



UNIVERSIDAD METROPOLITANA DE CIENCIAS DE LA EDUCACIÓN
FACULTAD DE CIENCIAS BÁSICAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA

“DETERMINACIÓN CUANTITATIVA DE COLORANTES
ROJO ALLURA, AMARILLO OCASO, TARTRAZINA Y
AZUL BRILLANTE EN BEBIDAS ISOTÓNICAS PARA
DEPORTISTAS DE LA MARCA POWERADE, A TRAVÉS
DE ESPECTROFOTOMETRÍA UV-VISIBLE”

TESINA PARA OPTAR AL TÍTULO DE
PROFESOR DE QUÍMICA CON MENSIÓN EN CIENCIAS NATURALES

ESTEBAN ANDRÉS CORTÉS CISTERNAS

PROFESOR GUÍA:
CARLOS ALBERTO GARRIDO LEIVA

SANTIAGO DE CHILE
JUNIO 2019



UNIVERSIDAD METROPOLITANA DE CIENCIAS DE LA EDUCACIÓN
FACULTAD DE CIENCIAS BÁSICAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA

**“DETERMINACIÓN CUANTITATIVA DE COLORANTES
ROJO ALLURA, AMARILLO OCASO, TARTRAZINA Y
AZUL BRILLANTE EN BEBIDAS ISOTÓNICAS PARA
DEPORTISTAS DE LA MARCA POWERADE, A TRAVÉS
DE ESPECTROFOTOMETRÍA UV-VISIBLE”**

TESINA PARA OPTAR AL TÍTULO DE
PROFESOR DE QUÍMICA CON MENSIÓN EN CIENCIAS NATURALES

AUTOR:
ESTEBAN ANDRÉS CORTÉS CISTERNAS

PROFESOR GUÍA:
CARLOS ALBERTO GARRIDO LEIVA

SANTIAGO DE CHILE
MAYO 2019

Autorizado para Sibumce Digital

2019, Esteban Cortés C.

Se autoriza la reproducción total o parcial de este material, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, siempre que se haga la referencia bibliográfica que acredite el presente trabajo y su autor.

Dedicatoria:

A mis pequeños hijos, Eloísa y José, quienes con su gran sonrisa alegran cada día de mi vida, y con su afecto entregan entereza y determinación para luchar hasta cumplir cada uno de mis objetivos. Quiero dejarles esta investigación y mi vida como testimonio, para que ambos crezcan sin miedo, sabiendo que no hay límites que su mente no pueda conquistar.

Agradecimientos:

En primer lugar debo agradecer a mis padres, quienes con mucho esfuerzo han logrado mantener y educar tanto a mí como a mis hermanos. Sin ellos literalmente no existiríamos.

A Belén, por entregarse por completo en el cuidado de nuestros hijos, incluso teniendo que posponer sus sueños para lograr esta gran labor.

A mis queridos amigos, de la universidad, de trabajo, de juegos, y de la vida, quienes me han apoyado siempre que he requerido, y han ayudado a levantarme y reformularme cada vez que ha sido necesario, quienes aportan risas, alegría, cariño, pero por sobre todo equilibrio a mi vida. Agradezco tanto a los que están, como a aquellos que con el tiempo han partido.

Agradezco a mi profesor guía, Carlos Garrido, quien incluso antes de que en mi mente cruzara la idea de hacer una investigación, se ofreció como guía y tutor, agradezco sus palabras de apoyo, elogios, disponibilidad, etc.

Agradezco también al personal de la universidad, a todo el mundo universitario, docentes, ayudantes, guardias, personal de biblioteca, etc., ustedes son el alma de esta universidad.

Y por último, agradezco a todos los factores aleatorios que me han forjado como persona, tanto buenas como malas experiencias. A todas las personas con las que alguna vez he interactuado, mi personalidad y esta hambre del conocimiento, son el fruto de todas aquellas vivencias.

Esteban Andrés Cortés Cisternas.

TABLA DE CONTENIDO

AUTORIZACIÓN.....	ii
DEDICATORIA	iii
AGRADECIMIENTOS	iv
TABLA DE CONTENIDOS	v
RESUMEN	vii
ABSTRACT	vii
1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. Colorantes alimentarios	1
1.2. El color.....	6
1.3. Técnica empleada	8
1.4. Historia de las normativas en alimentos	11
1.5. Legislación chilena sobre el uso de colorantes.....	13
1.6. Justificación.....	14
1.7. Hipótesis	16
1.8. Objetivos.....	16
1.8.1. Objetivo general.....	16
1.8.2. Objetivos específicos.....	16
2. MATERIALES Y MÉTODOS.....	01
2.1 Materiales y muestras utilizadas.....	17
2.1.1 Muestras	17
2.1.2 Materiales.....	18
2.1.3 Reactivos.....	18
2.1.4 Otros materiales	18

2.1.5	Equipo de laboratorio	19
2.2	Método	19
2.2.1	Método utilizado en la preparación de estándares	19
2.2.2	Método utilizado en la preparación de muestras	23
3.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	24
3.1	Espectrofotometría de los estándares analíticos	24
3.2	Espectrofotometría de las muestras analizadas	26
3.2.1	Espectrofotometría Powerade Rojo y Powerade Frozen Blast	26
3.2.2	Espectrofotometría Powerade Naranja y Powerade Green Punch	27
3.2.3	Espectrofotometría Powerade Lima Limón Zero y Powerade Uva Zero	28
3.2.4	Espectrofotometría Powerade Frozen Blast Zero	29
3.3	Curvas de calibración estándares analíticos	30
3.3.1	Curva de calibración rojo allura.....	30
3.3.2	Curva de calibración azul brillante	31
3.3.3	Curva de calibración amarillo ocaso	34
3.3.4	Curva de calibración tartrazina	36
3.4	Calculo de concentración y masa de los colorantes	38
4.	CONCLUSIÓN	44
5.	BIBLIOGRAFÍA	45

Resumen

La presente investigación consiste en cuantificar los colorantes alimentarios rojo allura, azul brillante, amarillo ocaso y tartrazina, a través del método espectrofotométrico de UV-Visible en bebidas isotónicas de la marca Powerade (Coca-Cola Company). La preparación de las muestras consistió en usar un tratamiento directo en las bebidas, mientras que para los estándares se usó un método de disoluciones sucesivas y así obtener distintas concentraciones con las cuales construir las respectivas curvas de calibración, con estos datos y la absorbancia de cada bebida se determinó la cantidad de colorante presente. Los cálculos arrojaron que los colorantes en la bebida se encontraban dentro de los rangos de ingesta admisibles, tanto a nivel nacional como internacional (EE.UU. y Europa). Por último, en base a las determinaciones realizadas, se determinó que la bebida isotónica Powerade con mayor cantidad de colorante es el Powerade Naranja, que contiene amarillo ocaso y tartrazina.

Abstract

The present investigation consists of quantifying food dyes allura red AC, brilliant blue FCF, sunset yellow FCF, and tartrazine, through the UV-Visible spectrophotometric method in isotonic drinks of the brand Powerade (Coca-Cola Company). The preparation of the samples consisted in using a direct treatment in the drinks, while for the standards a method of successive solutions was used and thus obtaining different concentrations with which to build the respective calibration curves, with these data and the absorbance of each drink, the amount of dye was determined. The calculations showed that colorants in drink were within the admissible intake ranges both nationally and internationally (USA and Europe). Finally, based on the performed determinations, it was determined that the Powerade isotonic drink with the greatest amount of colorant is the Orange Powerade, which contains sunset yellow and tartrazine.

1.- Introducción

Los alimentos silvestres no procesados, tales como frutas, verduras y bayas, utilizan las propiedades organolépticas para atraer o rechazar posibles consumidores y así diseminar sus semillas, siendo entonces el color, aroma, textura y sabor fundamentales para la propia sobrevivencia de la especie. En cuanto a los alimentos procesados consumidos por el hombre, existen incontables precedentes que indican que algunos alimentos de ciertas regiones, logran traspasar barreras geográficas por sus características organolépticas, la industria de los aceites, vinos y el queso son un claro ejemplo de ello.

En la actualidad la selección de un alimento se basa en la calidad del producto, concepto amplio en el que intervienen distintos aspectos como la aceptación de los consumidores y la opinión de los expertos; en ambas influyen las características organolépticas del preparado alimentario, pero para el consumidor común, el análisis sensorial suele ser la única herramienta para realizar una compra, y considerando que muchas veces no se puede tocar, oler o probar un alimento desde una vitrina, la apariencia y en especial el color, se transforman en factores predominantes para seleccionar un alimento o marca por sobre la competencia. [1]

1.1 – Colorantes alimentarios

Según la Unión Europea, se entiende colorante alimentario como aquellas sustancias que le dan color a un alimento o le devuelven su color original; estas pueden ser componentes naturales de los mismos o artificiales, estas sustancias normalmente no se consumen como alimentos ni se emplean como ingredientes característicos de los alimentos. [2]

Las regulaciones para los colorantes alimentarios varían a través del tiempo, en función de las investigaciones respecto a su seguridad para el consumo humano. La forma más sencilla de clasificar estos colorantes es distinguiendo el método de obtención del colorante, están los que se obtienen de manera natural, de algún fruto, baya, hoja, insectos, etc. (como por ejemplo carotenoides, xantofilas y antocianinas, además de betalaínas, clorofilas, azafrán y ácido carmínico), y aquellos sintéticos o artificiales, que son desarrollados por laboratorios, con el fin de producir colorantes a un menor costo, más resistentes a cambios de temperatura y pH, pero no necesariamente más seguros que los colorantes naturales.

Hasta la fecha, han existido una gran variedad de colorantes sintéticos, pero se ha reducido el número de aquellos que son permitidos por la industria alimentaria, para Europa en 1957 había 32 colorantes sintéticos permitidos, en 1973 se habían eliminado 19 de la lista y se habían agregado 3, a la fecha no son más de 16 los colorantes sintéticos utilizados, tal como muestra la tabla N°1, para Estados Unidos la Administración de Alimentos y Medicamentos, del inglés *Food and Drug Administration* (FDA), ha exento de certificación varios colorantes que no han demostrado ser dañinos, mientras sean utilizados considerando las normas BPF (Buenas Prácticas de Fabricación), y mantiene 9 colorantes alimentarios sujetos a certificación, eso quiere decir, que no se podrán utilizar dichos colorantes, a menos que la FDA certifique que el lote de colorante en cuestión apruebe un análisis de sus componentes y pureza en los laboratorios de la FDA. [3][4]

La terminología empleada para nombrar los colorantes, además del nombre comercial, difiere según la organización que los regule, la FDA utiliza por lo general un nombre de tres partes para los colorantes certificados, estos nombres incluyen un prefijo, como FD&C (alimentos, medicamentos y cosméticos), D&C (medicamentos y cosméticos) o External D&C (medicamentos y cosméticos de uso externo), un color y un número. Para la Unión Europea, se utilizan los números E (E = Europa), códigos de 3 a 4 cifras, designados a los aditivos alimentarios siguiendo el INS (Sistema Internacional de Numeración) según lo determinado por el Codex *Alimentarius*. Por otra parte, una forma general de nombrar un colorante, sea o no un colorante alimentario, es el índice de color (IC), los que acordados internacionalmente proporcionan una identificación inequívoca. [5]

Los grupos de colorantes sintéticos más utilizados por la industria alimentaria, son los colorantes azoicos, también llamados diarildiidimas, son parte de los derivados del grupo azo ($-N = N -$). Por si solos los enlaces diimina son muy inestables, en el caso de los colorantes alimentarios al estar unidos a grupos aromáticos, alcanzan mayor estabilidad por los enlaces deslocalizados, descomponiéndose a temperaturas más altas que 300°C. Su síntesis se realiza a través de 3 procedimientos, por reducción alcalina de los derivados nitrados, por acoplamiento de los compuestos azoicos con aminas y fenoles, y por condensación de derivados nitrosados aromáticos con aminas aromáticas primarias. El gran grupo de colorantes azoicos, solo cuenta con unos pocos autorizados para el uso en alimentos en contraste con la disponibilidad

química que tiene, la mayoría de ellos se utiliza en fibras textiles o para otros fines industriales. [6]

<i>Name</i>	<i>Class</i>	<i>EC No.</i>	<i>US No.</i>	<i>CI No.</i>
<i>Yellow:</i>				
Tartrazine	Azo	E102	F,D & C Yellow No 5	19140
Quinoline Yellow	Quinoline	E104	D & C Yellow No 10	47005
Sunset Yellow FCF	Azo	E110	F,D & C Yellow No 6	15985
<i>Red:</i>				
Carmoisine	Azo	E122	Ext D & C Red No 10	14720
Amaranth	Azo	E123		16255
Ponceau 4R	Azo	E124	F,D & C Red No 2	16185
Erythrosine	Xanthene	E127	F,D & C Red No 3	45430
Red 2G	Azo	E128	Ext D & C Red No 11	18050
Allura Red AC	Azo	E129	F,D & C Red No 40	16035
<i>Blue:</i>				
Patent Blue V	Triarylmethane	E131		42051
Indigo Carmine	Indigoid	E132	F,D & C Blue No 2	73105
Brilliant Blue FCF	Triarylmethane	E133	F,D & C Blue No 1	42090
<i>Green:</i>				
(Food) Green S	Triarylmethane	E142		44090
<i>Brown & Black:</i>				
Black PN	Azo	E151		28440
Brown FK	Azo	E154		
Chocolate Brown HT	Azo	E155		20285

Tabla N°1: Colorantes sintéticos permitidos en Europa, su sistema de numeración en EE. UU., y sistema de numeración IC. *Extraído del libro Food - The Chemistry of its Components, cuarta edición.*

Actualmente alrededor del mundo, mayoritariamente se opta por el uso de colorantes sintéticos, de los cuales existen cuatro que se ven recurrentemente en bebidas y productos alimenticios, estos son rojo allura AC, tartrazina, amarillo ocaso FCF, y azul brillante FCF, en la figura N°1 es posible apreciar la estructura molecular de cada uno de ellos. Las principales características de estos colorantes se listan a continuación:

R rojo allura AC:

Es el colorante más utilizado en la industria alimenticia, es común en bebidas, productos de panadería y repostería, cereales, e incluso medicamentos y cosméticos. Es un colorante azoico y tiene una ingesta diaria admitida (IDA) de 7 mg/kg al día. Esta ingesta se traduce en 210 mg para un niño de 30 kg y 490 mg para un adulto promedio de 70 kg. [7]

El rojo allura es un polvo oscuro de masa molecular igual a 496,42 g/mol, estable a pH ácido, soluble en agua (22g/100mL) e insoluble en etanol. [8]

Tartrazina:

Ocupa el segundo lugar en los colorantes alimentarios más utilizados, además de también ser utilizado en productos farmacéuticos y cosméticos, es un colorante azoico y tiene una IDA de 5 mg/kg al día. Esta ingesta se traduce en 150 mg para un niño de 30 kg y 350 mg para un adulto promedio de 70 kg. [9]

La Tartrazina es un polvo brillante de coloración amarillo-naranja, su masa molecular es igual a 534,36 g/mol, inodoro, higroscópico, estable en pH ácido, soluble en agua (20g/100mL) y poco soluble en etanol; sus soluciones se vuelven rojas en condiciones alcalinas. [8]

Amarillo Ocaso FCF:

Es el tercer colorante más utilizado en la industria alimentaria, es otro colorante azoico, además de ser utilizado en comida, también se utiliza en la industria farmacéutica y cosmética, la IDA para el amarillo ocaso es de 3,75 mg/kg al día. Esta ingesta se traduce en 112,5 mg para un niño de 30 kg y 262,5 mg para un adulto promedio de 70 kg. [10]

