



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE
HIDALGO**

INSTITUTO DE CIENCIAS BÁSICAS E INGENIERÍA

ÁREA ACADÉMICA DE QUÍMICA

**APLICACIÓN DE CARBÓN ACTIVADO MODIFICADO CON
MAGNETITA EN LA DETERMINACIÓN ESPECTROFOTOMÉTRICA
DE TARTRAZINA**

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:
LICENCIADA EN QUÍMICA

P R E S E N T A

KAREN ANGÉLICA ESCAMILLA LARA

DIRECTORES DE TESIS:
DR. JOSÉ ANTONIO RODRÍGUEZ ÁVILA
DRA. MARÍA ELENA PÁEZ HERNÁNDEZ

MINERAL DE LA REFORMA, HGO.

JULIO 2014



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO
INSTITUTO DE CIENCIAS BÁSICAS E INGENIERÍA
Licenciatura en Química

M. en A. JULIO CESAR LEINES MEDÉCIGO,
DIRECTOR DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR
DE LA U.A.E.H.,
Presente:

Por este medio se comunica que el Jurado asignado a la pasante de Licenciatura en Química, **Karen Angélica Escamilla Lara** quien presenta el trabajo de titulación **"Aplicación de carbón activado con magnetita en la determinación espectrofotométrica de tartrazina"** después de revisar el trabajo en reunión de Sinodales ha decidido autorizar la impresión del mismo, hechas las correcciones que fueron acordadas.

A continuación firman de conformidad los integrantes del Jurado:

PRESIDENTE:	Dr. José Antonio Rodríguez Ávila
PRIMER VOCAL:	Dra. Ma. Elona Páez Hernández
SEGUNDO VOCAL:	Dr. Alfredo Guevara Lara
TERCER VOCAL:	Dra. Gloria Sánchez Cabrera
SECRETARIO:	Dr. Joseantonio Godoy Reyes
PRIMER SUPLENTE:	Dr. Gian Arturo Álvarez Romero
SEGUNDO SUPLENTE:	Dra. Silvia Nieto Veázquez

Sin otro particular reitero a usted la seguridad de mi atenta consideración.

ATENTAMENTE
"Amor, Orden y Progreso"
Minera de la Reforma, Hidalgo a 23 de junio de 2014.

Dra. Susana Rojas Lima
Coordinadora Adjunta de la Lic. en Química

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA
DE HIDALGO



CENTRO DE INVESTIGACIONES
QUÍMICAS



Instituto de Ciencias Básicas e Ingeniería,
Carretera Aduana - Tulancingo Km. 4.5, Ciudad de Conocimiento,
Colonia Adolfo López Mateos, Mineral de la Reforma,
Tulancingo, Hidalgo, C.P. 42184
Tel: +52 771 717200 ext. 2218
quimica@cei.uahidg.edu.mx



Agradecimientos

Al hacer un recuento del tiempo y las personas involucradas en el presente trabajo me doy cuenta que he sido muy afortunada de contar con ellas, por ello me permito expresar mi agradecimiento a cada una de ellas mediante estas líneas.

En primer lugar doy gracias a Dios por tomarme de su mano y guiarme por un buen camino, por darme la fuerza para seguir adelante y concluir este objetivo.

El presente trabajo se lo dedico a mis padres Eloísa y Luis porque gracias a su educación y cariño han forjado en mí un carácter de superación constante, porque si algo aprendí de ellos es que el éxito y la felicidad se consigue con esfuerzo y dedicación. Gracias por brindarme su apoyo y confianza incondicional en cada paso que doy. A mi hermana Wendy quien siempre tuvo un abrazo y una palabra de aliento en momentos difíciles.

A esa persona que ni un segundo ha dudado de mi capacidad, quien jamás se ha limitado para brindarme su apoyo en todos los aspectos, Jafet Gómez, uno de los pilares más importantes en mi vida, quien gracias a su dedicación y entrega, pero sobre todo paciencia se ha ganado mi confianza y mi amor por siempre, mi compañero de vida, mi mejor amigo, el amor de mi vida.

De manera muy especial agradezco a mis asesores; Dra. Ma. Elena Páez, quien ha sido un ejemplo para mi vida, por haber confiado en mí y permitirme trabajar a su lado, por todos sus conocimientos transmitidos y cada momento compartido. Al Dr. José Antonio Rodríguez, quien ha sido mi maestro tanto en la vida profesional como personal, agradezco su tiempo y comprensión durante esta etapa, pero sobre todo las lecciones que han de forjar mi carácter en un futuro, gracias por su amistad.

A mis sinodales: Dr. Giaan, quien más que un colega es un gran amigo, por cada recuerdo que me llevo en el corazón, por cada consejo, gracias. Dra. Gloria Sánchez; Dra. Sílvia Nieto; Dr. Antonio Godoy; Dr. Alfredo Guevara, por su tiempo dedicado al presente trabajo, por su apoyo y conocimientos transmitidos a lo largo de la carrera.

Gracias también a mis compañeros del laboratorio por su apoyo y cariño, porque me extendieron su mano en el momento que fue necesario, por cada palabra de aliento y cada sonrisa; Yu, Lupita, Gaby, Irmita, Iris, Evelyn, Nancy, Miriam y Sergio gracias por su amistad.

A mi amigo Juan Carlos, por su apoyo a lo largo de toda esta etapa, porque siempre estuvo hombro con hombro sin importar el tiempo ni el espacio, por sus charlas tan acertadas, por su comprensión y tolerancia, por su valiosa amistad. A Jennifer, por su cariño y

apoyo, por su comprensión y cada momento inolvidable, por su inigualable amistad.

A todas aquellas personas que de alguna manera colaboraron en el presente trabajo hago llegar mis sinceros agradecimientos

Índice

Lista de abreviaturas.....	i
Índice de Figuras.....	ii
Índice de Tablas.....	iii
Resumen.....	iv
I. ANTECEDENTES.....	2
I.1 Colorantes	2
I.2 Clasificación de colorantes	3
I.2.1 De acuerdo a su origen	4
I.2.2 De acuerdo a su estructura química.....	5
I.3 Tartrazina.....	8
I.4 Análisis de colorantes en alimentos.....	10
I.4.1 Tratamiento de muestras	10
I.4.1.1 Características de la MSPE..	12
I.4.2 Métodos de análisis.....	13
I.4.2.1 Cromatografía.....	13
I.4.2.2 Electroforesis capilar	14
I.4.2.3 Electroquímica.....	15
I.4.2.4 Espectroscopia UV-Vis.....	15
II.1 Objetivo general.....	18
II.2 Objetivos específicos	18
III. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL	20
III.1 Reactivos, disoluciones y equipos	20
III.2 Síntesis de carbón activado modificado con magnetita	21

III.3 Retención de tartrazina.....	22
III.4 Análisis de muestras.....	23
III.5 Método de referencia.....	24
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	26
IV.1 Caracterización del carbón modificado con magnetita	26
IV.1.1 Estudios de retención	26
IV.1.2 Caracterización estructural	29
IV.1.3 Optimización del sistema de MSPE	32
IV.1.4 Parámetros analíticos	35
IV.1.5 Análisis de muestras.....	37
V. CONCLUSIONES	40
VI. BIBLIOGRAFÍA	43

Lista de abreviaturas

C_E	Concentración de eluyente (M)
% DER	Porcentaje de desviación estándar relativo
FDA	Administración de Alimentos y Medicamentos (por sus siglas en inglés)
FD&C	Ley Federal de Alimentos, Medicamentos y Cosméticos (FDCA) (por sus siglas en inglés)
g	Gramo
HPLC	Cromatografía de líquidos de alta resolución (por sus siglas en inglés)
IDA	Ingesta Diaria Admisible
Kg	Kilogramo
Kv	Kilovolts
L	Litro
LOD	Límite de Detección (por sus siglas en inglés)
M	Molar
m	Masa
m^2	Metro cuadrado
mA	Mili Ampere
m_c	Masa de carbón
mg	Miligramos
mL	Mililitros
mm	Milímetro
μ M	Micro Molar
mmol	Milimol
μ mol	Micromol
M Ω	Mega ohm
MSPE	Extracción en Fase Sólida Magnética (por sus siglas en inglés)
nm	Nanómetro
p:p	Relación peso:peso
SEM	Microscopio electrónico de barrido (por sus siglas en inglés)
U.A.	Unidades de absorbancia
UV-vis	Ultravioleta visible
V	Volumen
V_E	Volumen de eluyente
V_m	Volumen de muestra

Índice de figuras

Figura 1. Estructura química de algunos colorantes representativos.	6
Figura 2. Estructura química de la Tartrazina.....	9
Figura 3. Experimento de retención. De izquierda a derecha: Disolución de tartrazina, Mezcla de tartrazina con el soporte magnético, Separación del soporte magnético.....	22
Figura 4. Isotermas de adsorción de tartrazina sobre carbón magnético (a) 1:1 y (b) 1:2, a valores de pH: (◆) 5.0, (▲) 7.0 y (□) 9.0.....	27
Figura 5. Diagrama lineal de zonas de predominio para magnetita.....	28
Figura 6. Difractograma: (a) carbón activado, (b) carbón 1:1 y (c) carbón 1:2.	30
Figura 7. Micrografía del sólido: (a) carbón activado, (b) soporte 1:1 y (c) soporte 1:2	31
Figura 8. Espectros de energía dispersiva obtenidos del análisis del sólido 1:1 de la Figura 7b. (a) zona A y (b) zona B.....	32
Figura 9. Efecto de los factores control en la recuperación de tartrazina. V_M , volumen de muestra; V_E , volumen de eluyente; m_c , masa de carbón magnético; y C_E , concentración de NaOH en el eluyente.....	35
Figura 10. Espectros UV-Vis de una muestra de bebida no alcohólica: (a) inicial y (b) tratada mediante MSPE	37
Figura 11. Cromatograma: (A) Solución estándar de tartrazina 20 mgL^{-1} y (B) Bebida comercial sabor naranja.	38

Índice de tablas

Tabla 1. Número de patentes relacionadas con procedimientos de obtención de colorantes y de sus aplicaciones.....	3
Tabla 2. Colorantes permitidos por la FDA	5
Tabla 3. Composición química de muestras estudiadas.....	23
Tabla 4. Cantidad máxima adsorbida de tartrazina sobre los adsorbentes (mmol kg ⁻¹) a diferentes valores de pH.	27
Tabla 5. Constantes de disociación tartrazina-sólido.....	29
Tabla 6. Resultados de la evaluación de diferentes eluyentes.	33
Tabla 7. Matriz de diseño obtenida durante la optimización del sistema de MSPE	34
Tabla 8. Parámetros de regresión de la línea de calibrado, señal (U.A.) vs concentración de tartrazina (mg L ⁻¹).....	36
Tabla 9. Contenido de tartrazina (media y %DER, n=3) en muestras reales determinado por el método de análisis propuesto y su comparación con HPLC. Unidades de concentración, mg L ⁻¹	38

Resumen

El color de un alimento es una propiedad que condiciona la evaluación y aceptación del mismo y contribuye notablemente al primer juicio que formamos acerca de ellos. La propia naturaleza acostumbra a relacionar el color de los alimentos con su grado de frescura, su estado de maduración o incluso su calidad higiénico-sanitaria; de esta manera el color influye en la elección de los alimentos.

Los colorantes se han utilizado desde hace cientos de años, aunque en la últimas décadas su incorporación en un sinnúmero de productos ha resultado en una práctica común con la finalidad de mejorar su apariencia y volverlos más atractivos; sin embargo esta actividad ha llegado a los excesos provocando efectos nocivos en la salud de los humanos a causa de la toxicidad conferida por algunos compuestos presentes en los colorantes o bien, por las altas concentraciones que pueden alcanzar en algunos productos.

Un ejemplo de lo mencionado anteriormente es la tartrazina, un colorante de origen sintético ampliamente utilizado en la industria alimenticia, la cual es soluble en agua y estable en medios ácidos como el cítrico, málico y tartárico. Su uso está regulado por la Norma Oficial Mexicana NOM-218-SSA1-2011 que permite una cantidad máxima de 100 mg L⁻¹ en bebidas comerciales, por lo que para su determinación se requiere de un proceso de separación previo a fin de evitar las interferencias de otros componentes presentes en alimentos y bebidas.

Actualmente se recurre a técnicas como la cromatografía de líquidos para la determinación y cuantificación de colorantes azoicos en bebidas, sin embargo; los elevados costos y tiempos de análisis representan un problema para la industria de los alimentos. En la búsqueda de soluciones a esta problemática se propone la combinación de la extracción en fase sólida magnética (MSPE) y espectroscopia UV-Vis como una alternativa más accesible e innovadora. La característica más sobresaliente de la MSPE es el fácil aislamiento de los adsorbentes magnéticos de la muestra mediante la aplicación de un campo magnético externo, minimizando el

tiempo y costos de análisis. Así mismo, la MSPE proporciona una selectiva separación de compuestos orgánicos como lo son los colorantes azoicos.

