

# Métodos de detección de colorantes con la actual ISO 3632 y con la nueva propuesta SAFFIC



# Actual ISO 3632

Determinación de  
colorantes  
hidrosolubles ácidos  
mediante HPLC con  
detector DAD



## Análisis de los colorantes hidrosolubles ácidos

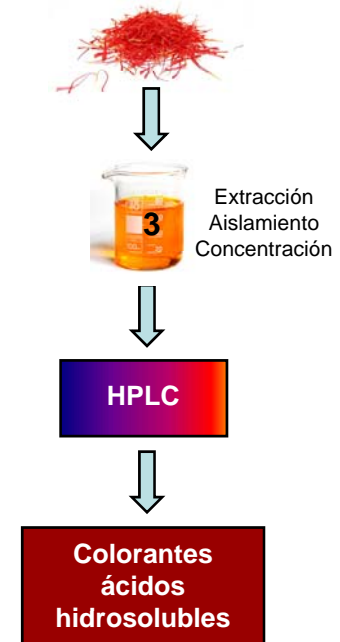
- Amarillo de quinoleína
- Amarillo crepúsculo o amarillo ocaso (amarillo nº 5)
- Tartracina
- Amaranto
- Rojo Ponceau 4R
- Azorrubina o carmoisina
- Naranja II
- Eritrosina
- Rojo Roccelline

# Actual ISO 3632

1. Extracción
2. Aislamiento
3. Concentración

## Análisis HPLC

- Técnica isocrática
- Técnica de gradiente



# Técnica isocrática:

## Condiciones cromatograficas

- **Fase móvil A:** buffer A/acetonitrilo (70:33)(% v/v) (Buffer A: disolución acuosa de pH 4.5 conteniendo 0.001 mol/L de tetra-n-butilamonio hidrógeno sulfato y 0.001 mol/L de potasio de hidrógeno fosfato).
- **Velocidad flujo:** 1,0 mL/min
- **Columna cromatográfica** por HPLC, tipo C18 (25 cm x 4 mm i.d.)
- **Temperatura Columna:** 30 °C
- **Tiempo de análisis mínimo:** 70 min

# Técnica de gradiente:

## Condiciones cromatograficas

- **Fase móvil A:** buffer A/acetoniitrilo (70:33)(% v/v) (Buffer A: disolución acuosa de pH 4.5 conteniendo 0.001 mol/L de tetra-n-butilamonio hidrógeno sulfato y 0.001 mol/L de potasio de hidrógeno fosfato).
- **Fase móvil B:** buffer B/acetoniitrilo (50:53)(% v/v) (Buffer B: disolución acuosa de pH 4.5 conteniendo 0.0014 mol/L de tetra-n-butilamonio hidrógeno sulfato y 0.0014 mol/L de potasio de hidrógeno fosfato).
- **Velocidad flujo:** 1,0 mL/min
- **Columna cromatográfica** por HPLC, tipo C18 (25 cm x 4 mm i.d.)
- **Temperatura Columna:** 30 °C

Tiempo (min)	Fase móvil A (%)	Fase móvil B (%)	Velocidad flujo (mL/min)
0	100	0	1.0
14	100	0	1.0
30	0	100	1.0
40	0	100	1.0



# Propuesta de modificación SAFFIC





## Análisis de los colorantes polares

- Alizarina
- Alizarina Red S
- Acido Carminico
- Chrysoïdina G
- Crocina
- Curcumina
- Riboflavina-5-monofosfato Sodico



# Análisis de los colorantes polares

## Preparación del extracto de azafrán

- Pesar 500 mg de azafrán molido en un pesasustancias y echarlo en un matraz aforado de 1 L con 900 mL de agua destilada.
- Agitar la disolución durante 1 h.
- Enrasar el matraz con agua destilada y homogenizar la disolución.

