

UNIVERSIDAD NACIONAL DE INGENIERÍA

FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA Y TEXTIL



“OBTENCIÓN DE CARMÍN DE COCHINILLA APLICANDO HIDRÓLISIS ENZIMÁTICA”

INFORME DE COMPETENCIA PROFESIONAL

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

INGENIERO QUIMICO

POR LA MODALIDAD DE EXPERIENCIA PROFESIONAL

PRESENTADO POR:

TULA NORMA INGA CUEVA

LIMA – PERÚ

2012

INDICE

DEDICATORIA

RESUMEN

I. INTRODUCCION

II. ORGANO EMPRESARIAL

2.1. Datos Principales de la Empresa

2.2. Presentación de la Empresa

2.3. El Alcance del Sistema de Calidad de la Empresa

2.4. Compromiso Gerencial

2.5. Visión y Misión

2.6. Organigrama Estructural

2.7. Líneas de Producción

III. RELACIÓN PROFESIONAL - EMPLEADOR

IV. TRABAJO PROFESIONAL DESARROLLADO

4.1. Cargos desempeñados

V. DESARROLLO DE ACTIVIDADES PROFESIONALES

5.1. Materia Prima - Cochinilla

5.1.1 Composición Química

5.2. Carmín de cochinilla

5.3. Especificaciones del Carmín de cochinilla por la JECFA

5.3.1 Regulaciones

5.3.2 Propiedades Físico-Químicas

5.4. Proceso tradicional de obtención de Carmín de cochinilla

5.4.1 Descripción de las etapas del Proceso tradicional de Obtención de Carmín de cochinilla

5.5. Descripción del Proceso de Obtención de Carmín de cochinilla

Aplicación Hidrólisis enzimática

5.5.1. Objetivo

5.5.2. Utilización de enzimas

5.5.3. Hidrólisis Enzimática

5.5.4. Hidrólisis Enzimática de la proteína

VI. PARTE EXPERIMENTAL

6.1. Lugar de ejecución

6.2. Materia prima e insumos

6.3. Materiales

6.4. Equipos

6.5. Reactivos

6.6. Método de Análisis

6.6.1. Análisis Físico-químicos para caracterizar la cochinilla

6.6.2. Análisis Físico-químicos para el extracto de cochinilla en el proceso

6.6.3. Análisis de las Propiedades Funcionales del Carmín

6.6.4. Rendimiento del proceso

6.7. Obtención de carmín de cochinilla aplicando hidrólisis enzimática

6.7.1. Desarrollo Experimental

6.7.2. Determinación del Tiempo de Hidrólisis enzimática

6.7.3. Determinación de la concentración de enzima óptima en la obtención del carmín de cochinilla

6.7.4. Rendimiento y tiempo de extracción de la cochinilla hidrolizada

6.7.5. Rendimiento y tiempo de extracción del proceso tradicional

VII. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

VIII. GLOSARIO

IX. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

X. ANEXOS

ANEXO I Colorantes alimentarios; un arco iris de riesgos

ANEXO II Carmín de cochinilla y el caso de las alergias

ANEXO III Documentos de Procedimiento de Gestión de Calidad

ANEXO IV Métodos de Análisis Aplicados

ANEXO V Gestión de Documento de Aseguramiento de la Calidad (G-D-AC-04)

ANEXO VI Instructivo G-I-PR-20 Extracción y Filtrado-Carmín

ANEXO VII Instructivo G-I-PR-23 Precipitado y Prensado de Carmín

ANEXO VIII Instructivo G-I-PR-17 Pre-secado, Tratamiento Térmico,
Secado y Enfriamiento de Carmín

ANEXO IX Instructivo G-I-PR-13 Molienda y Mezcla de Productos
Brutos

ANEXO X JECFA

ANEXO XI Relación Profesional-Empleador

DEDICATORIA

A mi esposo por su apoyo moral para la realización del presente trabajo, a mi mamá por todo el esfuerzo y amor dedicados para ser profesional, a mis hermanos que me inspiran ejemplo y perseverancia, a mi hija por su comprensión, a mis colegas Químico Pastor López, a la Ing. Rosa Ruiz compañeros de labores en la empresa Globenatural Internacional S.A., a la técnica de laboratorio de la Universidad Agraria la Molina Sra. Karina Ccapa Ramírez por su colaboración en las pruebas experimentales, y al Ingeniero Warren Reátegui asesor del informe de competencia profesional por sus sugerencias en el desarrollo del presente informe.

RESUMEN

El consumo de colorantes sintéticos como aditivos en la industria alimentaria, está siendo cada vez restringido, por las entidades reguladoras en aseguramiento, saneamiento en alimentos, debido a sus efectos toxicológicos, entre los que se encuentra el colorante rojo sintético azoico FD&C Red No. 2, conocido como Amaranto ó E 123, (código alimentario según la Unión Europea), utilizados para dar color rojo a alimentos y cosméticos, siendo prohibido su consumo desde 1976 por la Administración de Alimentos y Drogas (FDA) [1], por su efecto cancerígeno. Este colorante ha sido sustituido por el colorante natural conocido como carmín de cochinilla, siendo en la actualidad, unos de los colorantes naturales rojos, con más demanda mundial a pesar de su elevado precio. En este sentido, las industrias procesadoras de carmín tienen cada vez el reto en mejorar o desarrollar nuevas alternativas en su proceso; así como, capacitar a los campesinos en la siembra tecnificada de la materia prima cochinilla (*Dactilopius coccus Costa*), para que sea uniforme y de buena calidad. La Industria de los colorantes naturales derivados de la cochinilla, semilla de achiote, coronta de maíz morado, cúrcuma tienen un proceso químico convencional aplicado por las empresas nacionales de colorantes naturales. Durante mi desarrollo profesional en la empresa Globenatural Internacional S.A., se han ejecutado diferentes tipos de proyectos con la finalidad de mejorar el proceso de producción del carmín; tales como, la reducción del tiempo de proceso, reemplazando la etapa de reposo de 18 horas (utilizada para precipitar las proteínas), por una etapa controlada de pH [4,5-5,0] con la finalidad de precipitar las proteínas de alta masa molecular, y separarlo por filtración en una filtroprensa. Otro proyecto de mejora introducida en el proceso, es la implementación de un secador vertical, con la finalidad de pre-secar la pasta de carmín, reduciendo la humedad de un 35% a 15%, y así reducir el tiempo de secado final. La implementación de un

intercambiador de calor en la etapa de precipitación, ayuda a disminuir el consumo de agua y ahorro de energía, reutilizando el agua caliente proveniente del intercambiador de calor, (etapa de extracción), para ello se rediseñó algunos equipos. Todos estos proyectos ejecutados, han permitido mejorar el rendimiento de la producción, así como ser más eficientes y competitivos. En la empresa Globenatural Internacional S.A. durante la Gestión de la Calidad, se verificaron la calidad de las materias primas, insumos, reactivos químicos, productos intermedios y terminados de la División Colorantes y de la División Industrial. Así mismo se dirigió, supervisó, controló y coordinó con las diferentes áreas, como jefatura de Control de Calidad; y en la etapa para la certificación del Sistema de Calidad ISO 9001, se elaboró los procedimientos de los procesos productivos, Instructivos, Registros de Producción y Plan de Calidad de todos los productos. Además, como responsable del Área de Producción de Bixina y Norbixina (pigmentos carotenoides derivados de la semilla de achiote, *Bixa Orellana L.*), se realizaron pruebas para separar la grasa residual del proceso acuoso de norbixina utilizando tierras filtrantes. Finalmente, como parte del área de Investigación y desarrollo, se realizó el estudio a nivel de laboratorio en la **“Obtención de Carmín de Cochinilla Aplicando Hidrólisis Enzimática”**, así como comparar sus características físico-químicas, con el obtenido por el proceso tradicional industrial, que se viene aplicando actualmente. El desarrollo de esta propuesta fue ejecutado en coordinación con el laboratorio de la empresa Globenatural y con el laboratorio de la Facultad de Industrias Alimentarias de la Universidad Nacional Agraria la Molina. La información obtenida en este trabajo servirá de guía para mejorar el proceso de extracción del ácido carmínico, y será una alternativa para la obtención del carmín de cochinilla.