Por lo anterior, en el presente trabajo se propone la extracción de tartrazina de bebidas no alcohólicas mediante carbón activado modificado con magnetita en MSPE, utilizándose la espectrofotometría UV-vis para su determinación y cuantificación. Los resultados obtenidos permiten concluir que la MSPE es una técnica adecuada de limpieza de muestras con la que es posible desarrollar métodos de análisis económicos y robustos para la determinación de tartrazina.

ANTECEDENTES

I. ANTECEDENTES

I.1 Colorantes

Los colorantes son un grupo de aditivos que se emplean para mejorar la apariencia de los alimentos, textiles y medicamento, afirmando y homogenizando su color. El ser humano es una criatura visual y por lo tanto la primera impresión de un alimento estará dada por su aspecto (Cubero N. et al., 2002).

El color es por excelencia la característica sensorial más importante, un ejemplo de ello es la adición de cúrcuma (*Curcuma tinctoria*) para proporcionar color amarillo al aceite, y el uso de cal con la finalidad de colorear de blanco el pan en la época medieval (Doerner, 2005). En la producción de vino tinto, su color característico es producto de la extracción de antocianos cuando se realiza la maceración. Además de los colorantes de origen natural mencionados anteriormente, los hay de tipo sintético y semi-sintético (Garibay et al., 2004). La búsqueda de colorantes de origen sintético se debe a la inestabilidad de los colorantes naturales a los cambios en la temperatura o acidez. Tomando como base que un colorante contiene en su estructura química grupos cromóforos, se sintetizaron una amplia gama de compuestos. En 1856 William Henry Perkin en su intento de sintetizar quinina produce el primer colorante sintético, la mauveína (pigmento púrpura), de tal forma que en los últimos 130 años se han producido miles de estos compuestos conduciendo a una producción industrial de 700,000 toneladas de los mismos (Lock Sing de Ugaz, 1997). La importancia de los colorantes se ve reflejada en el número de patentes registradas a este respecto, las cuales están concentradas en la Tabla 1.

Tabla 1. Número de patentes relacionadas con procedimientos de obtención de colorantes y de sus aplicaciones (Lock Sing de Ugaz, 1997).

	Periodo		Total
	1969-1978	1979-1984	
Obtención de colorantes	210	217	427
Aplicaciones de los colorantes	134	136	270
Total	344	353	697

Diversos estudios realizados demuestran que algunos compuestos usados como colorantes pueden ser tóxicos al ser humano. Estas investigaciones han provocado la prohibición de algunas sustancias, siendo las primeras de ellas compuestos que contienen cobre, plomo y arsénico, y que son utilizados para colorear fraudulentamente los alimentos (Ramos & Márquez, 2002).

En 1906 los trabajos de Hesse y Wiley llevaron a la aprobación de la “Ley de alimentos y medicamentos puros” en Estados Unidos, la cual prohibió la venta de alimentos y medicamentos con etiquetados engañosos y adulterados. En 1938 esta ley se recrudece y se promulga la Ley Federal de Alimentos, Medicamentos y Cosméticos, misma que regula el uso de aditivos en productos de consumo humano. Con la creación de la Agencia de Drogas y Alimentos (FDA) fue posible realizar estudios con los cuales se confirmó la posible influencia de algunos colorantes sintéticos en el desarrollo de enfermedades como el cáncer, prohibiendo así el uso de los colorantes Rojo 3 y Rojo 40 en productos de confitería y algunos subproductos cárnicos (Hernández Machado, 2005).

I.2 Clasificación de colorantes

Este grupo de aditivos comprende un sin número de compuestos, por lo cual es importante clasificarlos de forma sistemática de acuerdo a sus características y propiedades químicas.

1.2.1 De acuerdo a su origen

La clasificación más conocida es por su origen, dividiéndose en naturales, sintéticos y semisintéticos (Cubero et al., 2002).

Los colorantes naturales son reconocidos generalmente como seguros, y como su nombre lo indica están presentes en la naturaleza y es posible extraerlos mediante distintos procesos físicoquímicos. A su vez los colorantes naturales pueden ser de origen animal, vegetal y mineral. Como ejemplo se tienen los pigmentos chalcónicos extraídos de la flor de cártamo (cartamina rojo, y amarillos A y B), o el caroteno, proveniente de la zanahoria. A pesar de su procedencia natural es necesario realizar estudios toxicológicos pertinentes a fin de evaluar la inocuidad de estos colorantes y poder determinar la ingesta diaria admisible (IDA) (Aubaile et al., 1998).

Algunas de las características que distinguen a los colorantes naturales son: un poder de tinción menor al de los colorantes sintéticos, posibilidad de modificar aroma y sabor en los alimentos, poca uniformidad de tinción, susceptibilidad a la degradación por poseer una menor estabilidad frente a variaciones de pH, temperatura, humedad, etc. En contraparte, los colorantes sintéticos son obtenidos mediante síntesis química, obteniendo moléculas nuevas o duplicando moléculas existentes en la naturaleza. Los colorantes sintéticos permiten obtener toda la gama de colores; por ejemplo, la tartrazina, el rojo allura y el negro brillante, cuentan con un alto grado de pureza y son resistentes a cambios de temperatura y pH, lo que los convierte en los más utilizados en la industria de los alimentos. Sin embargo presentan una gran desventaja frente a los colorantes naturales, al poseer un mercado limitado de acuerdo a la legislación de cada país debido a los efectos secundarios que pudieran causar en la salud (Contento Salcedo, 1997).

Los colorantes semisintéticos pertenecen a la familia de los colorantes sintetizados sin embargo, su estructura molecular es semejante a la de algún colorante que se

encuentra en la naturaleza, lo que evita los efectos nocivos que causan algunos colorantes sintéticos. Ejemplo de ellos son la curcumina (E100), riboflavina (E101), orcilla (E121) y los carotenoides (E160) (García Garibay & Quintero Ramírez, 1993).

Para poder certificar su uso, es necesario someter una muestra del colorante a diferentes pruebas establecidas por la FDA. La FDA clasifica a los colorantes de la siguiente manera: colores adecuados para alimentos, fármacos y cosméticos (FD&C), colores adecuados para los medicamentos y cosméticos (D&C), y colores adecuados para medicamentos y cosméticos externos (Ext.D&C) (Astiasarán Anchía et al., 2003). La Tabla 2 muestra algunos colorantes permitidos para su uso como aditivos en alimentos en Estados Unidos de 1907-1938 (Branen et al. 2001).

Tabla 2.- Colorantes permitidos por la FDA.

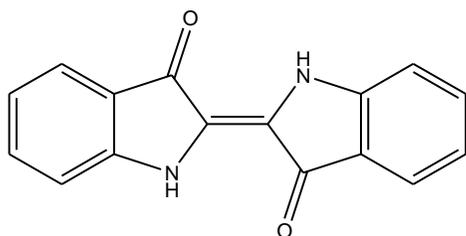
Nombre común	Nomenclatura por la FDA 1938	Clasificación química
Tartrazina	FD&C amarillo No. 5	Azoico
Sudan I	FD&C Amarillo No.14	Azoico
Amarillo mantequilla	FD&C Amarillo No. 2	Azoico
Amarillo AB	FD&C Amarillo No. 3	Azoico
Amarillo OB	FD&C Amarillo No. 4	Azoico
Verde Guinea B	FD&C Verde No. 1	Trifenilmetano
Verde sólido FCF	FD&C Verde No. 3	Trifenilmetano
Azul brillante FCF	FD&C Azul No. 1	Trifenilmetano
Ponceau SX	FD&C Rojo No. 4	Azoico
Amarillo ocaso FCF	FD&C Amarillo No. 6	Azoico

1.2.2 De acuerdo a su estructura química

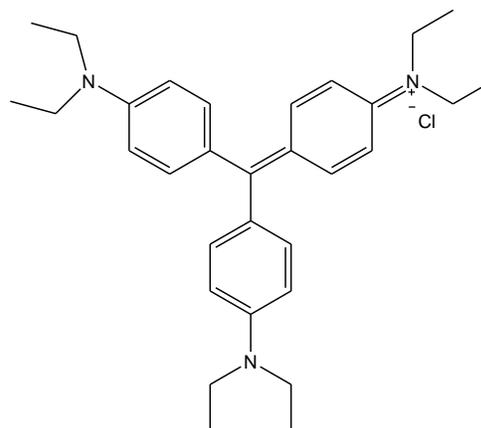
Los colorantes también pueden clasificarse de acuerdo a su estructura química. Las principales categorías son las siguientes (Vincent Vela et al., 2006):

-Indigoides: Este tipo de colorantes se obtenían de la planta índigo; en la actualidad la mayor parte de la producción de estos colorantes es mediante síntesis química con la cual se obtienen con un alto grado de pureza. Su

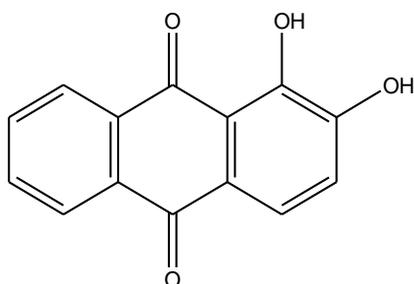
estructura química se caracteriza por poseer anillos aromáticos y un enlace doble entre dos anillos de cinco miembros como se muestra la Figura 1a. Los electrones de este enlace son los responsables de la coloración de este compuesto (Macy & D., 2005).



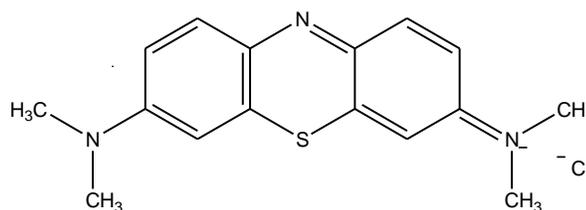
(a) Azul de índigo en su forma insoluble.



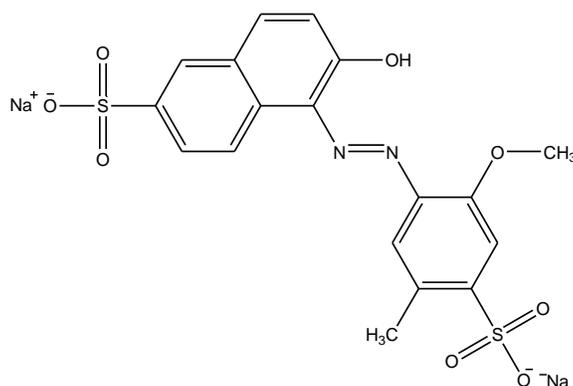
(b) Verde de Malaquita



(c) Alizarina



(d) Azul de metileno



(e) Rojo Allura

Figura 1. Estructura química de algunos colorantes representativos.

-Difenil y trifenilmetano: Estos poseen colores fuertes y brillantes debido a una amplia deslocalización de los electrones π dentro de su estructura química (Figura 1b). Sin embargo, cuentan con el inconveniente de ser fotosensibles y no resistir el uso de tensoactivos y lejías. Son pigmentos que se utilizan principalmente para teñir lana, seda o algodón. El fucsia, rosa y violeta de metilo pertenecen a este grupo de colorantes (Bautista Suárez, 2011).

-Antraquinoícos: La alizarina es el compuesto más representativo de este grupo, en la Figura 1c se puede observar la estructura química, Esta es un pigmento conocido desde la civilización egipcia y persa. Dentro de la estructura química cuenta con grupos auxóchromos, y es el fragmento *p*-quinoide en donde tiene lugar la deslocalización de los electrones π del grupo carbonilo y de los anillos conjugados, mismos que promueven la absorción de energía (Linstromberg, 1979).

-Indaminicos y azínicos: Son derivados de feniliminoquinona; el núcleo de la estructura también conocido como fenazina es el fragmento más importante. La fenazina no presenta color, sin embargo, cuando se introduce un grupo auxóchromo en su estructura química, se generan cromóforos. El azul de metileno es uno de los ejemplos más representativos (Figura 1d). En su estructura se puede apreciar la abundancia de electrones π , los cuales son responsables de la absorción de energía UV-Vis, y lo cual da la coloración característica a estas moléculas (Alatorre Acosta, 2007).

-Azoicos: La mayoría de los colorantes comerciales pertenecen a este grupo, destacando el rojo allura (Figura 1e) y la tartrazina. La característica principal de estos compuestos es que en su estructura química se encuentra un grupo azo (-N=N-) que por sí solo no absorbe ninguna luz; sin embargo, la presencia de grupos aromáticos permite la conjugación de los electrones, lo que permite obtener compuestos con alta estabilidad a los cambios de temperatura y pH.