El amarillo ocaso posee una masa molecular de 452,37 g/mol, es un polvo de coloración naranja, inodoro, higroscópico, soluble en agua (19g/100mL), poco soluble en etanol, estable a pH ácido, sensible a agentes reductores. [8]

Azul Brillante FCF:

Este colorante también es usado en la industria cosmética y farmacéutica además de la industria alimentaria, **no pertenece a los colorantes azoicos**, y es uno de los pocos colorantes que la FDA aprobó permanentemente para uso en medicamentos aplicados externamente y el uso general en cosméticos, su IDA es de 3,75 mg/kg al día. Esta ingesta se traduce en 112,5 mg para un niño de 30 kg, y 262,5 mg para un adulto promedio de 70 kg. [11]

El azul brillante FCF es un polvo de coloración purpura-café, con brillo metálico, de masa molecular igual a 792,85 g/mol, higroscópico, estable a pH ácido y no es sensible a la luz, inestable a agentes reductores y anhídrido sulfuroso, soluble en agua (20g/100mL) y ligeramente soluble en etanol. [8]

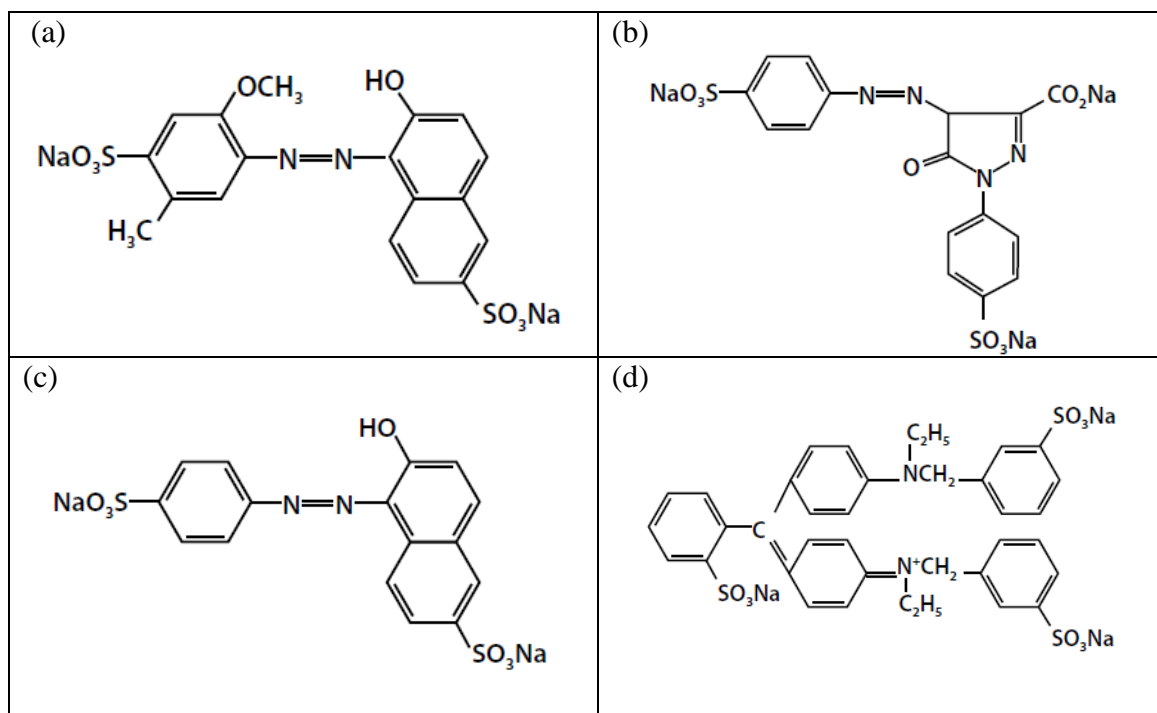


Figura N°1: Estructura molecular de los colorantes estudiados. a) Rojo allura AC, b) Tartrazina, c) Amarillo ocaso FCF, d) Azul brillante FCF. Extraído del libro *Food Dyes a Rainbow of Risks*.

1.2 – El Color

Cuando se habla de color, se hace referencia a la percepción sensorial de los materiales coloreados: rojo, verde, azul, amarillo, etc. Un producto tendrá un color debido a la capacidad de sus materiales, para absorber parte de la luz incidente, y además, la luz reflejada no absorbida debe lograr estimular la retina del ojo. Una sustancia presentará el color complementario del que absorbe ya que este se restará de la luz reflejada o transmitida, las sustancias que no absorben luz visible son blancas o incoloras y las que absorben todas las longitudes de onda son negras. [12][13]

Para propósitos físicos y químicos, se considera que la luz tiene propiedades de onda y también se considera como un flujo de energía que contiene partículas, estas partículas se llaman cuantos o fotones. La cantidad de energía que poseen está directamente relacionado con la longitud de onda de la luz, cuanto más corta sea ésta, más energético será el fotón. Las regiones del espectro electromagnético se caracterizan por presentar distintas longitudes de onda, aquellas que son apreciables por el ojo humano van desde los 380 a 760 nm, este intervalo constituye una porción muy pequeña del espectro electromagnético total. [12][13]

Para que la luz pueda ser absorbida por las moléculas, ésta debe proporcionar exactamente la cantidad correcta de energía para facilitar un cambio particular en la molécula, es decir, el fotón solo será absorbido si su contenido de energía no es demasiado grande o demasiado pequeño, y genera una transición que la molécula pueda experimentar. Las transiciones que involucran una coloración, serán aquellas que se obtengan de la interacción entre el nivel de energía asociada con los fotones de luz visible y los electrones que forman los enlaces entre los átomos de las moléculas. [12][13]

Las transiciones generadas en dobles enlaces, por efecto de la luz visible, son una particularidad de los enlaces pi (π). En estado normal o basal, un enlace sigma (σ) o pi (π), considera que los electrones giran en direcciones opuestas, lo que se muestra como ($\uparrow\downarrow$), sin embargo, si la molécula absorbe una cantidad apropiada de energía, uno de los electrones puede experimentar una transición hacia un estado excitado de mayor energía, con ambos electrones girando en la misma dirección ($\uparrow\uparrow$). Estas transiciones se conocen como de σ a σ^* y π a π^* (de un estado enlazante a un estado antienlazante). Las transiciones de σ a σ^* requieren

cantidades de energía mucho más altas que los de la luz visible o ultravioleta y, por lo tanto, son irrelevantes para la generación del color. En cuanto a las transiciones de π a π^* , la energía necesaria para generar una transición es menor que para los estados σ , pero sigue siendo muy alta (en su mayoría ultravioleta lejano). Para moléculas con niveles no enlazantes n , la transición que ocurre es de n a π^* , que necesita mucho menor cantidad de energía, correspondiente a zonas de ultravioleta próximo y visible. [12][13][14]

En moléculas con dobles enlaces conjugados, los electrones π interactúan entre sí y al hacerlo, pares particulares de electrones pierden su asociación con un enlace carbono-carbono específico, en este estado, se les conocen como deslocalizados y requieren mucha menos energía para experimentar una transición π a π^* , inclusive, entre más enlaces dobles se conjugan juntos en una molécula, menos energía se requiere para la transición de π a π^* . [12]

Finalmente, la capacidad de mostrar coloración se extenderá a todas aquellas moléculas que presenten en su estructura grupos funcionales con enlaces π , sean o no conjugados. A estos grupos de moléculas responsables de la absorción en las regiones ultravioleta y visible se les denominará cromóforos, dentro de los más conocidos están el grupo cromóforo carbonilo, carboxilo, y nitro. El grupo cromofórico de los colorantes azoicos es el propio grupo *azo* y los sistemas aromáticos conjugados, por una parte el grupo azo conjugado con sistemas aromáticos en cada lado logra dar colores en el rango amarillo, naranja, rojo y marrón, y por otra parte, tres sistemas aromáticos unidos proporcionan el grupo cromofórico característico de la coloración verde brillante o azul. [14]

Existen determinadas agrupaciones atómicas que por sí mismas no comunican color a la molécula que pertenecen, pero son capaces de reforzar la acción de un cromóforo. Estos grupos se denominan auxocromos, suelen tener en su estructura grupos funcionales con electrones en orbitales no enlazantes, que pueden absorber únicamente longitudes de onda del ultravioleta lejano. Sin embargo al estar un auxocromo y un cromóforo en una misma molécula, la absorción del cromóforo se desplaza hacia longitudes de ondas más largas, a la vez que se produce un incremento en la intensidad de la absorción, lo que se denomina efecto hiperacrómico. [14]

1.3 – Técnica empleada

La técnica elegida para la cuantificación de los colorantes alimentarios en bebidas para deportistas será la espectrofotometría, entendiendo la espectrofotometría como el conjunto de técnicas que utilizan la luz para medir concentraciones químicas. [15]

Es necesario tener en cuenta que la luz se comporta como partícula y como onda, estas ondas de luz constan de campos eléctricos y magnéticos que oscilan en planos perpendiculares entre sí. La longitud de onda, λ , es la distancia entre las crestas de dos ondas y la frecuencia, ν , es el número de oscilaciones completas de una onda en un segundo. La relación entre frecuencia y longitud de onda es:

$$\lambda \cdot \nu = c \qquad \text{Ec. 1}$$

Donde c , es la velocidad de la luz en el vacío. En un medio distinto del vacío, la velocidad de la luz es c/n , donde n es el índice de refracción de ese medio. Para longitudes de onda visible, la mayoría de las sustancias tienen $n > 1$. [15]

La luz es energía que se transmite por medio de fotones en forma de onda electromagnética, estos fotones pueden ser absorbidos por moléculas, haciendo que la energía de la molécula aumente, pasando a un estado excitado, el estado de mínima de energía de una molécula se llama estado fundamental. [15]

Como las moléculas absorben parte de la luz que las irradia, la irradiancia del haz de luz incidente disminuye, la irradiancia, P , es energía por segundo y por unidad de área de un haz de luz, además entenderemos a esta fracción de luz incidente que pasa a través de la molécula (muestra), como transmitancia, T .

$$T = \frac{P}{P_0} \qquad \text{Ec. 2}$$

Siempre que una muestra reciba algo de luz, la irradiancia del haz de luz emergente, P , se considerará menor o igual a la irradiancia del haz de luz incidente, $P \leq P_0$, en consecuencia, T puede tomar valores que van desde 0 a 1. [15]

Finalmente, a mayor cantidad de luz absorbida, mayor será la absorbancia A de la muestra, y menor cantidad de luz será transmitida por dicho cuerpo. Esto puede ser definido como:

$$A = \log\left(\frac{P_0}{P}\right) = -\log T \quad \text{Ec. 3}$$

Si la muestra no absorbe luz, $P = P_0$ y $A = 0$.

Según la ley de Lambert-Beer, la absorbancia es directamente proporcional a la concentración de la especie absorbente C , y a la longitud de paso óptico b del medio de absorción. [16]

$$A = \log\left(\frac{P_0}{P}\right) = abc \quad \text{Ec. 4}$$

En este caso, a es la constante de proporcionalidad llamada absorptividad. Como la absorbancia es una magnitud adimensional, la absorptividad debe tener unidades acorde a las que presenten b y C . [16]

En el caso de trabajar con concentración en moles por litro, y b en centímetros, la constante de proporcionalidad pasa a llamarse absorptividad molar y se simboliza con ϵ . [16]

$$A = \epsilon \cdot b \cdot c \quad \text{Ec. 5}$$

Retomando el concepto de espectrofotometría, aquellos instrumentos que se utilizan para medir la absorción de radiación tanto ultravioleta, visible o en el infrarrojo cercano, están compuestos por lo general de 5 componentes, fuentes de radiación, selector de longitud de onda, recipiente para la muestra, transductores de radiación / procesadores de señal y dispositivos de lectura, figura N°2, claramente existirán diferencias en el diseño y funcionamiento de los componentes, propio de la medición que se esté realizando. [17]

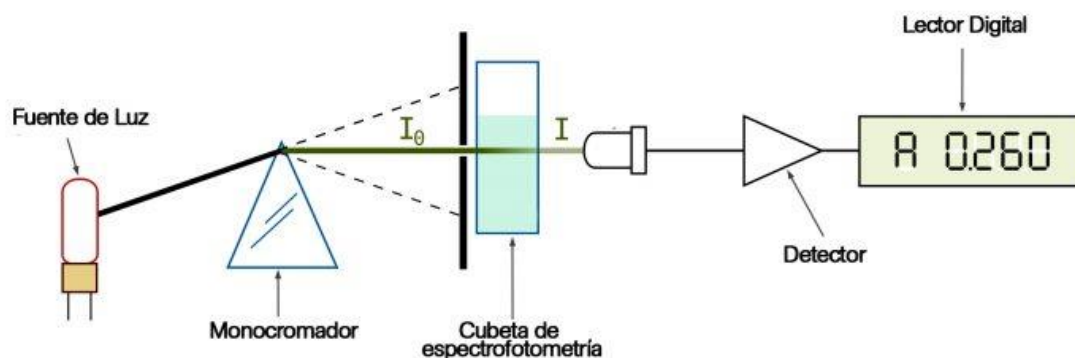


Figura N°2: Partes fundamentales de un espectrofotómetro.

Finalmente el instrumento arrojará como resultado, la absorbancia de la muestra analizada, cuya representación gráfica son los espectros de absorción, que de ser un barrido espectral, se mostrara tal como indica la **figura N°3**, un gráfico en función de la longitud de onda de la radiación utilizada (u otro parámetro relacionado con la energía de la radiación utilizada), el máximo de absorbancia obtenido en el espectro de absorción (*peak*), resultará en la longitud de onda que proporciona la mayor sensibilidad posible, y por lo tanto será la que se utilizara en el análisis espectrofotométrico. [17]

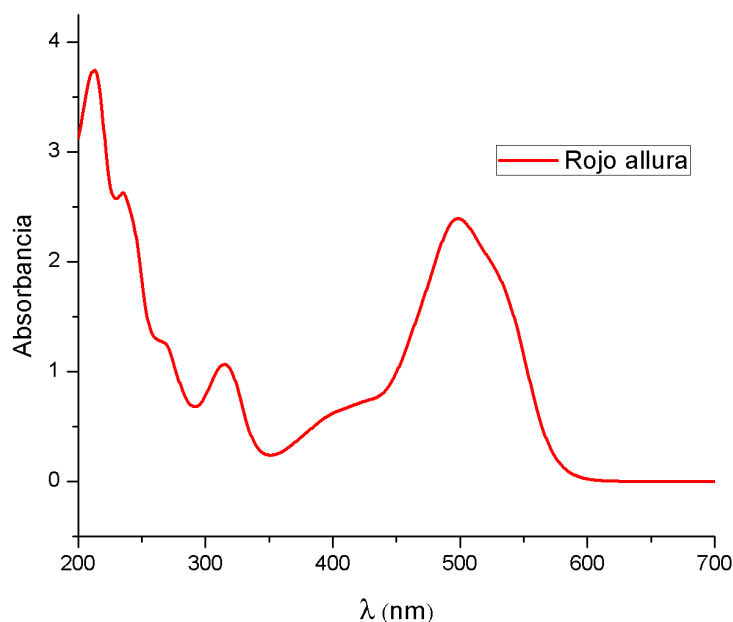


Figura N°3: Barrido espectral del colorante rojo allura desde 200 nm hasta 700 nm.

1.4 – Historia de las Normativas en Alimentarias.