I. INTRODUCCION

El carmín de cochinilla tiene una alta cotización en el mercado internacional, y su demanda aumenta cada vez más debido a la tendencia mundial por el consumo de productos naturales, considerándose un colorante exento de certificación por la FDA-Código Federal de Regulaciones (CFR) [2], mientras que el uso de los colorantes sintéticos derivados del petróleo, son cuestionados por sus efectos tóxicos neuroconductuales en niños (anexo I). La Comisión de Regulaciones Federales concluye que los datos disponibles de la evaluación de estos efectos tóxicos, no permiten establecer una dosis segura de uso de estos aditivos para dar color en alimentos y medicamentos; por tanto, con el fin de proteger la salud deja en la lista provisional a estos colorantes. Por lo que, los colorantes rojos cuestionados, están siendo sustituidos por el pigmento rojo natural, conocido como carmín de cochinilla. Esta tendencia, está generando un mayor movimiento económico en torno a este producto, lo que obliga a buscar mejoras en la calidad de la materia prima, así como en el proceso de producción a fin de cumplir con estas nuevas exigencias. Esto está obligando, a desarrollar cambios importantes en el proceso productivo, a fin de conseguir una variedad de productos derivados del carmín de cochinilla que satisfagan las necesidades del mercado. Esto ha sido posible gracias al desarrollo tecnológico en el área de Investigación y Desarrollo, siendo sus resultados confidenciales por parte de la empresa. En este trabajo, el uso de la enzima Neutrasa (proteasa) se ha aplicado antes de la etapa de extracción del ácido carmínico; con la finalidad de ablandar la corteza de la pared de la cochinilla, y actuar en los enlaces peptídicos de las estructuras proteicas unidas al ácido carmínico, esto permitió obtener una mejor eficiencia en la extracción del principio activo. El objetivo de la investigación al respecto, ha sido evaluar el efecto de la aplicación de la enzima Neutrasa en el rendimiento del proceso y las características físico-

químicas del carmín obtenido.

Las nuevas corrientes biotecnológicas, en los últimos años han desarrollado diversos procedimientos para mejorar la eficiencia en la extracción de colorantes por el uso de enzimas [3], donde al evaluarse el uso de enzimas en la extracción del colorante a partir de semillas de achiote (*Bixa Orellana L.*), se obtiene un incremento en el rendimiento de extracción de la bixina en 13% y norbixina en 11%, respecto a la extracción acuosa convencional.

También existen estudios realizados [4] sobre colorantes ligados a proteínas, donde emplean enzimas de carácter proteolítico, desarrollando un método industrial de extracción logrando que la proteína se descomponga en pequeñas moléculas, destruyéndose el enlace de las proteínas con el pigmento.

En las convocatorias de la Unión Europea (UE) sobre colorantes, están en discusión el tema de las alergias a causa de las proteínas de alta masa molecular que están presentes en el carmín de cochinilla (anexo II). En este sentido, el trabajo desarrollado empleando la enzima neutrasa ha permitido reducir estas proteínas; que se demuestra, por el menor porcentaje de proteínas obtenidos en el producto final, respecto al proceso tradicional. Finalmente, resulta interesante mencionar que en este trabajo se detallan los principales conceptos del proceso productivo actual del carmín de cochinilla, así como la metodología de aplicación de la enzima neutrasa, antes de la etapa de extracción del ácido carmínico, siendo una buena alternativa de obtener carmines más limpios, con buenos rendimientos de extracción, mejor proceso de filtrado (evitando pérdidas de producto), menor tiempo de proceso.

II. ORGANO EMPRESARIAL

2.1 Datos Principales de la Empresa

Nombre: GLOBENATURAL INTERNACIONAL S.A.

Razón Social: Empresa de Colorantes naturales, Agrícolas y División Industrial

RUC: 20382056681

Dirección: Alameda San Marcos N° 1455 Urb. Huertos de Villa – Chorrillos

En la figura 2.1 se observa la Empresa.

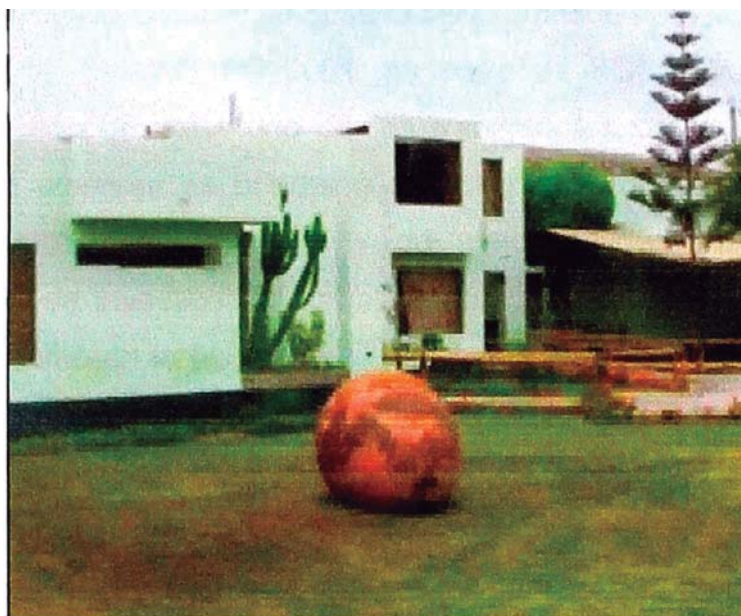


Figura N° 2.1 Empresa Globenatural Internacional S.A

2.2 Presentación de la Empresa

La compañía GLOBE DEL PERÚ S.A., fue la primera en producir colorantes naturales derivados de la cochinilla en el Perú, a mediados de los años 70's. Posteriormente, desarrolló colorantes naturales derivados del achiote y el maíz morado. En la actualidad, la compañía se denomina

GLOBENATURAL INTERNACIONAL S.A, forma parte del grupo empresarial peruano, "Grupo Michell", que viene realizando actividades industriales y comerciales en distintos rubros en el país desde 1930, siendo el sector textil el de mayor incidencia en su volumen de negocios. La compañía ha diversificado sus negocios, teniendo actualmente 3 líneas de producción: División Colorantes Naturales, División Agrícola y División Industrial. A la par con el actual proceso de globalización, la compañía atiende a más de 200 clientes en más de 35 países en los 5 continentes. En el Año 2006, la Gerencia General planteó la meta de obtener la Calificación del Sistema de Calidad, el desarrollo del trabajo fue encargado a la Sub Gerencia de Gestión de la Calidad dirigida por la Ing. Rosa Ruiz. El 12 de Octubre se obtiene la aprobación para la Certificación del Sistema de Calidad ISO 9001 por parte de SGS, la que se logró gracias al apoyo de cada uno de los trabajadores de la empresa. La misión de la empresa es brindar a sus clientes productos que tengan mayor diversidad de aplicación y de mejor calidad por lo que el departamento de Investigación trabaja en estos retos. En el diagrama de procesos descrito en la figura N° 2.2, se enfoca la interrelación entre los procesos estratégicos, la cadena de valor y de apoyo.