Este último grupo de colorantes es de los más sintetizados en la actualidad, representando un 31.5% de las ventas mundiales, siendo los amarillos 5 y 6 los más producidos. Su importancia radica en su elevada estabilidad aunada al elevado coeficiente de absorción molar, que lo hace idóneo para su uso a bajas concentraciones. En contraparte se cree que estos compuestos provocan cáncer, suposición que llevó a la prohibición de los colorantes azoicos con fines alimenticios. Sin embargo, después de largos estudios se demostró la inocuidad de algunos de ellos permitiendo nuevamente utilizar algunos colorantes en alimentos, como la tartrazina (Elmadfa et al., 2011).

I.3 Tartrazina

La tartrazina (Figura 2), también conocida como el colorante Amarillo 5 o E 102, es uno de los colorantes azoicos más empleados actualmente en la industria de los alimentos. Es considerado un colorante de origen sintético, soluble en agua (14mg/100mL), que se encuentra en forma sólida a temperatura ambiente como un polvo naranja y presentando una coloración amarilla en soluciones acuosas. Químicamente es la sal trisódica del (ácido 4,5 dihidro-5-oxo-1-(4 sulfofenil)-4-(4 sulfofenil) azol) 1H-pirazol-3-carboxílico), estable en medios ácidos como el cítrico, málico y tartárico, y en medios básicos como el bicarbonato, carbonato de sodio e hidróxido de amonio, aunque en hidróxido de sodio presenta una decoloración. Cuenta con una vida de anaquel de 4 años a una temperatura entre 15 y 25 °C.

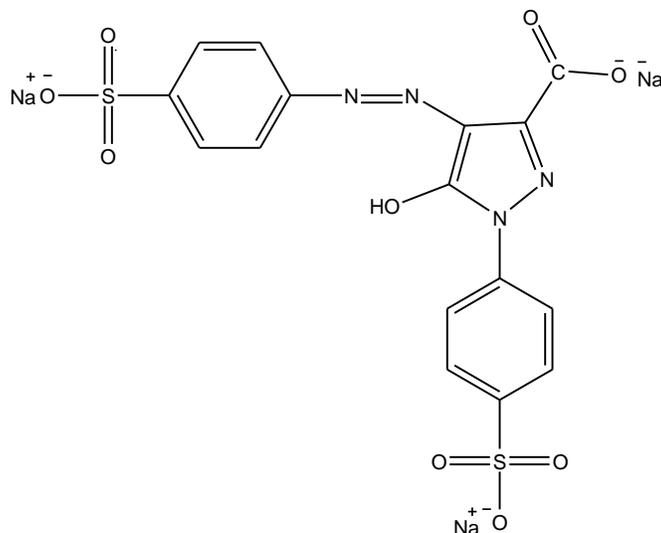


Figura 2. Estructura química de la Tartrazina.

La tartrazina ha sido empleada tradicionalmente para conferir el color amarillo a los alimentos. Sus aplicaciones generalmente comprenden la repostería, productos de panificación, botanas, bebidas, producción de galletas, cárnicos, helados y caramelos entre otros (Baui Dergal et al. 2006).

De todos los colorantes, la tartrazina ha captado especial atención debido a sus posibles efectos alérgicos (asma y eczemas) y de hiperactividad, incluso aumento en el trastorno por déficit de atención (Rastrepo Gallego et al., 2006). Por ello fue evaluada en la década de los 60's por el Comité de Expertos en Aditivos Alimentarios de FAO/OMS, el cual estableció una Ingesta Diaria Admisible (IDA) de 7.5 mg/kg de peso corporal por día. Más aún, a partir del 2010 los alimentos que contengan tartrazina deberán llevar la advertencia "puede alterar la actividad y la atención en niños". En México, este colorante, está regulado de acuerdo a la Norma Oficial Mexicana NOM-218-SSA1-2011 la cual permite 100 mg/L como cantidad máxima de tartrazina en bebidas comerciales (NOM, 2012).

I.4 Análisis de colorantes en alimentos

La metodología para la identificación y determinación de un colorante comprende varias etapas: la preparación de la muestra, la identificación y finalmente su cuantificación. La elección del método a utilizar depende del tipo de alimento tomando en cuenta características como el contenido de grasa, proteínas y carbohidratos, las propiedades ácido-base del analito y las interferencias presentes en la matriz analítica (Vidotti et al., 2006).

I.4.1 Tratamiento de muestras

El tratamiento de la muestra y la separación de colorantes de la matriz analítica están relacionados directamente con la técnica de cuantificación a utilizar. Así, de manera general, cuando se utiliza cromatografía de líquidos, electroforesis capilar y técnicas electroquímicas, se requiere de un tratamiento sencillo de la muestra, generalmente la dilución y una posterior filtración. Esta ventaja se relaciona con la capacidad de separación y especificidad de estos métodos instrumentales. A pesar de que no es necesario un pre tratamiento de la muestra, estos métodos instrumentales presentan ciertas desventajas como por ejemplo un elevado costo de análisis (equipo y reactivos) y baja velocidad de análisis (2-4 muestras por hora) (Huang et al., 2002; Yoshioka & Ichihashi, 2008).

Por el contrario, si la cuantificación de los colorantes se realiza por técnicas económicas, rápidas y sencillas como las espectrofotométricas, debe considerarse que la presencia de conservadores (benzoato o citrato de sodio) y proteínas, interferirán de forma importante en la determinación, por lo cual es indispensable realizar el aislamiento del colorante de la muestra (Garibay et al., 2004). Este proceso requiere el uso de diferentes materiales que permiten la extracción del analito, como las que a continuación se describen.

Las primeras extracciones de colorantes naturales se realizaban empleando lana o poliamida. En una primera etapa se ponía en contacto la fase sólida con la muestra; posteriormente, para extraer el colorante de la lana se colocaba en

contacto con metanol acidificado o basificado para separar los colorantes básicos y ácidos, respectivamente (Contento Salcedo, 1997).

Otras estrategias de separación han sido igualmente evaluadas en la extracción de estas moléculas; así, se ha usado la técnica de intercambio aniónico, donde los colorantes ácidos son retenidos por los grupos sulfónicos presentes en la estructura (Varcárcel Cases & Gómez Hens, 1988); asimismo se ha empleado la extracción líquido-líquido (*n*-butanol-agua) basada en la formación de pares iónicos con sales de octadeciltrimetil amonio (Lau et al., 2007).

Para la retención de colorantes azoicos en matrices acuosas se ha descrito también el uso de la extracción en fase sólida, utilizando como fase extractante zeolita y sílice C18. La fase sólida se activa con metanol ó dietilamina. Posteriormente se hace pasar agua desionizada seguida de la muestra a través del cartucho de la fase sólida. El colorante retenido se eluye de la fase sólida con soluciones de metanol. Las fracciones eluidas se analizan mediante alguna técnica instrumental como la espectrofotometría UV/Vis o HPLC (Al-Degsa et al., 2008; Sxahin et al., 2007).

Por otra parte, se ha propuesto el uso de carbón activado y óxidos de hierro como adsorbentes de colorantes, debido a que cuentan con una excelente área superficial y una estructura de poros bien definida que favorece la retención de los analitos deseados (Xin-hui et al., 2013). Las propiedades texturales y químicas de estos materiales, permiten la retención de una amplia gama de compuestos ya que cuentan con una superficie de carácter no-polar que permite la interacción con fracciones no-polares contenidas en la estructura de los analitos (Rodríguez-Estupinan & Giraldoa, 2013). Es por ello que cuenta con una alta capacidad de adsorción de iones metálicos que resultan tóxicos para la salud (Zeng et al., 2013), a la vez que puede decolorar jarabes de azúcar de caña, dextrosa, fructosa y otros productos alimenticios, purificar ácidos orgánicos y aminoácidos de procesos de

fermentación, eliminar cloro y ozono en las industrias que utilizan el agua para elaborar cerveza, refrescos y otros alimentos (Rodríguez Vidal, 2003).

Dentro de las características fisicoquímicas a destacar del carbón activado se pueden mencionar las siguientes: posee una estructura microcristalina laminar formada por capas paralelas de anillos regulares de 6 átomos de carbono (éstos hexágonos son los responsables de la porosidad del mismo), comercialmente presenta un volumen de poro superior a 0.2 mL g^{-1} y un diámetro de poro que oscila entre 0.3 y algunos cientos de nanómetros. La capacidad adsorbente del carbón depende del área superficial interna que generalmente se encuentra entre 500 y $1500 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$ (Deiana et al., 1998). Químicamente el carbón activado se compone además de carbón, de una pequeña porción de minerales, hidrógeno y oxígeno que se enlazan para formar grupos funcionales como carbonilo y fenol, confiriendo un carácter ácido-base al carbón en función de la abundancia de estos grupos (Rodríguez Vidal, 2003).

A pesar de su versatilidad, el carbón activado tiene el inconveniente de ser difícil de separar de la matriz acuosa donde fue dispersado, lo que hace complicado su uso en la extracción en fase sólida dispersiva. Debido a ello, y con la finalidad de facilitar la separación del soporte de extracción de la fase líquida, Safarikova y colaboradores (Safarikova & Safarik, 1999) proponen la extracción en fase sólida magnética (MSPE), que consiste en la incorporación de magnetita al carbón activado para formar una fase extractante sólida con propiedades paramagnéticas, la cual se aísla fácilmente del medio dispersivo mediante la aplicación de un campo magnético externo.

1.4.1.1 Características de la MSPE

La extracción en fase sólida magnética es un método simple y reproducible que se ha desarrollado como una alternativa a la extracción en fase sólida y la extracción líquido-líquido. Entre las principales ventajas de la MSPE se encuentra 1) la posibilidad de poder emplear volúmenes de muestra elevados obteniendo una

disminución en el tiempo de pre-tratamiento y por consecuencia de análisis; 2) los adsorbentes empleados son dispersados completamente en la muestra favoreciendo la interacción entre los analitos y la fase sólida, y 3) que los adsorbentes son aislados de la matriz analítica con facilidad disminuyendo el riesgo de pérdida del analito.

Entre los estudios sobre retención de colorantes donde se ha involucrado la MSPE modificando el carbón activado con otros óxidos metálicos, se encuentra la adsorción de Rojo Reactivo 198 sobre carbón activado modificado con TiO_2 , obteniendo una absorción máxima de $56.806 \text{ mmol kg}^{-1}$ (Janus, et al., 2009), mientras que en el caso de la adsorción de Azul de Metileno sobre nanopartículas de $\text{Ni}_{0.5}\text{Zn}_{0.5}\text{Fe}_2\text{O}_4$ se obtienen adsorciones de $56.27 \text{ mmol kg}^{-1}$ (Liu, et al., 2013). En ambos casos se tiene como principal ventaja la selectividad del adsorbente hacia el analito facilitando su extracción; además es posible utilizar volúmenes comprendidos entre 100 y 800 mL (Safarikova & Safarik, 1999) proporcionando tiempos de análisis cortos en comparación a las técnicas convencionales. Aunado a lo anterior ha sido posible emplear la MSPE en matrices no acuosas; ejemplo de ello es la separación de antibióticos presentes en la leche, donde la metodología permite extraer al analito con recuperaciones superiores al 90%, lo cual indica que la técnica es selectiva y eficiente aún en matrices analíticas complejas (Ibarra et al., 2011).

1.4.2 Métodos de análisis

Una vez que se ha logrado separar el colorante de la matriz analítica es necesario poder identificarlo y cuantificarlo, para lo cual se recurre a diversos métodos instrumentales de análisis. A continuación se describen algunas de las estrategias evaluadas en el análisis de colorantes.

1.4.2.1 Cromatografía

Uno de los métodos más importantes en el análisis instrumental es la cromatografía ya que en la actualidad los equipos ofrecen la posibilidad de

separar, identificar y cuantificar componentes en un solo ensayo. La tartrazina tiene un punto de fusión de 300 °C y se descompone a temperaturas superiores, por lo que su análisis cromatográfico está limitado a la cromatografía de líquidos. (Lockuán Lavado, 2012).

En la última década, la determinación y cuantificación de colorantes se enfoca al uso de la cromatografía de líquidos de fase inversa utilizando principalmente columnas C18 y como fase móvil gradientes que incluyen el uso de metanol, acetonitrilo y disoluciones tampón con valores de pH entre 4.5 y 7.5. La detección de los aditivos se realiza utilizando un detector UV-Vis principalmente. Se han evaluado diversos colorantes de interés entre ellos la tartrazina, que bajo las características mencionadas anteriormente, alcanza límites de detección (LOD) en un intervalo de 0.04-0.125 mg L⁻¹ (Vidotti C. et al., 2006; Pereira Alves et al., 2008).