La historia de la producción y manufacturación de los alimentos, aunque de forma muy precaria comienza desde la asociación del fuego y la transformación de los alimentos, se secaron, ahumaron y salaron las carnes para que su duración fuera **mayor a la de la carne cruda**, luego comenzaron a conservar alimentos en vinagre para retardar la descomposición natural, y así tenemos incontables ejemplos de aditivos empleados desde épocas remotas, con diferentes fines; desde emplear tecnologías que retrasen la descomposición, hasta aditivos que potencien o modifiquen las propiedades organolépticas, resaltando la composición de los alimentos y volviéndolos más apetecibles. [18]

Del mismo modo que las tecnologías empleadas en los aditivos fueron evolucionando de la edad prehistórica, también fue creciendo una necesidad de controlar y supervisar los materiales usados en la misma, con el fin de proteger a los consumidores contra prácticas fraudulentas. Documentos históricos indican que gobernantes antiguos ya estaban interesados en codificar dichas reglas. En la antigua Atenas, se realizaban inspecciones para determinar la pureza y el buen estado de la cerveza y el vino, y los romanos tenían un sistema estatal bien organizado para proteger a los consumidores contra fraudes o productos de mala calidad. [19]

La utilización de aditivos hasta la edad media era algo empírico, no es sino hasta los avances tecnológicos experimentados por la química en el siglo XVIII, y la creciente necesidad de la industria alimentaria del siglo XIX, que se aprobaron las primeras leyes alimentarias de carácter general y se implantaron sistemas básicos de control de los alimentos para vigilar su cumplimiento; precisamente en este **período**, fue que la química de los alimentos paso a ser reconocida como una disciplina acreditada, y la determinación de la pureza de un alimento empezó a basarse principalmente en los parámetros químicos de la composición de los alimentos. Es en estas fechas también, que sustancias químicas dañinas comenzaron a utilizarse para encubrir el verdadero color o naturaleza de un alimento, registros históricos indican que era una práctica habitual utilizar azúcar quemada y extractos vegetales para dar a los vinos tintos jóvenes apariencia de Claret maduro, por ello el concepto de adulteración se amplió con el fin de incluir el uso de productos químicos peligrosos o dañinos en los alimentos. [3][19]

A pesar de los esfuerzos implementados, sucesos cuestionables relacionados con la falta de inocuidad, pureza y eficacia de alimentos o medicamentos, hicieron que la industria alimentaria tuviera que evolucionar. En 1857 un estudio de adulterantes que se encontraron en los alimentos reveló que los dulces se coloreaban, por ejemplo, con cromato de plomo, sulfuro de mercurio, óxido de plomo y arsenito de cobre. En 1906, en Estados Unidos apareció el libro “La Jungla” de Upton Sinclair, que describía en detalle las prácticas insalubres en la industria cárnica de la ciudad de Chicago. Además también en esa fecha, se produjo la muerte de varias personas que recibieron suero antitetánico contaminado, que provocó difteria en los pacientes tratados. Como resultado de estos y otros hechos, el Gobierno de Estados Unidos crea la Ley de la Pureza de los Alimentos y Medicamentos (*Pure Food and Drugs Act*), que funda los cimientos para la creación de la FDA. [3][20]

En 1962, salieron a la luz estudios de los efectos secundarios producidos por la Talidomida (α -N-ftalimido-glutarimida), una droga hasta el momento eficaz, pero con documentado efecto secundario en mujeres embarazadas (malformaciones en el feto). Este hecho impulsó el surgimiento de la enmienda Kefauver-Harris, y se creó la primera guía de Buenas Prácticas de Manufactura (BPM), también conocida como BPF, las cuales luego de sufrir variadas modificaciones y actualizaciones a manos de la OMS y la FAO, fueron recomendadas con carácter de obligatoriedad.[19][21]

Por otro lado, en Austria entre los años 1954 - 1958, se propuso la creación de un consejo llamado *Codex Alimentarius Europeus*, con las normas mínimas alimentarias para Europa, en conjunto con lo anterior, en la década de los 60, en la primera conferencia de la FAO para Europa, se ratifica la conveniencia de un acuerdo internacional sobre normas alimentarias mínimas, lo que termina en un programa conjunto de la FAO/OMS sobre normas alimentarias. Finalmente con el apoyo de la OMS, la Comisión Económica de las Naciones Unidas para Europa (CEPE), la Organización de Cooperación y Desarrollo Económico (OCDE) y el Consejo del *Codex Alimentarius Europeus*, la Conferencia de la FAO establece el *Codex Alimentarius* y decide crear un programa internacional sobre normas alimentarias, lo que desemboca en que el año 1963 la Asamblea Mundial de la Salud aprueba el establecimiento del Programa Conjunto FAO/ OMS sobre Normas Alimentarias y aprueba los Estatutos de la Comisión del *Codex Alimentarius*. [19]

Es así como nacen las primeras normativas internacionales para alimentos, regidas en EE. UU por la FDA, y para la Unión Europea por la FAO/OMS en el *Codex Alimentarius*, que desde 1963 ha publicado recomendaciones y estudios acerca de los aditivos utilizados en la industria alimentaria, y además desde 1981 realiza la publicación completa de las normas, que cada cierto tiempo son revisadas y editadas, siempre con el fin de asegurar que los aditivos usados en la industria alimenticia no sean dañinos.

1.5 – Legislación Chilena Sobre el uso de Colorantes.

La normativa Chilena de alimentos se encuentra a cargo del Ministerio de Salud, organismo que desde 1996 entrega los estándares a utilizar en el “**REGLAMENTO SANITARIO DE LOS ALIMENTOS**”, este tiene por objetivo proteger la salud y nutrición de la población y garantizar el suministro de productos sanos e inoctrinos en la producción, importación, elaboración, envase, almacenamiento, distribución y venta de alimentos para uso humano. [22]

El Reglamento Sanitario de los Alimentos sufre modificaciones periódicamente, siendo la última ocurrida en diciembre del año 2016, entrando en vigencia el año 2017. Actualmente se usa como base del reglamento chileno, las recomendaciones hechas en el *Codex Alimentarius*. Dentro de los artículos del reglamento sanitario de alimentos, aquellos que se relacionan con los aditivos alimentarios son:

En el **Artículo 130** del reglamento sanitario de los alimentos, **donde** se define lo que se considera aditivo alimentario, y los fines que debe tener un aditivo alimentario. [23]

El **Artículo 132** indica los parámetros de inocuidad que debe cumplir un aditivo alimentario, para ser permitido bajo la legislación chilena. [23]

El **Artículo 133** norma las condiciones que se deben cumplir para poder utilizar un aditivo alimentario. [23]

El **Artículo 135** indica que se utilizaran las escalas de identidad, pureza y de evaluación de toxicidad de acuerdo a las indicaciones del *Codex Alimentarius* de la FAO/OMS. [23]

Finalmente en el **Artículo 137** se indica que los límites específicos para cada alimento se establecen expresamente dentro del reglamento o de acuerdo a las BPF. [23]

1.6 – Justificación.

La industria alimentaria utiliza grandes cantidades de aditivos con el fin de asegurar que la calidad de los alimentos sea la adecuada para el consumo humano, existen aditivos que protegen los alimentos, como conservantes, antioxidantes, edulcorantes, etc., y aquellos que cambian sus propiedades organolépticas, como aromatizantes y colorantes, con el fin de hacerlos más llamativos. Y es en este último punto donde nace la controversia, y es que, los colorantes tan solo afectan la coloración que poseen los alimentos, no poseen valor nutricional, no aportan estabilidad a los productos, no prolongan la vida útil de los mismos, solo se utilizan para recuperar el color de un alimento, o acentuar el color natural del mismo, por ello sería natural pensar que al ser solo un capricho de los productores y consumidores, estos colorantes sean inocuos, pero la realidad está lejos de ser así. [24]

La polémica con los colorantes se ha arrastrado desde hace mucho tiempo, ya en 1939 en Japón se constataron efectos cancerígenos de un colorante sintético sobre una población de animales de experimentación, este descubrimiento llevó a la prohibición de todos los colorantes azoicos con fines alimentarios. Solo después de largos estudios para demostrar su inocuidad se levantó la prohibición, aunque aún existe un pequeño grupo de colorantes azoicos con fines alimentarios toxicológicamente discutibles. [25]

No obstante, a pesar de las investigaciones realizadas, existen efectos tóxicos documentados. A principios de los años setenta una investigación conducida por el Doctor Benjamín Feingold encontró que cuando a los niños hiperactivos (TDAH) se les daba una dieta libre de aditivos alimentarios y colorantes, se reducían los síntomas de hiperactividad, en los veinte años posteriores, surgieron estudios empíricos que apoyaban y rechazaban esta teoría, y como consecuencia, se redujo la importancia de los colorantes en el TDAH, aludiendo a que solamente han mostrado un efecto pequeño. Finalmente, a pesar de ser un tema estudiado durante más de 35 años, con evidencia acumulada de estudios imperfectos, en diciembre del año 2009, el gobierno inglés solicitó a la industria alimentaria eliminar la mayoría de los colorantes alimentarios artificiales de sus productos, además la Unión Europea en el reglamento 1333/2008 sobre aditivos alimentarios, indica que para los colorantes: amarillo ocaso, amarillo de quinoleína, azorrubina, rojo allura, tartrazina y ponceau 4R, en su envase se debe mencionar “*Puede tener efectos negativos sobre la actividad o la atención de los niños*”,

reconociendo que, comparativamente, el TDAH es un diagnóstico cuantitativo tal como sucede con la hipertensión, existirán algunos individuos que no poseen TDAH a un nivel diagnosticable, pero están relativamente cerca del umbral de dicho diagnóstico, y una dieta que incluye alimentos con colorantes artificiales puede empujar a un rango diagnosticable de TDAH. [26][27][28][29]

Otra de las consecuencias documentadas y debatidas, de los colorantes sintéticos, es su efecto cancerígeno, en general estos estudios son encargados o realizados por las mismas empresas fabricantes de pigmentos, o empresas productoras de alimentos, en lugar de investigadores independientes. Además, todos los estudios realizan pruebas individuales a los colorantes, mientras que muchos alimentos y dietas contienen mezclas de tintes que podrían provocar efectos aditivos o sinérgicos. La evidencia en ratas muchas veces indicó que existe cierta incidencia en generación de cáncer por efecto de los colorantes sintéticos y existe especial cuidado de la tartrazina, que tubo 6 de 11 resultados positivos para estudios de mutagenicidad en ratas, entre los cuales se encuentran: dos estudios de daño en el ADN (colon y glándulas estomacales), tres estudios de aberraciones cromosómicas, un estudio de apareamiento de bases. [24]

Además, existe evidencia basta y clara que indica que los colorantes azoicos pueden producir reacciones adversas en personas sensibles a los ácidos benzoicos, al ácido salicílico y a los silicatos; en grandes dosis, son un liberador de histamina, por lo que puede causar reacciones alérgicas (urticaria, asma) en personas susceptibles, por lo que en países como Alemania, Austria, Finlandia y Noruega, la Tartrazina está prohibida. [30]

Por último, debido a estas implicaciones toxicológicas que incluyen carcinogenicidad, reacciones de hipersensibilidad y efectos en el comportamiento, los colorantes para alimentos no pueden considerarse seguros. Especialmente por los niños que son los más susceptibles a ser atraídos por colores vistosos, es más, tomando como ejemplo alguna celebración de cumpleaños o fiesta de aniversario, donde se conjugan múltiples fuentes de colorantes, es por seguro que se llega a una ingesta cercana a los niveles máximos permitidos, poniendo en riesgo a los más desprotegidos, solo por cumplir un único propósito estético.

Es enmarcado en esta realidad, donde abundan los alimentos coloridos, que se hace necesario evaluar la cantidad de colorantes presentes. En el caso de esta investigación, en bebidas isotónicas para deportistas de la marca POWERADE (Coca-Cola Company), de modo que se pretende identificar y cuantificar los colorantes azul brillante, amarillo crepúsculo, rojo allura, y tartrazina, en estas coloridas bebidas. Además se comprobará si sus concentraciones se encuentran dentro de los límites máximos permitidos a nivel nacional e internacional.

1.7 – Hipótesis

La cantidad de colorantes sintéticos presentes en bebidas para deportistas podría ser determinada mediante espectrofotometría UV-visible, independiente de que en su formulación esté presente un solo colorante o una mezcla de ellos.

1.8 – Objetivos

1.8.1 – Objetivo General

Cuantificar los colorantes amarillo oca, tartrazina, rojo allura y azul brillante, presentes en bebidas isotónicas de la marca Powerade.

1.8.2 – Objetivos Específicos

- Utilizar métodos espectrofotométricos para determinar la cantidad de colorante presente en las muestras analizadas.
- Verificar que la cantidad de colorante presente en las muestras, cumpla con las normas nacionales e internacionales.
- Identificar la bebida Powerade que contiene mayor cantidad de colorantes.

2.- Materiales y Métodos

2.1 Materiales y Muestras Utilizadas

2.1.1 Muestras

Los estándares utilizados para hacer las curvas de calibración fueron:

Nombre del Colorante	Porcentaje de pureza	Lugar de Procedencia
Rojo Allura	$\geq 99\%$	Sigma-Aldrich
Amarillo Ocaso	$\geq 99\%$	Sigma-Aldrich
Tartrazina	$\geq 99\%$	Sigma-Aldrich
Azul Brillante	$\geq 99\%$	Sigma-Aldrich

Tabla N°2: Estándares utilizados experimentalmente, su porcentaje de pureza y lugar y procedencia.

Las muestras a medir fueron bebidas isotónicas para deportistas, de la marca Powerade, perteneciente a Coca-Cola Company, fue utilizado todo el stock bebidas de este tipo que se obtienen comercialmente, lo que se resume en 7 bebidas diferentes, 4 con contenido de azúcar, figura 4, y 3 sin azúcar denominadas zero, figura 5, cada muestra fue obtenida de un supermercado de la Región Metropolitana.



Figura N°4: Bebidas Powerade con contenido de azúcar.



Figura N°5: Bebidas Powerade sin contenido de azúcar.

2.1.2 Materiales

- Pequeña espátula metálica.
- Vidrio de reloj.
- Tubos Falcon con tapa rosca de 10 mL de capacidad.
- Piseta.
- Vasos Precipitados de 250 mL.
- Micropipeta Jetpit con capacidades entre 0,5 - 1000 μ L.
- Puntas desechables para micropipeta.
- Celda de cuarzo de 1 cm de paso óptico.
- Papel indicador de pH marca

2.1.3 Reactivos

- Solución piraña (70% Ácido sulfúrico concentrado 98% marca Merck y 30% peróxido de hidrógeno 30% v/v marca Merck)
- H₂O Ultrapura.

2.1.4 Otros Materiales

- Material de limpieza de uso común.

2.1.5 Equipo de Laboratorio

- Balanza analítica modelo Radwag, AS60/220/C2
- Agitador eléctrico con calefacción, Velp, Are.
- Espectrofotómetro UV-Vis, Shimadzu 2600.
- Espectrofotómetro UV-Vis, Shimadzu UV-Mini 1240.
- pH-Metro digital con sensor de temperatura, Jenway, 3510.
- Agitador Vortex, Velp, Zx3.

2.2 Método

2.2.1 Método utilizado en la preparación de estándares

Los estándares analíticos utilizados fueron masados uno por uno en la balanza analítica, obteniendo una masa lo suficientemente significativa para crear una solución madre. Cada una de las masas, se depositó en un matraz de aforo de 10 mL, y se añadió agua ultrapura hasta alcanzar un volumen de 10 mL, luego en el agitador Vortex se homogeneizó por 2-3 minutos, en la [tabla 3](#) se observan las masas iniciales, y la concentración luego de añadir agua.

Colorante	Masa [g]	Concentración molar [mol/L]
Amarillo ocaso	0,0059	$1,30 \times 10^{-3}$
Rojo allura	0,0051	$1,03 \times 10^{-3}$
Azul brillante	0,0041	$5,17 \times 10^{-4}$
Tartrazina	0,0028	$5,24 \times 10^{-4}$

Tabla N°3: Masa inicial y concentración inicial de los estándares analíticos.