2.3 El alcance del Sistema de Calidad de la Empresa:

Los objetivos planteados por la Gerencia General, se lograron concretar con la implementación del Sistema de Calidad ISO 9001 que abarca a todas áreas de trabajo:

- Investigación & Desarrollo
- Producción y Comercialización de Colorantes e Ingredientes Naturales
- Servicios de Fabricación de Productos de la Línea Barman (Base Sour, Base de Algarrobina).

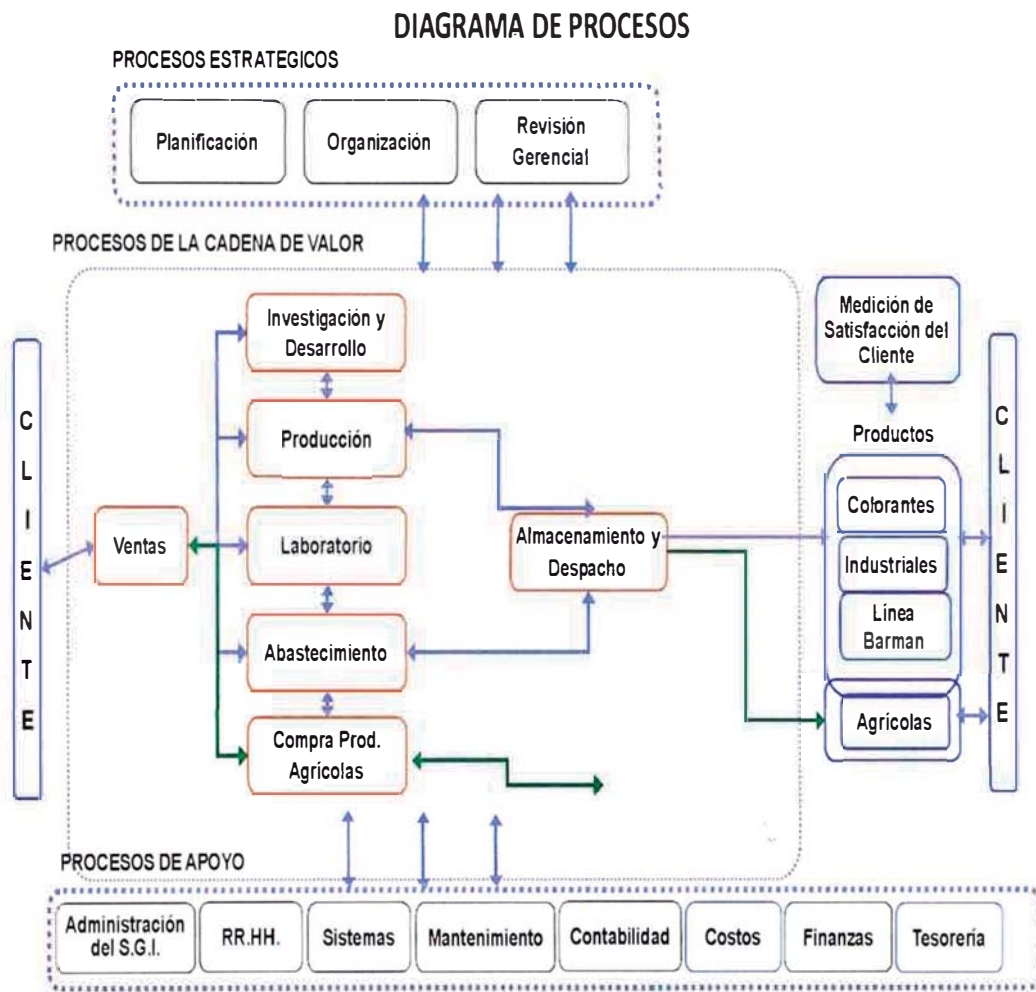


Figura N° 2.2 Diagrama de Procesos de la Empresa Globenatural Internacional S.A.

Fuente: Manual de Gestión Integrada ISO 9001 y BASC de Globenatural Internacional S.A.

- **Exportación de Productos Agrícolas**
Los productos que se comercializan al mercado Internacional son: Frijol castilla, Frijol de palo, Frijol zarandaja, pallar, paprika, aceitunas, etc. En la figura 2.3 se muestra los productos que se comercializan al exterior (ver fotos (a), (b), (c), y (d)).
- **Investigación & Desarrollo, Producción y Comercialización de Productos Químicos para mantenimiento y limpieza Industrial e Institucional.** En la figura N° 2.4 se muestran envasado, limpieza y presentación de los productos.
- **Países a los cuales se exporta**
Estados Unidos, Brasil, México, Alemania, Reino Unido, Portugal, España, Japón, Argentina, Turquía, Italia, Arabia Saudita, Kuwait, Francia, Venezuela, Yemen, Chile, Grecia, China, Bélgica, Lebanon, Taiwán, Australia, Bahreín, Israel, Canadá, Egipto, Costa Rica, Suecia, Corea del Sur (República de Corea), Austria.

En el cuadro 2.1 se muestra la Legislación aplicable al Sistema de Gestión Integrado División Colorantes Naturales, Agrícola e Industrial.

2.4 Compromiso Gerencial

La Gerencia General de Globenatural Internacional S.A. está comprometida con el desarrollo, implementación y mejora del Sistema de Gestión Integrado, por lo que realiza las acciones siguientes:

- Comunica a sus trabajadores la importancia de satisfacer los requisitos del cliente.
- Establece una **Política de Calidad**, que será revisada anualmente, para asegurar su vigencia.
- Asegura que se planifique la gestión integral del sistema y se establezcan los **Objetivos y Metas de Calidad** y los **Indicadores de Gestión**.



(a)



(b)

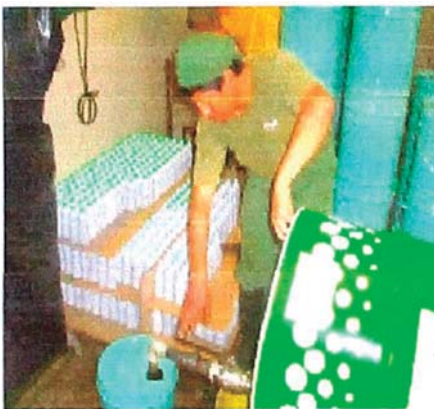


(c)



(d)

Figura N° 2.3 (a) Plantaciones de pprika, (b) cosecha e inspeccin, (c) transporte (d) Distribucin de Productos Agrícolas



(a)





(b)

Figura N2.4 (a) Envasado de Productos Químicos y de Limpieza,(b) Presentación en unidades

Cuadro N° 2.1 Legislación aplicable al Sistema de Gestión Integrado.

DIVISIÓN COLORANTES NATURALES

-  Summary of Color Additives Listed for Use in the United States in Foods, Drugs, Cosmetics, and Medical Devices. U. S. FDA / CFSAN.
-  Compendium of Food Additives Specifications. Food Additives (uses other than as flavouring agents) Database. Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA).
-  EUR-Lex (Legislación de la Unión Europea relacionada a aditivos alimentarios).
-  Reglamento Sobre Vigilancia y Control Sanitario de Alimentos y Bebidas (Decreto Supremo N° 007-98-SA).
-  Codex Alimentarius-Código Internacional Recomendado de Prácticas- Principios Generales de Higiene de los Alimentos

DIVISIÓN AGRÍCOLA

 No Aplica.

DIVISIÓN INDUSTRIAL

 No Aplica.

Fuente: Manual de Gestión Integrada ISO 9001 de Globenatural Internacional S.A.