1.4.2.2 Electroforesis capilar

Otra metodología de separación y análisis es la electroforesis capilar, donde de manera semejante a la cromatografía no se requiere un tratamiento de la muestra. Debido a la especificidad de esta técnica, basta con diluir la muestra con el electrolito soporte y la posterior filtración. Una característica que favorece el análisis mediante esta técnica es la solubilidad de la tartrazina en medio acuoso y su propiedad aniónica.

Se han descrito diversos electrolitos de trabajo, que incluyen disoluciones tampón de fosfatos ó boratos con la finalidad de imponer un pH entre 10.0-11.0, el voltaje de trabajo se encuentra entre 17 y 25 kV, lográndose obtener LOD de 0.40 a 1.3 mg L⁻¹, utilizando electroforesis capilar de zona con detectores UV-Vis, (Pérez Urquiza & Beltrán, 2000; Ryvolova et al., 2007).

1.4.2.3 Electroquímica

En los últimos años una área de gran importancia para la determinación y cuantificación de colorantes es el uso de técnicas electroquímicas como la voltamperometría, potenciometría, amperometría (Wilches Zuñiga, et al., 2007). Se han evaluado distintos electrodos de trabajo, como por ejemplo de diamante dopado con boro, carbón vítreo con películas de polialilamina y antimonio, (Juárez Pérez, 2013, Medeiros et al., 2012; S. Silva et al., 2007). La muestra requiere únicamente la dilución con el electrolito soporte que puede ser ácido sulfúrico 0.5 M ó ácido clorhídrico 0.5 M y el posterior análisis mediante voltamperometría lineal, diferencial de pulsos y de onda cuadrada en sentido catódico. Los LOD descritos están en el intervalo de 1.8-2.5 μ M para tartrazina. En otros procedimientos electroquímicos, cuando la presencia de otros componentes interfiere con la determinación del colorante, es común el uso del método de adiciones patrón, aunque esto se traduce en la necesidad de realizar varias medidas para concluir la cuantificación (Medeiros et al., 2012).

1.4.2.4 Espectroscopia UV-Vis

La espectrofotometría de absorción fue uno de los primeros métodos que se utilizaron en el análisis cuantitativo, gracias a que cuenta con una alta especificidad, convirtiéndola en una de las mejores técnicas de análisis. Dentro de las ventajas más sobresalientes está la posibilidad de realizar el análisis a una longitud de onda específica permitiendo detectar de manera eficiente el compuesto en cuestión. Además, esta técnica suele ser muy rápida y sencilla de utilizar ya que permite obtener espectros completos en menos de un minuto lo que se traduce en un tiempo de análisis cortos en comparación a otras técnicas analíticas como lo es la cromatografía (Válcarcel & Cardenas, 2000).

Hoy en día es una de las técnicas más accesibles, tomando como referencia el bajo costo de los equipos y la opción de no requerir de personal calificado, ni reactivos especiales para poder analizar las muestras.

Las bebidas no alcohólicas contienen además de los colorantes otros aditivos como las proteínas o los conservadores para mejorar su apariencia, calidad y tiempo de anaquel; considerando que el principio de la espectrofotometría es la interacción energía-materia, estos aditivos se presentan como interferentes en la determinación y cuantificación de colorantes por lo cual es necesario realizar un tratamiento para limpiar la muestra y así eliminar dichos interferentes. Dentro de las propuestas que se presentan para la limpieza previa se encuentran nanopartículas de plata, de níquel dopado con óxido de cinc y $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2$. En condiciones de temperatura ambiente y una longitud única comprendida en el intervalo de 420- 425 nm es posible obtener LOD para tartrazina de 0.3 ng/mL (Davudabadi Farahan & Shemirani, 2013, Klett et al., 2014; Sahraei et al., 2013).

Aunque este tratamiento representa un paso más en el proceso analítico, no se compara con los tiempos de análisis o los costos que conllevan otras técnicas. Sin embargo es importante evaluar nuevas propuestas que permitan simplificar en tiempo y economía esta etapa del proceso, por lo que en este trabajo se proponen los siguientes objetivos.

OBJETIVOS

II. OBJETIVOS

II.1 Objetivo general

Diseñar una metodología de extracción en fase sólida magnética basada en carbón modificado con magnetita para el análisis espectrofotométrico de tartrazina en bebidas no alcohólicas.

II.2 Objetivos específicos

1. Sintetizar y caracterizar carbón activado modificado con magnetita mediante técnicas instrumentales que permitan establecer las estructuras cristalinas presentes y la morfología de los sólidos sintetizados.
2. Optimizar las variables involucradas en la MSPE que permitan las mejores condiciones de retención y elución del colorante sobre el carbón activado modificado con magnetita durante el análisis de tartrazina mediante un diseño de parámetros de Taguchi.
3. Validar la metodología desarrollada considerando normas y estándares internacionales para su aplicación en el análisis de bebidas no alcohólicas.

*METODOLOGÍA
EXPERIMENTAL*

III. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

III.1 Reactivos, disoluciones y equipos

Para la síntesis del carbón modificado se utilizó lo siguiente: carbón activado comercial de origen vegetal proporcionado por la empresa Clarimex S.A. de C.V., $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ grado reactivo y agua desionizada. Se emplearon disoluciones de NaOH y H_2SO_4 6 M para ajustar el pH durante la síntesis del soporte magnético.

Todas las disoluciones de tartrazina se prepararon disolviendo el colorante grado reactivo con agua desionizada de conductividad de $18.2 \text{ M}\Omega \cdot \text{cm}$. Las disoluciones estándar se prepararon mediante dilución de una disolución patrón de tartrazina de 100 y 1000 mg L^{-1} .

Para las pruebas de retención de tartrazina se utilizaron disoluciones tampón de concentración 0.1 M de acetatos (pH= 5.0), fosfatos (pH= 7.0) y boratos (pH= 9.0). Para la elución del colorante del carbón modificado se prepararon disoluciones de metanol basificado con NaOH de concentraciones 0.0025, 0.025 y 0.25 M.

Para la evaluación de interferentes se utilizaron disoluciones de 1000 mg L^{-1} de caseína, albumina de huevo, benzoato de sodio, citrato de sodio, acesulfame K, aspartame, glucosa y sucralosa

La detección espectrofotométrica se realizó en un espectrofotómetro UV-Vis HACH DR-2700, con una celda de cuarzo de 1.0 cm de paso óptico.

El análisis de rayos X de polvos se realizó en un equipo PHILIPS PW1710 equipado con un ánodo de Cu y apertura automática divergente. Las condiciones

para el análisis son las siguientes: radiación CuK α 1.54 Å, tensión del generador 40 kV; corriente del generador 30 mA; relación de intensidad (a₂/a₁)0.500, apertura de divergencia 1° apertura receptora 0.1; ángulo inicial (2 θ) 5; ángulo final (2 θ) 70.

El análisis morfológico de los sólidos se realizó mediante microscopía electrónica de barrido (SEM) con un equipo JEOL JSM-820. El análisis cualitativo y la determinación de la distribución de magnetita en los sólidos se realizaron con un analizador LINK QX-2000 mediante energía dispersiva de rayos X.

Todos los espectros se obtuvieron a 15kV, a una distancia de 39 mm y 2500 conteos; el ángulo del detector con respecto a la muestra en todos los casos fue de 45°. La separación de las fases magnéticas se realizó utilizando un imán de neodimio porque genera un campo magnético mayor que el de ferrita.

III.2 Síntesis de carbón activado modificado con magnetita

Se sintetizaron dos soportes con una relación p:p (carbón:Fe₃O₄) de 1:1 y 1:2. La síntesis se realizó en dos etapas: la primera consistió en la obtención de magnetita mediante precipitación y oxidación parcial. Para ello se disolvieron 3.6 g de FeSO₄·7H₂O en 100 mL de agua desionizada. La mezcla se agitó constantemente a 60 °C. El pH de la solución se ajustó a 10.0 ± 0.2, añadiendo una corriente de aire a la mezcla de reacción. Inicialmente se formó un precipitado color verde, el cual transcurridos 40 minutos de reacción se tornó color negro, característico de la formación de Fe₃O₄. En una segunda etapa se adicionó 0.5 y 1.0 g de carbón activado al vaso de reacción y se agitó la mezcla durante 30 minutos, obteniéndose así los soportes 1:2 y 1:1, respectivamente.

Una vez concluida la síntesis, se dejó enfriar la mezcla. Se separó la fase magnética con un imán y se lavó 3 veces con agua destilada. La fase sólida se secó a 60°C durante 24 h. La fase sólida se pulverizó en mortero de ágata y se almacenó en un desecador hasta su uso.

III.3 Retención de tartrazina

Para el análisis de la retención utilizando los soportes magnéticos, se colocaron 0.05 g del carbón modificado con magnetita en tubos de polipropileno de 50 mL, se adicionaron 20.0 mL de solución acuosa de tartrazina ($10.0-100.0 \text{ mg L}^{-1}$) y se agitó mecánicamente durante 30 minutos. Posteriormente la fase sólida se separó utilizando un imán de neodimio (Figura 3), analizando la fase líquida mediante espectrofotometría UV-Vis a una longitud de onda de 434 nm. Se evaluó el efecto del pH de la disolución de tartrazina en la extracción, utilizando disoluciones tampón de pH 5.0, 7.0 y 9.0, así como la composición del soporte.



Figura 3. Experimento de adsorción. De izquierda a derecha: Disolución de tartrazina, Mezcla de tartrazina con el soporte magnético, Separación del soporte magnético.

Para la adsorción utilizando carbón activado sin modificar, se colocaron 0.05 g de carbón activado en tubos de polipropileno de 50 mL y se adicionó 20.0 mL de solución acuosa de tartrazina ($100.0-1000.0 \text{ mg L}^{-1}$). Se agitó la mezcla y se filtró para poder analizar la cantidad de tartrazina en la fase líquida. Se tomó 1.0 mL de la fase líquida y se diluye a 10.0 mL con disolución amortiguadora.

La cuantificación de tartrazina no retenida se realizó mediante interpolación en la línea de calibrado construida con disoluciones estándar de tartrazina ($10.0-100.0 \text{ mgL}^{-1}$) preparadas en la disolución tampón respectiva.

III.4 Análisis de muestras

Se analizaron 6 muestras de bebidas no alcohólicas que contienen tartrazina, las cuales contenían los aditivos reportados por el fabricante que se listan en la Tabla 3.

Las muestras se analizaron por triplicado mediante el siguiente protocolo: se tomó una alícuota de 10 mL de la bebida, se adicionaron 2.5 mL de disolución tampón de acetatos 1 M y se aforó a 25 mL con agua desionizada. Posteriormente se colocaron 20.0 mL de las disoluciones anteriores en un tubo de polipropileno que contiene 75 mg de soporte magnético 1:1, y se agitó mecánicamente durante 30 minutos para retener el colorante en la fase sólida. Una vez realizada la retención, se separó la fase sólida de la matriz acuosa utilizando el imán y se conservó la fase sólida. Se adicionaron 1.0 mL de eluyente (NaOH 0.25 M en metanol) y se agitó mediante ultrasonido por 5 minutos. Se aforó la fase líquida a 10 mL con la disolución de elución. Se determinó la concentración de la solución resultante mediante espectrofotometría.

Tabla 3. Composición química de muestras estudiadas.

MUESTRA	INGREDIENTES
1	Base de soya (agua y semillas de soya seleccionadas), azúcares, maltodextrina, jugo concentrado de piña, saborizante idéntico al natural, pectina y tartrazina.
2	Agua, azúcares, concentrado de naranja, tartrazina y sodio.
3	Agua, jarabe de maíz de alta fructosa, jugo de piña concentrado reconstituido, ácido cítrico, pectina, saborizante artificial, acesulfame k y amarillo 5.
4	Agua, jarabe de maíz de alta fructosa, azúcar, ácido cítrico, cloruro de sodio, citrato de sodio, fosfato monosódico, goma arábiga, goma éster, saborizante natural sabor lima-limón y tartrazina.
5	Agua, jarabe de maíz de alta fructosa, jugo concentrado (naranja 7% y piña 3%), ácido cítrico, ácido ascórbico, goma acacia, goma éster, saborizantes naturales y artificiales, citrato de sodio, amarillo 5 (tartrazina) y beta caroteno como colorante.