Con las soluciones madres se siguió un proceso de dilución continua, donde fueron extraídos de 1 a 5 mL del volumen total, que posteriormente fue depositado en un tubo Falcon, al que se le añadió agua ultrapura hasta alcanzar un volumen de 10 mL, luego este proceso se repitió con la dilución obtenida anteriormente, y así sucesivamente hasta llegar a la dilución N°5. Cada dilución fue homogeneizada en el agitador Vortex, rotulada con el nombre del

colorante, el número de dilución, y los mililitros de agua utilizados. Las concentraciones resultantes de las diluciones se pueden apreciar en la [tabla 4](#).

Colorante	Dilución 1 [mol/L]	Dilución 2 [mol/L]	Dilución 3 [mol/L]	Dilución 4 [mol/L]	Dilución 5 [mol/L]
Amarillo ocaso	$1,30 \times 10^{-4}$	$2,61 \times 10^{-5}$	$1,30 \times 10^{-5}$	$2,61 \times 10^{-6}$	$1,30 \times 10^{-6}$
Rojo allura	$1,03 \times 10^{-4}$	$2,05 \times 10^{-5}$	$1,03 \times 10^{-5}$	$2,05 \times 10^{-6}$	$1,03 \times 10^{-6}$
Azul brillante	$1,03 \times 10^{-4}$	$5,17 \times 10^{-5}$	$2,59 \times 10^{-5}$	$1,29 \times 10^{-5}$	$6,46 \times 10^{-6}$
Tartrazina	$1,05 \times 10^{-4}$	$5,24 \times 10^{-5}$	$2,62 \times 10^{-5}$	$1,31 \times 10^{-5}$	$6,55 \times 10^{-6}$

Tabla N°4: Concentraciones molares de las diluciones de los estándares analíticos.

Todos los colorantes utilizados en esta investigación poseen gran estabilidad a pH neutro y ácido, pero sufren descomposiciones en pH alcalino, por ello también fue necesario comprobar la acidez, tanto de muestras como de estándares, para verificar dichas condiciones. En esta instancia se utilizó un pH-Metro digital con sensor de temperatura, encontrando que existía una diferencia de acidez entre las bebidas y los estándares preparados en el laboratorio, como muestra la [tabla 5](#), y la [tabla 6](#) respectivamente.

Powerade:	pH
Frozen Blast Zero	3,63
Lima Limón Zero	3,94
Uva Zero	4,11
Green Punch	3,35
Rojo	3,92
Frozen Blast	3,60
Naranja	3,67

Tabla N°5: pH de las bebidas powerade a temperatura ambiente.

Estándar:	pH
Amarillo ocaso	6,86
Azul Brillante	6,85
Tartrazina	6,60
Rojo allura	6,23

Tabla N°6: pH de los estándares (dilución 2) a temperatura ambiente.

Tal como se puede apreciar, existe una diferencia de alrededor de 2 puntos en escala de pH (tabla 5 y tabla 6), siendo mucho más ácidas las bebidas que los estándares, esto se explica por la nula presencia de azúcares, preservantes y sales en los estándares, y por sobre todo, la inclusión de ácido cítrico en las bebidas, por otra parte en cuanto a la medición de espectros, una diferencia de esta magnitud, no afecta la absorbancia de las muestras, ya que los colorantes solo se debieran descomponer (cambiar de color) con pH alcalino.

Para medir los espectros de absorción, en primer lugar se tomó una celda de cuarzo previamente lavada con solución piraña, y se limpió completamente con agua destilada, luego se realizó la respectiva ambientación con agua ultrapura y se utilizó el papel pH para confirmar que la celda no tuviera residuos ácidos.

Se ambientó cada celda de cuarzo con 1 mL de cada solución madre, luego se le agregó un volumen aproximado de 3 mL para realizar la medición. Para cada colorante, se hizo un barrido espectral desde los 200 nm hasta los 700 nm con el objetivo de conocer los máximos de absorción, que son las longitudes de onda donde dicho colorante absorbe más luz, además se eliminó las interferencias que pudiera mostrar el agua ultrapura, usando como blanco una celda de cuarzo con agua ultrapura y la opción del software controlador del espectrofotómetro llamada *base line*, que resta las eventuales interferencias del agua a los barridos hechos a los colorantes. Los datos obtenidos pueden verse en la tabla 7.

Colorante	Máximos de absorción [nm]
Rojo Allura AC	499
Tartrazina	427
Azul Brillante AC	629
Amarillo Crepúsculo	482

Tabla N°7: Longitud de onda en la cual los colorantes muestran mayor absorbancia.

Luego de limpiar las celdas de cuarzo, al igual que se hizo anteriormente, se ambientó con 1,0 mL de dilución, después se agregó un volumen suficiente de la misma (aproximadamente 3,0 mL), para poder realizar la medición, también se debió eliminar la señal del agua, para que no interfiera en el espectro. Finalmente se botó el líquido cuidadosamente, se limpió y se repitió el procedimiento con la dilución siguiente.

Con el fin de no desperdiciar las disoluciones ambientando con cada medición, solo se ambientó la primera vez que se usó la celda con cada colorante, y se midió desde la dilución menos concentrada hasta la más concentrada, ya que al eliminar el líquido dentro de la celda, solo unas pequeñas gotas quedaran de remanente, siendo despreciables frente a la cantidad de dilución más concentrada que será agregada a la misma celda de cuarzo, por lo que en total, solo se limpió y ambientó la celda 4 veces.

Finalmente al realizar la medición de espectros de absorbancia, se debió medir los colorantes, bajo las distintas longitudes de onda determinadas anteriormente, considerando que se debe medir tanto en su longitud de onda de mayor absorbancia, como en las longitudes de onda donde los demás colorantes presentan su mayor absorbancia. Por ejemplo, para la muestra Powerade Uva Zero, de coloración violeta, se midió las absorbancias de rojo allura y azul brillante en las longitudes 499 nm y 629 nm cada una, para el Powerade Verde, se debió medir las absorbancia a longitudes de onda de azul brillante y tartrazina, 629 nm y 427 nm respectivamente.

Una vez realizadas las mediciones, se graficó las absorbancias obtenidas versus las concentraciones de cada una de las diluciones, obteniendo la línea de tendencia y la respectiva ecuación de recta, con la cual a través de un sistema de ecuaciones se pudo calcular la concentración de cada muestra de bebida.

2.2.2 Método utilizado en la preparación de muestras

Para la preparación de las muestras, se debieron limpiar las celdas de cuarzo, y ambientar con suficiente cantidad de bebida, luego se debió medir en el espectrofotómetro cuidando de eliminar la interferencia que pudiera causar el agua, que es el solvente usado en cada bebida.

Para cada una de las muestras, se debió hacer una medición en las longitudes de onda de mayor absorbancia de los colorantes que las componen.

3.- Resultados y discusión

3.1 Espectrofotometría de los estándares analíticos

Como primer paso del desarrollo de la presente investigación, se fijó la medición de los estándares, con el fin de identificar los peaks de absorción máximos de cada colorante, los resultados de la espectrofotometría pueden observarse en la figura 6.

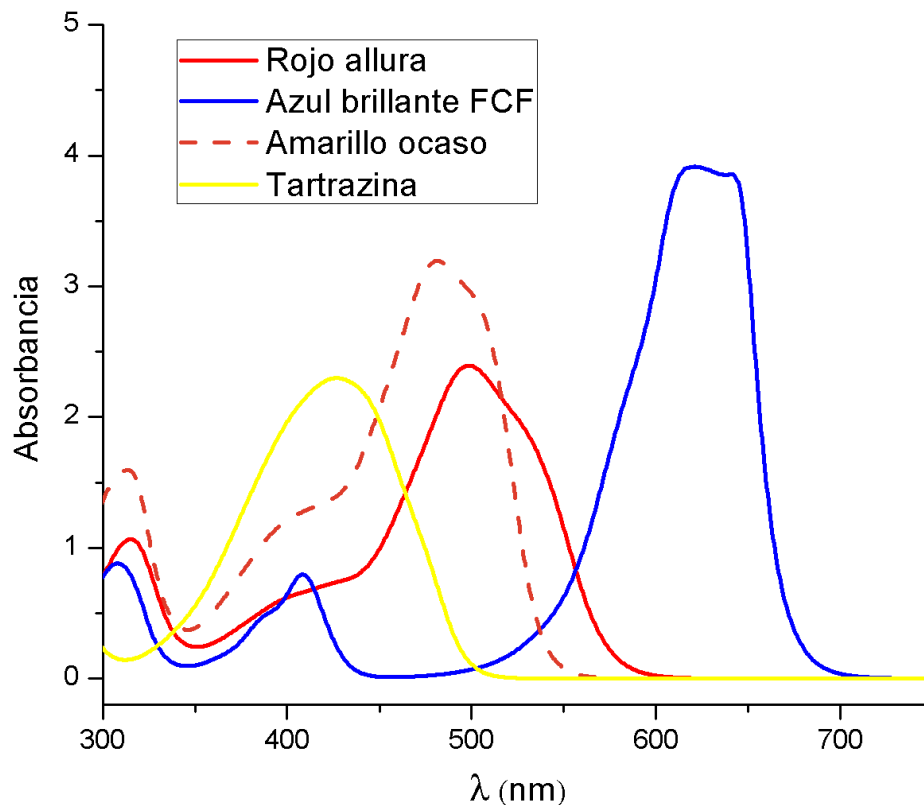


Figura 6: Espectros de absorción de estándares analíticos de colorantes Rojo Allura, Azul Brillante, Amarillo Ocaso, y Tartrazina, (Disoluciones 10^{-3} - $10^{-4}M$) en la región espectral 300 hasta 750 nm.

El espectrofotómetro utilizado en esta fase experimental, arrojó que las longitudes de onda de absorción máxima para los colorantes son: 499 nm para rojo allura, 629 nm para azul brillante, 427 nm para tartrazina y 482 nm para amarillo ocaso. Como puede apreciarse, el único colorante que presenta una absorción lejana del resto es el azul brillante, lo que posteriormente será de gran ayuda al calcular las concentraciones de cada colorante presente en las bebidas.

En cuanto a la espectrofotometría, la FAO además de entregar información sobre toxicidad de cada aditivo alimentario, aporta información de las propiedades fisicoquímicas de relevancia, en el caso de los colorantes, puede encontrarse un apartado donde señala las longitudes de onda de absorción máxima de cada uno, y el lugar donde experimentalmente se obtuvo dicha información, pudiendo ser desde la FDA, UE, y por último Japón, en la tabla N°8 se muestra en detalle. [31]

Colorante	λ_{\max} FDA (nm)	λ_{\max} UE (nm)	λ_{\max} Japón (nm)
Rojo Allura AC	500	504	497-501
Azul Brillante FCF	630	630	628-632
Tartrazina	428	426	426-430
Amarillo Ocaso	484	485	480-484

Tabla N°8: Longitud de onda de absorción máxima de los colorantes Rojo Allura, Azul Brillante FCF, Amarillo Ocaso, y Tartrazina.

Si se comparan las longitudes de onda obtenidas experimentalmente, con las recopiladas bibliográficamente, se puede ver como las mediciones son bastante cercanas tanto a la FDA como a la UE, incluso están dentro del rango que entrega Japón, por lo que existe cierta confianza en los puntos seleccionados para hacer los espectros de absorción en las bebidas isotónicas.

3.2 Espectrofotometría de las muestras analizadas

3.2.1 Espectrofotometría Powerade Rojo y Powerade Frozen Blast

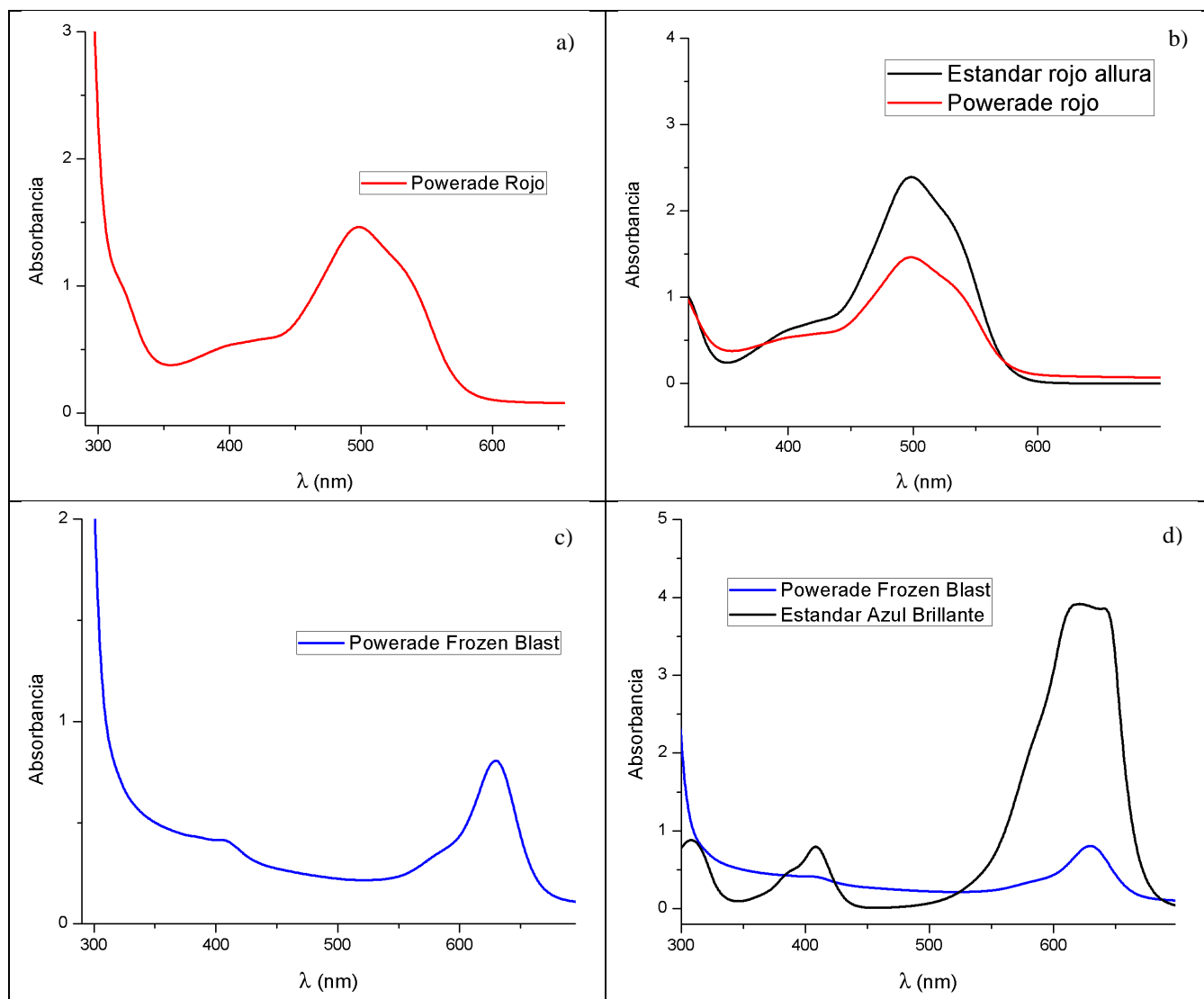


Figura 7: a) Espectro de absorción de la bebida Powerade Rojo, b) Comparación entre el estándar de rojo allura y la bebida Powerade Rojo, c) Espectro de absorción la bebida Powerade Frozen Blast, d) Comparación entre el estándar azul brillante y la bebida Powerade Frozen Blast.

Tal como se logra apreciar en la [figura 7](#), los perfiles espectrales correspondientes a las bebidas son similares a las que resultan de los estándares analíticos, pero difieren en la intensidad, lo que se puede interpretar como la proporcionalidad entre absorbancia y concentración; entre más concentrada esté la muestra, presentará una mayor absorbancia o una menor transmitancia.

