



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLAN



16
2ej

EVALUACION DE LA ESTABILIDAD Y APLICACION
DE UNA MEZCLA DE COLORANTES DE ROJO
COCHINILLA Y ROJO No. 3

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
INGENIERO EN ALIMENTOS
P R E S E N T A:
ROSSANA REYES QUIROZ

DIRECTORES DE TESIS:

DRA. SARA E. VALDES MARTINEZ

DR. PEDRO VALLE VEGA

CUAUTITLAN IZCALLI, EDO. DE MEX.

1981



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

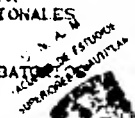
El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición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



UNIVERSIDAD NACIONAL
AVENIDA DE
MEXICO

UNIVERSIDAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN
SECRETARIA ACADÉMICA
UNIDAD DE LA ADMINISTRACION ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS



DR. JAIME KELLER TORRES
DIRECTOR DE LA FES-CUAUTITLAN
P R E S E N T E

ATN: Ing. Rafael Rodríguez Ceballos
Jefe del Departamento de Exámenes
Profesionales de la F.E.S. - C.

Con base en el art. 28 del Reglamento General de Exámenes nos permitimos comunicar a usted que revisamos LA TESIS TITULADA:
"Evaluación de la Estabilidad y Aplicación de una Mezcla de Colorantes de Rojo Cochinilla y Rojo No. 3"

que presenta la pasante: Rossana Reyes Quiroz
con número de cuenta: 8124813-5 para obtener el TITULO de:
Ingeniera en Alimentos

Considerando que dicha tesis reúne los requisitos necesarios para ser discutida en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO

A T E N T A M E N T E .

"FOR ME RAZA HABLARA EL ESPIRITU"

Cuatitlán Izcalli, Sdo. de Mex., a 15 de Mayo de 1991.

PRESIDENTE: IBQ. Rosa Manuela Arriaga Orihuela

VOCAL: IQ. Pedro González Díaz

SECRETARIO: Dra. Sara Esther Valdés Martínez

PRIMER SUPLENTE: QFI. Leticia Zúñiga Ramírez

SEGUNDO SUPLENTE: IA. Rosalía Meléndez Pérez

INDICE

RESUMEN	
I INTRODUCCION	
II ANTECEDENTES	5
2.1 HISTORIA DE COLORANTES EN ALIMENTOS	5
2.2 LEGISLACION	8
2.3 ESTUDIOS TOXICOLOGICOS DE COLORANTES PARA ALIMENTOS	11
2.4 CLASIFICACION DE COLORANTES	14
2.4.1 PIGMENTOS	14
2.4.2 LACAS	15
2.4.3 COLORANTES NATURALES	16
2.4.4 COLORANTES NATURALES IDENTICOS	17
2.5 ASPECTOS GENERALES SOBRE EL COLORANTE DE LA COCHINILLA (<i>Dactylopius Coccus costa</i>)	19
2.5.1 HISTORIA	19
2.5.2 ASPECTOS BIOLOGICOS	20
2.5.3 METODO DE OBTENCION	22
2.5.4 COCHINILLA, ACIDO CARMINICO Y CARMIN	24
2.5.5 CARACTERISTICAS FISICAS Y QUIMICAS DEL ACIDO CARMINICO	25
III DISEÑO EXPERIMENTAL	29
3.1 OBJETIVOS	29
3.1.1 OBJETIVO GENERAL	29

3.1.2 OBJETIVOS PARTICULARES	29
3.2 METODOLOGIA EXPERIMENTAL	31
3.2.1 FORMULACION DE LAS MEZCLAS COLORANTES Y ESPECTRO DE ABSORBANCIA	31
3.2.2 EVALUACION DE LA ESTABILIDAD DE LAS MEZCLAS DE COLORANTES A LOS FACTORES PH, LUZ, TEMPERATURA, NIVEL DE SUSTITUCION Y AIRE	32
3.2.3 APLICACION DE LAS MEZCLAS COLORANTES EN ALIMENTOS	37
3.2.3.1 ADICION DE LAS MEZCLAS DE COLORANTES A YOGHURT	38
3.2.3.2 ADICION DE LAS MEZCLAS DE COLORANTES A JARABE DE GLUCOSA	40
IV RESULTADOS Y DISCUSION	41
4.1 ESPECTRO DE ABSORBANCIA	41
4.2 EFECTO DEL NIVEL DE SUSTITUCION, LUZ, TEMPERATURA, PH Y AIRE EN LA ESTABILIDAD DE MEZCLAS COLORANTES	50
4.3 APLICACION DE LAS MEZCLAS COLORANTES EN ALIMENTOS	60
4.4 COSTOS	66
V CONCLUSIONES	68
VI RECOMENDACIONES	71
VII BIBLIOGRAFIA	73

INDICE DE FIGURAS

FIGURA	NOMBRE	PAGINA
1	Estructura química sugerida del ácido carmínico	26
2	Estructura del complejo ácido carmínico-aluminio	27
3	Arreglo ortogonal <u>L16</u> de Ingeniería de Calidad	33
4	Campana de inyección de nitrógeno	36
5	Cámara oscura	38
6	Espectro de absorbancia en la región visible de la mezcla 1	42
7	Espectro de absorbancia en la región visible de la mezcla 2	43
8	Espectro de absorbancia en la región visible de la mezcla 3	44
9	Espectro de absorbancia en la región visible del rojo cochinitilla laca	45
10	Espectro de absorbancia en la región visible del rojo No. 3	46
11	Comparación del efecto de la luz en la estabilidad de los colorantes	49
12	Efecto de las variables en la estabilidad de las mezclas colorantes	51
13	Comportamiento de la influencia de la luz en la estabilidad	52
14	Estabilidad de colorantes y mezclas	54

INDICE DE CUADROS

CUADRO	NOMBRE	PAGINA
1	Colorantes de uso en E. U. en 1907	6
2	Especificaciones para es extracto de cochinilla y carmín, y rojo No. 3	10
3	Diferencias entre las propiedades de lacas y pigmentos	15
4	Clasificación de colorantes naturales para alimentos	17
5	Método de obtención del pigmentos (extracto acuoso) y la laca del ácido carmínico	23
6	Diagrama experimental	30
7	Datos requeridos del arreglo ortogonal <u>L16</u>	34
8	Condiciones de las variables experimentales	35
9	Condiciones de trabajo	35
10	λ de absorbancia máxima de trabajo	47
11	Resultados de prueba de preferencia en yoghurt	61
12	Resultados de prueba de comparación en yoghurt	62
13	Resultados de prueba de preferencia en jarabe de glucosa	65
14	Costo por kilogramo de mezcla de colorantes	66
15	Costo de las mezclas de colorantes en yoghurt y jarabe de glucosa	67

15	Influencia de la interacción de las variables en la estabilidad	57
16	Respuesta de la estabilidad a la interacción de los factores luz, pH y temperatura	58
17	Aplicación de las mezclas colorantes a jarabe de glucosa	63

INDICE DE TABLAS

TABLA	NOMBRE	PAGINA
1	Influencia de las variables en la estabilidad	53
2	Influencia de la interacción de las variables en la estabilidad	55

RESUMEN

El color en alimentos es muy importante ya que es uno de los atributos que se percibe primero y que influye en la decisión final al consumirlo (17, 24). Los colorantes se adicionan a alimentos para hacerlos facilmente identificables y mejorar sus características.

En el presente trabajo de tesis se planteó la formulación de mezclas de colorantes de rojo cochinilla laca (obtenida de la hembra del insecto *Dactylopius Coccus costa*) y de rojo No. 3 . El estudio tuvo la finalidad de lograr una mezcla que disminuyera el costo por kilogramo de colorante con respecto al costo del rojo cochinilla laca, evaluando su estabilidad y aceptación. Se formularon 3 mezclas, la primera con 50% de cada colorante, la segunda con 70% de rojo cochinilla laca y 30% de rojo No. 3 y la última con 90% de rojo cochinilla laca y 10% de rojo No. 3.

Se evaluó la estabilidad de las mezclas extremas de colorantes a los factores temperatura, presencia de luz y aire, pH, y porcentaje de cada colorante en las mezclas. Estos factores se probaron en condiciones extremas (un nivel bajo y un nivel alto) para establecer en que porcentaje influye cada factor y la interacción de los factores entre si en la estabilidad de las mezclas colorantes, esto es posible al emplear la Ingeniería de Calidad.

De los resultados se observó que la presencia de luz fue el factor de mayor influencia en la estabilidad de las mezclas colorantes (con un 91% a los 8 días), seguido por la temperatura (con un 1%), pH (con 0.8%), presencia de aire (con 0.5%), la relación que guardaban los colorantes entre sí no es un factor que influya de manera importante en la estabilidad; la interacción de los factores que se estudiaron en realidad no afectan mucho. Es recomendable, por tanto, manejar valores bajos de luz, temperatura y pH. Esto es empleando temperatura ambiente o menor, de preferencia protegiendo de la luz y empleando pH de neutro a ácido.

Las mezclas en estudio se aplicaron a yoghurt y a jarabe de maíz, para yoghurt se aplicaron en concentraciones de 9.7 ppm para la primera mezcla, 25.34 ppm para la segunda mezcla y 29.37 ppm para la última mezcla, para jarabe de glucosa las concentraciones utilizadas fueron de 12, 20, y 25ppm respectivamente, al realizar las pruebas de preferencia con las diferentes mezclas no se observó rechazo hacia alguna muestra, esto nos indica que la aceptación no se ve afectada al variar la relación que guardan los colorantes, se concluyó que es factible la aplicación de estas mezclas colorantes.

I. INTRODUCCION

El hombre vive con los colores y gracias a ellos, esto incluye a los alimentos, su color es tradicional e inconcientemente asociado a la calidad, ya que sugiere características tales como sabor y frescura (1, 2, 9, 11, 17, 19, 28, 29, 31, 37, 61.); también juega un papel importante en la apreciación y aceptación final del alimento (41, 45, 54, 56, 57.). Algunos experimentos han demostrado que el color influye poderosamente no sólo en la habilidad del consumidor para identificar el sabor, sino también en la estimación de su intensidad y calidad (1, 22, 40, 54.). Mucha gente juzga un alimento por su color y su olor antes de saborearlo realmente como en el caso de los vinos (1).

Varios estudios han demostrado que los alimentos no tienen el sabor correcto si no presentan la coloración adecuada (40, 54, 59), esto se debe a que el color es generalmente la primera impresión sensorial que tenemos de los alimentos, e influye en nuestra percepción de su olor, sabor, temperatura y textura (50, 59).

Los consumidores tienden a asociar colores y tonos particulares a cada alimento (2, 37, 46.) en base a sus antecedentes sociales, geográficos, étnicos e históricos. En alimentos, los cambios en los tonos del color son asociados por los consumidores como signo de ser un producto de calidad

inferior o alimentos "pobres" (1, 17, 40, 50.). Una desviación de lo usualmente normal repercute en consecuencias drásticas (1, 17.), probablemente sería difícil aceptar chicharos amarillos o jamón blanco. Los productos sabor limón son aceptados solo si son amarillo verdoso y los productos sabor frambuesa si son rojos (54). Los colorantes se usan en muy pequeñas cantidades, pero debido al papel que juegan en la aceptación del consumidor por el alimento, son un ingrediente clave (37, 60, 62).

Los colorantes pueden ser adicionados en alimentos por las siguientes razones (4, 7, 11, 40, 42, 59):

1. Para restablecer su apariencia original cuando el color natural ha sido destruido por procesamiento con calor, por ejemplo, los chicharos adquieren un color grisaseo al ser enlatados.
2. Para garantizar uniformidad de color, por ejemplo: frutas obtenidas en diferentes tiempos durante la estación, además proporcionando uniformidad en apariencia y estabilidad (28).
3. Para intensificar el color natural presente y cuando el color es más débil al que el consumidor asocia con un producto de cierto tipo o sabor, por ejemplo yoghurts de frutas, y salsas.
4. Para ayudar a proteger el sabor y sensibilidad a la luz de vitaminas, durante la vida de almacenamiento por un efecto solar.
5. Para dar una apariencia atractiva, como en el caso de postres y dulces, que sin color pueden observarse poco atractivos ó inapetecibles.

6. Para ayudar a preservar la identificación o características por las cuales son reconocidos (2).

7. Para servir como una indicación visual de calidad.

Es importante hacer notar que un colorante raramente adiciona valor nutritivo al alimento, de los colores usados en alimentos solo los pigmentos de caroteno y riboflavina contribuyen significativamente a la nutrición (16).

Es imposible definir el colorante perfecto y más difícil aun el reproducirlo, sin embargo los siguientes criterios deben presentarse si un colorante va a ser utilizado (4, 33, 54):

1. Deben ser legalmente permitidos.
2. Seguro en los niveles y bajo las condiciones usados, químicamente consistentes y libres de impurezas.
3. No debe impartir ninguna propiedad indeseable, ser insaboro, inodoro y compatible con otros aditivos e ingredientes.
4. Ser estable bajo condiciones normales de proceso, en particular resistente a los efectos de calor, luz, pH, oxidación y reducción
5. Ser brillante, con una gran fuerza tintorea y disponible en un amplio rango de tonos.
6. Ser barato y disponible suficientemente en grandes cantidades. De fácil manejo y uso.

No obstante la necesidad de la industria alimentaria de utilizar colorantes, se ve restringida por normas legales que regulan los colorantes que podrán emplearse en cada caso en particular (29). Los colorantes pueden ser certificados o no certificados, a los colorantes certificados se les reglamenta una concentración máxima de uso y los estudios toxicológicos sugieren la necesidad de prohibir la utilización de algunos colorantes sintéticos por ser nocivos para la salud, como en el caso del rojo No. 1, rojo No. 2 y rojo No. 4 (16, 41, 43, 64, 65.). Los colorantes no certificados son colorantes naturales y se encuentran exentos de certificación debido a que no se ha encontrado indicios de que provoquen daños a la salud (17).

Los colorantes certificados (rojos) que están permitidos (59) en México son el colorante rojo No.40, en pigmento y laca; el colorante rojo No. 3 en pigmento, la laca se prohibió el primer trimestre de 1990 por causar problemas de cáncer en tiroides (18).

Debido a esto una alternativa en cuanto a colorantes rojos puede ser la utilización de colorantes naturales como el de la cochinilla aunque una desventaja sería que son mucho más caros que los colorantes sintéticos (59). Para resolver este problema, en el presente trabajo se propone el uso de mezclas de colorantes sintéticos con colorantes naturales, las ventajas que se presentan son la disminución del costo por kilogramo de los colorantes y el empleo de una menor cantidad de colorantes sintéticos. Se hicieron varias mezclas, evaluando su estabilidad y se aplicaron a alimentos para probar si tienen cierta aceptación o no.

II. ANTECEDENTES

2.1 HISTORIA DE COLORANTES EN ALIMENTOS

Durante siglos el color ha jugado un papel importante en la vida del hombre. Algunos colorantes se usaron probablemente desde hace unos 3 000 años (22, 40, 51), en los platillos se usaban colorantes derivados de semillas, frutas, hierbas, etc. (22, 40, 57, 61). Los colorantes naturales se utilizaron con fin comercial hasta 1856, en que Sir William Henry Perkins en Inglaterra elaboró el primer colorante derivado de alquitrán de hulla (4. 18, 50, 54.) denominado "mauve". Su descubrimiento estimuló la investigación para encontrar otros colorantes de este tipo (33, 40, 46).