- Realiza por lo menos una vez al año revisiones por la dirección.
- Asegura la disponibilidad de recursos.
- Define claramente los **niveles de autoridad y responsabilidades** a todo nivel de la organización.
- Fortalece los mecanismos de comunicación interna.

Al identificar los procesos del Sistema de Gestión Integral (SGI), se han determinado las necesidades de los clientes y como mínimo una vez al año, se efectuarán encuestas de satisfacción a los clientes, el formato se muestra en la figura 2.5. Sus resultados serán incorporados como requisitos adicionales destinados a aumentar su satisfacción. En la figura 2.6 se observa el informe de la encuesta de satisfacción del cliente.

2.5 Visión y Misión

Ser una compañía reconocida por su liderazgo y su alto nivel de competitividad en cada una de sus unidades de negocios, que logre satisfacer las expectativas de sus clientes, colaboradores y accionistas. Promover a un grupo humano que practique los valores de la empresa, con espíritu de superación, comprometido con el cambio y el trabajo en equipo. Desarrollar innovar productos y servicios que satisfagan las necesidades de nuestros clientes y del mercado con productividad y eficiencia.

Generar valor fortaleciendo a la empresa, contribuyendo al bienestar de los colaboradores, retribuyendo el capital invertido y participando en el desarrollo del entorno.

2.6 Organigrama Estructural


En el diagrama de la figura 2.7 se muestra el organigrama estructural de la empresa Globenatural Internacional S.A.

2.7 Líneas de Producción

La División Colorantes Naturales produce alrededor de 100 000 kg al año, atendiendo las necesidades más exigentes de la industria alimentaria, cosmética y farmacéutica.

La División Agrícola comercializa más de 5500 toneladas por año, logrando ser el mayor exportador peruano de frijoles secos.

La División Industrial produce químicos tales como, desengrasantes, desincrustantes-desoxidantes, desinfectantes o sanitizantes, lubricantes para cadenas transportadoras de botellas, solventes dieléctricos, aditivos de combustión, aditivos para lavado de botellas y servicios de fabricación de productos de la línea barman.



ENCUESTA DE SATISFACCION DEL CLIENTE

Su opinión es importante para nosotros, para poder brindarle mejores productos y/o servicios.

DATOS DEL CLIENTE:

Razón Social:	Nombre y Apellidos:
Productos que adquiere:	Cargo:

1. CALIDAD DE PRODUCTOS. ¿Cómo calificaría la calidad de los productos y/o servicios que le brinda?

Mala Regular Buena Muy Buena

2. TIEMPOS DE ENTREGA. ¿Se cumple con los tiempos de entrega de los productos y/o servicios?

Nunca Pocas veces Muchas veces Siempre

Figura N° 2.5 Formato de Encuesta de Satisfacción del cliente.

Fuente: Manual de Gestión Integrada ISO 9001 de Globenatural Internacional S.A.

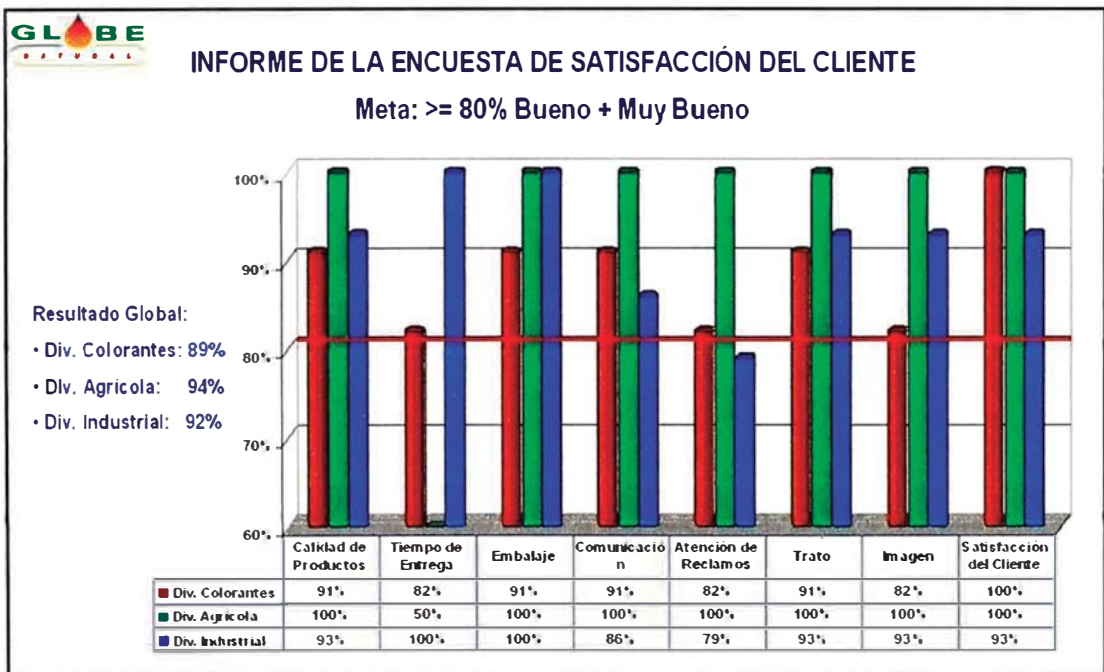


Figura. N° 2.6 Informe de la Encuesta de Satisfacción del Cliente

Fuente: Manual de Gestión Integrada ISO 9001 de Globenatural Internacional S.A.