3.2.2 Espectrofotometría Powerade Naranja y Powerade Green Punch

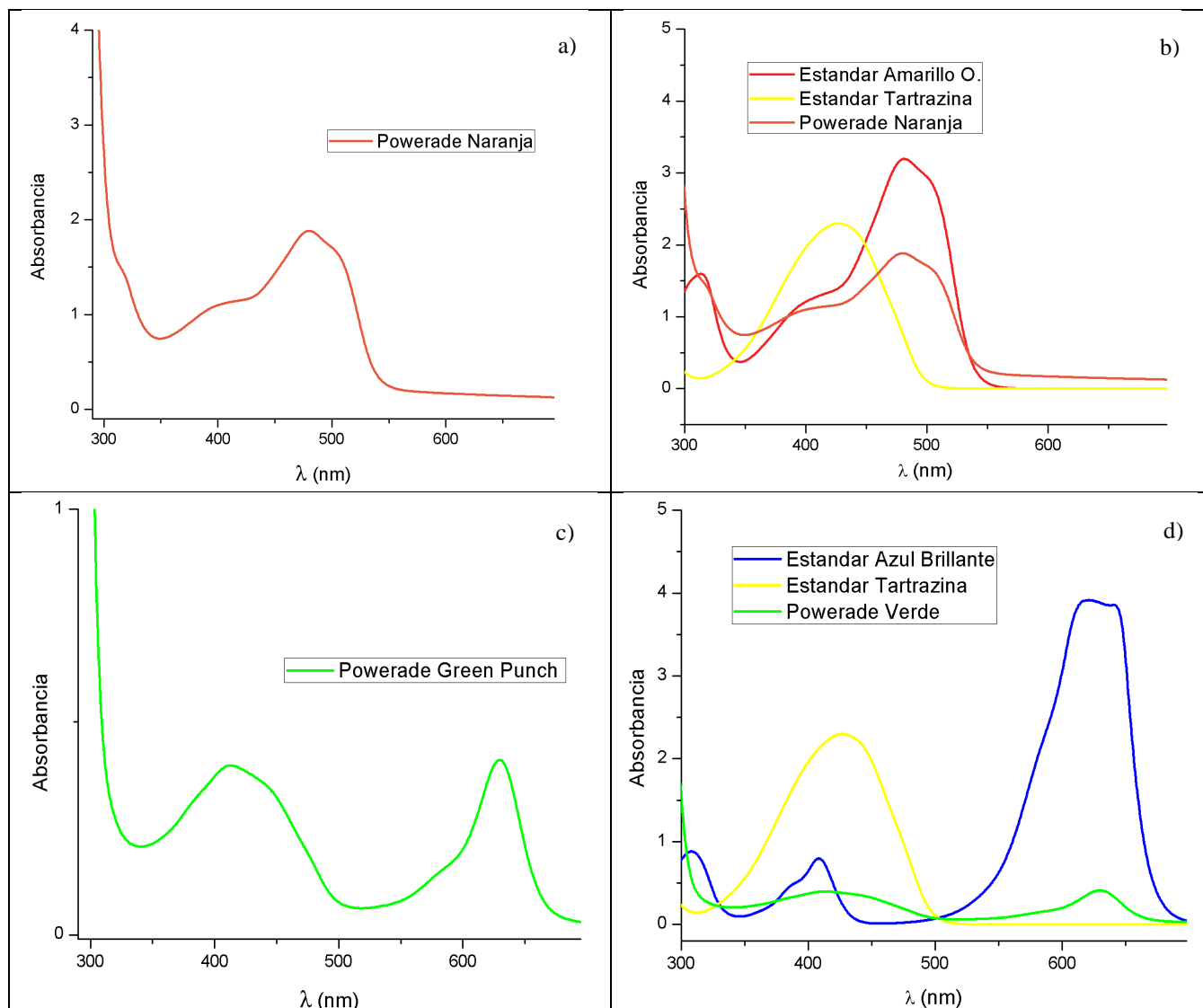


Figura 8: a) Espectro de absorción de la bebida Powerade Naranja, b) Comparación entre los estándares y la bebida Powerade Naranja, c) Espectro de absorción de la bebida Powerade Green Punch, d) Comparación entre los estándares y la bebida Powerade Green Punch.

Para el caso de las bebidas naranja y verde, sus espectros corresponden a la suma de los espectros de cada colorante presente en solución, para naranja, se suma amarillo ocaso y tartrazina, mientras que para verde, se suma azul brillante y tartrazina. Al igual que para las bebidas rojo y frozen blast los espectros corresponden a una concentración menor a la que se realizó el barrido espectral de los estándares, por ende, sus peaks presentan una menor absorbancia (intensidad).

3.2.3 Espectrofotometría Powerade Lima Limón Zero y Powerade Uva Zero

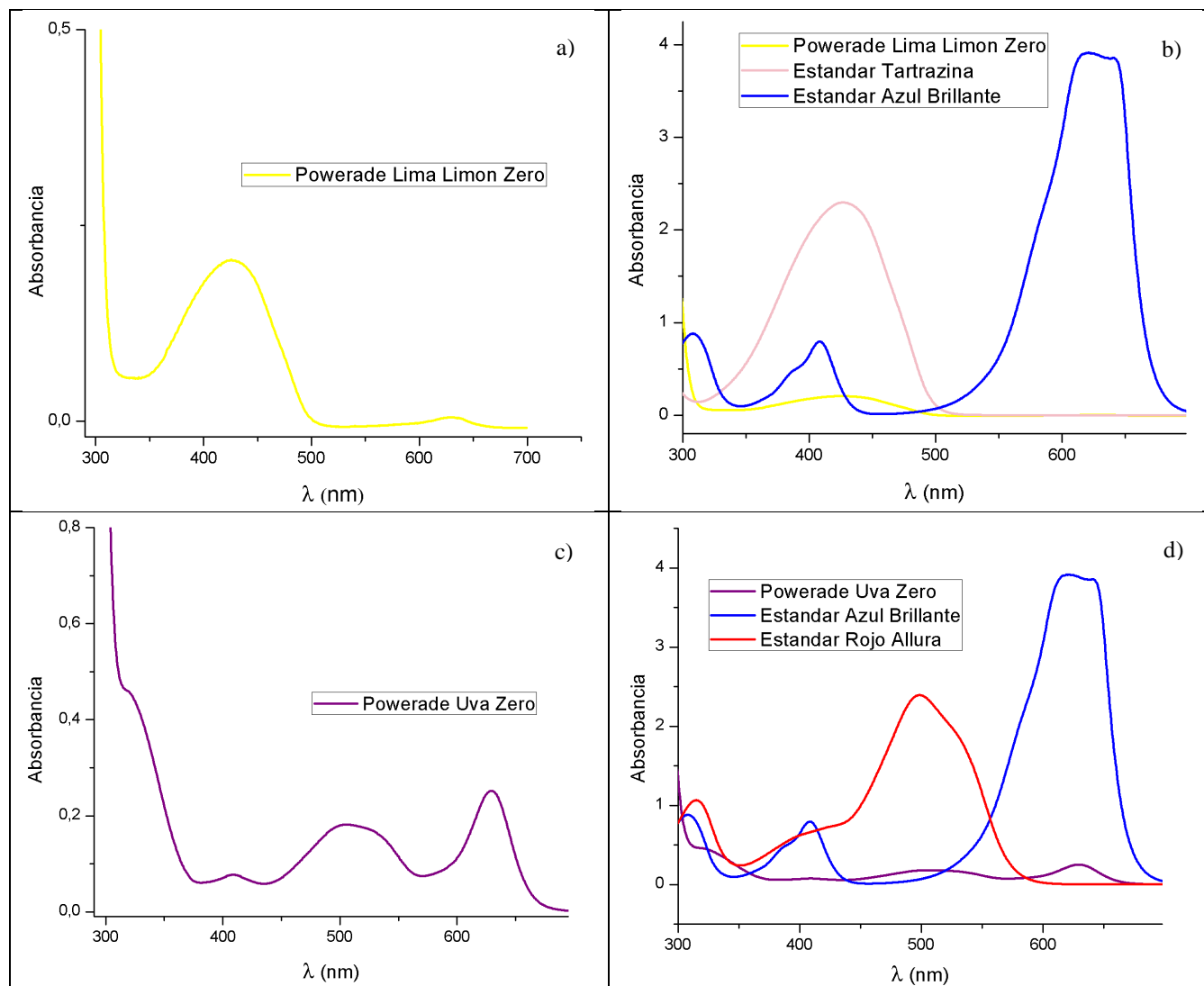


Figura 9: a) Espectro de absorción de la bebida Powerade Lima Limón Zero, b) Comparación entre los estándares y la bebida Powerade Lima Limón Zero, c) Espectro de absorción la bebida Powerade Uva Zero, d) Comparación entre los estándares y la bebida Powerade Uva Zero.

Así cómo se ha mostrado en las figuras 7 y 8, los *peaks* de las bebidas para deportistas, son el resultado de las sumas de los estándares involucrados en solución, aunque ciertamente en estos dos casos, las concentraciones son bastante más bajas que los estándares, viéndose sus espectros con menor intensidad en la vista comparativa, figura 9, donde solo se aprecian aquellos *peaks* de mayor absorbancia.

3.2.4 Espectrofotometría Powerade Frozen Blast Zero

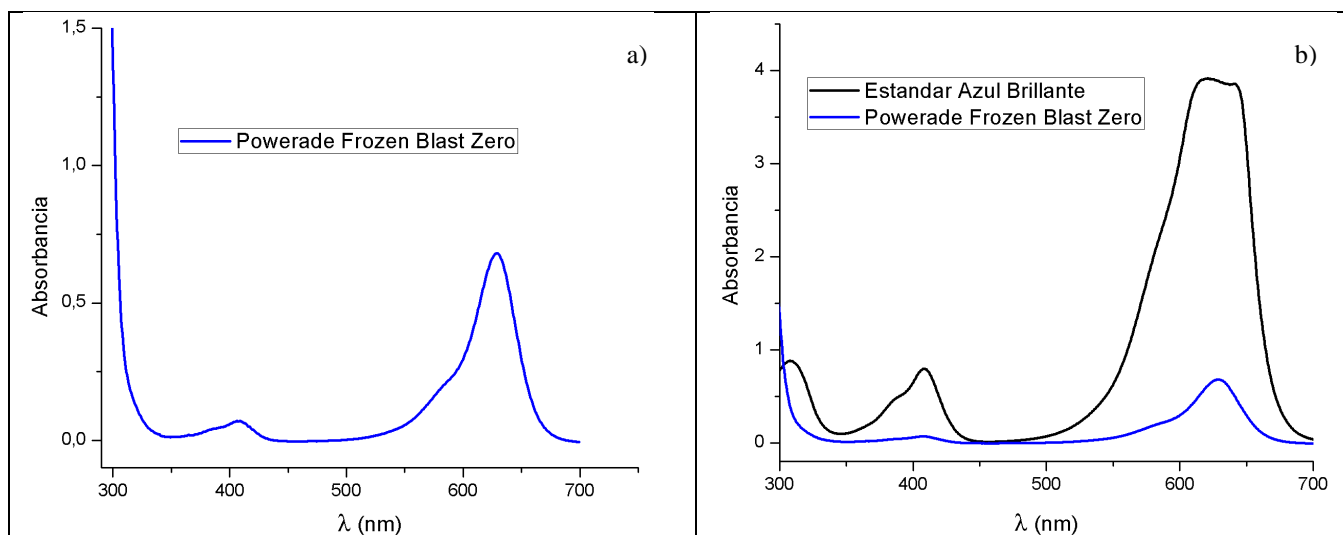


Figura 10: a) Espectro de absorción de la bebida Powerade Frozen Blast Zero, b) Comparación entre el estándar azul brillante y la bebida Powerade Frozen Blast Zero.

Para este último espectro, se hace evidente la relación de absorbancia versus concentración, y además es posible realizar la comparación con la bebida powerade frozen blast, figura 7-c (misma bebida, pero con azúcar), y de esta forma sin realizar ningún cálculo previo, y tomando en cuenta que las mediciones se han realizado bajo las mismas condiciones de presión, temperatura, etc., podemos decir que la concentración de azul brillante es menor para la versión zero (sin azúcar).

3.3 Curvas de calibración Estándares analíticos

Una vez realizados los espectros de absorción para cada estándar, se determinaron las longitudes de onda de absorción máxima, sobre esta base fue posible construir una curva de calibración para cada colorante. Se registraron las absorbancias para 5 diluciones obtenidas a partir de una solución madre a las longitudes de onda determinadas experimentalmente, permitiendo ello la construcción de los gráficos de absorbancia versus concentración, donde para cada uno de ellos se incorporó la respectiva línea de tendencia y mediante regresión lineal se determinó la pendiente de la recta, que para este caso será el valor de ϵ (absortividad molar).

En algunos casos se realizó más de una curva de calibración por colorante, todo dependiendo del número de bebidas en el que esté incluido, y si en esa bebida existe más de un colorante.

3.3.1 Curva de calibración rojo allura

Absorbancia (499 λ)	Concentración (mol/L)	N° Dilución
0,023	$1,03 \times 10^{-6}$	5
0,045	$2,06 \times 10^{-6}$	4
0,227	$1,03 \times 10^{-5}$	3
0,473	$2,06 \times 10^{-5}$	2
2,352	$1,03 \times 10^{-4}$	1

Tabla 9: Absorbancia a 499 nm y concentración de las diluciones realizadas de rojo allura

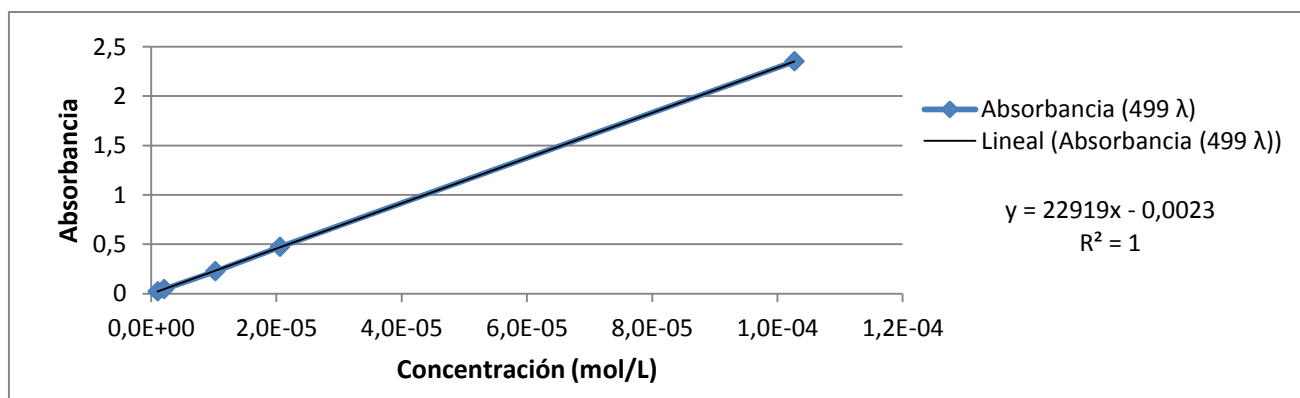


Figura 11: Curva de calibración absorbancia v/s concentración de rojo allura con regresión lineal y ecuación de la recta a 499 nm.

En la [figura 11](#) se observa una linealidad con factor de correlación igual a 1, lo que indica que bajo todos los valores de concentración vistos, la absorbancia muestra un comportamiento directamente proporcional a la variación de la concentración, de esta forma, si tomamos un valor aleatorio de concentración, dentro del rango establecido, la absorbancia será fiel al modelo representado.

