales. Área de Fisicoquímico de Alimentos, LNS. 2012-2013

Cuadro No. 6: Perfil de la Precisión por medio del colorante FD&C Azul No.1 (Azul Brillante)

Concentración Teórica	Promedio Concentración reportada	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación (%)
0.01	0.0098923	0.00012274	1.24080839
0.02	0.0200022	2.6063E-05	0.13029939
0.03	0.0299684	6.7442E-05	0.22504393
0.04	0.0399598	3.3904E-05	0.08484582
0.05	0.0502774	0.00048968	0.97378928

Fuente: Datos experimentales. Área de Fisicoquímico de Alimentos, LNS. 2012-2013

Cuadro No. 7: Perfil de la Precisión por medio del colorante FD&C Rojo No.3 (Eritrosina)

Concentración Teórica	Promedio Concentración reportada	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación (%)
0.01	0.0097838	0.00015288	1.56254648
0.02	0.0194903	0.00030571	1.56853924
0.03	0.0296875	0.0004224	1.42281923
0.04	0.0393400	0.00022699	0.57699061
0.05	0.0499622	0.00030226	0.60498341

Fuente: Datos experimentales. Área de Fisicoquímico de Alimentos, LNS. 2012-2013

8.3 Evaluación de Exactitud

Para la determinación de la exactitud del método se utilizaron cinco repeticiones de cinco concentraciones conocidas (concentración esperada) y se compararon con las concentraciones obtenidas del equipo (concentración reportada) con el propósito de obtener el porcentaje de recuperación de cada medición. En todos los colorantes se reportaron promedios del porcentaje de recuperación dentro del intervalo de 95-105% y valores P mayores a 0.05 lo que demuestra que la concentración reportada no difiere significativamente con la concentración esperada evidenciando la exactitud del método. Al mismo tiempo se construyó un sistema de regresión con la finalidad de obtener los intervalos de confianza al 95%, en todos los colorantes se observa que los valores esperados para el intercepto ($\alpha = 0.0$) y la pendiente ($\beta = 1.0$) están incluidos en el intervalo de confianza por lo que no se rechaza la hipótesis estadística $H_0: \alpha = 0.0$ y $H_0: \beta = 1.0$.

Cuadro No. 8: Evaluación de la Exactitud por medio del porcentaje de recuperación de los colorantes evaluados.

Colorante	Promedio*	Desviación Estándar	Valor p	Intervalo de Confianza (95%)		
				Inferior	Superior	
FD&C Amarillo No.5 (Tartrazina)	99.8800	0.6565	0.3700	Inferior	-0.0002	0.9947
				Superior	0.0002	1.0065
FD&C Rojo No.40 (Rojo Allura)	99.6044	1.1854	0.1082	Inferior	-0.0004	0.9908
				Superior	0.0004	1.0166
FD&C Amarillo No.6 (Amarillo Ocaso)	99.6421	1.0563	0.1032	Inferior	-0.0003	0.9881
				Superior	0.0005	1.0106
FD&C Azul No.1 (Azul Brillante)	99.4855	1.2565	0.0517	Inferior	-0.0002	0.9915
				Superior	0.0002	1.0175
FD&C Rojo No.3 (Eritrosina)	99.5783	1.2281	0.0989	Inferior	-0.0003	0.9880
				Superior	0.0005	1.0124

Fuente: Datos experimentales. Área de Físicoquímico de Alimentos, LNS. 2012-2013; *El tamaño de la muestra fue de 25 (5 repeticiones para cada colorante).

8.4. Cuantificación de colorantes en muestras de dulces

Se cuantificaron los colorantes evaluados en 3 marcas diferentes de dulces que reportaban en su etiqueta la presencia de dichos colorantes, cada muestra fue realizada por cuadruplicado, pudiendo evidenciar el rendimiento del método en muestras reales y reportando concentración de colorante en las diversas marcas.

Cuadro No. 9: Cuantificación de los colorantes artificiales evaluados en tres marcas de dulces.

Colorante	Muestra	Promedio mg.
FD&C Amarillo No.5 (Tartrazina)	A	0.0532 ± 0.0003
	B	0.0199 ± 0.0001
	C	0.0066 ± 0.0001
FD&C Rojo No.40 (Rojo Allura)	A	0.0821 ± 0.0008
	B	0.0308 ± 0.0010
	C	0.0675 ± 0.0022
FD&C Amarillo No.6 (Amarillo Ocaso)	A	0.0722 ± 0.0036
	B	0.0136 ± 0.0007
	C	0.0120 ± 0.0009
FD&C Azul No.1 (Azul Brillante)	A	0.0051 ± 0.0009
	B	0.0082 ± 0.0016
	C	0.0056 ± 0.0010
FD&C Rojo No.3 (Eritrosina)	A	0.0077 ± 0.0010
	B	0.0083 ± 0.0003
	C	0.0148 ± 0.0004

Fuente: Datos experimentales. Área de Fisicoquímico de Alimentos, LNS. 2012-2013

8.5. Ventajas y desventajas del método de cuantificación

Uno de los objetivos de la investigación fue identificar las principales ventajas y desventajas del método de cuantificación implementado; las cuales se resumen en el siguiente cuadro.