III.5 Método de referencia

Con la finalidad de comparar los resultados que se obtuvieron mediante la metodología propuesta en este trabajo, se determinó y cuantificó el contenido de tartrazina en las muestras de bebidas no alcohólicas mediante cromatografía de alta resolución (Ricker, 2002), en un equipo Perkin Elmer series 200 con detector UV-Vis, bajo las siguientes condiciones:

- ❖ Columna C18 ZORBAX (5 μ m; 4.6x150 mm i.d)
- ❖ Solvente A: 0.1% (v/v) de ácido trifluoroacético, pH 4.4 (ajustado con trietilamina)
- ❖ Solvente B: Acetonitrilo
- ❖ Gradiente binario lineal 25% a 100% de solvente B/10 minutos.
- ❖ Volumen de inyección 20 μ L.
- ❖ Flujo 1.0 mL min⁻¹.
- ❖ λ de onda del detector 254 nm
- ❖ Tiempo de análisis 17 minutos

Con la finalidad de cuantificar el colorante presente en las bebidas, se desarrolló una línea de calibrado utilizando soluciones patrón de 5-20 mgL⁻¹.

Se identificó la tartrazina mediante el tiempo de retención característico. Las muestras se prepararon de la siguiente manera: se tomó una alícuota de 0.5 mL y se afora a 5 mL con la disolución del solvente A. Para poder introducir las muestras al sistema cromatográfico fue necesario filtrarlas utilizando membranas de 0.45 μ m de diámetro de poro.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

IV.1 Caracterización del carbón modificado con magnetita

IV.1.1 Estudios de retención

En el presente trabajo se evaluó la capacidad adsorbente del carbón modificado con magnetita mediante pruebas de retención de tartrazina a diferentes valores de pH. El análisis de una isoterma de adsorción es una de las técnicas más empleadas para evaluar la capacidad de adsorción de un soporte es mediante, la cual permite conocer la cantidad de reactante adherido a la superficie del soporte adsorbente. La isoterma se construye graficando la concentración de tartrazina en el equilibrio en solución (μM) contra la concentración del sorbato en la fase sólida (mmol/kg) transcurrida la adsorción.

Los resultados se muestran en las Figuras 4a y 4b, que corresponden a los soportes 1:1 y 1:2 carbón: Fe_3O_4 . Con la finalidad de conocer el comportamiento del sistema en un medio ácido, básico y neutro se evalúan los siguientes valores de pH; 5.0, 7.0 y 9.0.

Realizando una comparación entre los resultados obtenidos para el carbón 1:1 y 1:2, se observa que el primero retiene una mayor cantidad de tartrazina respecto al segundo. Este comportamiento se relaciona con la cantidad de carbón activado que contiene el soporte, donde el sólido 1:1 retiene mejor al adsorbato al tener una mayor cantidad de carbón activado. De esta forma, la mayor parte de afinidad del soporte hacia la tartrazina se puede atribuir a la proporción de carbón activado presente en la estructura, ya que estudios relacionados demuestran que con el carbón activado se pueden obtener máximos de adsorción hasta de $252.32 \text{ mmol}\cdot\text{kg}^{-1}$ (S. Al-Degs, et al., 2008).

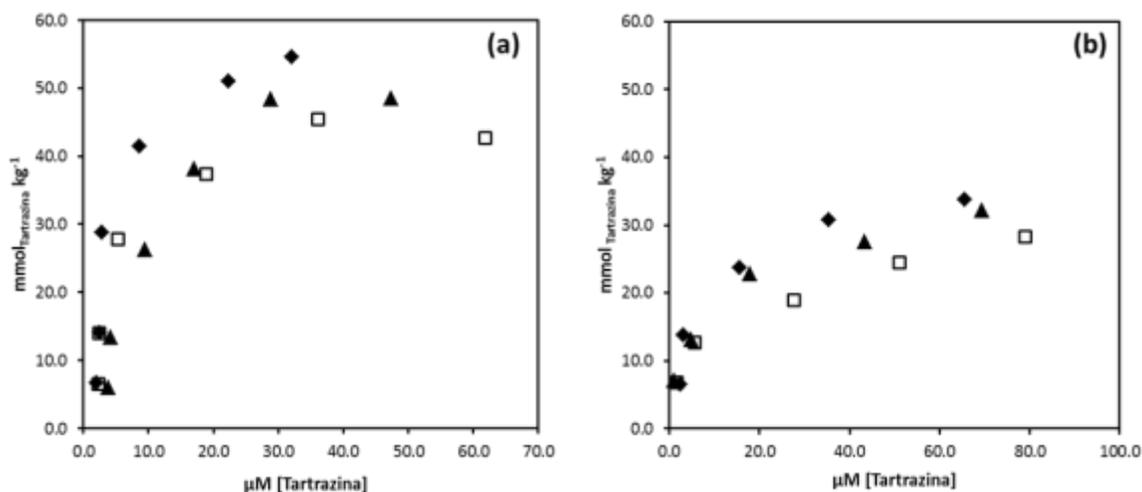


Figura 4. Isotermas de adsorción de tartrazina sobre carbón magnético (a) 1:1 y (b) 1:2, a valores de pH: (◆) 5.0, (▲) 7.0, y (□) 9.0.

En la literatura se ha descrito que los compuestos magnéticos poseen una menor afinidad hacia los colorantes, ya que el empleo de polvos de CuFe_2O_4 en la adsorción de tartrazina permite máximos de adsorción de $54.50 \text{ mmol}\cdot\text{kg}^{-1}$ (Wu, et al., 2004) en volúmenes iniciales inferiores a los 50.0 mL. Esto concuerda con los resultados obtenidos en este trabajo, ya que al evaluar los resultados de los dos soportes, la afinidad entre el soporte y la tartrazina es menor en el que contiene una relación carbón: Fe_3O_4 1:2 (p:p) arrojando un valor de constante de disociación mayor.

La Tabla 4 muestra la cantidad máxima adsorbida de adsorbato en los soportes evaluados a los diferentes valores de pH.

Tabla 4. Cantidad máxima adsorbida de tartrazina sobre los adsorbentes (mmol kg^{-1}) a diferentes valores de pH.

Valor de pH	Cantidad máxima de tartrazina adsorbida (mmol kg^{-1})	
	Carbón 1:1	Carbón 1:2
5.0	54.5	33.7
7.0	48.4	32.1
9.0	42.7	28.4

A medida que incrementa el valor de pH disminuye la cantidad de tartrazina absorbida de tartrazina. El mecanismo de retención involucra diversas interacciones, entre ellas π - π y electrostáticas. Estas últimas han sido base para justificar la disminución en la retención a valores de pH básicos. La magnetita tiene propiedades ácido o básico superficiales. Los

valores de pKa encontrados para la Fe_3O_4 son 4.4 y 9.0, adquiriendo carga positiva por debajo del pKa_1 y negativo por encima del pKa_2 (Figura 5). La tartrazina es un anión que se comporta como base de Lewis, por lo que a valores de pH bajos se favorece la interacción sólido-tartrazina. Sin embargo, en medio básico existirá una repulsión entre las cargas negativas de tartrazina en solución y el soporte, que se refleja en la disminución de la retención del adsorbato (Sun Z. et al., 1998).

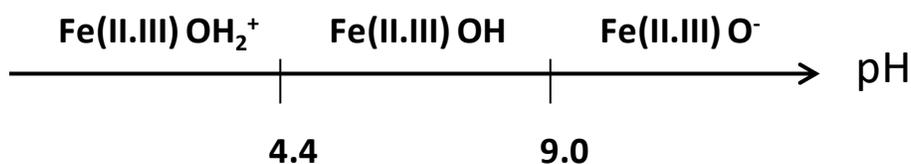


Figura 5. Diagrama lineal de zonas de predominio para magnetita.

Los resultados obtenidos son congruentes con los descritos en la bibliografía para adsorbentes similares. Cuando se emplea una mezcla de $\text{MnO-Fe}_2\text{O}_3$ para la remoción de colorantes azoicos, se observó que a valores de pH alcalinos tanto el adsorbato como el adsorbente se encuentran cargados negativamente, lo que provoca una repulsión de cargas y con ello una disminución de la retención. Estos resultados son similares a los que se reportan para el Rojo Ácido B, donde la máxima retención es de $57.39 \text{ mmol kg}^{-1}$ a un valor de pH de 3.5 (Wu, et al., 2005). Con base a los resultados obtenidos, se selecciona el pH de 5.0 como el más indicado para realizar la retención del colorante.

Como parte de la caracterización del sistema de extracción del colorante con MSPE, se estimó el valor de la constante de afinidad entre el soporte y la tartrazina. El análisis de resultados de las isothermas utilizando un gráfico de Scatchard, permite conocer el valor de la constante de la afinidad de la siguiente reacción de disociación (P. Davenport, 2005):



donde TS corresponde a la tartrazina adsorbida en el soporte, T es la tartrazina en disolución y S es el soporte.

Utilizando las concentraciones finales (al equilibrio), es posible representar la concentración de tartrazina adsorbida ($[TS]$ en mol kg^{-1}) contra el cociente de la concentración de tartrazina adsorbida ($[TS]$ en mol kg^{-1}) y la concentración remanente en disolución ($[T]$ en mol L^{-1}). Los datos se ajustan a una línea recta de acuerdo a la ecuación 2.

$$\frac{[TS]}{[T]} = \frac{Q_{\max}}{K_d} - \frac{[TS]}{K_d} \quad \text{Ec. 2}$$

donde Q_{\max} es la cantidad máxima de tartrazina que puede ser adsorbida y K_d es la constante de disociación calculada a partir de la pendiente de la recta ($-1/K_d$).

Los valores de $\log K_d$ obtenidos se pueden observar en la Tabla 5. En todos los casos se observó una sola tendencia lineal, lo que se asocia a la homogeneidad del soporte. Considerando que es una constante de disociación, el soporte con una afinidad más grande es el carbón activado, seguido de los soportes 1:1 y 1:2. El soporte 1:2 cuenta con baja afinidad hacia la tartrazina, caso contrario con el carbón sin modificar, que posee una elevada afinidad hacia este colorante.

Tabla 5. Constantes de disociación tartrazina-sólido

Soporte	$\log K_d$
Carbón activado	-28
Carbón magnético 1:1	-6.5
Carbón magnético 1:2	-1.0

En el diseño de metodologías de retención-elución es recomendable que el soporte presente una afinidad media (entorno a valores de $\log K_d$ entre -7.0 a -4.0) (Ibarra, et al., 2011). Es por ello que se selecciona al soporte 1:1 como fase extractante en los experimentos de MSPE posteriores.

IV.1.2 Caracterización estructural

Una vez que se tiene caracterizado el carbón sintetizado mediante los diversos experimentos de adsorción en las condiciones ya mencionadas, es necesario recurrir a técnicas instrumentales que aporten información complementaria relativa a la composición de los

soportes. La primera, DRx permite conocer las fases cristalinas presentes en los sólidos, a partir de los datos cristalográficos que definen a un material.

De acuerdo al método de síntesis, es posible encontrar al óxido de hierro maghemita ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$), goetita ($\alpha\text{-FeOOH}$) y magnetita (Fe_3O_4). Al realizar el análisis de los sólidos mediante difracción de rayos X de polvos (XRD), se obtuvieron los difractogramas que se muestran en la Figura 6, donde las señales marcadas como “m” corresponden a las líneas de difracción características de Fe_3O_4 ($2\theta = 30.1^\circ, 35.5^\circ, 43.1^\circ, 53.4^\circ, 57.0^\circ$ y 62.6°) de acuerdo al Joint Committee on Powder Diffraction Standards (Corredor Acuña & Echeverría Ec, 2012), presentes en los soportes 1:1 y 1:2 (Fig. 6c y b). La señal ancha que se observa en el ángulo 2θ entre los $20\text{-}30^\circ$ de la Figura 5c, es característica de carbón amorfo.

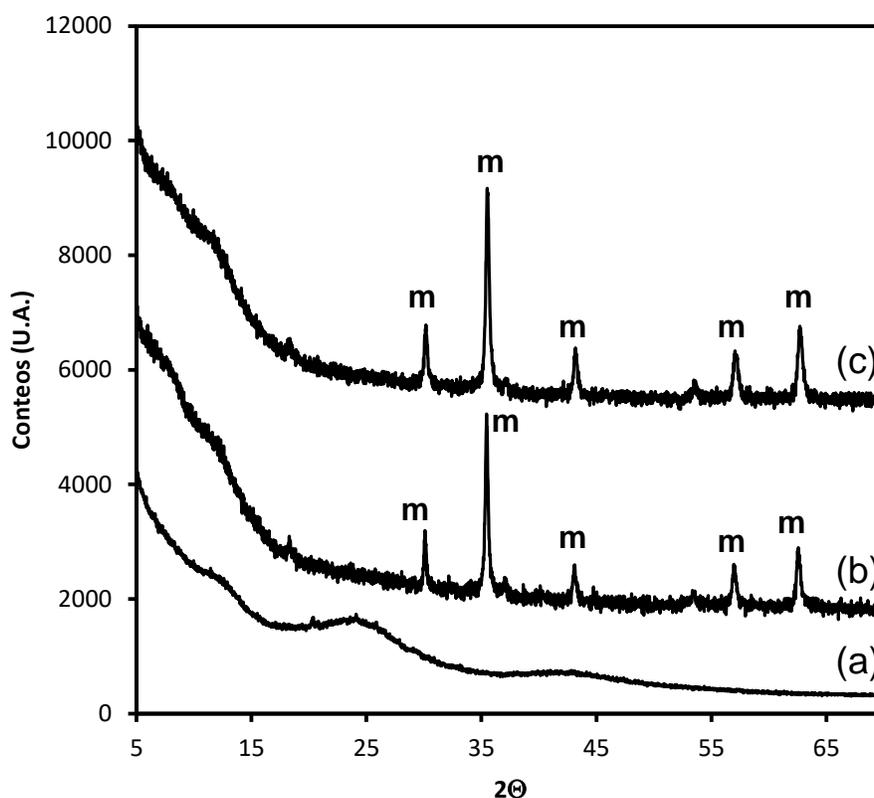


Figura 6. Difractograma: (a) carbón activado, (b) carbón 1:1 y (c) carbón 1:2.