En esos tiempos generalmente no se ejercía control sobre la pureza de los colorantes que se adicionaban a alimentos (17, 18, 33), por lo que se vió la necesidad de controlarlos y en Inglaterra se aprobó la primera acta de Alimentos y Drogas en 1860; a esta siguieron otros países (46). En 1900 el gobierno de Estados Unidos otorgó fondos para investigar la relación de materias colorantes a la salud y establecer principios para regular su uso (33, 46).

En 1907 de los colorantes que existían en E. U. se ofrecían 80 para su uso en alimentos (17, 33, 37, 40, 50, 66.). Hesse revisó los resultados de las pruebas químicas y fisiológicas,

recomendando los colorantes indicados en el cuadro 1 para su uso en alimentos (4, 17, 33, 46, 50, 51, 67). En 1907 la "Food Inspection Desition" estableció un sistema para certificación de lotes de estos colorantes en alimentos, la certificación no era obligatoria (33, 37, 66.). En 1938 el proceso de certificación se hizo obligatorio bajo el Acta Federal de Alimentos Drogas y Cosméticos (21 CFR parte 73-74, 81-82) para cualquier colorante sintético pero no se requiere para colorantes naturales (33, 37, 40).

CUADRO 1 COLORANTES DE USO EN ALIMENTOS EN E. U. EN 1907	
NOMBRE ORIGINAL	NOMBRE ACTUAL (utilizado por la FDA)
Amaranto	FD&C rojo No. 2
Ponceau 3 R	-
Naranja 1	-
Eritrosina	FD&C rojo No. 3
Amarillo Naftol S	Ext. D&C Amarillo No. 7
Verde claro S	-
Indigotina	FD&C azul No. 2

FUENTE: Daniel, M. Marmion. Handbook of U. S. Colorants for Foods, Drugs, and Cosmetics. U. S. A. 1983, pag. 6

Se crearon tres categorías de colorantes para designar el nombre (33, 40):

a) Colorantes FD&C. Son aquellos certificables para el uso en alimentos, drogas y cosméticos. (Denominados en México como AMyC, Alimentos, Medicamentos y cosméticos)

b) Colorantes D&C. Colorantes y pigmentos considerados seguros en drogas y cosméticos cuando están en contacto con membranas mucosas o cuando se ingieren.

c) Colorantes Ext. D&C. Aquellos colorantes que, debido a su toxicidad oral, no son certificables para su ingestión, pero se consideran seguros en productos de aplicación externa.

La forma en que se controla y reglamenta las condiciones de producción y consumo de colorantes ha cambiado a través del tiempo y se ve influenciado por el desarrollo que ha tenido cada país en esta área.

2.2 LEGISLACION

El uso de colorantes en alimentos está ampliamente esparcido en el mundo, pero el límite en el que se usan depende de numerosos factores. La mayor restricción es probablemente la reglamentación de color en el país en el que el colorante es vendido (44). Existen organismos internacionales especializados como la Organización Mundial de la Salud (OMS) y la Food & Agriculture Organization (FAO) que están preparando las normas del CODEX ALIMENTARIUS MUNDIAL que posibilitará la libre circulación interna de las mercaderías de origen extranjero, facilitando la importación y exportación de productos alimenticios (29, 44, 58, 66). Las reglas que gobiernan los colorantes son complejas y cambian constantemente por lo que es difícil una discusión completa y que comprenda su situación general. Lo que se hace es presentar los principios involucrados en la regulación de colorantes (33, 34).

En México, la legislación de alimentos se encuentra a cargo de la Secretaría de Salud. La regulación para aditivos alimentarios permitidos en México se encuentra en el Reglamento de la Ley General de Salud en materia de Control Sanitario de Actividades, Establecimientos, Productos y Servicios del Diario Oficial de la Federación del 18 de Enero de 1988 (10). Define a un colorante de la siguiente forma: "Se entiende por colorante, la

sustancia obtenida de los vegetales, animales o minerales, o por síntesis empleada para impartir o acentuar el color." Comprende 3 grupos mencionando los colorantes permitidos para cada uno:

I. Colorantes orgánico naturales. Estos son: Aceite de zanahoria, achiote, annato, azafrán, β -apo-8-carotenal, betabel deshidratado, β -caroteno, caramelo, clorofila, cochinilla, cúrcuma, extracto de tegumento de uva, harina de semilla de algodón cocida, tostada y parcialmente desgrasada, jugos de frutas, jugos de vegetales, pimiento, pimiento oleo-resina, riboflavina y xantófilas.

II. Colorantes orgánico sintéticos o colorantes artificiales. Estos son: Amarillo No. 5 (tartrazina), azul No. 1 (azul brillante F.C.P.), azul No. 2 (indigotina), rojo No. 3 (eritrosina), rojo cítrico No. 2 (sólo se permite para colorear la corteza de la naranja), rojo No. 40, verde No. 3 (verde firme F.C.F.).

III. Colorantes orgánico mineral y mineral. Estos son el gluconato ferroso y dióxido de titanio.

La Secretaría de Salud no ha establecido las especificaciones que deben presentar los colorantes. El Código Federal de Regulación de la FDA (edición 4-1-89) da para el extracto de cochinilla, carmín y rojo No. 3 las especificaciones que se presentan en el cuadro 2 (6, 33).

**CUADRO 2 ESPECIFICACIONES PARA EL EXTRACTO DE
COCHINILLA, CARMIN Y ROJO No. 3**

EXTRACTO DE COCHINILLA	
pH	No menor de 5.0 y no mayor de 5.5 a 25°C
Proteínas (N X 6.25)	No mayor de 2.2%
Sólidos totales	No menores de 5.7 y no mayores de 6.3
Alcohol metílico	No más de 150 ppm.
Plomo (como Pb)	No más de 10 ppm.
Arsénico (como As)	No más de 1 ppm
Acido carmínico	No menos de 1.8%
CARMIN	
Material volátil	No más de 20.0%
Cenizas	No más de 12.0%
Plomo (como Pb)	No más de 10ppm
Arsénico (como As)	No más de 1 ppm
Acido carmínico	No menos de 50.0%
ROJO No. 3	
Materia volátil (a 135°C) y cloruros y sulfatos (calculados como las sales de sodio)	En total no más de 13.0%
Materia insoluble en agua	No más de 0.2%
Intermediarios no halogenados	Total no más de 0.1%
Yoduro de sodio	No más de 0.4%
Triyodo resorcinol	No más de 0.2%
Acido benzoico	
2(2',4'-dihidroxi-3',5'-diyodobenzoil)	No más de 0.2%
Monoyodofluorescencias	No más de 1.0%
Otras fluorescencias menos yodinadas	No más de 9.0%
Plomo (como Pb)	No más de 10 ppm
Arsénico (como As)	No más de 1 ppm
Color total	No menos de 87%

FUENTE: Code of Federal Regulation (1989). FDA, HSS, 21 CFR Ch.
(6, 33).

2.3 ESTUDIOS TOXICOLÓGICOS DE COLORANTES PARA ALIMENTOS

A través de la larga historia del uso de colorantes sintéticos se han sujetado a extensivas pruebas toxicológicas en Europa, E. U. y Japón (54). A partir de 1938 en E. U. se requiere que todos los colorantes de alimentos sean probados en animales bajo la supervisión de la "Food and Drug Administration" (FDA). Actualmente las pruebas toxicológicas de nuevos colorantes incluyen (FDA 1982, 33, 40, 45, 46, 54):

1. Estudios de toxicidad aguda en ratas.
2. Estudio de toxicidad subcrónico, de 90 días de duración.
3. Estudios de alimentación crónica en por lo menos dos especies de animales, por ejemplo ratas y ratones con una duración de 24 a 30 meses.
4. Un estudio teratológico.
5. Un estudio de reproducción múltiple usando ratones.
6. Una prueba de mutagenicidad.

Los experimentos de toxicidad se llevan de diferente manera en cada laboratorio; con respecto a los colorantes rojos, los científicos canadienses señalan que según sus estudios el FD&C rojo No. 2 no es mutagénico (41, 46), el Ministro Canadiense de Salud y Bienestar Nacional decidió en 1976 continuar con el uso de este colorante en alimentos, en la misma posición están Suecia, Dinamarca, Alemania, Japón y los países miembros de la

Comunidad Económica Europea (4, 22, 54). Por otra parte, Canadá ha reusado permitir el uso del FD&C rojo No. 40 en alimentos, después de que datos proporcionados por la Oficina de Salud Pública demostraron que su seguridad era insuficiente. Sin embargo en E. U. el rojo No. 40 fue aprobado en forma permanente para su uso en alimentos en 1974, siendo el único color rojo certificado que se admite para cualquier uso en alimentos (22, 46), y el FD&C rojo No. 2 está prohibido (40, 66, 68).

Desde el punto de vista de la Toxicología, un resultado favorable significa simplemente que bajo ciertas condiciones particulares de experimentación, el investigador no encuentre efectos adversos, pero esto no significa que otra persona, conduciendo un experimento diferente, utilizando diferentes métodos y/o condiciones, o examinando a los animales desde otro punto de vista no pueda encontrar condiciones adversas (50). De lo anterior se concluye que los colorantes que actualmente se consideran inocuos pueden llegar a considerarse nocivos, es por esto que los pigmentos de origen natural presentan un gran futuro como aditivos en la Industria Alimentaria (1, 27, 41, 50).

Se ha llegado a la conclusión de que si el producto es de color rojo, naranja, o violeta, probablemente esta involucrado un cuestionable color artificial, y no se garantiza que sea seguro

para nadie (16). Si el color es amarillo, azul o verde, es seguro para adultos, pero no se sabe si lo es para niños debido a que hay estudios que han mostrado que existe relación entre el consumo de colorantes y problemas de hiperactividad (4 , 7, 16, 25, 61, 62).

En 1985 el Departamento de Investigaciones del consumidor en E. U. (36) hizo un estudio con 200 amas de casa, este estudio analizó la actitud del consumidor hacia los colorantes, y como estas actitudes afectan la decisión de compra de los alimentos. De los resultados obtenidos un 96% respondió que la característica mas importante en un alimento es que sea seguro; con respecto a los colorantes un 80% de las mujeres aceptaron un "colorante natural" o "sin adición de color", mientras que más del 50% consideró a los derivados de alquitrán completamente inaceptables. Aquí puede observarse el cambio que se esta dando en los consumidores hacia un rechazo de colorantes sintéticos y la preferencia de colorantes naturales (1, 23, 26, 30, 35, 37, 38, 41, 57, 59). En un simposio que tuvo lugar en Basilea en 1978 se defendía la idea de que para colorear productos alimenticios sólo debieran emplearse colorantes naturales ya contenidos en los alimentos (42).

2.4 CLASIFICACION DE COLORANTES

Los colorantes se caracterizan por su habilidad de absorber luz visible (400-700 nm) y de hecho esta es la razón por la que aparece como sustancias coloridas (66).

Los colorantes se clasifican en certificados y no certificados, (11, 37.). Los colorantes certificados son compuestos que se sintetizan químicamente con un alto grado de pureza, se encuentran disponibles principalmente en pigmentos y lacas (17, 37, 59), mientras que los no certificados o que no requieren de certificación (37) incluyen a los colorantes obtenidos de fuentes naturales y los compuestos "naturales idénticos" que son contrapartes sintéticas de derivados naturales (1, 5, 17, 33).

2.4.1 PIGMENTOS

Los pigmentos son compuestos hidrosolubles que exhiben su color al ser disueltos en agua, son insolubles en solventes orgánicos (37). La intensidad del color es proporcional a la pureza. Se encuentran disponibles en polvos, gránulos, líquidos, mezclas, pastas y otras formas (14). Las propiedades físicas de cada presentación confieren ventajas y desventajas al colorante, haciendo alguna presentación más apropiada para algunas aplicaciones sobre otras, por ejemplo una presentación líquida se utiliza para productos lácteos y una en polvo para mezclas secas para bebidas (11, 42).

2.4.2 LACAS

Las lacas generalmente tratadas en un sustrato de alumina hidratada (37, 40) son materiales insolubles en agua y solubles en solventes orgánicos, dan su color por dispersión (11). La

CUADRO 1. DIFERENCIAS ENTRE LAS PROPIEDADES DE LACAS Y PIGMENTOS		
PROPIEDADES	LACAS	PIGMENTOS
Solubilidad	Insoluble en la mayoría de los solventes	Soluble en agua y propilen glicol
Método de coloración	Por dispersión	Por disolución
Contenido de colorante puro	Del 20 al 40%	Colores primario, 90 a 93 %
Rango de uso	0.1 - 0.3 %	0.01 - 0.03 %
Tamaño de part.	Promedio de 5 μ m	Malla 12 a 200
Estabilidad a:		
Luz	Superior	Buena
Calor	Superior	Buena
Poder de tinción	No proporcional al cont. de colorante puro	Proporcional al cont. de colorante puro
Matiz	Varía con el contenido de colorante puro.	Constante

FUENTE: Dziezak, Judie D. Applications of Food Colorants. Food Technology, vol. 41, No. 4, Abril 1987. pag. 82

intensidad del color de una laca no es proporcional a la pureza (37). Su fuerza tintorea se incrementa al disminuir el tamaño de partícula, al aumentar el área superficial más luz se refleja mejorando la eficiencia del color. En general son usadas en productos de alto contenido graso o en productos donde no hay suficiente humedad para disolver el colorante como en tabletas comprimidas y caramelo macizo (37). Las lacas generalmente tienen mayor estabilidad química ante la luz y temperatura pero su costo es mayor (11, 17, 33, 45). En el cuadro 3 se presentan algunos datos comparativos entre lacas y pigmentos (11).

2.4.3 COLORANTES NATURALES

Los colorantes naturales son de origen vegetal, animal o mineral (40) aunque en su gran mayoría son de origen vegetal, estando contenidos en las distintas partes del mismo (29, 30). Los colorantes de origen animal sólo existen en un número muy reducido, siendo el más importante el carmín de cochinilla (29) y algunos colorantes de origen mineral (1, 67). Los colorantes naturales en el mercado incluyen pigmentos tales como cúrcuma, cochinilla, clorofila, achiote, anatto, bixina y jugo de betabel seco (1, 66). La cochinilla se ha sugerido como "el mejor de todos los pigmentos naturales" debido a su estabilidad (14).

2.4.4 COLORANTES NATURALES IDENTICOS

Los colorantes naturales idénticos (40, 49) son las contrapartes sintéticas de los colorantes y pigmentos derivados de origen natural, son compuestos hechos como réplicas químicas de tales colorantes. En el cuadro 4 se presenta una clasificación de los colorantes de origen natural.