Cuadro No. 10: Resumen de las ventajas y desventajas del método de cuantificación.

Ventaja	Desventajas
Bajo costo del análisis debido a que se emplean cantidades pequeñas de reactivo	El tiempo de extracción del colorante puede variar dependiendo de la matriz
Buen rendimiento de cuantificación	En muestras ricas en grasas es necesario utilizar otro método de extracción de los colorantes.
Rapidez en cuanto a la lectura de la cuantificación	
Facilidad y sencillez en la ejecución de la metodología	
Baja generación de desechos	

Fuente: Datos experimentales. Área de Fisicoquímico de Alimentos, LNS. 2012-2013

9. DISCUSIÓN

La implementación de un método de cuantificación de los colorantes artificiales FD&C amarillo no.5 (tartrazina), FD&C rojo No.3 (eritrosina), FD&C rojo No.40 (rojo allura), FD&C amarillo No.6 (amarillo ocaso) y FD&C azul No.1 (azul brillante) inicio, al medir el espectro de absorción de una disolución que contiene cada uno de los estándares de los colorantes mencionados por separado y así localizar su máximo de absorción (ver cuadro No.1), estas longitudes de onda fueron utilizadas para la medición de absorbancia de diluciones de concentración conocida de cada colorante con la finalidad de evaluar los parámetros de linealidad, precisión (repetibilidad y reproducibilidad) y exactitud del método de cuantificación.

Para la evaluación de la linealidad del método se realizó el análisis de regresión lineal con fin de determinar la relación entre la concentración de cada colorante (variable independiente) y la absorbancia (variable dependiente) que representa la respuesta analítica. En todos los colorantes los resultados muestran que las dos variables están relacionadas linealmente (ver cuadro No. 2), con unos coeficientes de determinación r^2 de 0.9996 para el colorante FD&C amarillo No.5 (tartrazina) (ver Gráfica No. 1), 0.9995 para el colorante FD&C rojo No.40 (rojo allura) ver Gráfica No. 2), 0.9999 para el colorante FD&C amarillo No.6 (amarillo ocaso) (ver Gráfica No. 3), 0.9999 para el colorante FD&C azul No.1 (azul brillante) (ver Gráfica No. 4) y 0.9995 para el colorante FD&C rojo No.3 (eritrosina) (ver Gráfica No. 5); lo cual demuestra que las dos variables están relacionadas en sentido de que una puede ser utilizada de manera efectiva para predecir la otra.

La precisión es uno de los factores críticos que contribuyen al análisis de exactitud, y debe ser conocido y controlado durante el análisis. La precisión es comúnmente expresada en términos de Coeficiente de Variación %. Según la metodología utilizada el coeficiente de variación aceptable debe de ser menor o igual al 3%. El coeficiente de variación representa la variación por parte del analista (repetibilidad) y entre diluciones (reproducibilidad). En todos los casos los coeficientes de variación están por debajo del 3% (ver los cuadros 3,4,5,6

y 7) lo que se observa en estos resultados que el método no pierde precisión en las concentraciones evaluadas.

La exactitud se evaluó por medio del porcentaje de recuperación y evaluando la relación lineal entre la respuesta obtenida (concentración reportada) y la concentración esperada. En todos los casos se observa que no existe diferencia significativa entre la media obtenida del porcentaje de recuperación y el valor esperado del 100% ($p > 0.05$). Además como se mencionó en el diseño de estudio, la exactitud fue analizada por una prueba de hipótesis en la cual la H_0 proponía que un valor para la pendiente de $\beta = 1.0$ y $\alpha = 0.0$ para el intercepto indica la relación lineal significativa con respecto a la concentración esperada, con una pendiente idealmente en 1.0 e intercepto en el origen idealmente 0.0 (ver Cuadro No. 8). En todos los colorantes se demuestra que el intercepto no difiere significativamente de 0 y la pendiente no difiere significativamente de 1, puesto que ambos datos están incluidos en el intervalo de confianza respectivo, lo que demuestra que no hay ninguna interferencia en cuanto a la respuesta analítica y se puede concluir que la hipótesis estadística expuesta previamente en el diseño de investigación ($H_0: \alpha = 0.0$ y $H_0: \beta = 1.0$) no se rechaza, por lo cual se confirma la exactitud del método ($p > 0.05$ en todos los casos).