Con base a los resultados obtenidos mediante DRx, se sabe que el soporte contiene dos estructuras independientes. Dicha hipótesis se comprobó mediante el estudio morfológico realizado en microscopía electrónica de barrido (SEM). Los resultados de este estudio se

pueden observar en las Figuras 7a, 7b y 7c, que corresponden al carbón activado y sólidos 1:1 y 1:2, respectivamente.

La Figura 7a muestra la presencia de una fase uniforme, con tamaños de partícula poco homogéneos superiores a 20 μm . La micrografía es congruente con estudios de SEM realizados al carbón activado sin modificar (Jun, et al., 2011). Para el caso de los soportes 1:1 y 1:2 se puede observar que el carbón activado está recubierto por una fase de menor tamaño

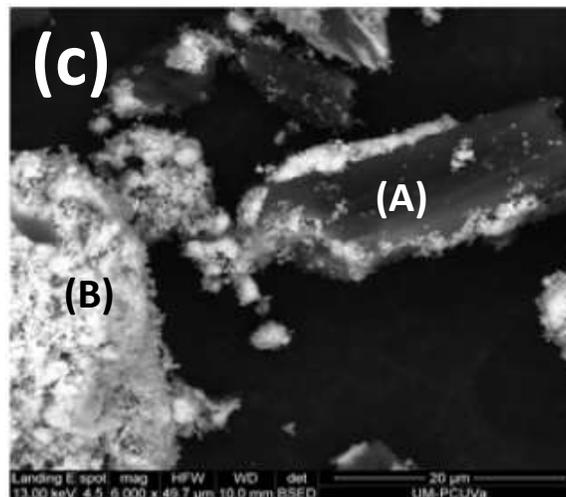
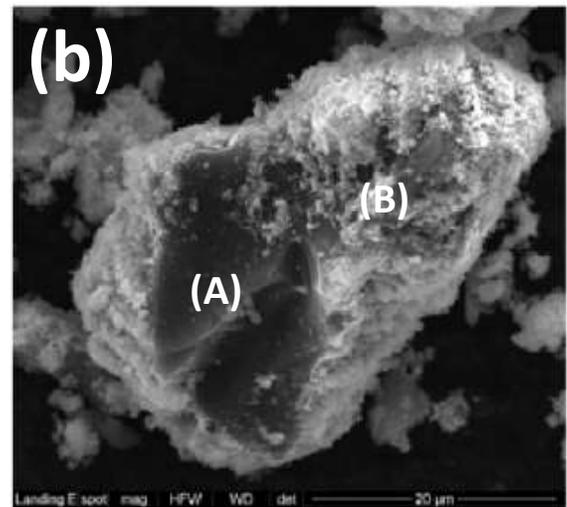
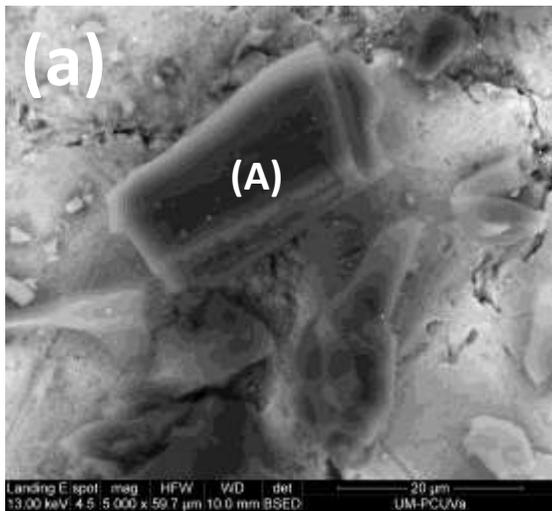


Figura 7. Micrografía del sólido: (a) carbón activado, (b) soporte 1:1 y (c) soporte 1:2

El espectro de energía dispersiva (Figura 8) muestra una mayor cantidad de carbono para la zona (A) mientras que el contenido de Fe es mayor para la zona (B), por lo que se concluye que la magnetita es la fase que recubre al carbón activado.

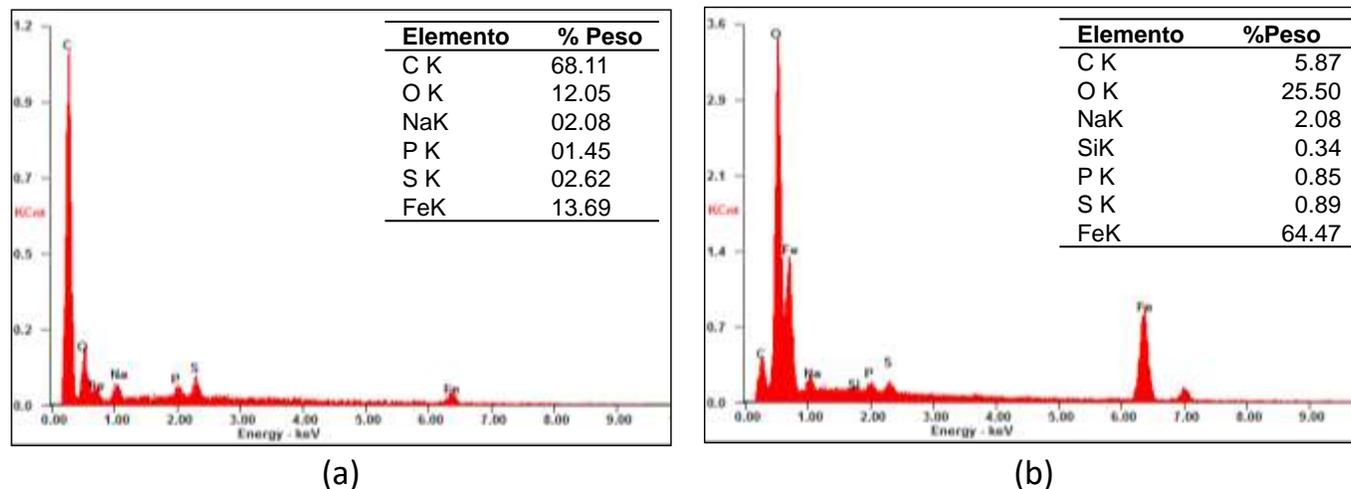


Figura 8. Espectros de energía dispersiva obtenidos del análisis del sólido 1:1 de la Figura 7b. (a) zona A y (b) zona B.

Ya que los soportes sintetizados contienen diferente proporción de carbón activado en su estructura, se realizó un análisis estructural para cada uno de ellos con la finalidad de complementar los resultados de los experimentos de retención. Como se muestra en la Figura 8, el soporte 1:1 cuenta con mayor área de carbón activado, aunado a esto consideramos que los estudios de adsorción muestran que el carbón activado tiene una mayor afinidad por la tartrazina que la magnetita, se selecciona el sólido 1:1 como el más adecuado para su uso en la metodología de MSPE.

IV.1.3 Optimización del sistema de MSPE

Una vez seleccionado el soporte magnético, se prosigue a la optimización del sistema de retención-elución, comenzando con la evaluación del disolvente a utilizar en la etapa de elución. Para ello, a 50 mg de fase sólida que contiene tartrazina se le adicionan 2.0 mL de eluyente y se agita mediante ultrasonido por 5 minutos. Se toman 2 mL de la solución resultante y se aforaron a 10 mL con el eluyente que se utilizó en cada caso. Se evaluaron metanol, acetonitrilo, metanol basificado y acetonitrilo basificado (NaOH 0.025 M) (Mittai. et al. 2006, Tuzimiski & Woźniak, 2008). El metanol basificado proporciona una mayor señal (Tabla

6) como consecuencia de extraer una mayor cantidad de tartrazina, por lo que se elige como disolvente para realizar la elución de tartrazina.

Tabla 6. Resultados de la evaluación de diferentes eluyentes.

Eluyente	Señal 1	Señal 2	Señal 3	Promedio
Metanol	0.6000	0.6010	0.6020	0.6010
Metanol basificado	0.7720	0.7700	0.7700	0.7706
Acetonitrilo	0.1460	0.1460	0.1450	0.1456
Acetonitrilo basificado	0.4440	0.4420	0.4440	0.4433

Para optimizar las condiciones de retención y elución de tartrazina involucradas en el sistema de MSPE sobre el carbón modificado con magnetita, se realizó un diseño experimental Taguchi, el cual es un diseño de experimentos de tipo factorial fraccionado. La principal ventaja de esta técnica es que proporciona información útil con un mínimo de experimentos, empleando matrices de diseño especiales (arreglos ortogonales), en las cuales las columnas (factores o parámetros controlables) y las filas (experimentos) son acomodados de una manera tal que se indica la combinación de factores y los niveles de cada experimento (Roy, 2001).

La optimización de sistemas mediante esta metodología involucra 5 pasos básicos:

- La elección de la variable de salida a optimizar.
- La identificación y selección de los factores que afectan al sistema.
- La elección del arreglo ortogonal adecuado y de los niveles de los factores.
- Interpretación y análisis de los resultados para encontrar los valores óptimos.
- Realización de una corrida confirmatoria en las condiciones óptimas predichas.

El factor objetivo o de respuesta que se seleccionó fue el porcentaje de recuperación durante el análisis de 20 mL de una disolución de tartrazina de 30 mg L⁻¹. Con respecto a las variables involucradas en la limpieza de muestras mediante MSPE, se tienen los siguientes parámetros controlables: volumen de muestra, volumen de eluyente, masa de adsorbente y concentración de NaOH en el eluyente. Todos estos parámetros son parte fundamental para que la separación por MSPE sea eficiente, ya que por ejemplo los volúmenes de muestra y eluyente controlan la concentración de analito en la etapa de elución mientras que la cantidad del

soporte se relaciona con la efectividad en la retención debido al número de sitios activos para realizar la adsorción. Del mismo modo, de acuerdo a la teoría de repulsión de cargas se requiere de medios básicos para favorecer la formación de cargas negativas en la superficie del soporte magnético, por lo que se debe evaluar la concentración de NaOH durante la elución (Ibarra et al., 2011).

De acuerdo al modelo de Taguchi, el arreglo ortogonal que permite el análisis de cuatro factores es el $L_9(3^4)$, lo que conlleva elegir tres niveles para cada uno de ellos. Cabe resaltar que los niveles fueron elegidos de acuerdo con los experimentos previos. La matriz de diseño y los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 7. La concentración se determinó mediante espectroscopía UV-Vis, empleando una curva de calibración con disoluciones estándar de tartrazina ($10.0-100.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) en metanol basificado.

Tabla 7. Matriz de diseño obtenida durante la optimización del sistema de MSPE.

Experimento	V_M (ml)	V_E (ml)	m_c (mg)	C_E (M)	%Recuperación
1	10.0	1.0	50	0.0025	6.66
2	10.0	2.0	75	0.025	23.48
3	10.0	3.0	100	0.25	27.74
4	20.0	1.0	75	0.25	99.95
5	20.0	2.0	100	0.0025	7.49
6	20.0	3.0	50	0.025	44.10
7	30.0	1.0	100	0.025	31.59
8	30.0	2.0	50	0.25	90.58
9	30.0	3.0	75	0.0025	24.19

El análisis de los datos del diseño permitió obtener el gráfico de medias que se presenta en la Figura 9. A partir de la gráfica se obtienen las condiciones más adecuadas para la extracción-elución de tartrazina de su matriz analítica, las cuales son: 20 mL de muestra, 1 mL de eluyente, 75 mg de carbón modificado y una concentración de 0.25 M para la solución de metanol basificado. Estas condiciones corresponden al experimento 4, el cual presenta el mayor porcentaje de recuperación del colorante.