CUADRO 4. CLASIFICACION DE COLORANTES NATURALES PARA ALIMENTOS		
ORGANICOS	VEGETALES	Antocianinas Malvidina, pronidina, petunidina, cianidina, delfinidina, etc. Betalainas Betacianinas, betaxantinas, Carotenoides Caroteno, licopeno, xantofilas, apocarotenal, cantaxantina, bixina. Clorofila A, B, C, etc. Flavonoides Kaemeferoles, kercitina, mercitina, etc
	ANIMALES	Acido carmínico Acido kermésico Antraquinoides
	MISCELANEOS	Iridoides: Md, A.
	INORGANICOS	Dióxido de titanio, Azul Nitramarino.
MINERALES	Negro carbón y Acido de hierro	

FUENTE: Santos, F. E. , Colorantes en la Industria Alimentaria.
 UNAM, México. (55)

Aunque los colorantes naturales tienden a ser más costosos, menos estables, más variables en sus tonos y por esto más complicados en su manejo que los colorantes certificados (35, 59), se está incrementando el nivel de uso más cada vez debido a la demanda en el mercado de colorantes naturales (16, 20, 33, 60), por ejemplo en el caso de los rojos existe la tendencia de utilizar colorantes naturales por lo que el rojo cochinitilla ha adquirido nueva demanda en los mercados y se cotiza a precios cada día más elevados (47). La tendencia actual en el uso de aditivos inclina el mercado en favor de los aditivos naturales (39). Los cambios en los requerimientos tecnológicos le han dado competitividad en cuanto a costo y principalmente la actitud del consumidor a su empleo (16).

La estabilidad en colorantes varía de uno a otro, por lo que las pruebas deben efectuarse en los colorantes individualmente. Muchos factores pueden contribuir a su inestabilidad, por ejemplo, la reducción por trazas de metales como zinc, estaño, aluminio, hierro y cobre causan el decoloro de algunos aditivos, la oxidación con agentes como el oxígeno. La luz es el enemigo de todos los aditivos, y los colorantes no son la excepción. La estabilidad de un colorante hacia la luz no es necesariamente el mismo que su estabilidad al aplicarlo a un producto. Otro de los factores que influyen en la estabilidad de los colorantes es el pH, este influye en el tono del colorante, vida de anaquel, cambios en solubilidad y pérdida de fuerza tintorial (11, 16, 17, 33).

2.5 ASPECTOS GENERALES SOBRE EL COLORANTE DE LA COCHINILLA

(*Dactylopius Coccus costa*)

2.5.1 HISTORIA

Desde la antigüedad el ácido carmínico se ha obtenido del insecto femenino *Dactylopius Coccus costa* que se encuentra como parásito en las partes aéreas del cactus *Opuntia* y *Nopalea* (29), y se conoce como grana. El colorante es extraído de insecto justo antes de ovopositar, ya que en este momento el colorante puede constituir, hasta un 22% del peso seco del insecto (14, 57). No se ha precisado con exactitud la antigüedad del cultivo de la grana, aunque Clavijero y Humboldt suponen que se remonta al llamado periodo Tolteca, desde el décimo siglo de nuestra era (16, 68).

En esta época los campesinos distinguieron dos tipos de grana, la fina y la silvestre (o corriente) (48). La primera fue utilizada para obtener el colorante en forma continua y la segunda se consideró a la cochinilla, que de manera informal, crecía rápidamente en las casas. En México, los aztecas lo cultivaron por su valor de colorido y frecuentemente funcionaba como impuesto o tributo (18, 33, 68).

En tiempos de la conquista, la cochinilla se cultivaba en un área que se extendía desde Guerrero y Tlaxcala, hasta Oaxaca (47, 48, 58). Los españoles designaban como grana o cochinilla indistintamente al insecto vivo, como al colorante. A partir del siglo XVI los españoles incrementaron notablemente los

cultivos de grana ya existentes y los introdujeron a nuevas zonas. Se supone que la cochinilla cultivada se llevó a Cádiz y de ahí a las Islas Canarias durante los años de 1824 a 1827. Siendo en las Canarias donde el cultivo proliferó notablemente (16, 17, 47, 48, 51).

La exportación de este cultivo vino en decaimiento llegando a su menor actividad entre los años de 1805 a 1818. Finalmente aparecen los colorantes sintéticos, principalmente el color malva (mauve) en 1858 y el "rojo congo" en 1884, mucho más baratos que la grana, causando el desplazamiento de este producto en el mercado mundial (25, 33, 47, 48).

2.5.2 ASPECTOS BIOLÓGICOS

El investigador Costa en 1835 denominó a la cochinilla *Dactylopius coccus* siendo este el nombre que prevalece. En esta forma la clasificación de la grana fina es la siguiente (14, 48):

Clase:	Insecta
Orden:	Homóptera
Sub-orden:	Sternorrhyncha
Super familia:	Coccoidea
Familia:	Dactylopiidae
Género:	<i>Dactylopius</i>
Especie:	<i>coccus</i>

El género *Dactylopius* costa se diferencia por que los cuerpos de las hembras estan cubiertas por una secreción blanca algodonosa o pulverulenta (47, 48). En cuanto a la morfología de la cochinilla, las hembras tienen el cuerpo globoso, y miden de 2 a 5 mm de diámetro, antenas de 6 a 7 artejos, pequeñas y cortas. Las patas muestran un desarrollo normal de todas sus partes, pero son cortas, carecen de alas, la boca tiene un pico o proboscis formado por el labium, dentro del cual hay 4 estiletes. Las hembras adultas viven fijadas en las superficies de los nopales, en los que insertan fuertemente sus estiletes. Se presupone que pueden reproducirse tanto en forma sexual, como asexual (partenogénesis). Los machos tienen cabeza, tórax y abdomen bien diferenciados, un par de alas mesatorácicas y dos balancines; carecen de órganos bucales, son de vida muy corta y de tamaño más reducido que las hembras, el abdomen termina en dos largos filamentos cerosos. Tanto las hembras adultas como las crías, se alimentan de los jugos de las pencas de los nopales, los cuales chupan ávidamente mediante sus respectivos picos.

En cuanto al ciclo biológico (48), la vida de *Dactylopius coccus* pasa por los estados de huevo, ninfa y adulto. Durante la oviposición, los huevecillos quedan bajo el cuerpo de la hembra y eclosionan en un periodo de 15 min. a 6 hrs., aquí no se distingue a las hembras de los machos. Las ninfas por lo general en un lapso de 48 hrs. insertan sus picos en los tejidos del nopal para alimentarse, quedando fijas por el resto de su vida. A medida que las hembras se desarrollan aumenta su

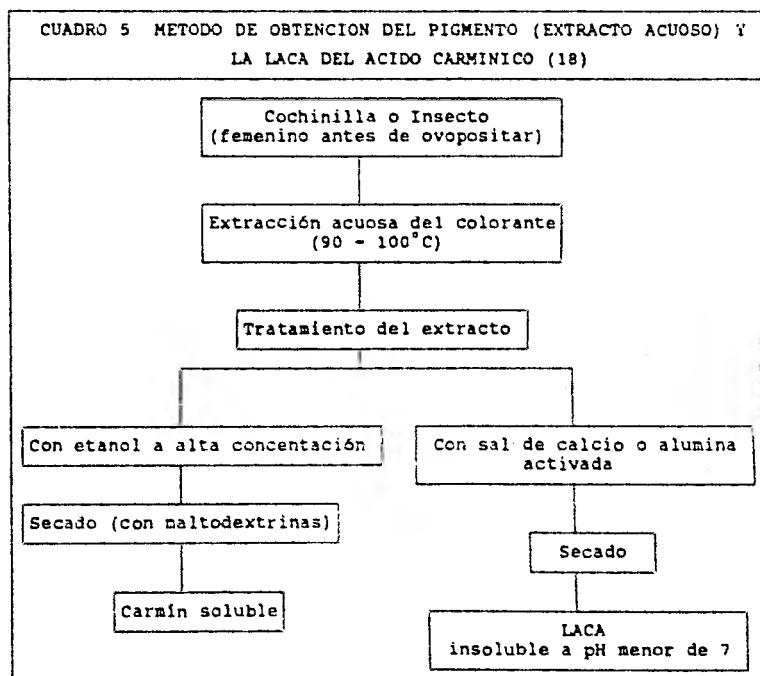
volumen y sus patas se retraen atrofiándose así como las antenas. En condiciones ideales de cultivo el insecto requiere de 90 días para su desarrollo desde el estado huevo (47), al adulto y las hembras quedan listas para ovopositar con lo que se inicia un nuevo ciclo. La ovoposición de la hembra dura unos 15 días, cada una pone un promedio de 350 huevecillos. Al terminar esta operación, el cuerpo del insecto se contrae hasta que muere.

Las plantas en las que se cultiva la cochinilla son (47, 48) el nopal de Castilla (*Opuntia ficus-indica*) y el nopal de San Gabriel (*Opuntia tormentosa*). La cochinilla vive silvestre sobre el llamado nopal Castarrita (*Opuntia pilifera*) (14, 18, 58). Los factores climáticos y la lozanía de las plantas hospederas, son determinantes para alargar o acortar el tiempo que requiere el ciclo biológico del insecto.

2.5.3 METODO DE OBTENCION

El ácido carmínico se encuentra hasta en un 22% del peso seco del insecto (38). La mayor parte del ácido carmínico puede ser extraído por tratamiento del insecto femenino intacto seco con agua caliente (14, 29, 38), pero los rendimientos pueden ser incrementados si la preparación seca es pulverizada, aunque los subsecuentes estados de purificación sean más difíciles. En ambos casos cantidades variables del pigmento quedan unidas a los residuos insolubles. Los subsecuentes pasos del proceso

involucran un tratamiento del extracto con sales de aluminio. En el cuadro 5 se presenta el diagrama de obtención del pigmento y de la laca del ácido carmínico.



Para obtener un kg. de carmín comercial son necesarios de 4 a 5 kgs. de cochinilla en bruto. Los procesos de extracción acuosa pueden ser continuos o por lote a temperaturas entre 90 y 100°C.

Tradicionalmente, el aislamiento de un ácido carmínico puro depende de la habilidad para formar un complejo insoluble con plomo y los métodos basados en la precipitación de plomo aun parecen ser usados en la preparación del ácido carmínico con fines histológicos. Trabajos recientes han establecido que los mejores rendimientos pueden ser obtenidos si el insecto es tratado con soluciones acuosas de enzimas proteolíticas en presencia de los agentes surfactantes convenientes y la purificación es altamente simplificada usando cromatografía de intercambio iónico (38).

2.5.4 COCHINILLA, ACIDO CARMINICO Y CARMIN

Cochinilla es el insecto *Dactylopius Coccus*, del cual se extrae el ácido carmínico.

Acido carmínico, rojo cochinilla, es una antraquinona derivada, siendo el principio activo del colorante.

El carmín es la laca de aluminio del ácido carmínico, conteniendo un 50% mínimo de este último (17, 14, 33). Las presentaciones comerciales que existen en el mercado se obtienen por una extracción acuoso enzimática y son (18, 38, 47, 48):

CARMIN Colorante rojo claro, se usa principalmente en alimentos donde la base principal es agua o alcohol, como caramelos, yoghurts, helados, etc. Proporciona coloraciones claras en

soluciones diluidas en agua.

CARMIN ACIDO ESTABLE Puede utilizarse en alimentos donde la base principal sea agua o alcohol. El colorante posee una tonalidad rojiza clara, ligeramente viscoso. Presenta un mínimo de 2.5% de ácido carmínico, disponible únicamente en polvo. Se utiliza en productos de pH bajo tales como bebidas fermentadas o yoghurt.

ACIDO LIQUIDO Solución color rojo magenta, está compuesto por carmín, agua, hidroxido de amonio, sodio y glicerina. Contiene como mínimo 3.3% de ácido carmínico, está diseñado para alimentos a base agua con un pH superior a 3.5 como yogurts, malteadas, etc.

CARMIN LACA De color rojo magenta, tiene un poder colorante no menor de 50% de ácido carmínico, puede usarse en productos farmacéuticos, cosméticos y en confitería (38, 48).

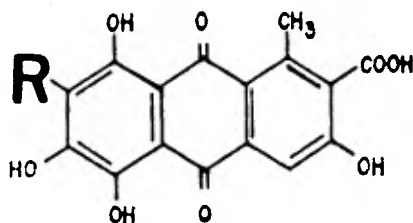
2.5.5 CARACTERISTICAS FISICAS Y QUIMICAS DEL ACIDO CARMINICO

Este pigmento posee una coloración rojo-púrpura, presentando una buena solubilidad en agua y etanol dando una coloración en solución rojo escarlata, la coloración del ácido carmínico se ve afectada al variar el pH, dando una coloración amarilla en pH ácido (aproximadamente de 4) y una coloración rojo en pH alcalino (14, 38).

La estructura para el ácido carmínico es descrita como 7- α -D-glucopiranosil-3,5,6,8-tetrahidroxi-1-metil-9,10-dioxo-2-ácido antracencarboxílico. Se considera que la configuración estereoquímica de la ligadura C-glucosil es la responsable de la habilidad del ácido carmínico para formar complejos con una variedad de metales (18). En la figura 1 se presenta la estructura del ácido carmínico. La habilidad del ácido carmínico para formar complejos con metales le da una coloración rojo brillante (38), con aluminio y hierro forma las coloraciones más deseables y son las que se utilizan comercialmente, principalmente el aluminio. Con este metal se da un rango de coloración que varía del rojo fresa al púrpura o negro violáceo, esto se logra ajustando el valor del ácido carmínico con el aluminio (38). En la figura 2 se presenta la estructura sugerida para un complejo carmín metal (18).

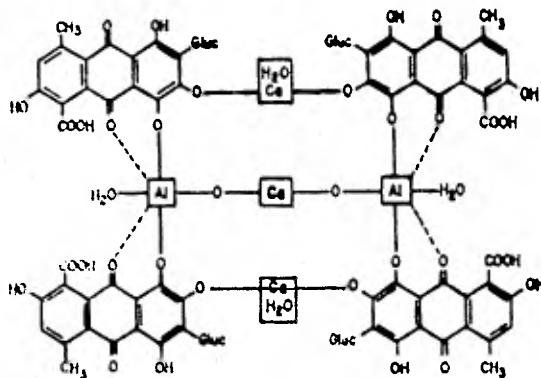
FIGURA 1. ESTRUCTURA QUIMICA SUGERIDA DEL ACIDO CARMINICO

(14, 17, 18, 30, 38, 48)



Se han publicado muchas técnicas para la preparación de carmines (18, 18), pero los detalles de los procesos comerciales son celosamente guardados por los fabricantes. Estos procesos son diseñados para obtener el máximo rendimiento de color y las mejores propiedades de pigmentación al mínimo costo.

FIGURA 2 ESTRUCTURA DEL COMPLEJO ACIDO CARMINICO-ALUMINIO (10)



Los carmines pueden ser aislados en forma directamente soluble en los solventes base-agua bajo un amplio rango de pH o en forma insoluble bajo pH inferiores a 7; sin embargo, en la práctica comercial, los carmines insolubles pueden ser solubilizados por tratamiento en medio acuosa arriba del pH de 7, antes de la adición en alimentos o bebidas.

III. DISEÑO EXPERIMENTAL

3.1 OBJETIVOS

3.1.1 OBJETIVO GENERAL

Sustituir en diferentes niveles de concentración un colorante natural (laca de aluminio de ácido carmínico) con un colorante sintético (rojo No. 3), para obtener mezclas de menor costo con respecto al del colorante natural, evaluando su estabilidad y aplicando en alimentos.