Con la finalidad de verificar el comportamiento del método y tener una referencia sobre la aplicación en muestras reales, se cuantificó los colorantes FD&C amarillo No.5 (tartrazina), FD&C rojo No.3 (eritrosina), FD&C rojo No.40 (rojo allura), FD&C amarillo No.6 (amarillo ocaso) y FD&C azul No.1 (azul brillante) en muestras de dulces que reportaban en su etiqueta la presencia de dichos colorantes, se midieron 3 marcas diferentes de dulces para cada colorante haciendo cuatro repeticiones de cada una, pudiéndose cuantificar la concentración de dichos colorantes (ver Cuadro No. 9) observándose poca variación entre las mediciones evidenciándose el ámbito de aplicación así como la precisión y exactitud del método en muestras reales.

Es importante mencionar que los puntos críticos en el procedimiento de cuantificación se encuentran: la fijación del colorante y el desmontaje, puesto que hay muestras en las que es necesario agregar aproximadamente 1g de lana desengrasada adicional para que la extracción

sea completa, así mismo es importante la calidad de lana a utilizar. Es necesario para evitar interferencias en el equipo que la lana esté libre de cualquier partícula extraña que puedan alterar el resultado. Por otro lado en el desmontaje la temperatura debe de ser cuidadosamente controlada con el fin de no quemar la muestra y evitar las proyecciones que afecten con la cuantificación del colorante a evaluar.

Las ventajas principales del método de cuantificación expuesto radican en su sencillez de aplicación ya que el procedimiento posee pocos pasos y no requiere de habilidades técnicas especiales, por otro lado la metodología necesita de pocos reactivos (agua desmineralizada, hidróxido de amonio y ácido acético) y cantidades pequeñas de los mismos lo que genera poca cantidad de desechos que se traduce en bajos costos en la implementación del método.

La desventaja principal del método se encuentra en el aislamiento de los colorantes y fijación, puesto que el tiempo de extracción puede variar dependiendo del tipo de muestra que se utiliza, esto debido a que en muestras que contienen altas concentraciones de colorantes puede requerir mayor tiempo para la fijación completa del colorante en la lana. Por otro lado las muestras ricas en grasas y proteínas puede enmascarar la respuesta analítica del procedimiento, por lo que es necesario modificar el método de extracción de los colorantes artificiales para asegurar un resultado correcto.

10. CONCLUSIONES

- 10.1 El método utilizado es exacto debido a que los resultados se encuentran en el porcentaje de recuperación establecido (100%) y los valores esperados tanto para el intercepto como la pendiente están incluidos dentro de los intervalos de confianza.
- 10.2 El método implementado es preciso para todos los colorantes evaluados obteniéndose coeficientes de variación menores al 3% lo que demuestra poca variación por parte del analista (repetibilidad) y entre diluciones (reproducibilidad).
- 10.3 En el método implementado existe una relación lineal significativa ($p < 0.001$) entre la concentración de cada colorante y la absorbancia que representa la respuesta analítica para los colorantes evaluados.
- 10.4 En la aplicación de la metodología se obtuvo una correcta cuantificación de los colorantes artificiales FD&C amarillo no.5 (tartrazina), FD&C rojo No.3 (eritrosina), FD&C rojo No.40 (rojo allura), FD&C amarillo No.6 (amarillo ocaso) y FD&C azul No.1 (azul brillante) en muestras de dulces comerciales.
- 10.5 Las principales ventajas del método de cuantificación espectrofotométrico son: la sencillez del procedimiento y la fácil ejecución del mismo; y el bajo costo, ya que la cantidad utilizada de los reactivos y la generación de desechos para el desarrollo del análisis es mínimo.
- 10.6 Una de las desventajas identificadas en el método fueron, el tiempo de aislamiento y fijación del colorante ya que este puede variar, dependiendo del tipo de muestra y cantidad de colorante presente en la misma.
- 10.7 Otra de las desventajas observadas en el método, fue que en muestras ricas en grasas y proteínas se debe de utilizar otro proceso para extracción de colorantes diferente al utilizado en este estudio, con la finalidad de que estos puedan ser aislados de una mejor manera.