Adicionalmente se determinó el tanto porcentaje de contribución de cada variable, siendo la concentración de NaOH en la disolución de elución la que presenta un mayor efecto (45.4%),

seguido del volumen de muestra (23.6%), la masa de adsorbente (20.4%) y el volumen de eluyente (10.6%). La elevada contribución de la disolución de elución en la etapa de elución de la tartrazina, confirma el efecto asociado con la teoría de repulsión de cargas entre el soporte y el analito, favoreciéndose a mayor concentración de NaOH.

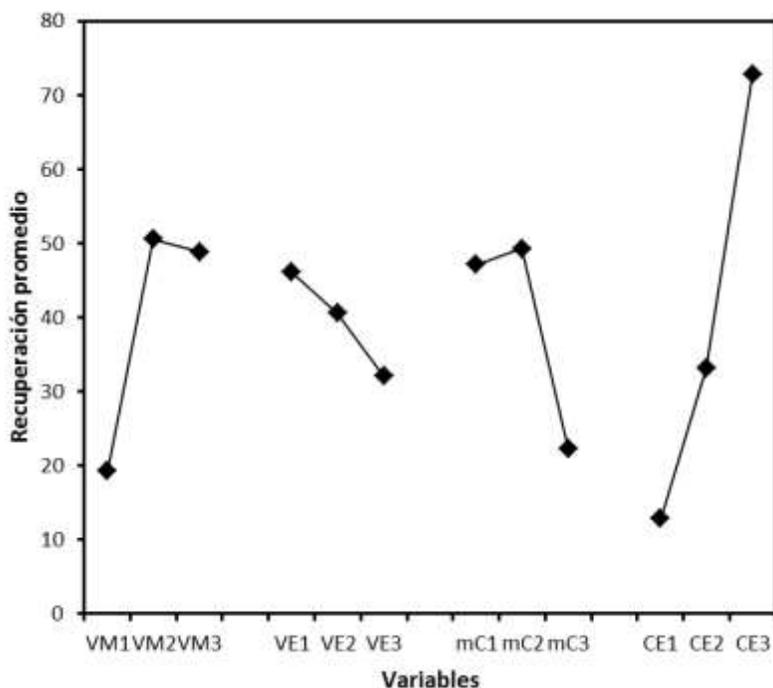


Figura 9. Efecto de los factores control en la recuperación de tartrazina. V_M , volumen de muestra; V_E , volumen de eluyente; m_C , masa de carbón magnético; y C_E , concentración de NaOH en el eluyente.

IV.1.4 Parámetros analíticos

Bajo las condiciones optimizadas según se describió anteriormente, se realizaron las líneas de calibrado utilizando disoluciones estándar en el intervalo de concentraciones entre 5.0 y 30.0 mg L⁻¹. La señal obtenida (U.A.) se midió por triplicado, construyéndose las líneas de calibrado a partir de las señales medias. Las líneas de calibrado muestran una dependencia lineal entre la señal media y la concentración de tartrazina presente en la disolución estándar. La Tabla 8 muestra los parámetros de regresión de la línea de calibrado.

El LOD es superior a los obtenidos utilizando técnicas de separación, las cuales involucran en muchos casos estrategias de limpieza y preconcentración. Sin embargo, la metodología propuesta permite cuantificar tartrazina en bebidas de acuerdo a lo establecido en la NOM.

Tabla 8. Parámetros de regresión de la línea de calibrado, señal (U.A.) vs concentración de tartrazina (mg L^{-1}).

Parámetro	Valor
Raíz cuadrada de la varianza residual, s_e	0.013
Ordenada en el origen, $b_0 \pm ts(b_0)$	0.010 ± 0.031
Pendiente, $b_1 \pm ts(b_1)$	0.041 ± 0.003
Intervalo lineal (mg L^{-1})	3.0-30.0
Límite de detección (mg L^{-1})	1.0
Repetitividad (%DER, $n=3$, 10.0 mg L^{-1})	1.8
Reproducibilidad (%DER, $n=9$, 10.0 mg L^{-1})	3.18

Actualmente en la literatura se han reportado muy pocos trabajos para la determinación de colorantes en especial la tartrazina aplicando MSPE, sin embargo; de acuerdo a los resultados (Wu, et al., 2005) obtenidos en la adsorción de azul de metileno, rojo reactivo, violeta y azul reactivo 21, la cantidad máxima adsorbida del colorante es similar con los que se reporta en el presente trabajo. Adicionalmente, el tiempo de análisis y la cantidad de soporte utilizado en la extracción es menor en comparación a los trabajos antes mencionados (Janus, M. et al., 2009, Safarikova, M. & Safarik, I. 1999; Wu, R. et al., 2004).

La mayoría de las bebidas no-alcohólicas contienen además de los colorantes una variedad de aditivos para mejorar su aspecto y vida de anaquel como las proteínas y conservadores, es por eso que se propone realizar pruebas de retención de tartrazina adicionando algunos interferentes. Los compuestos que se evaluaron como interferentes son: caseína, albúmina de huevo, acesulfame K, benzoato de sodio, aspartame, citrato de sodio, glucosa y sacarosa. Se realizaron disoluciones de cada uno de los interferentes disolviendo 10 mg del interferente en 10 mL de disolución tampón de acetatos.

Para realizar la prueba, inicialmente se coloca en un tubo de centrifuga 75 mg de carbón modificado con magnetita, 20 mL de disolución de tartrazina 30 mgL^{-1} y 3 mL de la solución de interferentes. Se aplica la metodología desarrollada, utilizando 1 mL de metanol basificado con

NaOH 0.25 M. Se recupera 0.5 mL de metanol basificado y se afora a 5 mL. Se analizan los resultados mediante espectrofotometría. Los resultados obtenidos no presentan un valor de %DER mayor al 5% de la señal analítica respecto a la señal sin interferente, por lo que los analitos propuestos no interfieren en la metodología propuesta.

La Figura 10a muestra el espectro UV-Vis de la muestra 1 (Tabla 3 del capítulo de Metodología Experimental) antes de ser tratada mediante la metodología propuesta. En ella se puede observar la interferencia producida por algunos de los componentes de la matriz analítica al perderse el máximo de absorción característico de tartrazina. Por otra parte, en la Figura 10b se observa que el procedimiento de limpieza propuesto mediante MSPE es adecuado para eliminar dicha interferencia.

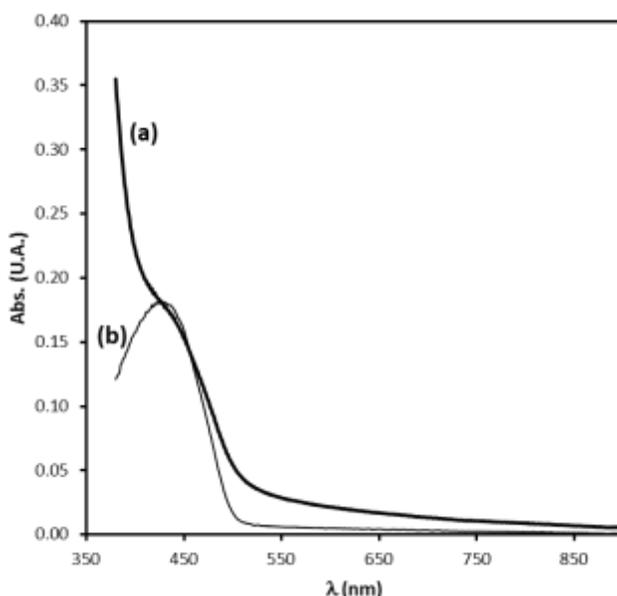


Figura 10. Espectros UV-Vis de una muestra de bebida no alcohólica: (a) inicial y (b) tratada mediante MSPE.

IV.1.5 Análisis de muestras

El método optimizado se aplicó a muestras disponibles en el mercado. Los resultados obtenidos para cada una de las muestras se muestran en la Tabla 9. La concentración determinada se presenta como la media de 3 determinaciones independientes; las muestras

también fueron analizadas por el método de referencia (HPLC). La Figura 11 muestra un cromatograma de manera representativa obtenido del análisis de la muestra 2.

Para cada muestra se obtuvo el promedio de las concentraciones de tartrazina usando ambos métodos y comparándose mediante una prueba t. Los valores de $t_{calculada}$ fueron comparados con $t_{tabulada}$ a 2 grados de libertad al 95% de confianza ($t=4.3$). Este análisis reveló que no hay diferencias significativas entre los resultados provenientes de cada método. Por lo tanto, la metodología de MSPE es comparable con la metodología establecida.

Tabla 9. Contenido de tartrazina (media y %DER, n=3) en muestras reales determinado por el método de análisis propuesto y su comparación con HPLC. Unidades de concentración, mg L⁻¹

Muestra	[Tartrazina] (mg L ⁻¹)	
	MSPE-UV	HPLC
1	5.5 (1.3)	5.4
2	22.7 (0.8)	22.4
3	5.9 (1.8)	5.7
4	22.8 (2.3)	23.0
5	5.5 (2.6)	5.7

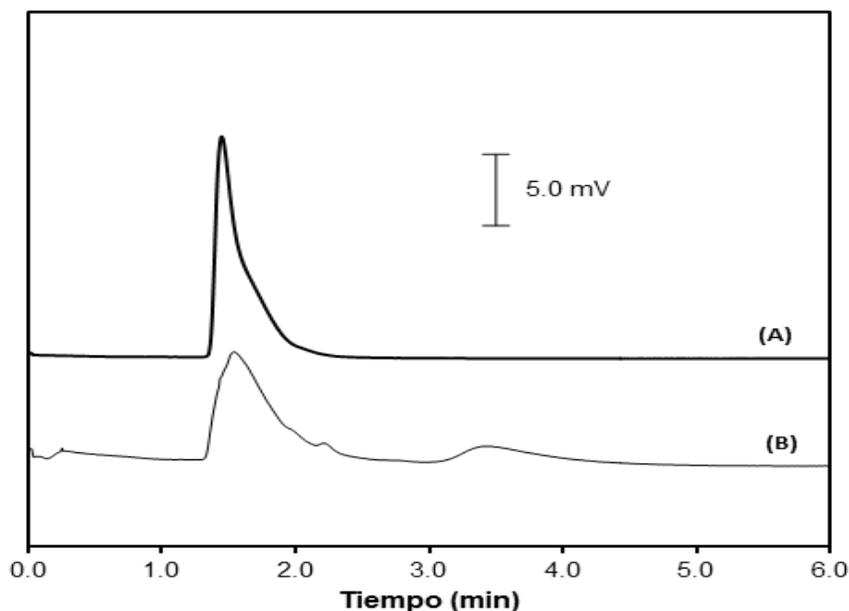


Figura 11. Cromatograma (A) Solución estándar de tartrazina 20 mgL⁻¹ y (B) Bebida comercial sabor naranja.

CONCLUSIONES

V. CONCLUSIONES

- ✓ En el presente trabajo se sintetizó un soporte modificado incorporando magnetita a la estructura del carbón activado; el soporte cuenta con características magnéticas que permiten su separación mediante la aplicación de un campo magnético externo.
- ✓ El mejor soporte para realizar la retención de tartrazina es el que tiene una composición 1:1 p:p, éste muestra mejores resultados durante el análisis, debido a que cuenta con una mayor cantidad de carbón activado dentro de su estructura, mostrando este último una mayor afinidad hacia la tartrazina que la magnetita.
- ✓ Se optimizaron las condiciones de retención y elución de tartrazina, donde la mejor respuesta de retención de tartrazina es a pH 5.0, amortiguado con una solución tampón de acetatos, empleando 75 mg de carbón modificado con magnetita, un volumen de muestra de 20 mL y 1 mL de metanol basificado como eluyente, empleando una concentración de NaOH de 0.25 M para preparar el mismo.
- ✓ La MSPE es una opción muy viable ya que incorpora el carbón activado el cual cuenta con una mayor afinidad hacia la tartrazina (como lo demuestran las isotermas de adsorción y el análisis de los gráficos de Scatchard), y el uso de soportes magnéticos facilitando la separación de fases durante el desarrollo de la metodología.

Conclusiones

- ✓ La metodología que se propone en el presente trabajo es una buena opción ya que permite ahorrar tiempo y costos durante el análisis. El análisis espectrofotométrico es una alternativa al análisis de colorantes azoicos en la industria de alimentos debido a que los parámetros analíticos y la precisión y exactitud son similares a los utilizados con metodologías más complejas y de mayor costo como HPLC.

BIBLIOGRAFÍA

VI. BIBLIOGRAFÍA

Alatorre Acosta, F.A. (2007). *Diseño de reactores empacados para la remoción de color en aguas residuales industriales*. Tesis de Maestría. Universidad Nacional Autónoma de México.

Al-Degs, Y.S., El-Barghouthi, M.I., El-Sheikh, A.H. & M. Walker, G.M. (2008). Effect of solution pH, ionic strength, and temperature on adsorption behavior of reactive dyes on activated carbon. *Dyes and Pigments*, 77(1), 16-23.