La bebida Powerade Uva Zero, de coloración lila-morado, tiene entre sus ingredientes a los colorantes rojo allura y azul brillante, por lo tanto también se debió hacer una curva de calibración de rojo allura a 629 nm, correspondiente al punto de absorción máximo del azul brillante, en este caso, rojo allura mostró una absorbancia igual a cero, por lo tanto, en el cálculo de concentraciones de los colorantes para la bebida Powerade Uva Zero, a una longitud de onda de 629 nm, se tomó en cuenta que el único colorante que absorbió luz es azul brillante.

3.3.2 Curva de calibración azul brillante

El colorante azul brillante, está presente en 4 bebidas para deportistas de la marca Powerade, donde en ocasiones se presentó en solitario, y en otras acompañado de rojo allura o tartrazina, por lo tanto se debió hacer 3 curvas de calibración a 629 nm, 499 nm, y 427 nm.

Absorbancia (427 λ)	Concentración (mol/L)	Dilución
0,023	$6,46 \times 10^{-6}$	5
0,047	$1,29 \times 10^{-5}$	4
0,098	$2,59 \times 10^{-5}$	3
0,202	$5,17 \times 10^{-5}$	2
0,411	$1,03 \times 10^{-4}$	1

Tabla 10: Absorbancia a 427 nm y concentración de las diluciones realizadas de azul brillante.

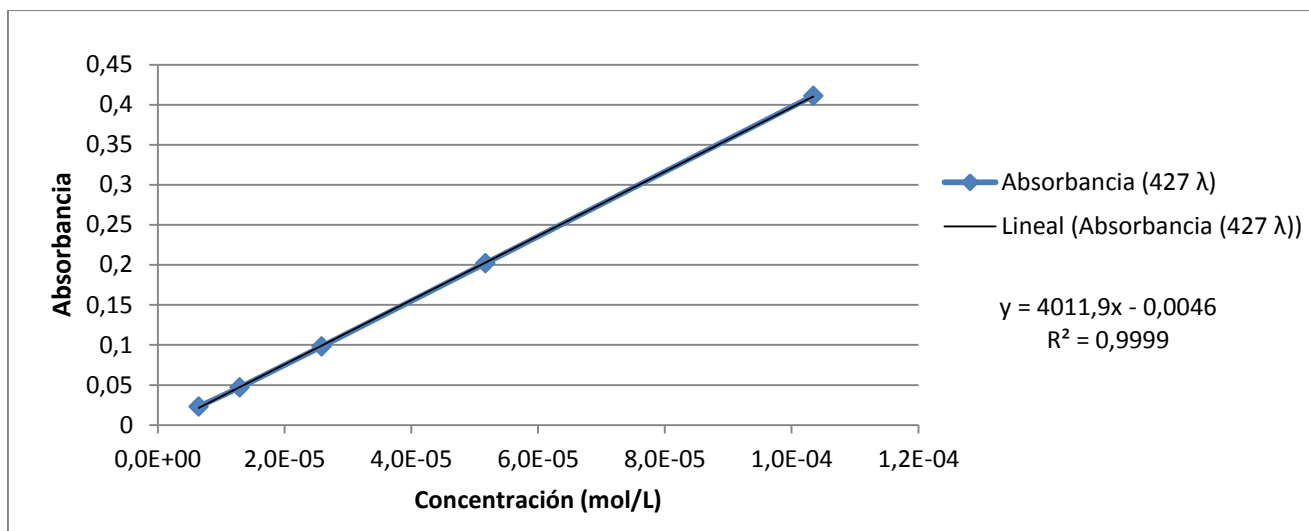


Figura 12: Curva de calibración absorbancia v/s concentración de azul brillante. Se presenta regresión lineal y ecuación de la recta a 427 nm.

Absorbancia (499 λ)	Concentración (mol/L)	Dilución
0,006	$6,46 \times 10^{-6}$	5
0,012	$1,29 \times 10^{-5}$	4
0,027	$2,59 \times 10^{-5}$	3
0,056	$5,17 \times 10^{-5}$	2
0,113	$1,03 \times 10^{-4}$	1

Tabla 11: Absorbancia a 499 nm y concentración de las diluciones realizadas de azul brillante.

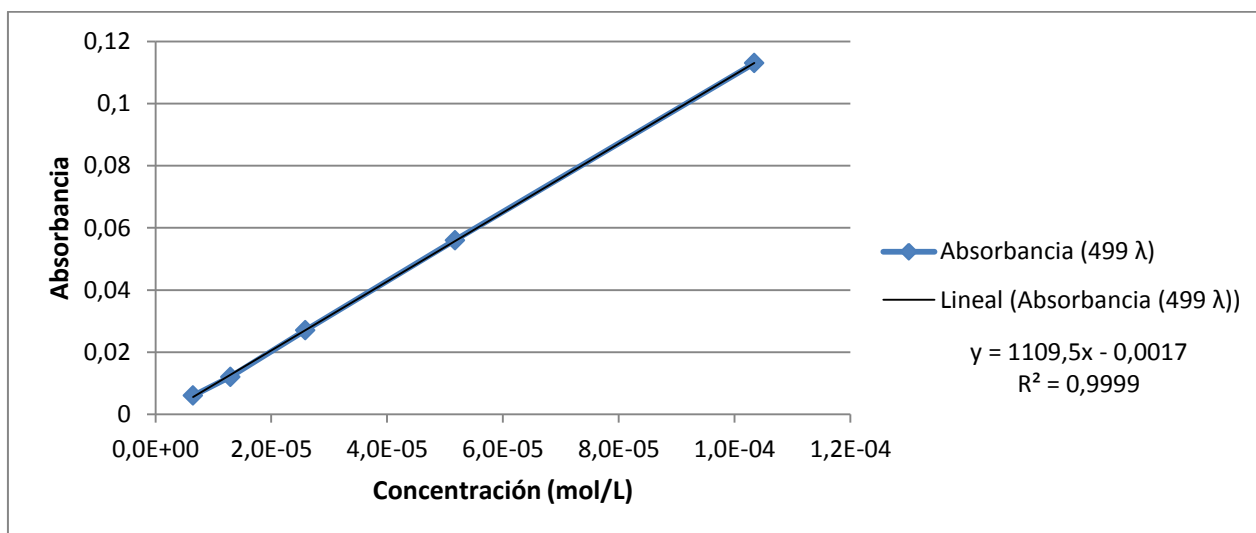


Figura 13: Curva de calibración absorbancia v/s concentración de azul brillante. Se presenta regresión lineal y ecuación de la recta a 499 nm.

Absorbancia (629 λ)	Concentración (mol/L)	Dilución
0,703	$6,46 \times 10^{-6}$	5
1,458	$1,29 \times 10^{-5}$	4
2,949	$2,59 \times 10^{-5}$	3
3,880	$5,17 \times 10^{-5}$	2
3,962	$1,03 \times 10^{-4}$	1

Tabla 12: Absorbancia a 629 nm y concentración de las diluciones realizadas de azul brillante.

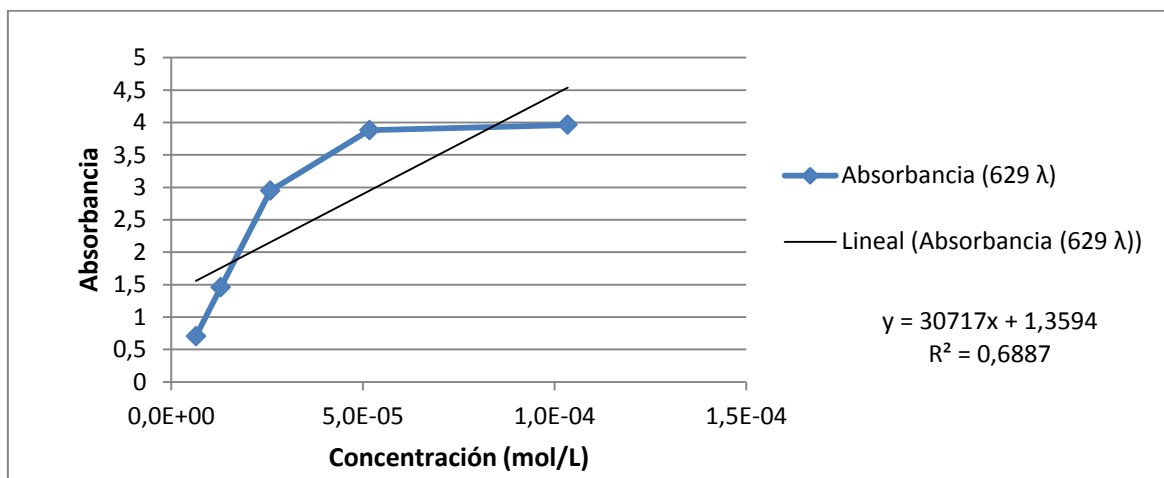


Figura 14: Curva de calibración absorbancia v/s concentración de azul brillante. Se presenta regresión lineal y ecuación de la recta a 629 nm.

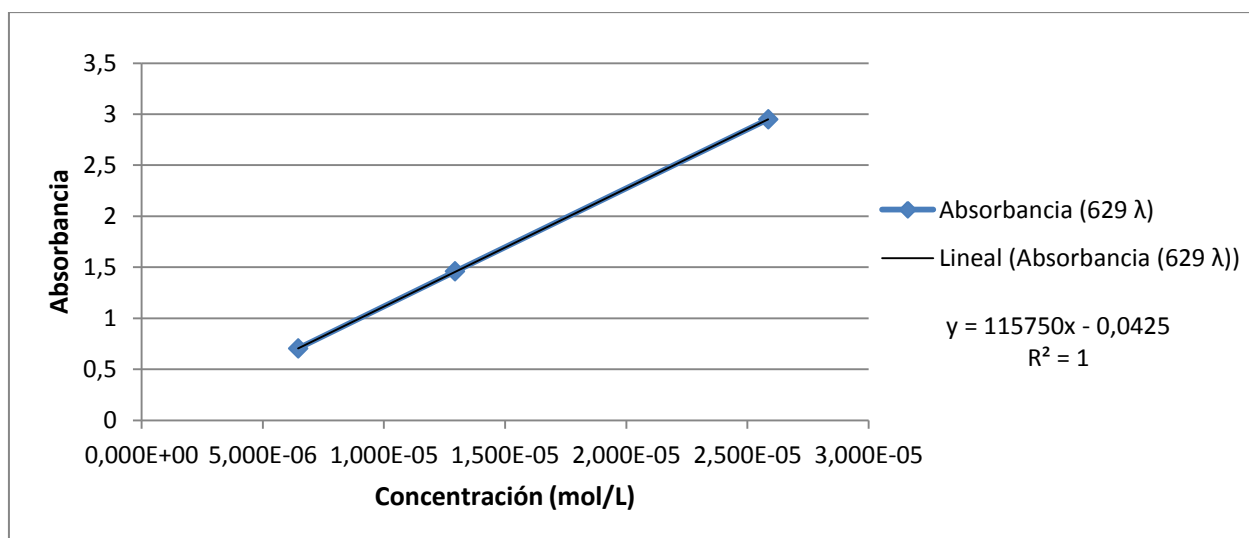


Figura 15: Curva de calibración absorbancia v/s concentración de azul brillante. Se presenta regresión lineal y ecuación de la recta a 629 nm.

Para el estándar de azul brillante, se presentó un comportamiento lineal tanto a 427 nm (ver figura 12) como a 499 nm (ver figura 13), mientras que, a la longitud de máxima absorción de este colorante (629 nm), se obtuvo un resultado no lineal, debido a desviaciones que se registraron para disoluciones de mayor concentración, donde la intensidad de color del colorante azul brillante fue muy alta, llegando a límites de saturación (Ver figura 14), por lo que se debió eliminar aquellos valores que no representan adecuadamente la proporcionalidad de la concentración respecto a la absorbancia, y de acuerdo a esto resultó la gráfica mostrada en la figura 15, donde se logra observar un valor de R^2 igual a uno, que indica una relación lineal a las concentraciones utilizadas.

3.3.3 Curva de calibración amarillo ocaso

El colorante amarillo ocaso está presente sólo en la bebida para deportistas Powerade Naranja, en donde junto al colorante tartrazina logran una coloración naranja, por lo tanto presentó 2 curvas de calibración una a valor de absorción máximo de tartrazina (427 nm) y otra en su propio valor de absorción máximo (482 nm).

Absorbancia (482 λ)	Concentración (mol/L)	Dilución
0,021	$1,30 \times 10^{-6}$	5
0,043	$2,61 \times 10^{-6}$	4
0,216	$1,30 \times 10^{-5}$	3
0,506	$2,61 \times 10^{-5}$	2
2,732	$1,30 \times 10^{-4}$	1

Tabla 13: Absorbancia a 482 nm y concentración de las diluciones realizadas de amarillo ocaso.

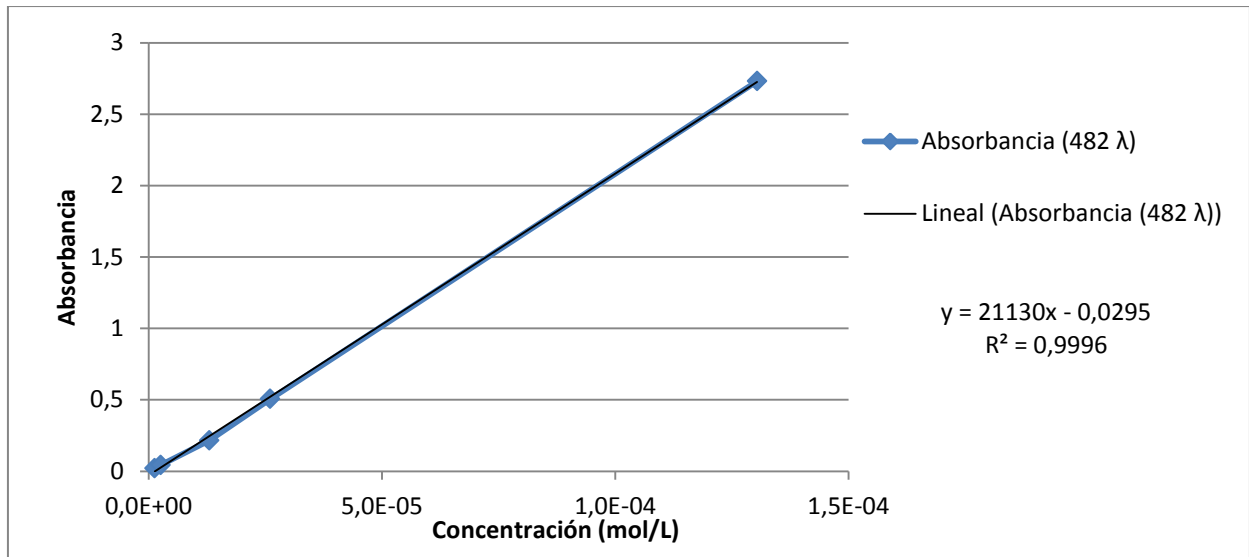


Figura 16: Curva de calibración absorbancia v/s concentración de amarillo ocaso. Se presenta regresión lineal y ecuación de la recta a 482 nm.

Absorbancia (427 λ)	Concentración (mol/L)	Dilución
0,010	$1,30 \times 10^{-6}$	5
0,020	$2,61 \times 10^{-6}$	4
0,094	$1,30 \times 10^{-5}$	3
0,223	$2,61 \times 10^{-5}$	2
1,200	$1,30 \times 10^{-4}$	1

Tabla 14: Absorbancia a 427 nm y concentración de las diluciones realizadas de amarillo ocaso.