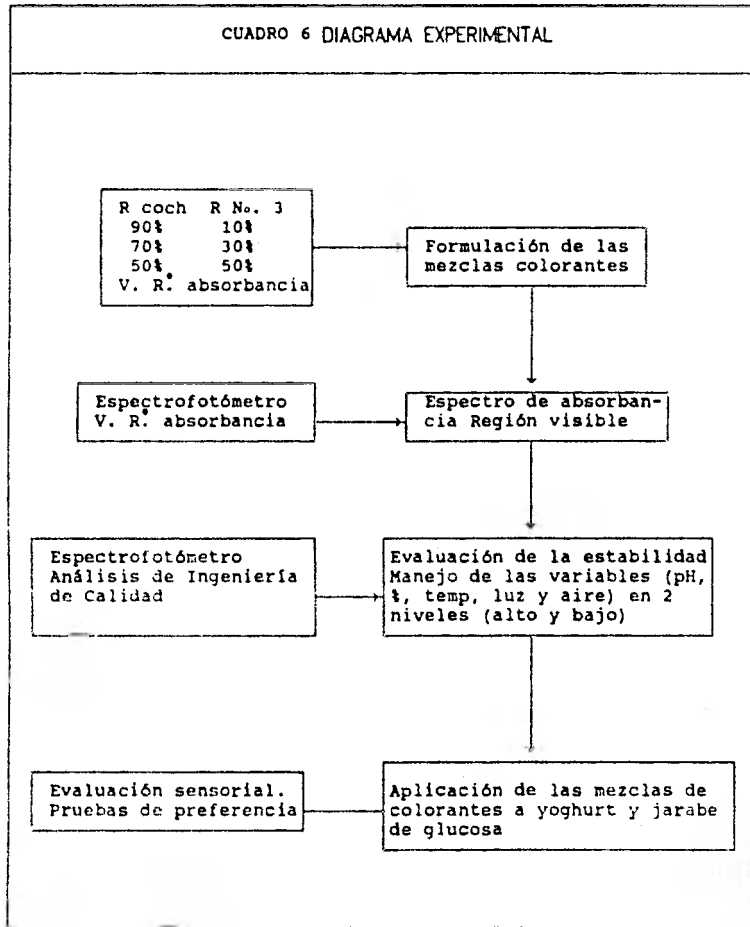
3.1.2 OBJETIVOS PARTICULARES

Evaluar el efecto de las variables nivel de sustitución de los colorantes, presencia de luz, temperatura, pH y presencia de aire en la estabilidad de la mezcla de colorantes para establecer sus condiciones de uso.

Evaluar la factibilidad de sustitución de la mezcla de colorantes en cuanto a gama de aplicación.

Aplicar las mezclas de colorantes a un alimento, determinar la concentración de uso , su aceptación y costo.

CUADRO 6 DIAGRAMA EXPERIMENTAL



• V. R. = variable de respuesta

3.2 METODOLOGIA EXPERIMENTAL

3.2.1 FORMULACION DE LAS MEZCLAS DE COLORANTES. Y ESPECTRO DE ABSORBANCIA

Los colorantes con que se llevó a cabo la experimentación fueron proporcionados por SPECTRUM S.A. de C.V. (Benvenuto Cellini No. 97, Col. Alfonso XIII), siendo estos el rojo No.3 (eritrosina) y la laca de aluminio al 52% del ácido carmínico (carmín). A sugerencia de esta empresa se preparó una mezcla en la que se lograra un 25% de reducción del costo por kilogramo de mezcla de colorante con respecto al costo del rojo cochinilla laca, la que corresponde a la mezcla intermedia. Se hicieron 2 mezclas adicionales, con una sustitución mayor y una menor a la anterior. Se manejaron 3 niveles de variación en la relación que guardaban los colorantes. Para el primer nivel se tiene un 50% de cada colorante, para el segundo se tiene un 70% del rojo cochinilla laca y 30% del rojo No. 3 y para el tercer nivel se tiene un 90% de rojo cochinilla laca y 10% de rojo No. 3.

Las mezclas de colorantes al 0.004% se solubilizaron en HCl a 0.02M (Marshall, P. N, 1974, 17). Se realizó un barrido en un espectrofotómetro (7, 15, 19, 24, 31, 32) PERKIN-ELMER LAMBDA 3A, en la región visible de 340 - 750 nm (2, 9, 15, 26, 31, 56) para encontrar la longitud de onda en la que se tiene la absorbancia máxima. Paralelamente se hicieron barridos con los colorantes sin mezclar para tomarlos como referencia. Las

soluciones se leyeron con HCl 0.02 M como blanco de referencia, la solución de Rojo No. 3 se preparó utilizando agua destilada y desionizada la que a su vez se utilizó como blanco de referencia para leer la solución de rojo No. 3.

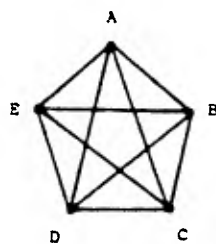
En base a los barridos, se determinó la longitud de onda a la cual se observa la máxima absorbancia para cada una de las mezclas. La longitud de onda para evaluar la estabilidad se maneja como el porcentaje de absorbancia relativa que es una medida de que porcentaje del colorante se conserva después de un determinado tiempo.

3.2.2 EVALUACION DE LA ESTABILIDAD DE LAS MEZCLAS DE COLORANTES A LOS FACTORES PH, PRESENCIA DE LUZ, TEMPERATURA, NIVEL DE SUSTITUCION Y PRESENCIA DE AIRE

Se planteó el estudio del efecto del pH, presencia de luz, temperatura, nivel de sustitución de los colorantes en estudio y presencia de aire y de las interacciones entre ellas. Para evaluar el efecto de dichas variables se siguió un diseño de Ingeniería de Calidad (49, 53) en el que cada variable se manejó en 2 niveles extremos, habiendo determinado las variables principales se eligió una distribución de arreglo ortogonal L16 para conducir el experimento, de esta manera se puede conocer la influencia de cada variable y de la interacción de las variables entre sí. En la figura 3 se presenta el arreglo ortogonal

elegido donde cada vértice representa el efecto de una variable y las líneas entre los puntos representan el efecto de la interacción de las variables a que están unidos.

FIGURA 3 ARREGLO ORTOGONAL L_{16} DE INGENIERIA DE CALIDAD



A = nivel de sustitución de los colorantes
B = pH
C = temperatura
D = presencia de luz
E = presencia de aire

Los datos requeridos por este tipo de arreglo se cubren con los experimentos que se presentan en la cuadro 7. Los datos se obtuvieron con la siguiente metodología. Se prepararon 32 muestras que cubrieran las condiciones requeridas haciendo esto por triplicado, como lo muestra el cuadro 8. Para cada una de las mezclas de colorantes se preparó una solución ácida en pH de 4 con ácido clorhídrico (HCl) y una solución básica de pH 10 con hidróxido de sodio (NaOH) (12). Cada solución de

colorantes se dividió en 8 tubos de ensaye, 4 se manejaron con

CUADRO 7 DATOS REQUERIDOS DEL ARREGLO ORTOGONAL L16																	
VAR	A		A		B		D		A		C		B		A		RES
	A	B	B	C	C	C	E	D	D	D	E	D	E	E	E		
COND																	
1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
2	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	
3	1	1	1	2	2	2	2	1	1	1	1	2	2	2	2	2	
4	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	1	1	1	1	
5	1	2	2	1	1	2	2	1	1	2	2	1	1	2	2		
6	1	2	2	1	1	2	2	2	2	1	1	2	2	2	1	1	
7	1	2	2	2	2	1	1	1	1	2	2	2	2	2	1	1	
8	1	2	2	2	2	1	1	2	2	1	1	1	1	1	2	2	
9	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	
10	2	1	2	1	2	1	2	2	1	2	1	2	1	2	1	2	
11	2	1	2	2	1	2	1	1	2	1	2	2	1	2	1	2	
12	2	1	2	2	1	2	1	2	1	2	1	1	1	2	1	2	
13	2	2	1	1	2	2	1	1	2	2	1	1	2	2	1	2	
14	2	2	1	1	2	2	1	2	1	1	2	2	1	1	1	2	
15	2	2	1	2	1	1	2	1	2	2	1	2	1	1	1	2	
16	2	2	1	2	1	1	2	2	1	1	2	1	2	2	2	1	

VAR = variables COND = condiciones

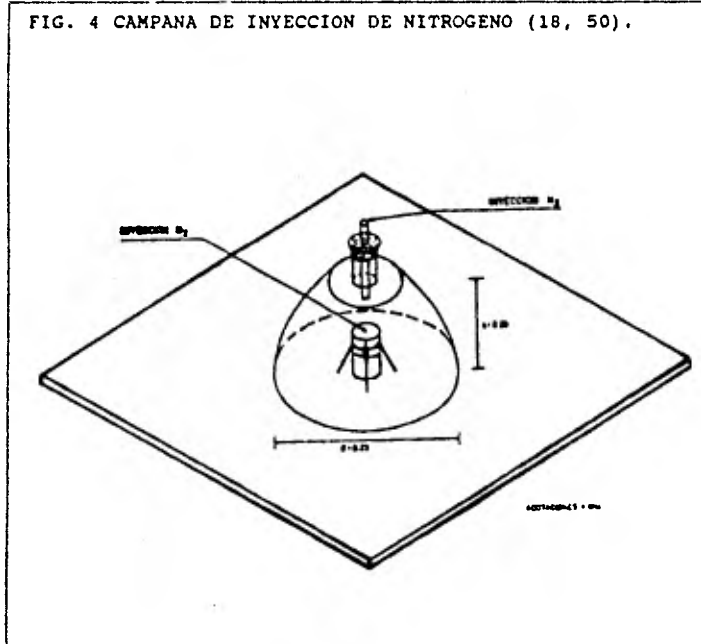
luz por lo que se sometieron a luz constante en una caja con una fuente de luz de 60 watts, los otros 4 (9) se manejaron sin luz por lo cual se cubrieron con papel aluminio; 2 de estos se cerraron en presencia de aire y 2 fueron burbujeados en una campana saturada de nitrógeno como se muestra en la figura 4 para eliminar el aire que se encuentra en el

CUADRO 7 CONDICIONES DE LAS VARIABLES EXPERIMENTALES

				rep. 1	rep. 2	rep. 3
temp. 1	conc. 1	pH 1	a/luz	a/aire		
			c/aire			
			c/luz	a/aire		
		pH 2	a/luz	a/aire		
			c/aire			
			c/luz	a/aire		
	conc. 2	pH 1	a/luz	a/aire		
			c/aire			
			c/luz	a/aire		
		pH 2	a/luz	a/aire		
			c/aire			
			c/luz	a/aire		
temp. 2	conc. 1	pH 1	a/luz	a/aire		
			c/aire			
			c/luz	a/aire		
		pH 2	a/luz	a/aire		
			c/aire			
			c/luz	a/aire		
	conc. 2	pH 1	a/luz	a/aire		
			c/aire			
			c/luz	a/aire		
		pH 2	a/luz	a/aire		
			c/aire			
			c/luz	a/aire		

CUADRO 8 CONDICIONES DE TRABAJO		
VARIABLES	NIVEL BAJO	NIVEL ALTO
TEMPERATURA	36.0°C ± 1	85°C
CONCENTRACION		
rojo cochinilla	50 %	90 %
rojo No. 3	50 %	10 %
pH	4.0	10.0
LUZ	sin luz	con luz
AIRE	sin aire	con aire

espacio de cabeza del tubo de ensaye cerrandose posteriormente con su tapón de rosca. De cada muestra una se manejó a nivel alto de temperatura por lo que se metió a una estufa de laboratorio a la temperatura deseada, colocando un foco de 60 watts para los tubos que requerían de niveles altos de temperatura y luz. Las muestras manejadas a baja temperatura se colocaron en la cámara oscura en la que el foco proporciona la temperatura correspondiente al nivel bajo (fig. 5).



La degradación de los colorantes se determinó mediante la lectura de absorbancia a la longitud de onda en la que la absorbancia es máxima (determinada previamente). Las lecturas se hicieron a intervalos regulares de tiempo, posteriormente se calculó el porcentaje relativo de absorbancia (% RA), ya que es una medida del porcentaje de colorante que se conserva a un tiempo dado, se calcula con la fórmula siguiente (12, 50):

$$\% \text{ RA} = \frac{\text{Abs. al tiempo X}}{\text{Abs. al tiempo 0}} \times 100$$

Donde: %RA es el porcentaje relativo de absorbancia

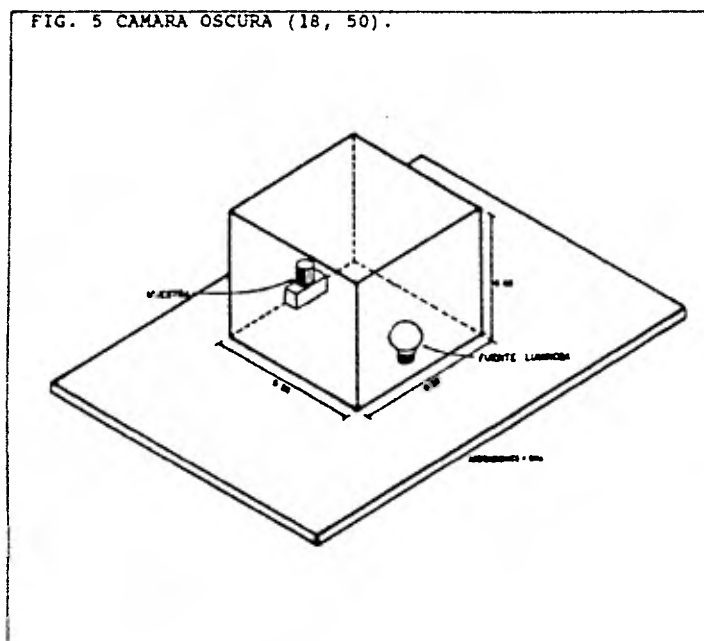
Abs. al tiempo X es la absorbancia al tiempo en el que queremos conocer el % RA

Abs. al tiempo 0 es la absorbancia inicial

3.2.3 APLICACION DE LAS MEZCLAS DE COLORANTES EN ALIMENTOS

De acuerdo al análisis de los datos que se obtuvieron de estabilidad de las mezclas se decidió aplicarlas en un producto de pH bajo y en uno de pH medio. Se aplicaron los 3 niveles de concentración propuestos inicialmente ya que la estabilidad no se vió afectada de una manera importante por el tipo de mezcla empleada y se quería saber si existía alguna diferencia en la preferencia del consumidor por alguna mezcla en particular. En el caso del alimento de pH bajo se eligió manejar un yoghurt

(29) y en el caso del producto de pH medio se eligió un jarabe de glucosa, en ambos para proporcionar un color fresa (29).



3.2.3.1 ADICION DE LA MEZCLA DE COLORANTES A YOGHURT

Para simular el color de un yoghurt sabor fresa se empleó como materia prima un yoghurt natural comercial al que se adicionaron las mezclas de colorantes para determinar la concentración de uso de cada una. Se comparó con 6 marcas de yoghurt de fresa buscando la que presentara un tono similar al

que se obtiene con los colorantes en estudio; habiendo elegido una marca de yoghurt se determinó la cantidad a adicionar de cada una de las mezclas al igualar el color del yoghurt de prueba con el yoghurt comercial.