Al-Degs, Y.S., El-Sheikha, A.H. & Mohammad, A. (2008). Solid-phase extraction and simultaneous determination of trace amounts of sulphonated and azo sulphonated dyes using microemulsion-modified-zeolite and multivariate calibration. *Talanta*, 75(4), 904-915.

Astiasarán Anchia, I., Lasheras Aldaz, B., Ariño Plana, A.H. & Martínez Hernández, J.A. (2003). *Alimentos y nutrición en la práctica sanitaria*. Madrid: Diaz de Santos.

Aubaile F., Bacaria J., Balotta M., Barusi A., Bertozzi L., Cannella C., Cantero L., Cialfa E., Clotet R., Colesanti G., Forment A., Gantié J., Garine I., Gónzales I., García M., Graziani M., March L., Martínez E., Mataix J., Medina F., Millan A., Monneuse M., Parra A., Pizzati A., Santamaría S., Teti V. & Torrado L. (1998). *El color en la alimentación mediterránea*. Barcelona: Icaría.

Bauí Dergal, S., Guerrero Legarreta, I., López Hernández, E. & Armenta López, R. E. (2006). *Química de los alimentos*. México: Pearson.

Bautista Suárez, L. (2011). *Degradación de colorantes (azul de metileno) por métodos electroquímicos*. Tesis de Licenciatura. Universidad Veracruzana. México.

Branen, A.L., Davison P.M., Salminen, S., & Thorngate III, J. (2001) *Food Additives*. New York: Marcel Dekker.

Contento Salcedo, A.M. (1997). *Nuevos métodos fotométricos y cromatográficos para la determinación de colorantes rojos en alimentos*. Tesis Doctoral. Universidad de Castilla-La Mancha. España.

Corredor Acuña, J. & Echeverría Echeverría, F. (2012). Preparación y evaluación mediante oxidación cíclica a 700°C de recubrimientos electrodos ni-p y ni-p-magnetita. *Revista Latinoamericana de Metalurgia y Materiales*, 31(1), 107-120.

Cubero, N., Monferrer, A. & Villalta, J. (2002). *Aditivos Alimentarios*. Madrid: Ediciones Mundi-Prensa.

Davenport, A.P. (2005). *Receptor Binding Techniques* (2a. Ed), New Jersey: Humana Press.

Davudabadi Farahani, M. & Shemirani, F. (2013). Ferrofluid based dispersive-solid phase extraction for spectrophotometric determination of dyes. *Journal of Colloid and Interface Science*, 407, 250-254.

Deiana, A., Petkovic, L. & Noriega, S. (1998). Carbón activado a partir de materias primas regionales. *Información Tecnológica*, 9(5), 89-93.

Doerner, M. (2005). *Los materiales de pintura y su empleo en el arte*. Barcelona: Reverté.

Elmadfa, I., Muskat, E. & Fritzsche, D. (2011). *Tablas de aditivos los números E*. Barcelona:Hispano Europea.

Garibay, M., Quintero, R. & López, A. (2004). *Bioteología alimentaria*. México: Limusa.

Hernández Machado, C.A. (2005). *Estudio de la extraccion y estabilidad del colorante del ataco (Amaranthus hybridus) con potencial de aplicación como aditivo alimentario*. Tesis Doctoral. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Ecuador.

Hernández Rodríguez, M. & Sastre Gallego, A. (1999). *Tratado de nutrición*. Madrid: Díaz de Santos.

Huang, H.-Y., Shih, Y.-C. & Yun-Chieh, C. (2002). Determining eight colorants in milk beverages by capillary electrophoresis. *Journal of Cromatography A*, 959(1-2), 317-325.

Ibarra, I.S., Rodriguez, J.A., Miranda, J. M., Vega, M. & Barrado, E. (2011). Magnetic solid phase extraction based on phenyl silica adsorbent for the determination of tetracyclines in milk samples by capillary electrophoresis. *Journal of Chromatography A*, 1218(16), 2196-2202.

Janus, M. Kusiak, E., Choina, J., Ziebro, J. & Morawski, A.W. (2009). Enhanced adsorption of two azo dyes produced by carbon modification of TiO₂. *Desalination*, 249(1), 359-363.

Juárez Pérez, M.G. (2013). *Determinación voltamperométrica de colorantes azoicos en alimentos utilizando electrodos de película de antimonio y*

bismuto. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. México.

Jun, Z., Xie, Q., Liu, J., Yang, M. & Yao, X. (2011). Role of Ni(NO₃)₂ in the preparation of a magnetic coal-based activated carbon. *Mining Science and Technology (China)*, 21(4), 599-603.

Klages, F. (1968). *Tratado de química orgánica*. Valencia: Reverté.

Klett, C. Barry, A., Balti, I., Lelli, P., Schoenstein, F. & Jouini, N. (2014). Nickel doped Zinc oxide as a potential sorbent for decolorization o. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 2(2), 914-926.

Lau, O.-W., Poon, M.M.K., Mok, S.-C., Wong F.M.Y. & Luk, S.-F. (2007). Spectrophotometric determination of single synthetic food colour in soft drinks using ion-pair formation and extraction. *International Journal of Food Science & Technology*, 30(6), 793-798.

Lin, F.-H. & Doong, R.-A. (2014). Characterization of interfacially electronic structures of gold–magnetite heterostructures using X-ray absorption spectroscopy. *Journal of Colloid and Interface Science*, 417, 325–332.

Linstromberg, W. (1979). *Curso breve de Química Orgánica*. Barcelona:Reverté.

Liu, R., Shen, X., Yang, X., Wang, Q. & Yang, F. (2013). Adsorption characteristics of methyl blue onto magnetic Ni_{0.5}Zn_{0.5}Fe₂O₄ nanoparticles prepared by the rapid combustion process. *Journal of Nanoparticle Research*, 15, 1679-1689.

Lock Sing de Ugaz, O. (1997). *Colorantes naturales*. Perú: Fondo Editorial PUCP.

Lockuán Lavado, F. E. (2012). *La industria textil y su control de calidad*. Licencia Creative Commons, en <http://fidel-lockuan.webs.com>

Macy, R. (2005). *Química Orgánica Simplificada*. Barcelona: Reverté.

Medeiros, R.A., Lourencao, B.C., Rocha-Filho, R. & Fatibello-Filho, O. (2012). Flow injection simultaneous determination of synthetic colorants in food using multiple pulse amperometric detection with a boron-doped diamond electrode. *Talanta*, 99, 883-889.

Minioti, K.S., Sakellariou, C.F. & Thomaidis, N.S. (2007). Determination of 13 synthetic food colorants in water-soluble foods by reversed-phase high-performance liquid chromatography coupled with diode-array detector. *Analitica Chimica Acta*, 583(1), 103-110.

Mittal, A., Mittal, J. & Kurup, L. (2006). Adsorption isotherms, kinetics and column operations for the removal of hazardous dye, Tartrazine from aqueous solutions using waste materials--Bottom Ash and De-Oiled Soya, as adsorbents. *Journal of Hazardous Materials*, 136(3), 567-578.

NORMA Oficial Mexicana NOM-218-SSA1-2011, (2012). *Productos y servicios. Bebidas saborizadas no alcohólicas, sus congelados, productos concentrados para prepararlas y bebidas adicionadas con cafeína. Especificaciones y disposiciones sanitarias. Métodos de prueba*. DOF: 10/02/2012, México.

Pereira Alves, S., Mares Brum, D., Castello Branco de Andrade, E. & Pereira Netto, A. D. (2008). Determination of synthetic dyes in selected foodstuffs by high performance liquid chromatography with UV-DAD detection. *Food Chemistry*, 107(1), 489-496

Pérez Urquiza, M. & Beltrán, J.,(2000). Determination of dyes in foodstuffs by capillary zone. *Journal of Chromatography A*, 898(2), 271-275.

Puca Pacheco, M., Guerrero Aquino, M., Tacuri Calanchi, E. & López Campos, R.G. (2013). Síntesis y caracterización de nanopartículas superparamagnéticas obtenidas por precipitación en microemulsión inversa para aplicaciones biomédicas.. *Sociedad Química de Perú*, 79(2), 99-108.

Ramos Castellanos, P. & Márquez Moreno M.C. (2002). *Avances en calidad ambiental*.Salamanca.

Rastrepo Gallego, M., Acosta Otálvaro, E.V., Ocampo Peláez, J.C. & Morales Monsalvo, C. (2006). Sustitución de tartrazina por betacaroteno en la elaboración de bebidas no alcohólicas. *Revista Lasallista de Investigación*. 3(2), 7-12.

R.A.E. (2001). *Diccionario de la Real Academia Española*.

Ricker, R. (2002). *FD&C. Aplicación: food analysis*. Agilent technologies.

Rodríguez Vidal, F.J. (2003). *Procesos de potabilización del agua e influencia del tratamiento de ozonización*. Madrid: Diaz de Santos.

Rodríguez-Estupinan, P. & Giraldoa, L. (2013). Energetic changes in the surface of activated carbons and relationship with Ni(II) adsorption from aqueous solution. *Applied Surface Science*, 286, 351-357.

Roy, R.K. (2001). *Desing of experiments using the Taguchi approach*. Cánada:John Wiley & Sons.

Ryvolová, M., Táborský, P., Vrábel, P., Krásenský, P. & Preisler, J. (2007). Sensitive determination of erythrosine and other red food colorants using capillary electrophoresis with laser-induced fluorescence detection. *Journal of Chromatography A*, 1141(2), 206-211.

Safarikova, M. & Safarik, I. (1999). Magnetic solid-phase extraction. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 194(1-3), 108-112.

Sahraei, R., Farmany, A. & Mortazavi, S. (2013). A nanosilver-based spectrophotometry method for sensitive determination of tartrazine in food samples. *Food Chemistry*, 138(2-3), 1239-1242.

Silva, M.L., García, M.B., Lima, J.L. & Barrado, E. (2007). Voltammetric determination of food colorants using a polyallylamine modified tubular electrode in a multicommutated flow system. *Talanta*, 72(1), 282-288.

Sun, Z., Su, F., Forling, W. & Samskog, P. (1998). Surface Characteristics of Magnetite in Aqueous Suspension. *Journal of Colloid and Interface Science*, 197(1), 151-159.

Sxahin, S., Demir, C. & Gücer, S. (2007). Simultaneous UV-vis spectrophotometric determination of disperse dyes in textile wastewater by partial least squares and principal component regression. *Dyes and Pigments*, 73(3), 368-376.

Tuzimski, T. & Woźniak, A. (2008). Application of solid-phase extraction and planar chromatography with diode-array detection to the qualitative and quantitative analysis of dyes in beverages. *Journal of Planar Chromatography*, 21(2), 89-96.

Válcárcel Cases, M. & Cardenas, M.S. (2000). *Automatización y miniaturización en Química Analítica*. Córdoba: Springer.

Varcárcel Cases, M. & Gómez Hens, A. (1988). *Técnicas analíticas de separación*. España: Reverté.

Vidotti, E.C., Costa, W.F. & Oliveira, C.C. (2006). Development of a green chromatographic method for determination of colorants in food samples. *Talanta*, 68(3), 516-521.

Vincent Vela, M.C., Álvarez Blanco, S. & Zaragoza Carbonell, J.L. (2006). *Química Industrial Orgánica*. Valencia: Universidad Politécnica de Valencia.

Walton, H.F. & Reyes, J. (2005). *Análisis químico e instrumental moderno*. España: Reverté.

Wilches Zuñiga, M., Ruiz Monsalve, L.F. & Hernández Valdivieso, M. (2007). *Bioingeniería VI. Fundamentos de instrumentación para la química clínica y las radiaciones ionizantes*. Colombia: Universidad de Antioquia.

Wu, R., Qu, J. & Chen, Y. (2005). Magnetic powder MnO–Fe₂O₃ composite a novel material for the removal of azo-dye from water. *Water Research*, 39(4), 630-638.

Wu, R., Qu, J., He, H. & Yu, Y. (2004). Removal of azo-dye Acid Red B (ARB) by adsorption and catalytic combustion using magnetic CuFe₂O₄ powder. *Applied catalysis B: Environmental*, 48(1), 49-56.

Xin-hui, D., Srinivasakannan, C. & Jin-shenga, L. (2013). Process optimization of thermal regeneration of spent coal based activated carbon

using steam and application to methylene blue dye adsorption. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*. In Press, Corrected Proof.

Yoshioka, N. & Ichihashi, K. (2008). Determination of 40 synthetic food colors in drinks and candies by high-performance liquid chromatography using a short column with photodiode array detection. *Talanta*, 74,. 1408-1413.

Zeng, C., Lin, Q., Fang, C., Xu, D. & Ma, Z. (2013). Preparation and characterization of high surface area activated carbons from co-pyrolysis product of coal-tar pitch and rosin. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 104, 372-377.