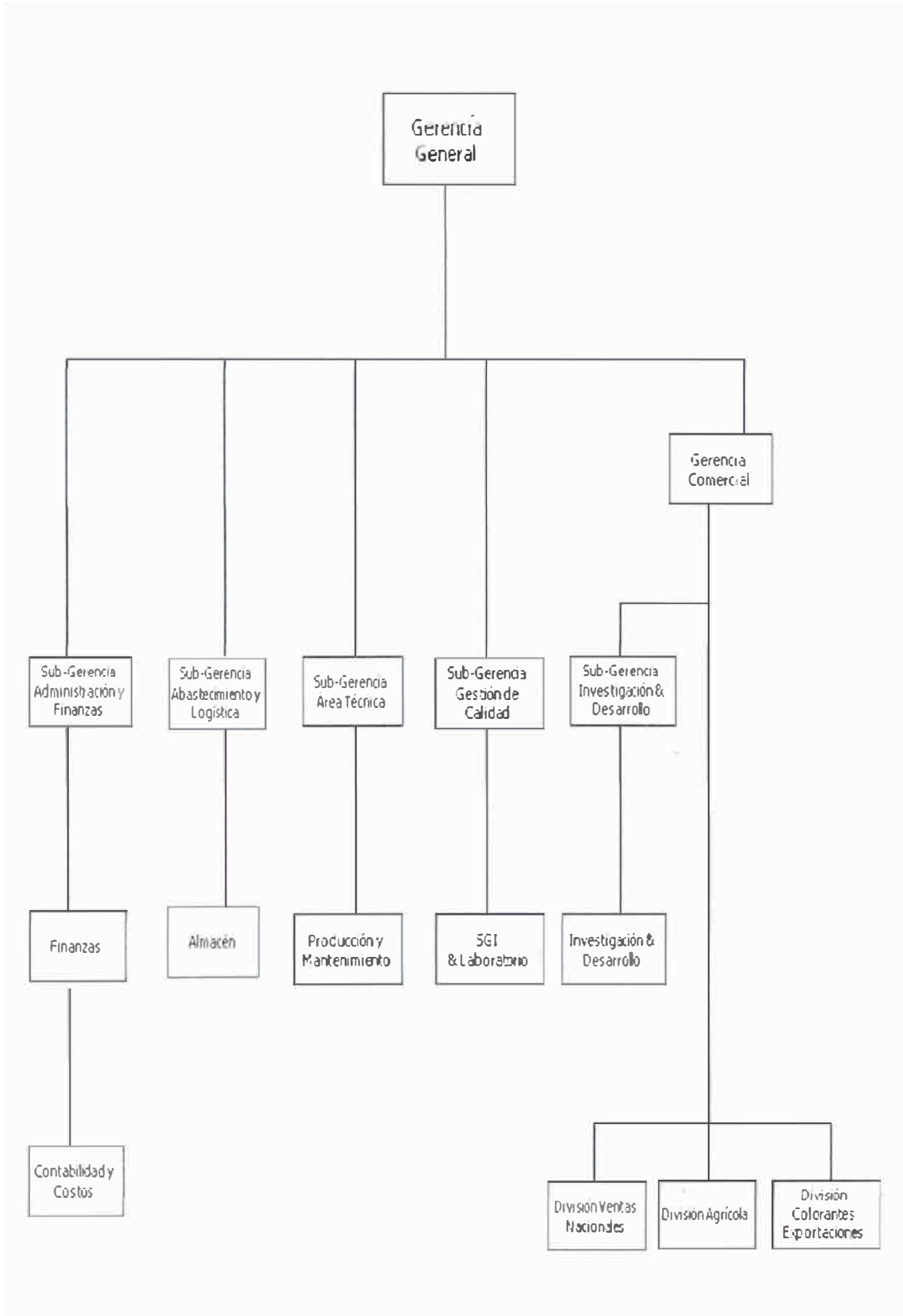


Figura 2.7 Organigrama Estructural de la Empresa

III. RELACION PROFESIONAL-EMPLEADOR

La relación profesional – empleador (anexo XI) ha sido siempre beneficiosa para mi persona, así como para el área técnica en la que he laborado, la buena relación con mis jefes directos, se ha ido fortaleciendo gracias al reconocimiento de la buena performance de las actividades desarrolladas y del cumplimiento del alcance en cada uno de los proyectos asignados. Las áreas técnicas de las cuales forme parte como personal técnico, estuvo a cargo de:

- Investigación y Desarrollo: Químico Pastor López
- Gestión de la Calidad: Ing. Rosa Ruiz Leiva
- Producción: Ing. Guillermo Cabezudo

IV. TRABAJO PROFESIONAL DESARROLLADO

4.1 Cargos desempeñados

Jefatura de Control de Calidad

- Dirige y supervisa las labores de laboratorio
- Participa en la atención y solución de las quejas o reclamos de los clientes/consumidores así como las observaciones de entidades certificadoras o sanitarias en coordinación con los responsables de áreas correspondientes
- Coordina la revisión periódica del plan - Análisis de Puntos Críticos de Control (HACCP); y del plan de Higiene y Saneamiento / Buenas Prácticas de Manufactura (BPM)
- Dirige y supervisa el control de proveedores y de la calidad e inocuidad de las materias primas, insumos, envases y embalajes mediante la exigencia del cumplimiento de las especificaciones con requisitos mínimos de compra en coordinación con el área de Producción, logística Mantenimiento y Gestión
- Supervisa y aprueba los controles y especificaciones en el proceso de producción.
- Participa en las reuniones del equipo HACCP

Asistente de Sub-Gerencia de Gestión de la Calidad

En la etapa para la certificación del Sistema de Calidad ISO 9001, se elaboró los procedimientos de los procesos productivos, Instructivos, Registros de Producción y Plan de Calidad de todos los productos de la Línea Colorantes como de cochinilla, achiote y antocianina. Supervisión y control del proceso productivo de la línea de colorantes y monitoreo de los puntos críticos de control, que aseguren la calidad del producto final. Esta inspección se complementa con los controles de los registros diarios de lotes, además se maneja un plan de BPM, que asegura la inocuidad de

los productos. Monitoreo de los análisis microbiológicos de los productos terminados y de control de ambientes en las áreas productivas.

Asistente de la Sub Gerencia de Investigación y desarrollo

Como parte integrante del Soporte Técnico del área, se analiza la causa de la investigación y el desarrollo, esto puede ser por necesidad del mercado, problemas técnicos, por ahorro de costos u otro.

La ejecución de los proyectos de investigación se continúa hasta que se obtenga el desarrollo/producto terminado que cumpla con las características requeridas para el producto en estudio. Si no se cumple, se volverán a replantear nuevas hipótesis o efectuar nuevas pruebas.

V. DESARROLLO DE ACTIVIDADES PROFESIONALES

La actividad profesional desarrollada, se basa en los cargos desempeñados descritos anteriormente y los procedimientos están documentados en el Manual de Gestión de Calidad, tales como Procedimientos de Aseguramiento de la Calidad (G-P-AC-01), Procedimientos de Investigación y Desarrollo (G-P-ID-01) (anexo III). El desarrollo del estudio a nivel de laboratorio de la “ **Obtención de Carmín de Cochinilla Aplicando Hidrólisis Enzimática**” como una nueva alternativa de producción del carmín y comparar sus características físico-químicas, con el obtenido mediante el proceso tradicional, que se viene aplicando a nivel industrial; para ello es importante hacer una reseña de las características de la materia prima, cochinilla (*Dactilopius coccus Costa*), especificaciones técnicas del carmín, conceptos de hidrólisis proteica y descripción del proceso de producción de cochinilla actual a nivel industrial. La cochinilla es un insecto fitófago, que vive como huésped en la tuna (*Opuntia ficus indica*), alimentándose de la savia de las pencas, es recolectado, secado y luego comercializado. Su precio de venta está sujeto al contenido de ácido carmínico, el cual se determina mediante el análisis de la cochinilla descrito en el documento G-MT-AC-02 (anexo IV) y de su calidad. La aceptación y/o aprobación de la materia prima, por parte de control de calidad, se basa en los parámetros descritos en el documento Criterios de Aceptación de Materias Primas/Gestión de Documentos de Aseguramiento de la Calidad (G-D-AC-04) (anexo V).

5.1 Materia Prima- Cochinilla

Lock (1997) menciona, la cochinilla es el nombre con el que se conoce al insecto *Dactylopius coccus Costa*. Ha sido conocido desde la época prehispánica por los peruanos y aztecas quienes lo utilizaron como fuente de color rojo. El principio activo del colorante se encuentra en las hembras desecadas del insecto; ellas contienen aproximadamente 18 a 23% de

ácido carmínico sobre su peso seco [5]. En las figuras 5.1 y 5.2 respectivamente se puede observar la cochinilla en su habitad y seca.