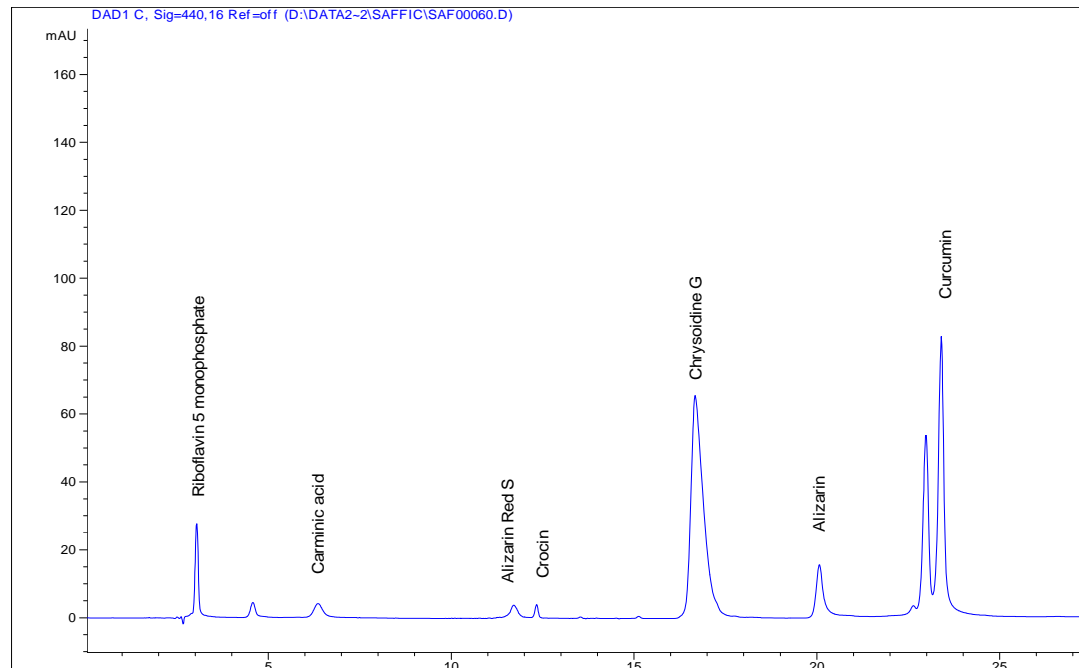


## Técnica de gradiente: Condiciones cromatograficas

- **Fase móvil A:** 1% Acido acético en Agua HPLC
- **Fase móvil B:** 1% Acido acético en Acetonitrilo HPLC
- **Velocidad flujo:** 1,0 mL/min
- **Columna cromatográfica** por HPLC, tipo C18 (25 cm x 4 mm i.d.)
- **Columna a T ambiente**

Tiempo (min)	Solvente A (%)	Solvente B (%)	Velocidad flujo (mL/min)
0	80	20	1.0
4.5	80	20	1.0
20	40	60	1.0
30	5	95	1.0
30.1	80	20	1.0
35	80	20	1.0

# Cromatograma de una disolución estándar de colorantes polares



## Análisis de los colorantes no polares

- Sudan I
- Sudan II
- Sudan III
- Sudan IV
- Sudan Red 7B
- Sudan Red B
- *Trans* apo-8-carotenal

# Análisis de los colorantes no polares

## Preparación del extracto de azafrán

- Pesar 100 mg de azafrán molido y echarlo en un matraz aforado de 10 mL.

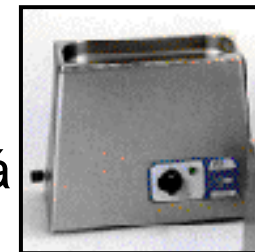


- Añadir 4 mL de cloroformo.



- Colocar el matraz en una gradilla y mantener en el ultrasonidos 15 minutos.

- La temperatura del agua del ultrasonidos no deberá superar 25°C.



# Análisis de los colorantes no polares

## Preparación del extracto de azafrán

- Filtrar la disolución con filtros de membrana PTFE de 0,45  $\mu\text{m}$ . Recogerla en un matraz 5 mL y enrasar con cloroformo.
- Evaporar el cloroformo con flujo de nitrógeno.
- Reconstituir el extracto con 90  $\mu\text{L}$  de cloroformo y 210  $\mu\text{L}$  de la fase móvil A.