Teniendo una muestra de yoghurt teñida con cada una de las mezclas se evaluaron sensorialmente por un jurado de 28 jueces no entrenados con una prueba de preferencia mediante la evaluación de 2 cuestionarios. En el primero se evaluaron las 4 muestras (una de cada nivel de concentración probado y la muestra comercial con que se comparó), la escala hedónica constaba de 9 niveles, desde gusta extremadamente hasta disgusta extremadamente. El cuestionario se presenta en la parte de resultados en el cuadro 11. Esta prueba de preferencia tiene como objetivo el conocer si existe diferencia significativa de una muestra sobre las otras.

El segundo cuestionario (ver en resultados cuadro 12) se refería a la comparación de cada una de las muestras con el producto comercial, esta es una prueba de preferencia, compara la aceptación de las muestras de prueba con la muestra comercial y nos dice si hay diferencia en la preferencia de alguna de ellas con respecto a la muestra comercial, se hizo con 7 niveles, que iban desde excelente hasta muy deficiente. Los resultados obtenidos se trataron estadísticamente mediante un análisis de varianza y una prueba DMS (Diferencia mínima significativa) con niveles de confianza de 95 y 99%. De haber

diferencia significativa entre las muestras la prueba nos indica entre que muestras existe igualdad (8, 13, 20, 21).

3.2.3.2 ADICION DE LAS MEZCLAS DE COLORANTES A JARABE DE GLUCOSA

Para simular el color fresa en un jarabe se empleó jarabe de glucosa de 75°Bx al que se adicionaron las mezclas de colorantes en estudio. Para cada mezcla se hicieron 6 muestras con diferentes concentraciones que iban de 4 ppm a 30 ppm, se graficó la concentración contra la absorbancia. Se eligió una muestra de cada mezcla, dichas muestra presentaban un valor de absorbancia similar. Se aplicó una prueba de preferencia donde las muestras se evaluaron sensorialmente mediante la resolución de un cuestionario donde se presentaba una escala hendónica con 9 puntos (cuadro 13) que iban desde gusta extremadamente hasta disgusta extremadamente, el cuestionario fue presentado a 28 jueces no entrenados. Los resultados obtenidos de esta prueba fueron tratados estadísticamente mediante un análisis de varianza y una prueba DMS , con niveles de significancia de 95 y 99% (8, 13, 20, 21).

IV RESULTADOS Y DISCUSION

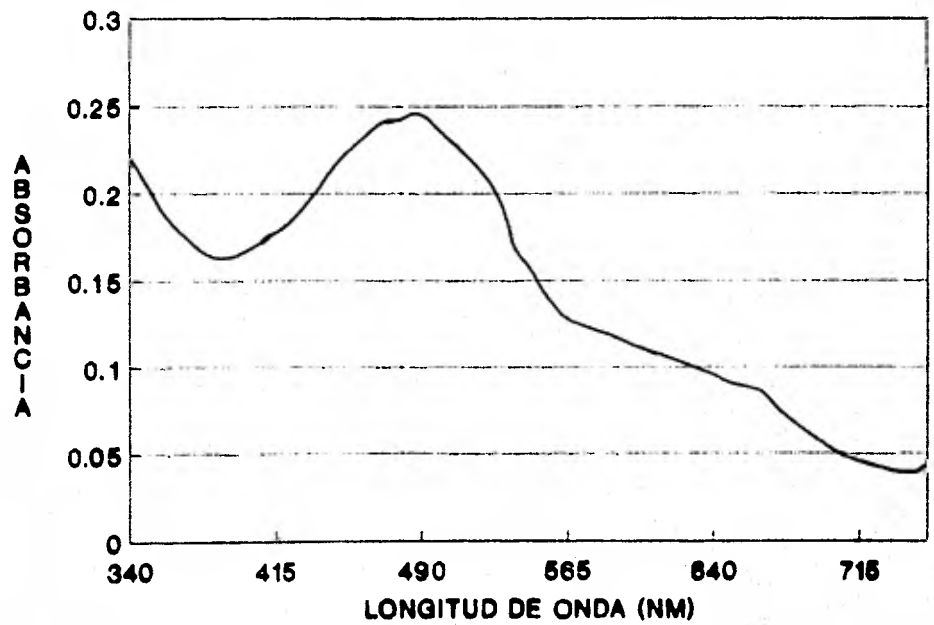
4.1 ESPECTRO DE ABSORBANCIA

La determinación del máximo de absorbanca en la región visible de las mezclas de colorante a los 3 niveles de variación indican un máximo a 490 nm (figuras 6, 7 y 8). Como referencia se encontró que para rojo cochinilla laca la longitud de onda a la que la absorbanca es máxima fue de 490 nm (fig. 9), este dato concide con lo reportado por Marshal & Horobin (1974) (17) para una muestra en medio acuoso de HCl 0.02 N. Para el pigmento rojo No. 3 se obtuvo una longitud de onda de 526 nm que concide con los datos que se reportan de bibliografía (fig 10)(5, 63). Al preparar las diluciones sugeridas por Marshal, P. N. (1974), de HCl a 0.02 N al 0.008% se presentaron precipitados por lo que se encontró que es mejor preparar soluciones al 0.004%.

La absorbanca máxima de las muestras que contiene laca de rojo cochinilla tiene un valor de 490 nm. La absorbanca de la mezcla M₃ es muy similar a la del rojo cochinilla laca, mientras que la mezcla M₂ encuentra una absorbanca similar a la mezcla M₁, menor a la del rojo cochinilla laca. El comportamiento de las mezclas y del rojo cochinilla laca en los barridos presentan un comportamiento similar.

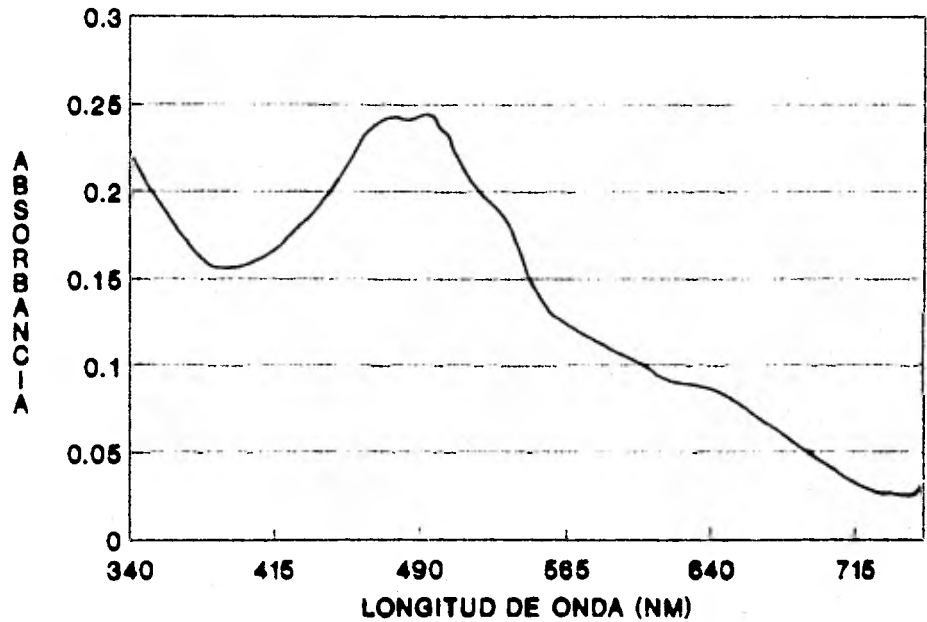
Se observó que al manejar soluciones de pH de 4 y 10 la longitud de onda en la que la absorbanca es máxima presentaba un corrimiento, por lo que se determinó la longitud de onda de

FIG.6 ESPECTRO DE ABSORBANCIA EN LA REGION VISIBLE DE LA MEZCLA 1



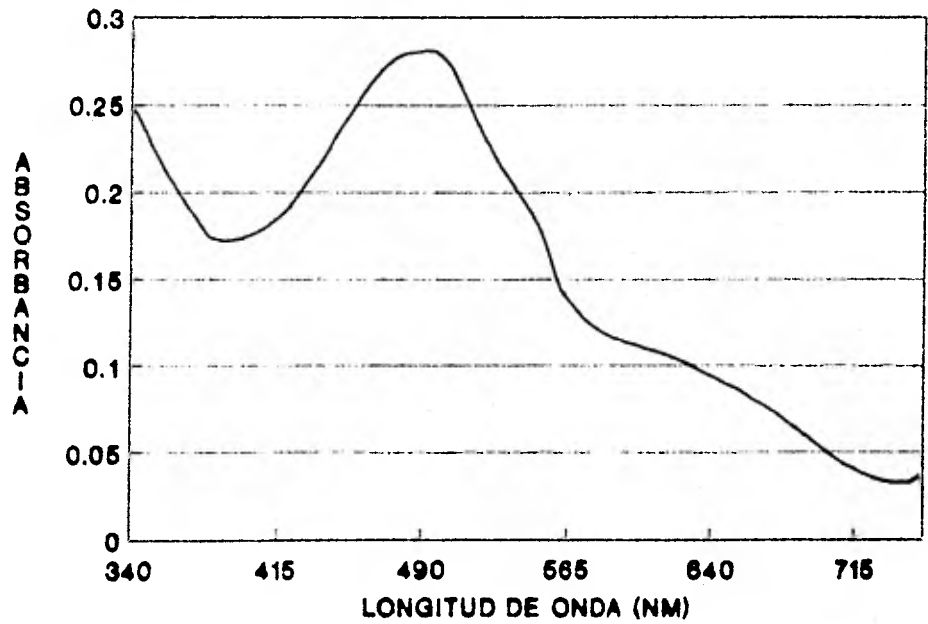
MEZCLA 1 50% ROJO COCHINILLA-50% ROJO #3

FIG.7 ESPECTRO DE ABSORBANCIA EN LA REGION VISIBLE DE LA MEZCLA 2



MEZCLA 2 70% ROJO COCHINILLA-30% ROJO #3

FIG. 8 ESPECTRO DE ABSORBANCIA EN LA REGION VISIBLE DE LA MEZCLA 3



MEZCLA 1 90% ROJO COCH. LACA-10% ROJO #3

FIG. 9 ESPECTRO DE ABSORBANCIA EN LA REGION VISIBLE DEL ROJO COCHINILLA LACA

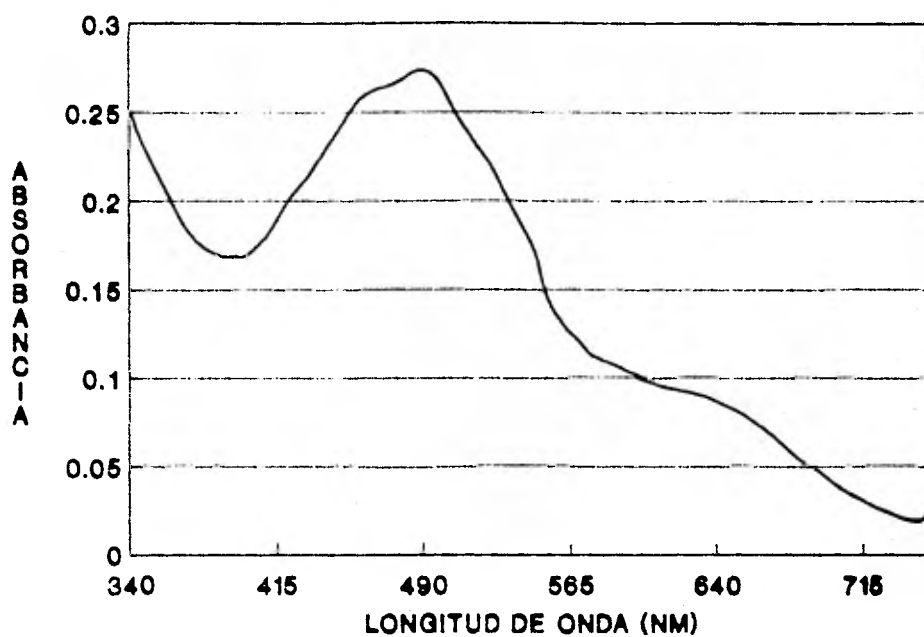
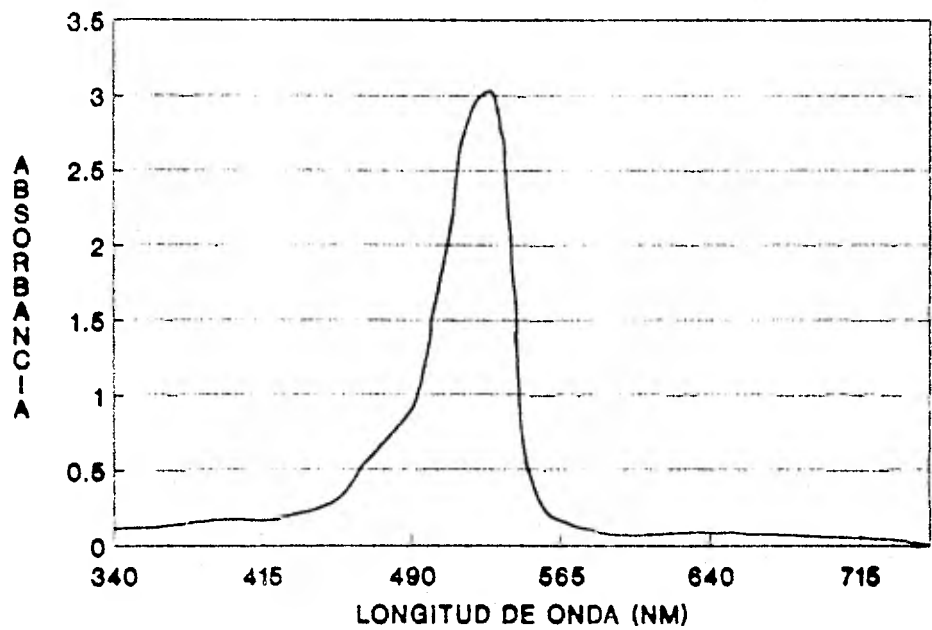


FIG.10 ESPECTRO DE ABSORBANCIA EN LA REGION VISIBLE DEL ROJO # 3



máxima absorbancia estos valores de pH y se encontró que para las mezclas la M₁ y M₂ la longitud de onda era de 526 nm, coincidiendo el valor para los dos valores de pH. En el caso de la laca de rojo cochinilla la longitud de onda de absorbancia máxima a pH de 4 se encontró en un intervalo de 513 a 517 nm por lo que se eligió manejar un valor de 515 nm, para pH de 10 la longitud de onda de absorbancia máxima era de 522 nm. Por otro lado el rojo N_o. 3 mantuvo su longitud de onda de máxima absorbancia en ambos valores de pH.