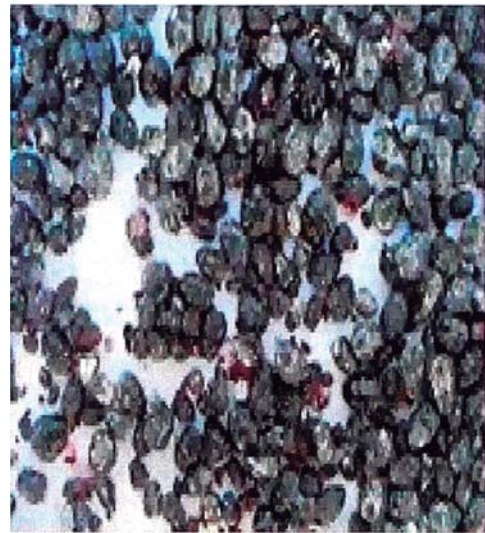
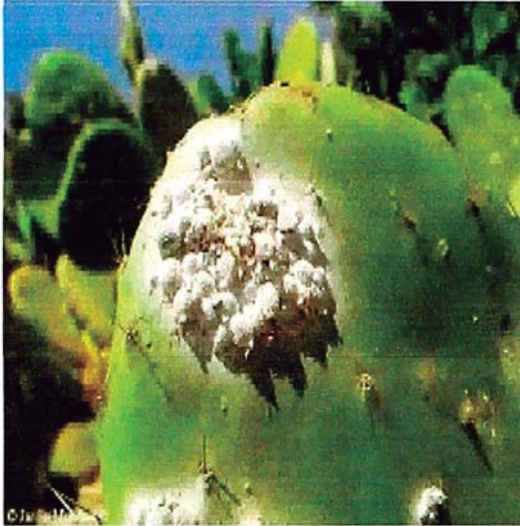


Figura N° 5.1 Cochinita en su habitad

Figura N° 5.2 Cochinita seca

5.1.1 Composición Química

Globe del Perú S.A. (1998) [6] manifiesta que la composición química de la cochinilla de primera calidad es la que se indica en la tabla 5.1.

Tabla N° 5.1 Composición Química de la Cochinita

COMPUESTO	PORCENTAJE
Acido carmínico	min 19%
Grasas y Ceras	12,53%
Proteínas	51,83%
cenizas	5,14%
agua	11,50%

Fuente: Globe del Perú S.A. (1998)

En la tabla 5.2 se encuentran los criterios de aceptación de la materia prima cochinilla.

Tabla N° 5.2 Criterios de Aceptación de Materia Prima Cochinilla [7]

COCHINILLA	RESULTADO		
	APROBADO	DESAPROBADO NEGOCIABLE	DESAPROBADO TOTAL
Características	Parámetros de Control de Calidad		
Concentración	19% mín.	18,9% - 17,5%	menor a 17,5%
Humedad	10% máx.	10,1% - 12%	mayor a 12%
Segunda	2% máx.	2,1% - 3%	mayor a 3%
Piedras	0,5% máx.	0,6% - 2%	mayor a 2%
Adulterados	1,5% máx.	1,6% - 3%	mayor a 3%
Polvillo	0,5% máx.	0,6% - 2%	mayor a 2%

Fuente: Globenatural Internacional S.A. (2005)

La Empresa peruana Chr. Hansen S.A. (2005) [8] manifiesta que la Cochinilla tiene la siguiente composición: Humedad (8 a 12%), Cera y grasa (10 a 12%), Proteínas (50 a 54%), Acido Carmínico (18 a 22%), Cenizas (3 a 5%), Carbohidratos (3 a 10%).

5.2 Carmín de cochinilla

El Carmín de cochinilla es un colorante natural, pertenece al grupo de las Quinonas – subdivisión Antraquinonas [5]. (ver la figura 5.3)

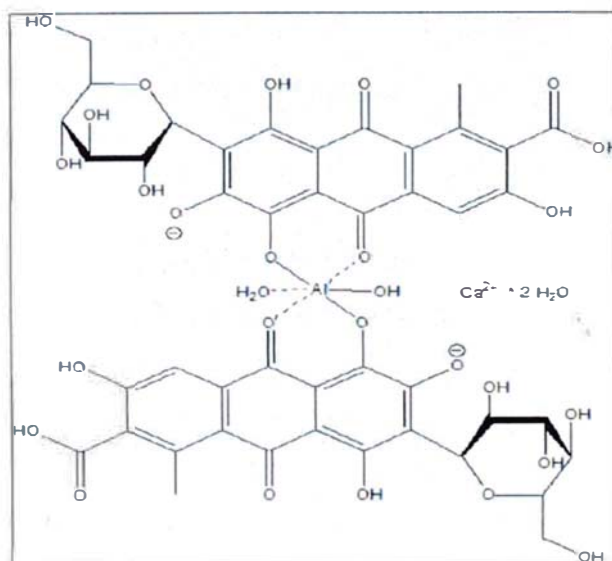


Figura N° 5.3 Estructura química del Carmín de cochinilla

5.3 Especificaciones del Carmín de cochinilla por la JECFA (1993) [9]:

Sinónimos: Carmín, CI Natural Red 4; ECC N° E120.

Definición: El carmín de cochinilla se obtiene por extracción acuosa del cuerpo del insecto hembra seco de la cochinilla, *Dactylopius coccus* Costa; el colorante principal es un quelato de aluminio hidratado de ácido carmínico, donde el aluminio y el ácido carmínico están en la relación molar de 1:2. En los productos comerciales, el colorante está presente en asociación con cationes amonio, calcio, potasio o sodio, solo o en combinación y también en exceso. Los productos también pueden contener proteínas derivados del insecto y carminato libre o pocos cationes aluminio.

Clase: Antraquinona

Números de código: CI (1975) N° 75470, CAS N° 1390-65-4

Nombre Químico: quelato aluminico hidratado de acido carmínico (7 - β - D - glucopiranosil - 3, 5, 6, 8-tetrahidroxi - 1 - metil - 9, 10 - dioxo - antraceno - 2 - acido carboxilico)

Formula química del acido carmínico: $C_{22}H_{20}O_{13}$

Masa molecular (ácido carmínico): 492,39

Análisis: Contenido no menos que 50% de $C_{22}H_{20}O_{13}$ en base seca

Descripción: polvo o sólido desmenuzable rojo a rojo oscuro

Uso: colorear alimentos

Dosis de ingesta: La JECFA /OMS estableció una ingesta aceptable diaria (ADI) de 5 mg/kg de peso corporal [9].

Especificaciones de JECFA (véase la tabla 5.3)

Tabla N° 5.3 Especificaciones Técnicas de Carmín [9]

EVALUACIÓN	ESPECIFICACIONES
Materia volátil (135°C) por 3 h	No más de 20 %
Ceniza	No más de 12 %
Plomo (Pb)	No más de 10 ppm
Arsénico (As)	No más de 1 ppm
Acido carmínico (% AC)	No menos de 50 %
Proteína (N x 6,25)	No más de 25%
Criterio microbiológico	<i>Salmonella</i> ausente

En la figura 5.4 se puede observar las aplicaciones del carmín en bebidas, kamaboko y cosmético respectivamente.

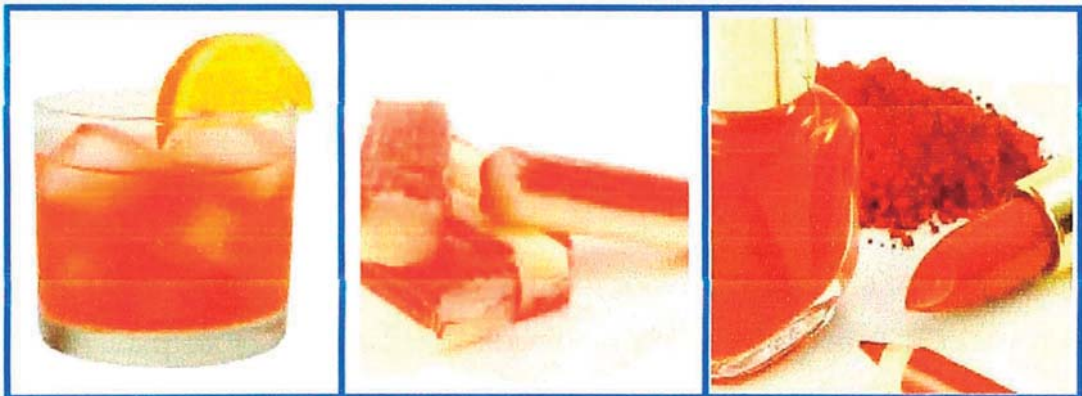


Figura N° 5.4 Aplicación del carmín en la Industria alimentaria y cosmética.