11. RECOMENDACIONES

- 11.1 La lana utilizada para el método de extracción debe de ser cuidadosamente seleccionada para verificar que se encuentre libre de cualquier tipo de partículas que pueda alterar los resultados de la cuantificación espectrofotométrica.
- 11.2 Para matrices ricas en grasa y proteínas se recomienda utilizar cromatografía en columnas con fase estacionaria de alúmina como método de extracción del colorante.
- 11.3 Se recomienda la realización de nuevos estudios con diferentes matrices para conocer en su totalidad el redimiendo del método y poder realizar una validación.
- 11.4 Retar el método aplicando la robustez del mismo para evaluar el desempeño en condiciones adversas.

12. BIBLIOGRAFÍA

- Aguilar, O. (1986). *Identificación y Cuantificación de Colorantes Artificiales en Helados que se Consumen en la Ciudad de Guatemala*. Guatemala: Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos de Guatemala.
- Barrows, J., Lipman, A., & Bailey, C. (Noviembre de 2003). *U.S. Department of Health & Human Services*. Recuperado el 22 de Septiembre de 2012, de FDA U.S. Food and Drugs Administration:
<http://www.fda.gov/ForIndustry/ColorAdditives/RegulatoryProcessHistoricalPerspectives/default.htm#authors>
- Calvo, M. (5 de Agosto de 2007). *Unizar.es*. Recuperado el 22 de Septiembre de 2012, de Bioquímica de los alimentos: <http://milksci.unizar.es/bioquimica/aditivos/colorartif.html>
- COGUANOR, C. G. (2007). *Aditivos alimentarios permitidos para consumo humano Doc. Tec. NGO 34 192*. Guatemala: Ministerio de Economía.
- COGUANOR, C. G. (2007). *Aditivos alimentarios. Colorantes artificiales. Especificaciones. Doc. Tec. NGO 34 148*. Guatemala: Ministerio de Economía.
- COMIECO. (2012). *Reglamento Técnico Centroamericano. COMIECO-LXII*.
- Corzo de Leon, L. B. (2008). *Determinación de la Presencia de Colorantes Amarillo FD&C No.5 (Trarazina) no Declarado en la Etiqueta de Salsa de Tomate tipo Ketchup que se Produce en Guatemala*. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala.
- Cristales Telon, I. M. (2009). *Identificación de Colorantes Artificiales en Refrescos de Leche, Empacados en Envase Tetra Brick con Sabor Chocolate, Fresa, Vainilla y Variedades, Según Normas COGUANOR NGO 34 039 y NGO 34192, que se Consumen en la Ciudad Capital*. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala.
- Delwiche, J. (12 de Febrero de 2004). *Worldlingo*. Recuperado el 22 de Septiembre de 2012, de El impacto de las interacciones de percepción en el sabor percibido:
http://www.worldlingo.com/ma/enwiki/es/Food_coloring
- Escalante, I. (2002). *Identificación de Colorantes Amarillo FD&C No.5 (Tartrazina) en Refrescos No Carbonatados que se Comercializan en Guatemala*. Guatemala: Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala.
- Haveland Smith, R. (1982). A review of the genotoxicity of food, drug and cosmetic colours and otherazo, triphenylmethane and xanthenedyes. *Reviews in Genetic Toxicology*, 101-243.

- Holler, F., & Skoog, D. (2001). *Principios de Análisis Instrumental*. España: McGraw-Hill.
- Horwitz, W. (2005). *Official Methods of Analysis of Aoac International*. USA: AOAC International.
- Johnson, R. (1990). *Estadística Elemental*. Mexico : Iberoamerica.
- Konig, G. (15 de Septiembre de 2003). *Interpresas*. Recuperado el 12 de Agosto de 2012, de [http://www.interempresas.net/Plastico/Articulos/6740-Los-pigmentos-hacen-historia-\(I\).html](http://www.interempresas.net/Plastico/Articulos/6740-Los-pigmentos-hacen-historia-(I).html)
- Martin, J. (2003). *CTFA International Color Handbook*. DC, U.S.A: Cosmetic, Toiletry, & Fragrance Association, Washington.
- Masson-Matthee, M. D. (2007). *The Codex Alimentarius Commission and Its Standards*. USA: T.M.C. Asser Press.
- Ostle, B. (200). *Estadística Aplicada*. Mexico: Limusa-Wiley, S.A.
- Quiñones, A. (2008). *Identificación y Cuantificación de Colorantes Artificiales: Eritrosina FD & C rojo No. 3 (45430), Amarillo FD & C rojo No. 2 (16184) y Tartrazina FD & C amarillo No. 5 (19140), en conservas de Frutas (compotas) Importadas de Sudamérica y Distribuidas en G. Guatemala: Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala.*
- Remington, J. (1998). *Remington Farmacia, Volumen 1*. Argentina: Panamericana.
- Rodríguez, S. (2008). *Identificación y Cuantificación de Colorantes Artificiales en Refrescos en Polvo Elaborados y/o Distribuidos en Guatemala*. Guatemala: Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala.
- Sanders, M. E. (7 de Febrero de 2012). *Food-Info*. Recuperado el 22 de Septiembre de 2012, de <http://www.food-info.net/es/qa/qa-fi25.htm>
- Schmidt, H. (1966). *Química y Tecnología de los Alimentos*. Chile: Salesian.
- Secretaria de Salud, M. (2004). *Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos*. México: Secretaria de Salud México.
- Socaciu, C. (2008). *Food Colorants Chemical and Functional Properties*. New York: CRC Press.
- Suarez, E. (11 de Enero de 2007). *Nutrición y Alimentación*. Recuperado el 2012 de Septiembre de 22, de <http://nutricion-alimentacion.blogspot.com/2007/09/aditivoscolorantes-tartrazina.html>