En las mezclas y en la laca de rojo cochinilla se observa que a pH de 10 se tiene un valor de absorbancia mayor que con respecto al pH de 4, esto se debe a la solubilidad que presenta la laca a pH alcalinos, al presentar una mayor solubilidad presenta un mayor valor de absorbancia, aunque los cambios de absorbancia pueden deberse también a efectos de resonancia.

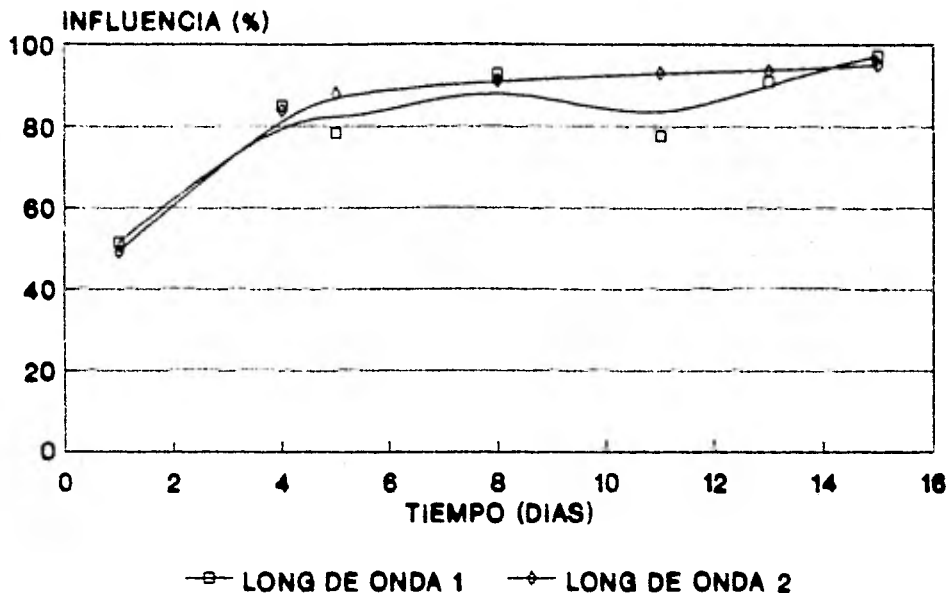
CUADRO 10. λ DE ABSORBANCIA MAXIMA DE TRABAJO			
MUESTRA	pH	λ_1 (nm)	λ_2 (nm)
Mezcla 1 y 2	4	526	515
	10	526	522
Rojo cochinilla laca	4	515	518
	10	522	518
Rojo N _o . 3	4 y 10	525	526

λ = longitud de onda

Se decidió medir la absorbancia de las soluciones a 2 longitudes de onda, para valorar la posibilidad de una degradación mas rápida en el rojo cochinilla (λ_2) y la degradación de la mezcla (λ_1). Las longitudes de onda con las que se trabajó durante la experimentación se presentan en el cuadro 10.

Los resultados obtenidos a las diferentes longitudes de onda se analizaron estadísticamente con una prueba DMS con comparaciones pareadas (8), lo que hace esta prueba es comparar los datos por parejas, nos dice si la diferencia que existe entre una serie de datos debe considerarse. Se encontró que con niveles de confianza de 95 y 99% no existe diferencia significativa entre los datos, lo cual era de esperarse debido a la pequeña diferencia entre las longitudes de onda. En la figura 11, se compara el efecto de la presencia de luz en la estabilidad de las mezclas colorantes evaluadas con ambas longitudes de onda.

FIG.11 COMPARACION DEL EFECTO DE LA PRESENCIA DE LUZ EN LA ESTABILIDAD DE LOS COLORANTES



4.2 EFECTO DEL NIVEL DE SUSTITUCION, PRESENCIA DE LUZ, TEMPERATURA, PH Y PRESENCIA DE AIRE EN LA ESTABILIDAD DE LAS MEZCLAS COLORANTES

Se estudió el efecto de las variables concentración, pH, presencia de luz, temperatura y presencia de aire en la estabilidad de mezclas de rojo No. 3 y rojo cochinilla laca. En la figura 12 se presenta la influencia (en porcentaje) de cada una de las variables y su variación con respecto al tiempo (Ver datos en la tabla 1). De este cuadro puede observarse que el factor que tiene mayor influencia en la estabilidad de los colorantes es la presencia de luz (52), que alcanza 95% de influencia los 15 días, el efecto adverso va aumentando al aumentar el tiempo de una forma logarítmica como se muestra en la figura 13, siguiendo la ecuación $Y = m \ln X + b$.

La variable que sigue en orden de importancia es la temperatura representando un 18.35% de influencia en el primer día, disminuyendo hasta 0% al día 15. El efecto de las demás variables con respecto a la luz es bajo siendo para el pH de 11.24%, para el aire de 2.49% y para la concentración de 0%. En cada valor de tiempo la sumatoria del porcentaje de influencia de todas las variables (tabla 1), el porcentaje de influencia de la interacción de las variables (tabla 2) y el efecto del error es igual a 100%. La influencia de los factores en estudio varían en un gran porcentaje en los primeros 4 días, aumentando para la presencia de luz y disminuyendo para las demás variables,

FIG. 12 EFECTO DE LAS VARIABLES EN LA ESTABILIDAD DE LAS MEZCLAS COLORANTES

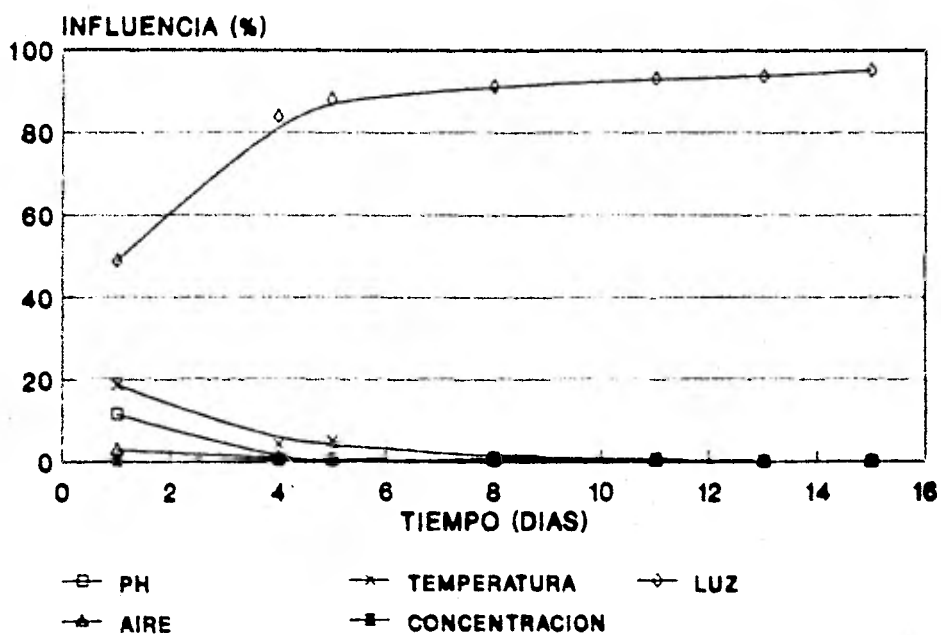
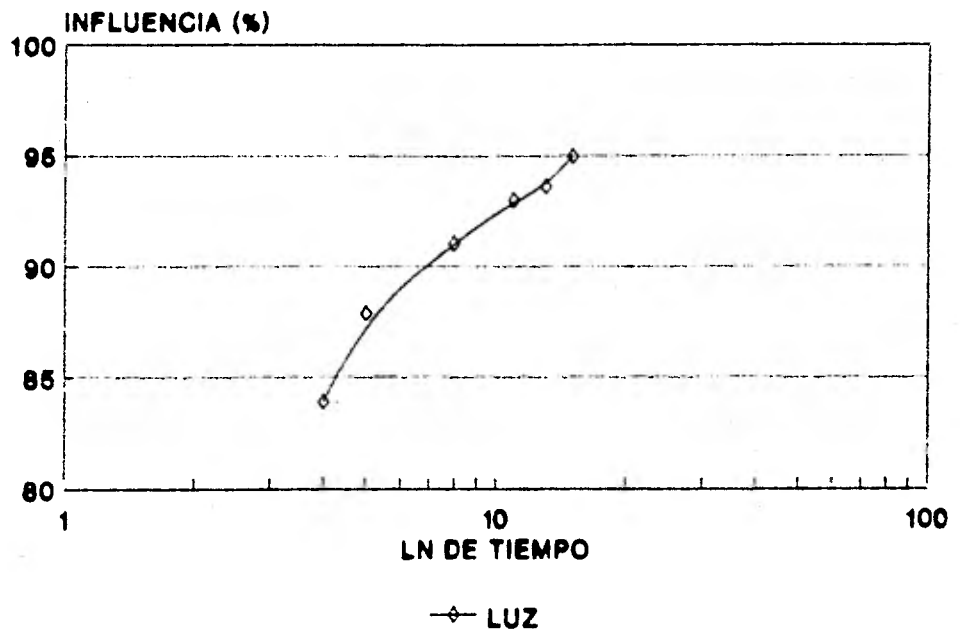


FIG. 13 COMPORTAMIENTO DE LA INFLUENCIA DE LA LUZ EN LA ESTABILIDAD



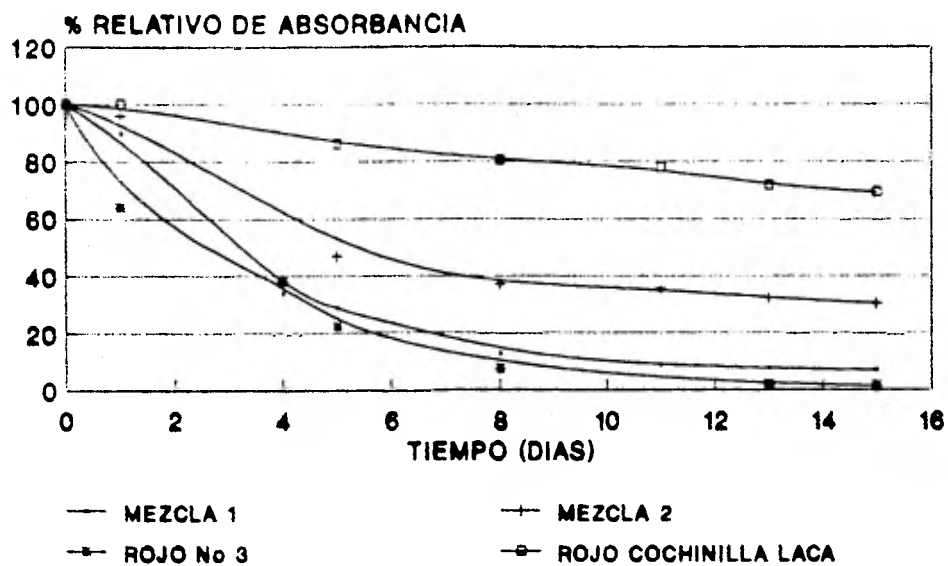
52

posteriormente a medida que pasa el tiempo la velocidad de variación de la influencia es mucho menor.

TABLA 1 DE INFLUENCIA PORCENTUAL DE LAS VARIABLES EN LA ESTABILIDAD DE LOS COLORANTES							
FUENTE DE VARIACION	TIEMPO (DIAS)						
	1	4	5	8	11	13	15
CONCENTRACION (A)	-	-	0.03	0.26	0.27	-	0.10
pH (B)	11.24	-	-	0.81	0.63	-	-
TEMPERATURA (C)	18.35	3.95	4.50	0.99	0.30	0.21	-
LUZ (D)	48.92	83.89	87.89	91.03	92.98	93.60	94.97
AIRE (E)	2.49	0.63	0.19	0.46	0.19	0.20	0.05

En las diferentes formulaciones de las mezclas colorantes se encontró que una mayor o menor proporción de alguno de los colorantes no influyó significativamente en la estabilidad de la mezcla, por lo que se puede aplicar la mezcla de menor costo sin que esto represente un problema para la estabilidad de las mezclas mismas. Al comparar el comportamiento de las mezclas con los colorantes originales se puede observar que las mezclas se representan por curvas intermedias entre las curvas de los colorantes originales, esto quiere decir que la estabilidad que se tiene de las mezclas es intermedia entre las estabilidades del rojo cochinilla laca y del rojo No. 3. Se encontró en este caso que el rojo cochinilla laca presenta mayor estabilidad que el rojo No. 3 como se presenta en la figura 14.

FIG. 14 ESTABILIDAD DE COLORANTES Y MEZCLAS



Mezcla 1 (50% de cada colorante)
 Mezcla 2 (90% de rojo cochinilla y
 10% de rojo # 3)

En lo que respecta al porcentaje de influencia de la interacción de los diferentes factores en la estabilidad, la influencia de todas ellas es muy pequeña, el comportamiento no presenta una tendencia definida, esto es, que no se puede decir que aumenten o disminuyan de forma regular ya que de un punto a otro puede disminuir, al siguiente aumentar y posteriormente volver a disminuir, como se puede observar en la tabla 2. Esto puede deberse a que se manejan niveles muy bajos, con una variación de máxima del 8% . Para un tiempo de 4 días la influencia entre las variables es menor a 3%. Las interacciones más importantes al tiempo de un día son el de

TABLA 2 INFLUENCIA PORCENTUAL DE LA INFLUENCIA DE LA INTERACCION DE LAS VARIABLES EN LA ESTABILIDAD							
FUENTE DE VARIACION	TIEMPO (DIAS)						
	1	4	5	8	11	13	15
INTERACCION AYB	0.94	3.10	2.38	2.21	2.02	1.61	1.16
INTERACCION BXC	2.74	1.82	0.75	0.51	0.51	0.42	0.17
INTERACCION DXE	-	-	-	-	0.09	0.22	0.11
INTERACCION AXD	-	-	1.04	-	-	0.33	0.12
INTERACCION BYD	4.53	0.67	0.38	-	0.10	1.50	1.89
INTERACCION CXD	8.06	0.53	1.80	-	-	-	-
INTERACCION BXE	1.67	1.51	1.19	0.09	-	0.24	-
INTERACCION AXE	-	2.03	-	1.98	1.16	0.73	0.31

A = CONCENTRACION, B = PH, C = TEMPERATURA, D = LUZ, E = AIRE

pH - temperatura con un 2.74%, pH - luz con un 4.53% y luz - temperatura con un 8.06%. Estas interacciones son las de mayor influencia debido a que provienen de la interacción de las variables de mayor efecto en la estabilidad de las mezclas de colorantes. En la figura 15 se presenta el efecto de la interacción de las variables en la estabilidad.

En la figura 16 se muestran las interacciones antes mencionadas. Todas presentan la misma tendencia. Al manejar niveles bajos de los factores involucrados en la interacción se presenta un mayor porcentaje relativo de absorbancia (%RA) por lo tanto se tiene una mayor estabilidad que al emplear cualquier otra combinación de los niveles de las variables. Por el contrario al manejar los niveles altos de las variables el %RA es mínimo y se tiene la menor estabilidad. Al combinar niveles altos y bajos de las variables la respuesta es específica para cada interacción.