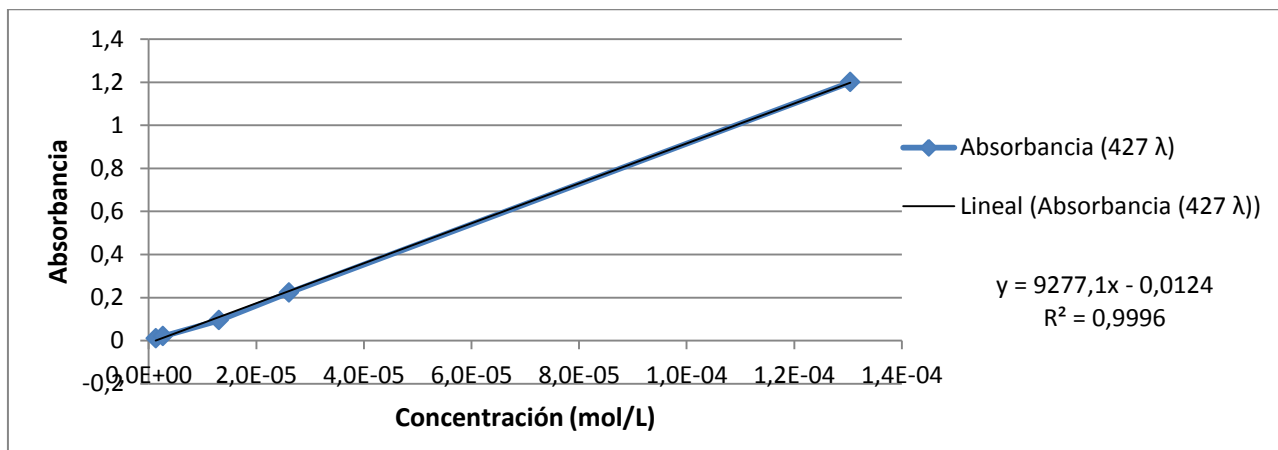


Figura 17: Curva de calibración absorbancia v/s concentración de amarillo ocaso. Se presenta regresión lineal y ecuación de la recta a 427 nm.

Para las líneas de tendencia del colorante amarillo ocaso, se mostró un valor de R^2 muy cercano a 1, que representa linealidad entre los valores de absorbancia a las concentraciones utilizadas, además, existe una concordancia entre lo teórico y lo práctico, la absorbancia que muestra un colorante debiera ser mayor a su longitud de onda de máxima absorbancia (tal como su nombre lo indica), en este caso, se absorbe más luz a 482 nm que a 427 nm (longitud de onda de máxima absorbancia de la tartrazina). Esto se puede explicar además, al comparar los valores de absorptividad molar a ambas longitudes de onda, mientras que en la figura 16 tiene un valor de 21.130, en la figura 17 solo alcanza un valor de 9.277.

3.3.4 Curva de calibración tartrazina

El colorante tartrazina está presente en 3 bebidas para deportistas de la marca Powerade, lima limón zero, green punch, y naranja, donde es acompañado de los colorantes azul brillante, para las primeras dos bebidas, y de amarillo ocaso para la tercera. Por lo tanto presenta tres curvas de calibración, a 629 nm (valor de absorción máximo de azul B.), a 482 nm (valor de absorción máximo de amarillo ocaso), y 427 que es el valor máximo de absorbancia de la tartrazina.

Para el caso de la curva de calibración a 629 nm, correspondiente al máximo de absorbancia de azul brillante, la tartrazina presenta un valor de absorbancia de cero, por lo tanto no se considera este resultado, al igual que en el caso de las curvas de calibración de rojo allura. Para el cálculo de las concentraciones de los colorantes a esa longitud de onda, solo se tomará en cuenta el aporte que hace azul brillante.

Absorbancia (482 λ)	Concentración	Dilución
0,031	$6,55 \times 10^{-6}$	5
0,064	$1,31 \times 10^{-5}$	4
0,129	$2,62 \times 10^{-5}$	3
0,260	$5,24 \times 10^{-5}$	2
0,525	$1,05 \times 10^{-4}$	1

Tabla 15: Absorbancia a 482 nm y concentración de las diluciones realizadas de tartrazina.

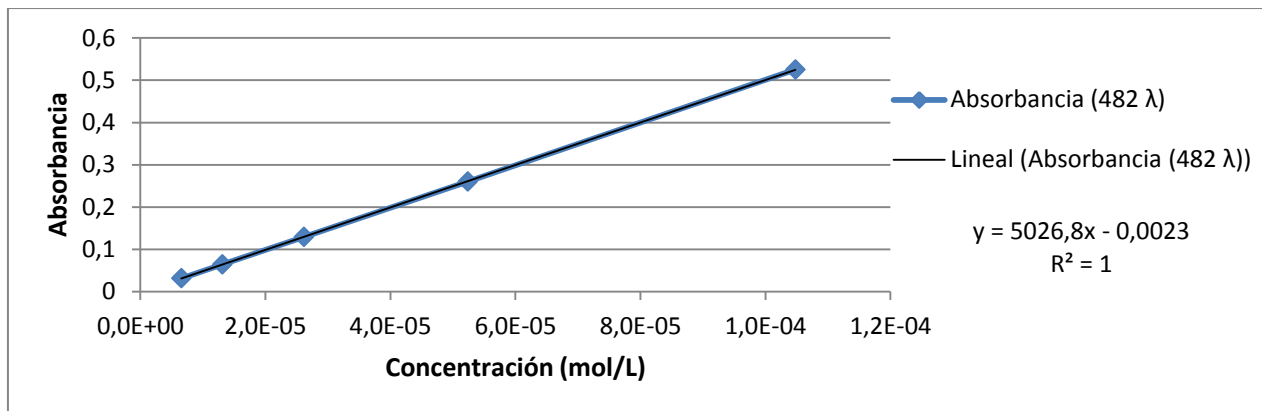


Figura 18: Curva de calibración absorbancia v/s concentración de tartrazina. Se presenta regresión lineal y ecuación de la recta a 482 nm.

Absorbancia (427 λ)	Concentración	Dilución
0,108	$6,55 \times 10^{-6}$	5
0,217	$1,31 \times 10^{-5}$	4
0,439	$2,62 \times 10^{-5}$	3
0,886	$5,24 \times 10^{-5}$	2
1,794	$1,05 \times 10^{-4}$	1

Tabla 16: Absorbancia a 427 nm y concentración de las diluciones realizadas de tartrazina.

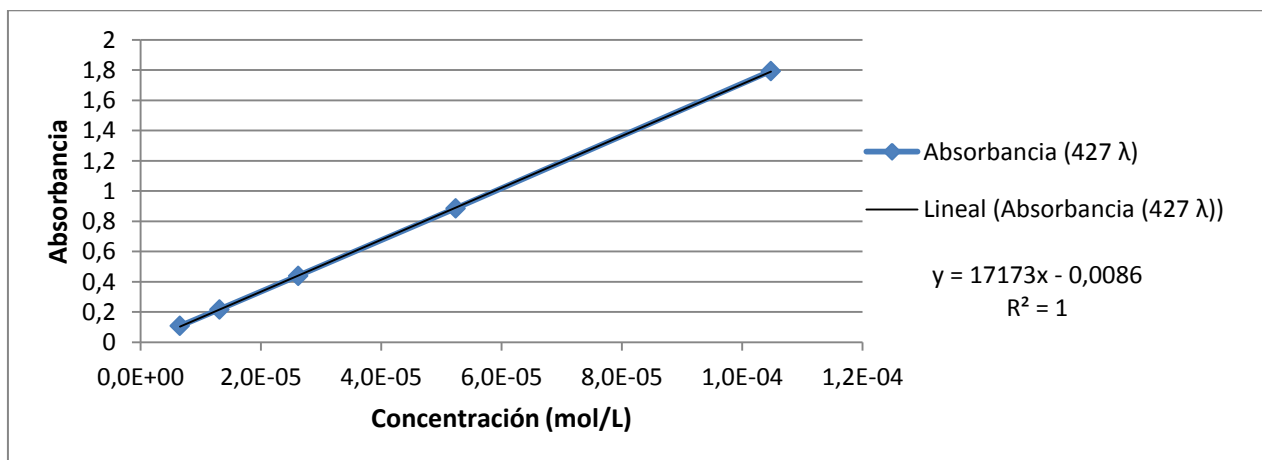


Figura 19: Curva de calibración absorbancia v/s concentración de tartrazina. Se presenta regresión lineal y ecuación de la recta a 427 nm.

Ambas curvas de este colorante muestran un factor de correlación igual a 1, que es el mejor resultado que se puede obtener, indicando una total dependencia entre las dos variables graficadas, y por lo tanto una relación de directa proporcionalidad entre ambas.

3.4 Cálculo de concentración y masa de los colorantes

Haciendo uso de las curvas de calibración vistas en el apartado anterior, es posible calcular las concentraciones de los colorantes presentes en las bebidas, midiendo la absorbancia de dichas bebidas a las longitudes de onda de máxima absorbancia de los colorantes presentes en las mismas, para ello, se utilizará la Ec. 5 vista en el apartado 1.3 de la introducción (Técnica Empleada).

$$A = \varepsilon \cdot b \cdot C \quad \text{Ec. 5}$$

Dónde:

A: Absorbancia

b: Paso óptico de la celda de cuarzo (cm)

ε : Absortividad Molar

C: Concentración molar

Para los propósitos de esta investigación, se utilizó una celda de cuarzo de 1 cm de paso óptico, por lo tanto este valor pasa a ser una constante, y no una variable de la que preocuparse. En cuanto a la absortividad molar, este valor ya ha sido calculado, y corresponde a la pendiente de cada curva de calibración obtenida, por lo tanto, para las bebidas que solo presenten un colorante, como powerade rojo, y powerade frozen blast (y la versión zero), solo será necesario reemplazar los datos en la ecuación para calcular la concentración. Para las bebidas que presentan 2 colorantes, es necesario hacer un sistema de ecuaciones (Ec. 6 y Ec. 7), entendiéndose que la absorbancia de una bebida será igual a la suma de las absorbancias de cada colorante presente en la bebida.

Además es necesario mencionar, que el valor de la absortividad molar, tiene directa relación con la estructura molecular de cada colorante analizado, si dicho colorante posee en su estructura, gran cantidad de cromóforos y auxocromos, entonces absorberá más luz a una longitud de onda determinada, por ende su absortividad molar será más elevada, es el caso del colorante azul brillante, que posee en su estructura, gran cantidad de grupos benceno sustituidos y un par de aminas terciarias entre otros, producto de lo cual, a 629 nm presenta una absortividad molar de 115.750 mucho mayor que cualquiera de los otros 3 colorantes analizados.[14]

$$A_1 = \varepsilon_a^1 \cdot 1 \cdot C_a + \varepsilon_b^1 \cdot 1 \cdot C_b \quad \text{Ec. 6}$$

$$A_2 = \varepsilon_a^2 \cdot l \cdot C_a + \varepsilon_b^2 \cdot l \cdot C_b \quad \text{Ec. 7}$$

Dónde:

A_1 : Absorbancia a longitud de onda 1

A_2 : Absorbancia a longitud de onda 2

ε_a^1 : Absortividad Molar de colorante a a longitud de onda 1

ε_a^2 : Absortividad Molar de colorante a a longitud de onda 2

ε_b^1 : Absortividad Molar de colorante b a longitud de onda 1

ε_b^2 : Absortividad Molar de colorante b a longitud de onda 2

C_a : Concentración de colorante a

C_b : Concentración de colorante b

Luego del desarrollo matemático de las ecuaciones 6 y 7, se obtuvieron las concentraciones de cada colorante, y sabiendo que cada bebida tiene un volumen aproximado de 0,5 litros, se calcularon los moles presentes, para finalmente obtener los miligramos existentes de colorantes en cada bebida powerade, lo que se puede ver en la [tabla 17](#).

Bebidas	Colorante	Concentración (mol/L)	Moles (mol) en 0,5 L	Miligramos (mg) en 0,5 L
Powerade Rojo	Rojo allura	$6,38 \times 10^{-5}$	$3,19 \times 10^{-5}$	15,84
Powerade Frozen Blast	Azul brillante	$6,96 \times 10^{-6}$	$3,48 \times 10^{-6}$	2,76
Powerade Frozen Blast Zero	Azul brillante	$6,06 \times 10^{-6}$	$3,03 \times 10^{-6}$	2,40
Powerade Lima Limón Zero	Tartrazina	$1,24 \times 10^{-5}$	$6,19 \times 10^{-6}$	3,31
	Azul brillante	$1,04 \times 10^{-7}$	$5,18 \times 10^{-8}$	0,04
Powerade Uva Zero	Rojo allura	$7,70 \times 10^{-6}$	$3,85 \times 10^{-6}$	1,91
	Azul brillante	$2,19 \times 10^{-6}$	$1,09 \times 10^{-6}$	0,87
Powerade Naranja	Tartrazina	$2,28 \times 10^{-5}$	$1,14 \times 10^{-5}$	6,10
	Amarillo ocaso	$8,34 \times 10^{-5}$	$4,17 \times 10^{-5}$	18,86
Powerade Green Punch	Tartrazina	$2,15 \times 10^{-5}$	$1,07 \times 10^{-5}$	5,74
	Azul brillante	$3,57 \times 10^{-6}$	$1,78 \times 10^{-6}$	1,41

Tabla 17: Concentraciones, cantidad de moles, y miligramos presentes de cada colorante en 0,5 L de bebida Powerade.

Tal como se puede suponer a simple vista, comparando con los datos recopilados en el apartado 1.1 - Colorantes alimentarios, ninguno de los colorantes excede las normativas internacionales, ni la norma chilena de alimentos, En la [tabla 18](#) se puede apreciar la cantidad

de bebidas necesarias que se deben consumir, para llegar al máximo admisible de cada colorante (IDA).

Bebidas	Colorante	IDA (mg/kg)	Botellas aproximadas de bebida que debe tomar un niño.*	Botellas aproximadas de bebida que debe tomar un adulto.**
Powerade Rojo	Rojo allura	7	13	31
Powerade Frozen Blast	Azul brillante	3,75	41	95
Powerade Frozen Blast Zero	Azul brillante	3,75	47	109
Powerade Lima Limón Zero	Tartrazina	5	45	106
	Azul brillante	3,75	2812	6562
Powerade Uva Zero	Rojo allura	7	110	257
	Azul brillante	3,75	129	302
Powerade Naranja	Tartrazina	5	25	57
	Amarillo ocaso	3,75	6	14
Powerade Green Punch	Tartrazina	5	26	61
	Azul brillante	3,75	80	186

Tabla 18: Cantidad de bebidas Powerade que se deben consumir para alcanzar la ingesta diaria admisible. *Considerando un niño con masa 30 kg **Considerando un adulto de 70 kg

Se puede observar de la [tabla 18](#), que los casos más cercanos para poder llegar a la IDA de cada colorante son amarillo ocaso y rojo allura, con 6 y 14 botellas respectivamente para niños (de 30 kilos) y 13 y 31 botellas respectivamente para adultos (de 70 kilos), todas cifras bastante fuera de lugar si consideramos a personas con un estilo de vida tradicional. Por otra parte, aquellas bebidas que presentan una cantidad tan baja de colorantes que parece imposible llegar a consumir la IDA son Powerade Lima Limón Zero y Powerade Uva Zero, en ambos casos el colorante en cuestión es azul brillante, que dado su alto poder de tinción, no necesita grandes cantidades de colorante para lograr un color bastante intenso.