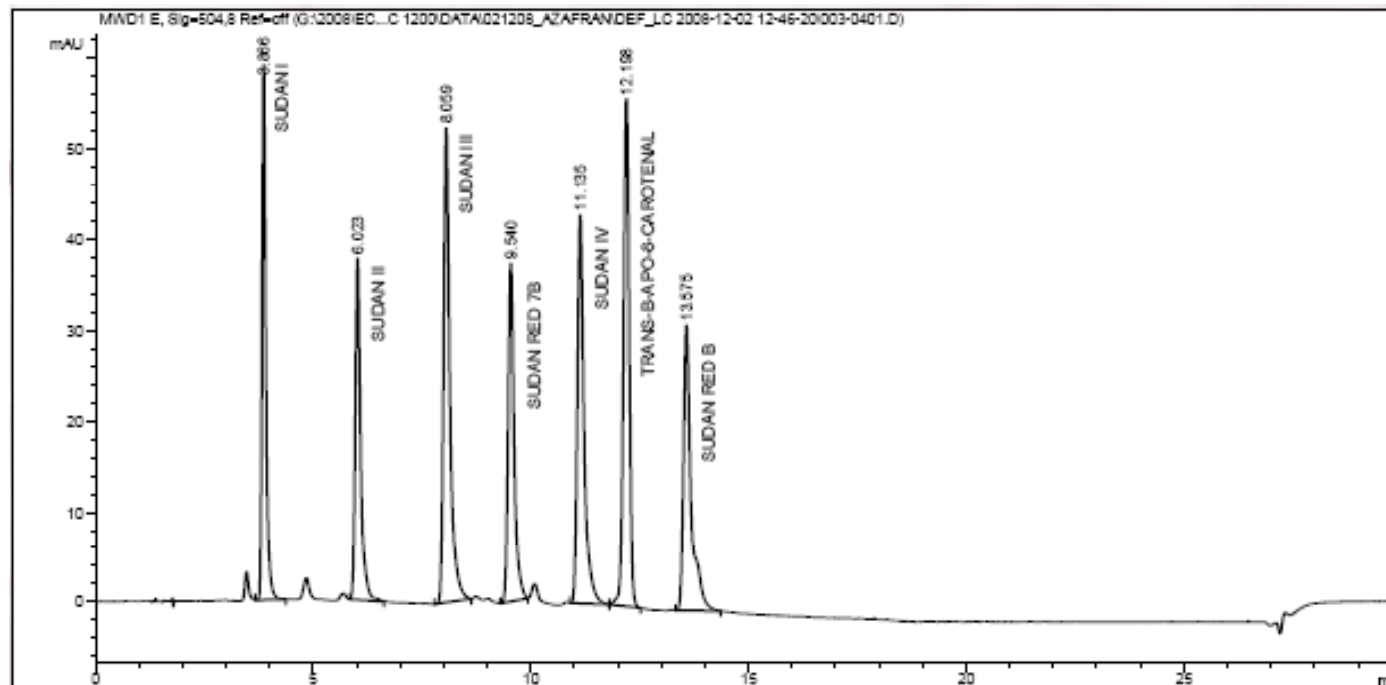
## Técnica de gradiente:

### Condiciones cromatograficas

- **Fase móvil A:** Acetonitrilo/Metanol/Agua (45:45:10)(% v/v)
- **Fase móvil B:** Cloroformo
- **Velocidad flujo:** 1,5 mL/min
- **Columna cromatográfica** por HPLC, tipo C18
- **Columna a T ambiente**

Tiempo (min)	Solvente A (%)	Solvente B (%)	Velocidad flujo (mL/min)
0	98	2	1.5
2.5	98	2	1.5
16	73	27	1.5

## Cromatograma de una disolución estándar de colorantes no polares





# Métodos de detección de colorantes con la actual ISO 3632 y con la nueva propuesta SAFFIC