En el caso de la interacción temperatura -pH al manejar niveles bajos de temperatura con un pH alto se tiene menor %RA que cuando se maneja un nivel alto de temperatura con un pH bajo. En lo que respecta al pH la curva que corresponde al nivel bajo se encuentra por arriba de la curva que corresponde al nivel alto, esto indica que al presentar un mayor %RA tiene una mayor estabilidad, teniendo mejores resultados con valores bajos de pH.

FIG. 15 INFLUENCIA DE LA INTERACCION DE LAS VARIABLES EN LA ESTABILIDAD

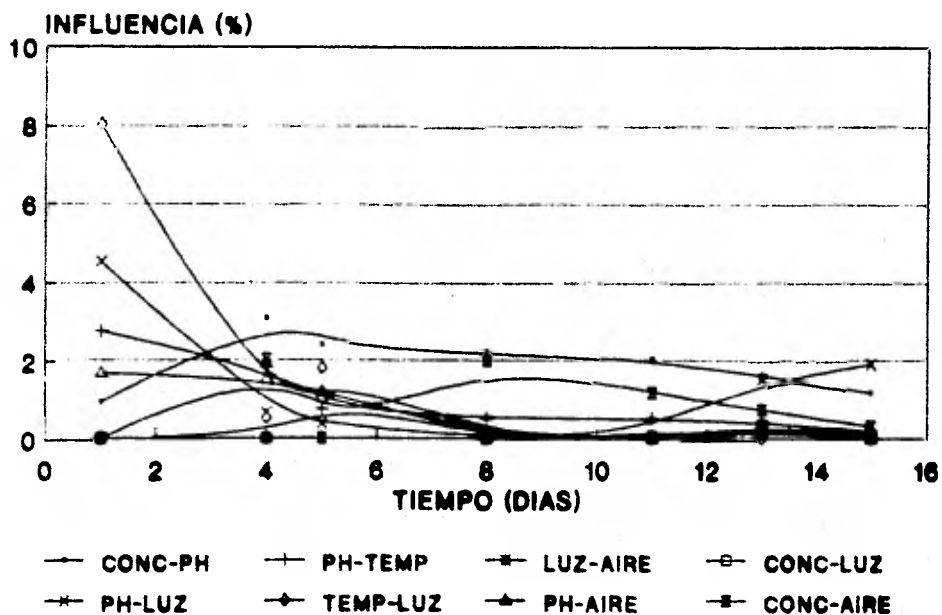
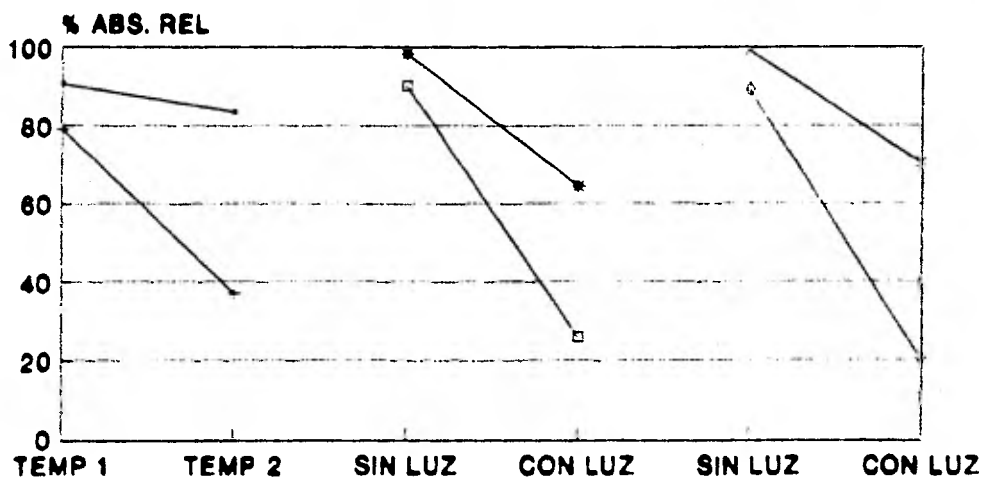


FIG. 16 RESPUESTA DE LA ESTABILIDAD A LA INTERACCION DE LOS FACTORES LUZ, PH Y TEMPERATURA



— PH 1 —+ PH 2 —* PH 1 —□ PH 2 —* TEMP 1 —◇ TEMP 2

PH 1 = 4, PH 2 = 10
TEMP 1 = 36, TEMP 2 = 85

En el caso de la interacción luz - pH al manejar un nivel alto de pH en ausencia de luz se tiene una mayor estabilidad que al manejar un valor bajo de pH en presencia de luz, esto es lógico ya que la luz representa el factor de mayor influencia en la estabilidad, por otro lado como se vió anteriormente, la curva con un pH bajo representa una mayor estabilidad que con un pH alto.

Para el caso de la interacción luz - temperatura al emplear una temperatura alta es ausencia de luz el %RA es mayor que cuando se maneja una temperatura baja en presencia de luz, al comparar el comportamiento variando el nivel de temperatura se observa que se tiene un mayor %RA con temperaturas bajas.

4.3 APLICACION DE LAS MEZCLAS COLORANTES EN ALIMENTOS

En el caso de yoghurt, al igualar el color de las muestras con la muestra comercial se encontró que la concentración para la mezcla 1 (50% rojo cochinilla laca y 50% de rojo No. 3) fue de 9.21 ppm, para la mezcla 2 (70% rojo cochinilla laca y 30% de rojo No. 3) fue de 25.34 ppm, y para la mezcla 3 (90% de rojo cochinilla laca y 10% de rojo No. 3) fue de 29.37 ppm. Esto significa que la mezcla 1 presenta 4.61 ppm de cada uno de los colorantes, la mezcla 2 presenta 17.74 ppm de rojo cochinilla laca y 7.6 ppm de rojo No. 3 y la mezcla 3 presenta 26.43 ppm de rojo cochinilla laca y 2.91 ppm de rojo No. 3. El que se requiera de una mayor cantidad de colorante para la mezcla 3 que la 2 y ésta que la 1 es lógico, ya que las lacas tienen menor cantidad de principio activo que los pigmentos y para poder igualar el color es necesario aumentar la cantidad de mezcla colorante.

De la prueba de preferencia aplicada a estas muestras se encontró por medio de un análisis de varianza (ANOVA) que existe diferencia significativa entre las medias de cada una de las muestras. Con una prueba DMS se encontró que comparando la muestra A con las muestras B, C^{***} y D^{****} existe diferencia

- * Muestra comercial
- ** Muestra en la que se aplicó la mezcla 1.
- *** Muestra en la que se aplicó la mezcla 2.
- **** Muestra en la que se aplicó la mezcla 3.

significativa a niveles de confianza de 95 y 99%. Entre las muestras B y D no se encontró diferencia significativa. Al comparar las muestras B y D con la muestra C tampoco se encontró diferencia significativa a un nivel de confianza de 99%, aunque a un nivel de confianza de 95% si existe diferencia, esto se debe a que la diferencia es pequeña situándose entre los límites de los niveles de confianza en la zona de aceptación de 99 y 95%. En el cuadro 11 se presentan los resultados de esta prueba.

CUADRO 11 RESULTADOS DE PRUEBA DE PREFERENCIA EN YOGHURT					
VALOR	ESCALA	A	B	C	D
9	GUSTA EXTREMADAMENTE				
8	GUSTA MUCHO				
7	GUSTA MODERADAMENTE		6.71		6.57
6	GUSTA LIGERAMENTE			5.67	
5	NI GUSTA NI DISGUSTA				
4	DISGUSTA LIGERAMENTE	4.32			
3	DISGUSTA MODERADAMENTE				
2	DISGUSTA MUCHO				
1	DISGUSTA EXTREMADAMENTE				

A MUESTRA COMERCIAL, B MEZCLA 1, C MEZCLA 2, D MEZCLA 3.

De la prueba de comparación entre la muestra comercial y las muestras con las mezclas colorantes; se encontró que no existía diferencia significativa con niveles de confianza de 95 y 99%. En el cuadro 12 se observan los resultados obtenidos.

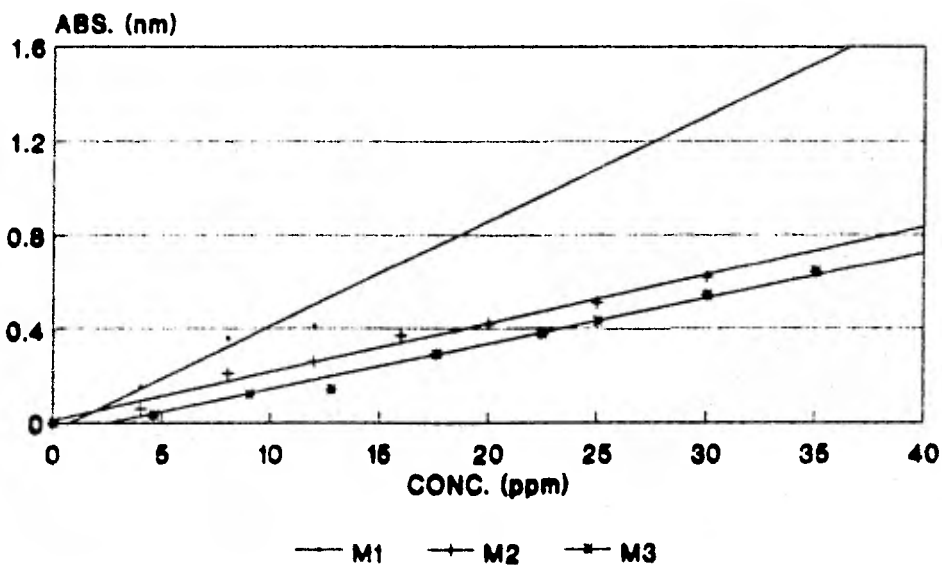
CUADRO 12 RESULTADOS DE PRUEBA DE COMPARACION EN YOGHURT				
VALOR	ESCALA	B	C	D
7	EXCELENTE			
6	MUY BUENO			
5	BUENO	5.32	4.54	4.79
4	REGULAR			
3	POBRE			
2	MUY POBRE			
1	EXTREMADAMENTE POBRE			

En el caso de jarabe de glucosa se hicieron muestras en diferentes concentraciones para cada mezcla. Se graficaron los datos de absorbancia contra concentración, se observa que la pendiente de la recta de cada una de las mezclas es diferente y a medida que aumenta la concentración de rojo No. 3 aumenta la pendiente, aunque la pendiente de las mezclas 2 y 3 son muy similares. Esto puede deberse a que la diferencia entre las 2 mezclas es muy pequeña.

Que no exista diferencia significativa entre las muestras quiere decir que al ofrecerlas a los jueces, estos no detectaron un cambio de una a otra.

En la figura 17 se observa que con la misma concentración de cada una de las mezclas se tienen diferentes valores de absorbancia, por un lado esto nos indica que se tiene mayor cantidad de pigmento que tiene mayor cantidad de principio

**FIG. 17 APLICACION DE LAS MEZCLAS
COLORANTES A JARABE DE GLUCOSA**



M1 $y = 21.96 x - 1.017$
M2 $y = 47.99 x - 0.3225$
M3 $y = 51.24 x - 2.72$

colorante que la laca; por otro lado la diferencia en la pendiente nos indica que a un aumento de la concentración corresponde un aumento de la absorbancia mayor para la mezcla 1 que para la mezcla 2 y ésta mayor que para la mezcla 3; esto se debe al efecto que tienen los colorantes en cada una de las mezclas y que la influencia depende de la concentración de cada uno de ellos.

Se eligió una muestra de cada mezcla, dichas muestras presentaban una absorbancia similar. De la mezcla 1 se trabajó la muestra cuya concentración era de 12 ppm y su absorbancia de 0.41, de la mezcla 2 la concentración era de 20 ppm con una absorbancia de 0.42 y para la mezcla 3 la concentración era de 25 ppm con una absorbancia de 0.43. Se realizó una prueba de preferencia resolviéndose con un análisis de varianza, en la que se encontró que no existe diferencia significativa a niveles de confianza de 95 y 99%, entre las muestras. Los resultados se presentan en el cuadro 13.

Se hizo una encuesta a 40 personas empleando muestras de similar absorbancia de los colorantes solos. El 80% prefirió al rojo cochinilla laca, opinando que era más natural y parecido al color fresa, pareciendo menos artificial, y el 20% restante prefirió al rojo No. 3 opinando que era más llamativo. De las opiniones recogidas en los cuestionarios se encuentra que no existe una tendencia definida hacia el consumo de colorantes, lo

CUADRO 13 RESULTADOS DE PRUEBA DE PREFERENCIA EN JARABE DE GLUCOSA.				
VALOR	ESCALA	M ₁	M ₂	M ₃
9	GUSTA EXTREMADAMENTE			
8	GUSTA MUCHO			
7	GUSTA MODERADAMENTE			
6	GUSTA LIGERAMENTE	5.64	5.72	5.92
5	NI GUSTA NI DISGUSTA			
4	DISGUSTA LIGERAMENTE			
3	DISGUSTA MODERADAMENTE			
2	DISGUSTA MUCHO			
1	DISGUSTA EXTREMADAMENTE			

M₁ mezcla 1

M₂ mezcla 2

M₃ mezcla 3

que concuerda con lo reportado por McClelland, 1977 (36), ya que algunas personas calificaban de demasiado pálidos a los yoghurts y jarabes y otras personas los calificaban de sintéticos por presentar demasiado color. Esto repercute en los resultados que por tratarse de promedios de todo los cuestionarios presentan un valor similar.

4.4 COSTOS

Se propusieron mezclas en las que el requisito era disminuir aproximadamente 25% de costo por kilogramo de colorante con respecto al costo de rojo cochinilla laca. En el cuadro 14 se presentan las mezclas que se manejaron, el precio por kilogramo de mezcla de colorantes y en que porcentaje se disminuye el costo.

CUADRO 14 COSTO POR KILOGRAMO DE MEZCLA DE COLORANTES		
RELACION	PRECIO (pesos) (dolares)	% DE REDUCCION DEL COSTO
50% rojo coch. laca	536 500	44.00
50% rojo No. 3	(180.64)	
70% rojo coch. laca	701 900	26.00
30% rojo No. 3	(236.33)	
90% rojo coch. laca	867 300	8.70
10% rojo No. 3	(292.02)	

Dolar cambio 2 970 pesos, febrero de 1991.

Al aplicar las mezclas de colorantes a yoghurt y a jarabe de glucosa se puede observar que el ahorro se ve influenciado por dos factores. Uno es la disminución que se logra al sustituir al rojo cochinilla laca por el rojo No. 3 y otro es debido a que al aplicar al producto una mezcla que tenga mayor cantidad de rojo

Nº. 3 se requiere de una cantidad menor de la mezcla de colorantes por kilogramo de producto.

CUADRO 15 COSTO DE LAS MEZCLAS COLORANTES EN YOGHURT Y JARABE DE GLUCOSA		
PRODUCTO	CONC. (mg/Kg)	COSTO/TON DE PROD (dolares)*
YOGHURT		
MEZCLA 1	9.70	1.75
MEZCLA 2	25.34	6.03
MEZCLA 3	29.37	8.58
JARABE DE GLUC.		
MEZCLA 1	12.00	2.17
MEZCLA 2	20.00	4.73
MEZCLA 3	25.00	7.30

*Dolar cambio 2 970 pesos, febrero de 1991.