Sweetman, S. (2008). *Martindale. Guía completa de consulta farmacoterapéutica*. España: Pharma Editores.

Valderrama, M. (12 de Agosto de 2007). *EBM*. Recuperado el 22 de Septiembre de 2012, de En Buenas Manos: <http://www.enbuenasmanos.com/articulos/muestra.asp?art=1277>

Vallejos Aguilar, E. J. (2012). *Estandarización del Método para la Cuantificación del Colorante Amarillo F&D No.5 (Tartrazina) de Salsa de Tomate tipo Ketchup que se Distribuyen en Guatemala*. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala.

Word, R., Damant, A., & Key, P. (2004). *Analytical Methods for Food Additives*. England: Publishing Limited.

13. ANEXOS

Anexo No. 1: Estadística de los resultados obtenidos de la cuantificación de los colorantes FD&C amarillo No.5 (tartrazina), FD&C rojo No.3 (eritrosina), FD&C rojo No.40 (rojo allura), FD&C amarillo No.6 (amarillo ocaso) y FD&C azul No.1 (azul brillante) en 3 marcas de dulces.

Cuadro No. 1: Resumen de Cuantificación de FD&C amarillo No.5 (tartrazina) en 3 marcas diferentes de dulces

Marca de Dulce	Media mg.	Mediana	Desviación Estándar	Rango
A	0.0532	0.0533	0.000276448	0.0010
B	0.0199	0.0199	0.000123633	0.0005
C	0.0066	0.0067	0.000120605	0.0004

Fuente: Datos experimentales. Área de Físicoquímico de Alimentos, LNS. 2012-2013

Cuadro No. 2: Resumen de FD&C rojo No.3 (eritrosina) en 3 marcas diferentes dulces

Marca de Dulce	Media mg	Mediana	Desviación Estándar	Rango
A	0.0077	0.0076	0.000973407	0.0042
B	0.0083	0.0083	0.000341232	0.0009
C	0.0148	0.0149	0.000422179	0.0013

Fuente: Datos experimentales. Área de Físicoquímico de Alimentos, LNS. 2012-2013

Cuadro No. 3: Resumen de FD&C rojo No.40 (rojo allura) en 3 marcas diferentes dulces

Marca de Dulce	Media mg	Mediana	Desviación Estándar	Rango
A	0.0821	0.0822	0.000775115	0.0023
B	0.0308	0.0314	0.001027057	0.0026
C	0.0675	0.0670	0.002233772	0.0056

Fuente: Datos experimentales. Área de Físicoquímico de Alimentos, LNS. 2012-2013

Cuadro No. 4: Resumen de Cuantificación de FD&C amarillo No.6 (amarillo ocaso) en 3 marcas diferentes de dulces

Marca de Dulce	Media mg	Mediana	Desviación Estándar	Rango
A	0.0722	0.0717	0.00362428	0.0094
B	0.0136	0.0137	0.000726706	0.0023
C	0.0120	0.0116	0.000892486	0.0021

Fuente: Datos experimentales. Área de Físicoquímico de Alimentos, LNS. 2012-2013

Cuadro No. 5: Resumen de Cuantificación de FD&C azul No.1 (azul brillante) en 3 marcas diferentes de dulces

Marca de Dulce	Media mg	Mediana	Desviación Estándar	Rango
A	0.0051	0.0054	0.000859149	0.0025
B	0.0082	0.0079	0.001569191	0.0044
C	0.0056	0.0054	0.000970174	0.0026

Fuente: Datos experimentales. Área de Físicoquímico de Alimentos, LNS. 2012-2013