Hay que destacar que para aquellas bebidas que posean dos colorantes, existe la posibilidad que estos se potencien y que puedan tener una ingesta diaria menor a la indicada, aunque esta investigación ha quedado pendiente desde que se comenzó a usar colorantes sintéticos hace ya más de 40 años. Por lo demás, muchas de las investigaciones realizadas sobre daños provocados por los colorantes alimentarios, incluyen un diagnóstico no estandarizado, selección de muestras cuestionable, cegamiento imperfecto y medidas de resultado no estandarizadas.[9][29]

Remitiéndose estrictamente a lo visto en esta investigación, es posible asegurar que las cantidades de colorantes presentes en las bebidas powerade de la compañía Coca-Cola no presentan riesgo, bajo los marcos investigativos actuales, aunque considerando la evidencia bibliográfica, se hace necesario cuestionar el uso de colorantes meramente como productos estéticos, sabiendo que los datos recientes sugieren un efecto perjudicial pequeño pero significativo de los colorantes sintéticos en el comportamiento de los niños, que no se limita solo a aquellos con TDAH diagnosticable, sino que también puede afectar al resto de niños independientemente de si tienen TDAH, y como consecuencia, por ejemplo enfocándose en la pedagogía, puede generar un clima en la sala de clases que no propicie el aprendizaje, debido a la caída en la atención, provocada por la ingesta de colorantes alimentarios. Por otra parte, existen reacciones alérgicas (tos, asma, urticaria, etc.) en un pequeño porcentaje de la población sensible a ácidos benzoicos, ácido salicílico y a los silicatos, en ambas situaciones los valores de concentración de colorantes en bebidas, son lo suficientemente altos como para gatillar dichas afecciones y por lo tanto dañar parte de nuestra sociedad, y en tiempos donde la inclusión de cada persona adquiere una mayor significancia, es importante incluir normativas que protejan a cada integrante de la sociedad, tal como desde hace tiempo lo está llevando a cabo la Unión Europea. [29][30]

En cuanto a la técnica seleccionada de cuantificación de colorantes, espectrofotometría UV-Visible, se puede mencionar que es una herramienta eficiente, novedosa y no existen demasiadas investigaciones que la utilicen en este ámbito (colorantes alimentarios), prefiriéndose técnicas convencionales como HPLC, RMN, y Voltamperometría, entre otras. Para estas últimas técnicas mencionadas, generalmente es necesario realizar elaboradas preparaciones de las muestras (alimentos), realizar separaciones previas o disponer de electrodos modificados en el caso de técnicas electroquímicas. Existe evidencia reciente de investigaciones científicas que han cuantificado colorantes alimentarios a través de espectrofotometría UV-Vis, y cuyos resultados no distan de los que se pudieran obtener por otras técnicas de análisis y bajo un costo mucho menor, sin utilizar solventes especiales, columnas, electrodos, etc. Recientemente (2019) una investigación logró cuantificar ácido carmínico a través de espectrofotometría UV-Vis en dulces y validó sus resultados comparándolos con los obtenidos por HPLC, encontrando valores prácticamente iguales a los

obtenidos por HPLC, pero utilizando una técnica más simple, rápida y que no requería tratamiento previo de la muestra; espectrofotometría UV-Visible. [33]

Finalmente como una proyección a investigaciones futuras, existe un caso importante y que sale a la luz sin realizar una investigación demasiado acuciosa, se trata del hecho de que para ninguno de los colorantes en las bebidas powerade (o en cualquier otro alimento con colorantes sintéticos) existe una pureza a nivel de un estándar analítico, es decir, se emplean colorantes de baja calidad (colorantes base) y por lo tanto de bajo costo. Simplemente verificando el precio de cada colorante de la marca Sigma-Aldrich, [ver tabla 19](#), se puede inferir que una bebida que no supera los 1.500 CLP es imposible que pueda tener colorantes de alta pureza en su composición. Los colorantes que emplea la industria alimentaria tienen un valor por kilo que no supera los 15.000 CLP [32]

Como ejemplo, en la presente investigación se ha determinado que la cantidad de colorante rojo allura presente en la bebida roja (en 0,5 L) es de 15,84 mg por lo cual, si esta bebida se fabricara empleando el estándar analítico, solo el costo de colorante sería cercano a 91000 CLP. Por lo cual se puede concluir que en la industria alimentaria se utilizan colorantes que deben presentar baja pureza o que incluso puedan presentar impurezas que sean más peligrosas para la salud humana que los propios colorantes sintéticos.

Colorante	Valor de estándar analítico (CLP)	Masa del estándar (mg)
Tartrazina	38.800	25
Amarillo ocaso	144.000	25
Rojo allura	143.000	25
Azul brillante	69.500	100

Tabla N°19: Valores en CLP de los estándares analíticos utilizados en esta investigación.

Como antecedente adicional, si se compara, la coloración de una solución acuosa del estándar analítico para amarillo ocaso se observa un color naranja, mientras que para el colorante base comercial es más bien rojiza. En la [figura 20](#) se muestran disoluciones acuosas a pH 7,0 de ambos compuestos donde se pueden observar evidentes diferencias en su coloración.

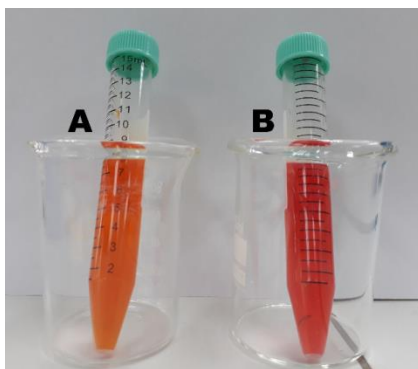


Figura N°20: Disoluciones acuosas aproximadamente 10^{-3} M a pH 7,0 para estándar analítico de amarillo crepúsculo (A) y del colorante base de amarillo crepúsculo (B).

Para corroborar que los colorantes presentan características estructurales distintas, se realizó un barrido espectral tanto al estándar, como al colorante base de amarillo ocaso, ver figura 21, encontrándose en ambos diferencias notables en su perfil espectral, lo que indica que existen diferencias estructurales que provocan que ambos colorantes absorban con diferentes intensidades y presenten distintos máximos de absorción, 507 nm para el colorante base y 481 nm para el estándar analítico.

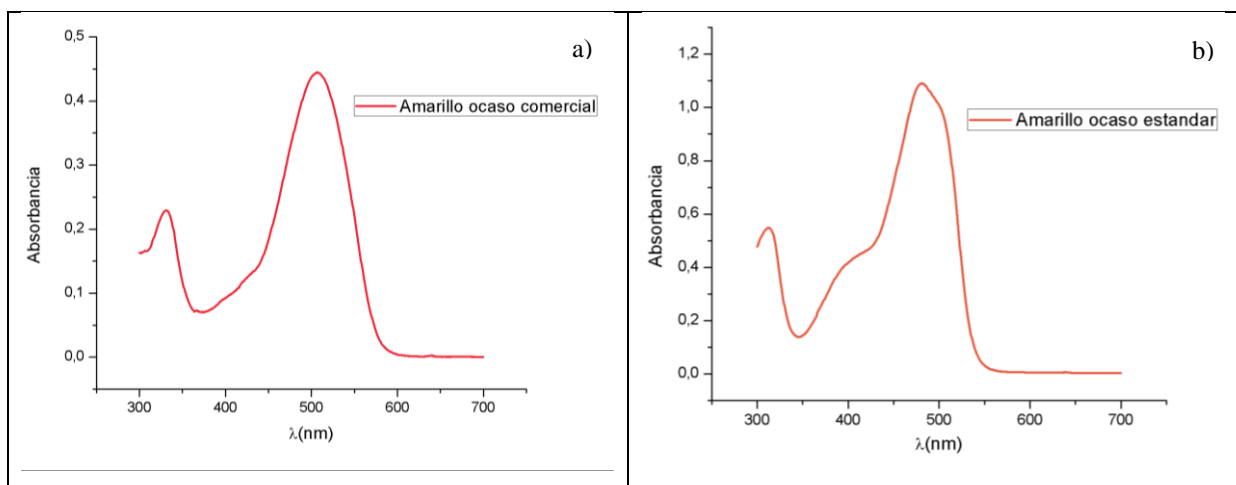


Figura N°21: a) Perfil espectral de amarillo ocaso comercial desde 250 nm hasta 700 nm, b) Perfil espectral del estándar amarillo ocaso desde 250 nm hasta 700 nm.

Producto del análisis de los perfiles espectrales queda claro que existe presencia de un colorante comercial que posee características no analizadas (pureza), es por esto que es de vital importancia para el resguardo de la salud de la población, que se realicen investigaciones que caractericen dichos colorantes comerciales, para identificar posibles riesgos añadidos por la modificación de los colorantes.

4.- Conclusión

A partir de la investigación realizada, se puede concluir los siguientes puntos:

- Utilizando la técnica espectrofotométrica en la región espectral UV-visible se consiguió una determinación sustancial de colorantes alimentarios, que se encontraban dentro de los rangos de ingesta admisibles tanto a nivel nacional como internacional (EE.UU y Europa).
- Se determinó que aquellos colorantes que están presentes en mayor proporción dentro de las bebidas son amarillo ocaso (18,86 mg en 0,5 L) y rojo allura (15,84 mg en 0,5 L), y de estos, quien posee un valor IDA más bajo es amarillo ocaso, por lo tanto es quien representa un mayor peligro.
- En base a las determinaciones realizadas, la bebida isotónica Powerade con mayor cantidad de colorante es el Powerade Naranja, que contiene amarillo ocaso y tartrazina.
- La técnica empleada demostró ser simple, de fácil implementación y económica para compuestos líquidos, sentando bases para investigaciones futuras sobre otros alimentos y/o aditivos que se pudieran cuantificar.

Finalmente, identificar y cuantificar a los colorantes sintéticos presentes en alimentos, es un factor crucial en la salud de las personas. Los fabricantes no están obligados por normativa a indicar la cantidad de estos y otros aditivos. Además la calidad de los colorantes empleados por la industria alimentaria probablemente sea de baja calidad y pueda presentar diversos contaminantes, los cuales naturalmente pueden estar presentes en la formulación de los colorantes debido a su naturaleza sintética.

5.- Bibliografía

- 1.- J. Sancho, E. Bota, J.J. de Cristo, *Introducción al análisis sensorial de los alimentos*, Editorial Universidad de Barcelona, 1999, Balmes 25, Barcelona. Cap. 01, pág. 24
- 2.- A. Gil Hernández, *Tratado de Nutrición*, Composición y Calidad Nutritiva de los Alimentos, 2ª Edición, Editorial Médica panamericana, 2010, Madrid, España, cap. 16, pág. 446.
- 3.- T.P. Coultate, *Food: The Chemistry of its Components*, 4ª Edición, Editorial Royal Society of Chemistry, 2002, Londres, UK, cap. 06, pág. 203.
- 4.- <https://www.fda.gov/ForIndustry/ColorAdditives/ColorAdditiveInventories/ucm115641.htm#table1B>, 20/03/2019 a las 02:30 horas.
- 5.- O. Fennema, *Química de los Alimentos*, 2ª Edición, Editorial Acribia, 2000, Zaragoza, España, cap. 10, págs. 833-835.
- 6.- F. Klages, *Tratado de Química Orgánica*, Editorial Reverté, 2006, Barcelona, España, cap. 06, págs. 708-714.
- 7.- S. Kobylewski, M. Jacobson, *Food Dyes a Rainbow of Risks*, Editorial Center for Science in the Public Interest, 2010, Washington DC, EE. UU., Ottawa, Canadá, pág. 29.
- 8.- S. Badui Dergal, *Química de los Alimentos*, 5ª Edición, Editorial Pearson Educación, 2013, México, cap. 09, págs. 541-543.
- 9.- S. Kobylewski, M. Jacobson, *Food Dyes a Rainbow of Risks*, Editorial Center for Science in the Public Interest, 2010, Washington DC, EE. UU., Ottawa, Canadá, pág. 33.
- 10.- S. Kobylewski, M. Jacobson, *Food Dyes a Rainbow of Risks*, Editorial Center for Science in the Public Interest, 2010, Washington DC, EE. UU., Ottawa, Canadá, pág. 38.
- 11.- S. Kobylewski, M. Jacobson, *Food Dyes a Rainbow of Risks*, Editorial Center for Science in the Public Interest, 2010, Washington DC, EE. UU., Ottawa, Canadá, pág. 09.

- 12.- T.P. Coultate, *Food: The Chemistry of its Components*, 4ª Edición, Editorial Royal Society of Chemistry, 2002, Londres, UK, cap. 06, págs. 209-211.
- 13.- <https://www.eii.uva.es/organica/qoi/tema-11.php>, visitado el 20/05/2019 a las 01:00 horas.
- 14.- L. Hernández, C. González, *Introducción al análisis Instrumental*, 1ª Edición, Editorial Ariel S.A., 2002, Barcelona, España, cap. 03, págs. 54-57.
- 15.- D. Harris, *Análisis químico cuantitativo*, 3ª Edición, Editorial Reverté, 2003, Barcelona, España, cap. 18, págs. 408-413.
- 16.- D. Skoog, D. West, F. Holler, S. Crouch, *Fundamentos de Química Analítica*, 8ª Edición, Editorial Thomson, 2005, D.F., México, cap. 24, págs. 727-729.
- 17.- D. Skoog, F. Holler, S. Crouch, *Principios de Análisis Instrumental*, 6ª Edición, Editorial Cengage Learning, 2008, D.F., México, cap. 13, págs. 336-348.
- 18.- J. Torres-Martinez, *El Cantábrico en la Edad del Hierro*, Editorial Real Academia de la Historia, 2011, Madrid, España, pág. 155.
- 19.- <http://www.fao.org/3/y7867s/y7867s03.htm>, visitado el 20/05/2019 a las 01:00 horas.
- 20.- <https://www.fda.gov/about-fda/fda-basics/when-and-why-was-fda-formed>, visitado 20/05/2019 a las 01:00 horas.
- 21.- <http://www.info-farmacia.com/historia/talidomida-la-historia-de-un-medicamento-maldito>, visitado 20/05/2019 a las 01:00 horas.
- 22.- <https://www.minsal.cl/reglamento-sanitario-de-los-alimentos/>, visitado 20/05/2019 a las 01:00 horas.
- 23.- República de Chile, *Reglamento Sanitario de los Alimentos*, Cap. 3, pags. 59-60.
- 24.- S. Kobylewski, M. Jacobson, *Food Dyes a Rainbow of Risks*, Editorial Center for Science in the Public Interest, 2010, Washington DC, EE. UU., Ottawa, Canadá, págs. v-vi.

- 25.- I. Elmadfa, E. Muskat, D. Fritzsche, *Tabla de Aditivos – Los Números E*, Editorial Hispano Europea, 2011, pág. 12.
- 26.- J. Quintero, J. Rodríguez-Quirós, J. Correas-Lauffer, J. Pérez-Templado, *Aspectos nutricionales en el trastorno por déficit de atención/hiperactividad*, Revista de Neurología, Vol. 49, 2009, págs. 307-312.
- 27.- R. Kanarek, *Artificial food dyes and attention deficit hyperactivity disorder*, Nutrition Reviews, 2012, Vol. 69, págs. 385-391.
- 28.- <https://www.boe.es/doue/2008/354/L00016-00033.pdf>, visitado 20/05/2019 a las 01:00 horas.
- 29.- L. Arnold, N. Lofthouse, E. Hurt, *Artificial Food Colors and Attention-Deficit/Hyperactivity*, Revista Neurotherapeutics, 2012, págs. 599-609.
- 30.- <https://katakarak.net/cas/lib/veneno-en-su-plato-usos-y-riesgos-de-los>, visitado 10/03/2019 a las 22:00 horas.
- 31.- http://www.fao.org/3/a0691e/Total_colouring_matters_volume%204.pdf, visitado el 20/05/2019 a las 01:00 horas.
- 32.- <https://www.sigmaaldrich.com/chile.html>, visitado el 20/05/2019 a las 01:00 horas.
- 33.- C. Garrido, E. Clavijo, S. Copaja, J. Gómez-Jeria, M. Campos-Vallette, *Vibrational and electronic spectroscopic detection and quantification of carminic acid in candies*, Food Chemistry, 2019, Vol. 283, págs. 164-169.