5.3.1 Regulaciones

Las regulaciones que la FDA (Food and Drug Administration) [1] tiene jurisdicción sobre certificación de aditivos colorantes, están codificados bajo el Título 21, Código de Regulaciones Federales, en la parte 73, existe un listado de aditivos colorantes exentos de certificación, en la Sección 73.100 se encuentra el carmín y el extracto de cochinilla, identificándolo con el número 21CFR-73.100.

5.3.2 Propiedades Físico-Químicas

Globe del Peru S.A. (1998) [6] menciona, el carmín es un polvo fino de tonalidad rojo brillante a morado, de concentración no menor de 50%, e insoluble en agua. Estable en un rango de pH de 2,0 a 9,0; a la temperatura de 180°C; y a la luz solar. Tiene como carga lactosa o maltodextrina. En la tabla 5.4 se muestran lecturas de color determinadas por el laboratorio Globenatural Internacional S.A.

Tabla N° 5.4 Lecturas de color de diversas tonalidades de carmín

HunterLab Universal Software Master Color Data (CIELAB 10°/D65)								
	ID	Delta	L*	a*	b*	dL	da	db
Standard	PRONEX 1		64,97	26,25	0,06			
Sample 5	AZULADO	Darker, Bluer, less Chromat.	64,80	11,57	-1,28	-0,17	-14,68	-1,34
Sample 4	MORADO	Lighter, Bluer, less Chromat	65,51	17,36	-5,83	0,54	- 8,89	-5,89
Sample 3	AMARILLO	Lighter, Redder, More Chromat.	66,90	28,14	2,30	1,93	1,89	2,24
Sample 2	PRONEX.1	Equal	64,97	26,25	0,06	0,00	0,00	0,00
Sample 1	ROJO/BRILL	Darker, Redder, More Chromat.	60,73	32,07	1,51	-4,24	5,82	1,45

Fuente: Laboratorio Globenatural Internacional S.A. [7]

Una de las propiedades principales del colorante es su tonalidad. Para medirla se utiliza una escala de medición de color. La organización responsable es la Comisión Internacional de Iluminación (CIE) [10] que estableció la escala de medición CIELAB. En la actualidad se utiliza este sistema o escala para organizar los colores de cada lote de producción. Además, se registra los valores de: L*, a*, b*; obtenidos en el equipo Colorimétrico Modelo Color Quest II de Hunter Lab. Cuando se expresa un color en CIELAB, el valor de L* indica la intensidad de luminosidad, esto es, su valor de claridad que puede clasificar los colores en claros u oscuros. Ejemplo, cuando se compara un tomate con un rábano, el rojo del tomate parece ser más claro. El rábano tiene un valor de rojo más oscuro. La característica de **valor** (claridad) se representa en el eje vertical. El valor de a* indica la tonalidad roja/ verde y se encuentra en eje de las X, el valor de b* indica la tonalidad amarilla/azul y se encuentra en

el eje de la Y (Véase las figuras 5.5 y 5.6 respectivamente). El **Matiz**, es como se percibe el color de un objeto: rojo, anaranjado, verde, azul, etc. Lo llamativo o lo apagado de un color lo describe el croma. Al comparar el tomate y el rábano, el rojo del tomate es mucho más llamativo; el rábano parece más apagado. En otras palabras, el croma es una indicación si el color es semejante a un grisado o un matiz puro. En la figura 5.6 el croma cambia en el plano horizontal donde los colores en el centro son más grises (apagados) y se hacen más saturados (llamativos) mientras se acercan al perímetro. Por lo tanto, cada color tiene su propia apariencia, basada en estos tres elementos: matiz, valor, croma. Al describir un color usando estos tres atributos, precisamente se identifica un color específico y lo distingue de cualquier otro. [10]

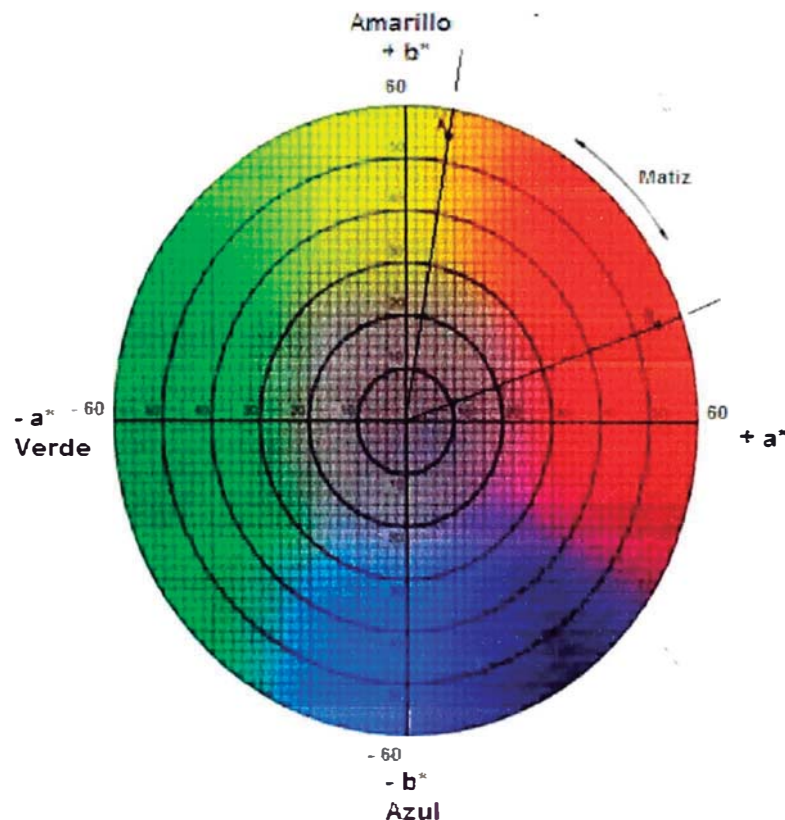


Figura. N° 5.5 Diagrama de Color CIELAB

Fuente: X-Rite, Incorporated USA (1995)

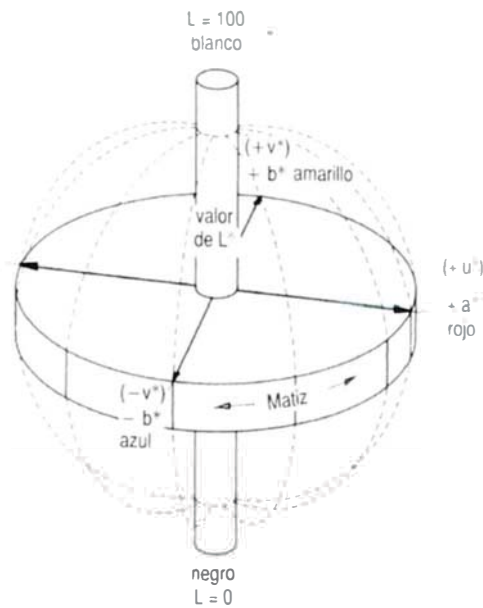


Figura. N° 5.6 El valor L^* se representa en el eje central, los ejes de a^* y b^* se muestran en el plano horizontal.

Fuente: X-Rite, Incorporated USA (1995)

En la figura 5.7 se observan las tonalidades del carmín y sus correspondientes usos.