V CONCLUSIONES

La longitud de onda (λ) a la cual la absorbancia es máxima es específica para cada solución y es función del tipo de medio que se emplee (medio ácido, neutro o básico), así mismo para este caso el tipo de colorante empleado, ya sea pigmento o laca. Se encontró que la λ en la que la absorbancia es máxima es la misma para la laca de rojo cochinilla y para las mezclas en HCl 0.02 M al 0.004% que es de 490 nm.

Para la solución de rojo No. 3 la λ de absorbancia máxima es de 526 nm.

El pH tiene un efecto en la λ de absorbancia máxima a pH de 4 y la λ de absorbancia máxima es de 526 nm para las mezclas de colorantes, para la laca de rojo cochinilla λ es de 515 nm a pH de 4 y de 527 nm a pH de 10, para el rojo No. 3 es de 526 nm.

Evaluar la estabilidad a través de la absorbancia, a una λ cercana a la λ de absorbancia máxima es válido ya que se obtiene el mismo comportamiento que a la λ de absorbancia máxima.

La luz es el factor que tiene mayor influencia sobre la estabilidad de las mezclas de colorantes. Su comportamiento se describe como una función logarítmica del tiempo, lo que lleva a concluir que se trata de colorantes fotolábiles.

La temperatura, el pH, aire y nivel de variación de los colorantes en las mezclas son los parámetros que siguen en importancia a la luz en orden decreciente.

La estabilidad de las mezclas de colorantes es intermedia entre la estabilidad de los colorantes de que se originan.

La influencia de la interacción de las variables viene a ser un reflejo de la influencia de las variables de que provienen.

Las interacciones de mayor influencia fueron las que se dan entre luz, temperatura y pH.

En términos generales el porcentaje de influencia de las interacciones es variable sin mostrar una tendencia definida. Las fluctuaciones son de menos de 3%, estas variaciones pueden deberse a la precisión del equipo y a la manipulación, además de que las lecturas de absorbancia son muy cercanas a cero, por lo que son poco confiables.

En el uso de mezclas de colorantes es posible dar recomendaciones de uso y máxima estabilidad combinando factores.

Es factible usar mezclas de estos colorantes en la pigmentación de yoghurts comerciales.

Las mezclas con 70% y 90% de laca de rojo cochinilla aplicadas a jarabe de glucosa presentan un comportamiento similar al graficar absorbancia contra concentración de las mezclas de colorantes, además de presentar la misma aceptación y encontrar que el nivel de sustitución de los colorante no afecta de forma importante a la estabilidad de la mezcla de colorantes por lo que se puede emplear la mezcla intermedia teniendo un mayor ahorro de colorantes y como consecuencia un ahorro en el precio sin verse afectadas la estabilidad y aceptación.

De las mezclas que presentan 50% y 70% (intermedia) de laca de rojo cochinilla se tienen tonos diferentes pero la aceptación para ambas fue la misma, por lo que podría usarse cualquiera de las 2 sin tener problemas de estabilidad. La mezcla con 50% de laca de rojo cochinilla presenta un mayor ahorro de colorante y por lo tanto representa un menor costo.

La utilización de Ingeniería de Calidad con que disminuye la experimentación presenta una base sólida en la contrastación de resultados como puede observarse en las conclusiones anteriores.

VI. RECOMENDACIONES

Es recomendable manejar niveles bajos de temperatura, luz, pH y aire. De otra, manera si fuera necesario trabajar niveles altos de estos factores, es importante el tratar de combinarlo con niveles bajos de los factores que sea posible. En el caso del oxígeno el efecto de este no es muy fuerte y se puede decir que los colorantes en estudio son estables al efecto de dicho factor.

Como se encontró que la luz es el factor de mayor influencia en la estabilidad es recomendable que el producto se presente en envases que no permitan el paso de la luz, de preferencia mantenerlo refrigerado o temperatura ambiente, tratando de usar niveles bajos de pH (medios ácidos). En el caso de manejar tales pH no se tiene problema con el nivel de temperatura, o en caso de manejar un pH alto (medio alcalino) es importante mantener una temperatura baja para asegurar una buena estabilidad de colorantes en el producto. En el caso de las interacciones entre luz, pH y temperatura se recomienda evitar la exposición directa del producto a la luz empleando el envase antes sugerido manejar niveles bajos de pH y temperatura, aplicando las mezclas de colorantes a productos de pH ácidos como yoghurt y bebidas fermentadas.

Al aplicar la mezcla de colorantes es preferible disolver primero la mezcla en un poco de agua y posteriormente adicionarla al producto, de esta forma se facilita la tinción de productos hidrosolubles.

Es necesario hacer estudios y analizar la respuesta que tienen diferentes grupos (como niños, amas de casa, adultos, ancianos, etc.) a pruebas de aceptación al color para productos como jarabe de maíz y yoghurt que presenten un sabor de fresa.

Es recomendable la aplicación y estudio de las mezclas de colorantes desarrolladas a otros productos como embutidos, postres, bebidas, etc.

Para continuar esta investigación se recomienda el estudio de factores no estudiados aquí que afectan la estabilidad de colorantes como iones metálicos , microorganismos y radiaciones (3, 60).

BIBLIOGRAFIA

- 1 A splash of colour. (1986). Food Flavour Ingrid. 8 (7): 19-20
- 2 Aurand, W., A. Edwin Woods y R. Wells (1987). Food Composition and Analysis. AVI Book, Published by Van Nostrand Reinhol Co. N.Y.
- 3 Bandyopadhyay, T. S., et. al (1985). Effect of microorganisms on some Food Dyes. Journal of Food Science and Technology. 22(1): 21-23.
- 4 Barranco Fernández Roberto. (1978). Síntesis de proceso para la obtención de colorantes naturales a partir de flor de jamaica, cempazúChil y betabel para la industria de alimentos. Tesis profesional. Universidad Iberoamericana. México.
- 5 Balkar Shashank U y Dubash P. J. (1984). Beet Pigments as food colours. Indian Food Packer. 39 (1): 65-71
- 6 Code of Federal Regulations. (1989). Food and Drug Administration, HHS. 21 CFR Ch. Edición 4-01-89.
- 7 Conti, Marcelo. (1987). Colorantes para Alimentos. Alimentación Latinoamericana. 21(165): 18-23

- 8 Daniel, W. (1984) Bioestadística : Base para el Analisis de las ciencias de la salud. Ed. Limusa. México.
- 9 Dasso, I. (1986). Control de Color en Alimentos. Alimentación Latinoamericana 19(156): 41-46
- 10 Diario Oficial de la Federación. (18 de enero de 1988). Reglamento de la Ley General de Salud en materia de control Sanitario de Actividades, establecimientos, productos y servicios.
- 11 Dziezak, J. D. (1987). Application of Food Colorantes. Food Technology, 41(4): 78-88
- 12 Elve J. H. von et. al. (1974). Color stability of betanin Journal of Food Science, 39: 334-337
- 13 Fabila Carnero G. (1979). Planeación y analisis de experimentos industriales. Laboratorios Nacionales de Fomento Industrial. 1a. edición. México.
- 14 Francis, F. J. (1987). Lesser known food colorants. Food Tech. 41(4): 62-68
- 15 Francis, F. J. y M. Clydesdales. (1975). Food Colorimetry. Theory and Applications. The AVI Publishing Company, Ind. Westport, Connecticut. U. S. A.

- 16 Freyberg, N. y Willis A. Gorther, The Food Additives Book.
- 17 Furia, Thomas E. (1972). Handbook of Food Additives. 2. ed. Cleveland Ohio, CRC Press.
- 18 García C., Z. y L. Zaragoza S. (1990). Estudio de la Estabilidad del Colorante de la Cochinilla (Dactylopius Coccus costa) y su Aplicación en alimentos. Tesis profesional. Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. UNAM, Cuautitlán Izcalli, Edo. de Méx.
- 19 Gruenwedel, D. W. y J. R. Whitaker. (1984). Food Analysis. Physical Characterization. Principles and Techniques. Marcel Dekker. Inc. New York & Basel.
- 20 Hilsh, Naomi L. (1977). Sensory panel test designs with data evaluation procedures. The Coca Cola Company Food Division, Houston Texas.
- 21 Hollander, Myles y Douglas A. Wolf, (1973). Non parametric statistical methods. John Wiley & Sons. USA
- 22 Jacobson, Michel, F. (1972). The consumer's fact book of food additives. Doubleday & Company Inc. Garden City, N. Y. USA

- 23 Josse, René, (1987). Como elegir colores naturales? Food Enginnering Int. 12(8): 44-46
- 24 Kapsalis, J. G. (1987). Obiective Methods in Food Quality Assessment. CRC Press. Boca Raton, Florida.
- 25 Kinsbourne, M. y Swanson. (1980). Food dyes impair performance of hyperactive children on a laboratory learning test. Science. 207(28)
- 26 Kirk, R. E. y Othemer. D. F (1961). Enciclopedia de tecnología química. 1. ed. Unión tipografica, Editorial hispanoamericana. Tomo III. Impreso en México.
- 27 Knott, M. (1989). Colours: a consumer whitewash? Food Manufacturing. 64(2): 21-23
- 28 Kramer, Amihud.(1978). Benefits and risks of colour additives. Food Technology. J2(8).
- 29 Laqui, S. A. (1983). Los colorantes para la industria alimentaria. La alimentación latinoamericana. 17(142): 12-14
- 30 Lloyd, A. G. (1980). Extraction and chemistry of cochineal. Food Chemistry. 5(1): 91-107.
- 31 Love, J. L. (1985). Method to detect syntetic carotene

- derivates in food and drink to distinguish these from natural carotenoids and xanthophylls. Food Tech. in N. Z. 20(4): 47-49
- 32 Maler, H. G. y George Leber. (1968). Metodos modernos de analisis de alimentos (técnicas ópticas). Editorial Acribia, Zaragoza, España.
33. Marmion, Daniel. (1983). Handbook of U. S. Colorantes for Foods, Drugs and Cosmetics. 2a. ed. A Wiley Interscience Publication. John Wiley & Sons. N. Y. USA
- 34 Mathews, R. A. y M. R. Stewart. (1984). Report summaries data from food additive surveys. Food Technology. 38(3): 53-58.
- 35 Mc Clelland, C. W. (1977). Economic constraints on the use of naturally derived food colors. En Currente aspectsd of food colorantes. Furia T. E. (ed.) C. R. C. Press, pp 67-76
- 36 McNutt, K. W, et. al. (1986). Food Colors, Flavors and safety: A consumer view point. Food Technology. 40(1): 72-78
- 37 Meggos, H. N. (1984). Colors, key food ingredients. Food Technology. 38(1).
- 38 Nájera, Gómez A. (1988) Los colorantes naturales en la industria de alimentos. Tesis profesional. Facultad de Química. UNAM

- 39 Natural Colors. (1988). Food Engineering 60(1): 64-66
- 40 Newsome, L. Rosetta, et. al. (1986). Food colors. Food Technology. 40(7): 49-56
- 41 Noonan, J. E. (1977). The present and future status of certified color addotoves: The uncertain additives. En Current aspect of food colorants, Furia, T. E. (ed.) C. R. C. press pp. 61-66.
- 42 Otterstätter, Gilbert. (1987). Colorantes alimenticios. Ayer-hoy-mañana. Industria Alimentaria. 9(2): 3-8
- 43 Otterstätter, Gilbert. (1987) Aditivos Alimentarios, lo imaginado y lo real, Industria Alimentaria.
- 44 Parker, L. (1984). Regulation at food colours. Inq. Proces. Pack. 6(7): 23-24
- 45 Pearce A, Hume A. F. (1983). Synthetic food colours today Food. : 26-29
- 46 Pimentel García, Roselina S. (1984). Caracterización del pigmento rojo de la Jiotilla Escontria chiotilla. Tesis profesional. Facultad de Química. UNAM
- 47 Piña Luján I, H. Zelaya de la Parra y E. Martínez G. (1979). Producción de Gana o cochinilla en el estado de Oaxaca.

**ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA**

Tecnología Lanfi. Revista de los Laboratorios Nacionales de Fomento Industrial 4(4)

- 48 Piña Luján I. (1977). La grana o cochinilla del nopal. Monografías LANFI.
- 49 Quinlan S. (feb 1990). Ingeniería del Valor e Ingeniería de Calidad. Análisis de casos: Mejoramiento de un producto. División de Educación continua. Facultad de Ingeniería. UNAM
- 50 Ramos Burboa, Victor R. (1983). Utilización de pigmentos rojos de Escontria Chiotilla como colorante en alimentos. Tesis profesional. Facultad de Química. UNAM
- 51 Rivera Rios. V. (1984). Estudio de diferentes variedades de betabel (Beta vulgaris L.), para la obtención de concentrados de colorantes. Tesis profesional. Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. UNAM Cuautitlán Izcalli, Edo. de Méx.
- 52 Rodríguez Palacios F. S. (1985). Las betalainas como colorantes naturales en alimentos. Industria Alimentaria. 7(4):9-11
- 53 Ross, Phillip J. (1989). Taguchi techniques for quality engineering. Ed. Mc. Graw Hill International. Industrial Engineering Series. N. Y.

- 54 Rush, S. (1987). Colour by numbers. Food Technology N. 2.
22(9): 38-40
- 55 Santos, F. E. (1980). Colorantes en la Industria alimentaria.
- 56 Sawyer, Ronald et. al. (1988). Analisis quimico de alimentos de Pearson. Tercera impresion. México. Compañia editorial Continental, S. A. de C. V.
- 57 Seal of Lucas R. (1985). The importance of additives. Food Manufacture. 60(8): 20-22
- 58 Secretaria de Patrimonio y Fomento Industrial (1979). Colorante carmín. Industrialización de Recursos Bióticos. México,
S. P. F. I. 32 p.
- 59 Soukup, R. J. y Il Young Maing. (1977). The color needs of the food industry. En Current aspects of food colorants. Furia T. E. (ed.) C. R. C. Press pp 77-84.
- 60 Taylor, D. (1984). The conflict over color control. Food Engineering. 56(6): 95-97
- 61 Turner, Allan. (1986). A technologist looks at additives. Food Manufacture. 61(7): 37-39

- 62 Turner, Allan. (1986). A technologist looks at additives. Food Manufacture. 61(8): 40-42
- 63 U. Viplava y C. S. Prasa.(1983) Spectrophotometric determination of some permites colors colours using aliquat 336. Journal of Food Science and Technology. 20(6): 263-264.
- 64 Viades Trejo, Josefina (1977) Colorantes que se consideran nocivos para la salud humana. Tesis profesional. Facultad de Quífmica. UNAM
- 65 Villegas Ramirez L. (1983). Estudio de los colorantes de Betabel (Beta vulgaris L.) Revista Sociedad Quífmica. 24(4): 175-183.
- 66 Walford. J. (1980). Developments in food colours. Applied Science Publishers. London. Inglaterra.
- 67 Winter Ruth. (1972). A consumer's dictionary of food additives. Crow Publishers INC. N. Y. USA
- 68 Zollinger, H. (1984). Color Chemistry. Synthesis, Properties and Aplicacions of Organic Dyes and Pigments. V. C. H. Alemania Federal. 367.