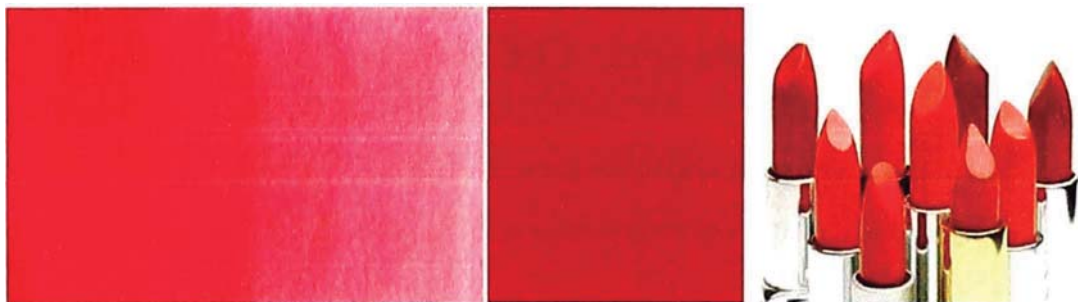


Figura N° 5.7 Tonalidades del carmín y uso en la Industria cosmética

San-Ei Chemical Industries Ltd. (1991) afirma que tiene un tenue olor característico, es muy estable al ser expuesto a la luz o al calor, insoluble en agua destilada, aceites y es altamente sensible al pH.

En la tabla 5.5 se muestra la variación de las tonalidades del carmín en función del pH [11].

Tabla 5.5 Variación de tonalidad vs pH

pH	Color
< 4	Naranja
5	Rojo-amarillento
6	Rojo
> 7	Morado rojizo

5.4 Proceso tradicional de obtención de Carmín de cochinilla

Se realiza la extracción acuosa del ácido carmínico de la cochinilla, el extracto se deja en reposo por 12 a 18 h, después se retira los residuos sólidos sedimentados, el extracto es clarificado, y luego acondicionado a la temperatura y pH adecuados, para que el ácido carmínico reaccione con el sulfato de aluminio y carbonato de calcio. Esta reacción química de quelatación, forma el carmín en suspensión. Procesos posteriores permiten purificar el producto hasta obtener el carmín de cochinilla, que se describe a continuación en el diagrama de flujo de la figura. N° 5.8 (Diagrama de flujo de Obtención de carmín de cochinilla tradicional).

5.4.1 Descripción de las etapas del Proceso tradicional de Obtención de Carmín de cochinilla

Etapa 1: Requerimiento de insumos y de materia prima a almacén

Producción realiza el requerimiento mediante la orden de producción de carmín, esta actividad está desarrollada por el área de almacén de materia prima, insumos químicos, envases y embalajes; que verifica primero que la materia prima (cochinilla), e insumos químicos solicitados tengan la aprobación correspondiente de control de calidad; seguidamente realiza la entrega de los productos de acuerdo a la orden de producción solicitada.

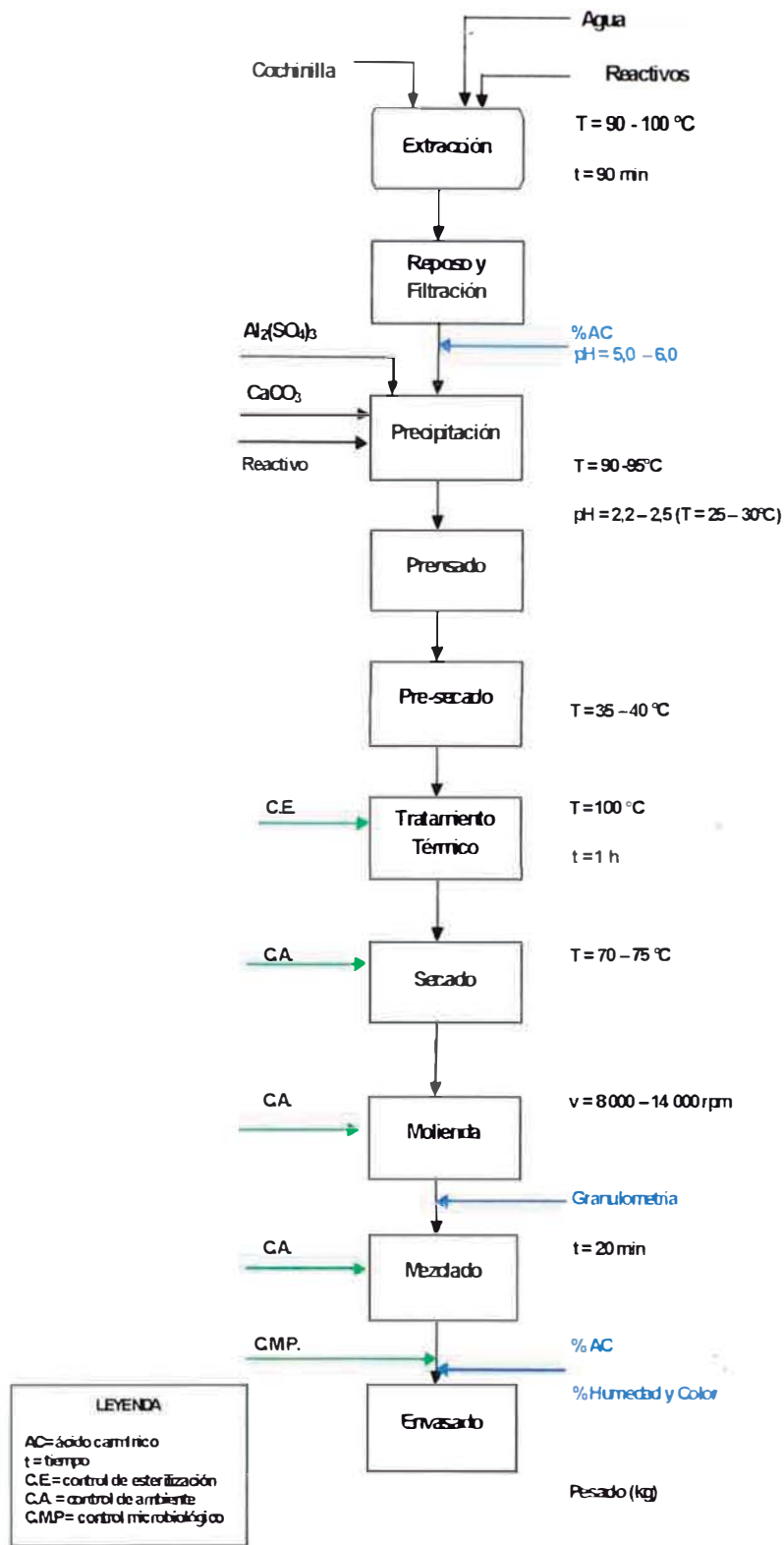


Figura N° 5.8 Diagrama de flujo de Obtención de carmín de cochinilla
 Fuente: Globenatural Internacional S.A. (2005)

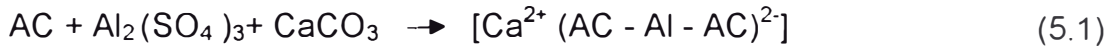
Etapas 2: Extracción, reposo y filtrado

Esta etapa se inicia, adicionando agua desionizada al tanque reactor, calentar a 70-80°C, agregar carbonato de sodio y ácido cítrico, calentar a ebullición luego adicionar la cochinilla, mantener la temperatura entre 90 a 100 °C, por 15 min, se descarga el extracto, y deriva a un tanque de almacenamiento, se continua con las demás extracciones, agregando los reactivos y agua correspondiente; derivar los extractos al tanque de almacenamiento, estas cinco extracciones forman un lote completo, donde reposa de 12 a 18 h, después se retira los residuos sólidos sedimentados, el extracto es filtrado en un filtro prensa, previamente se forma la pre-capas de tierra filtrante. Homogenizar el extracto antes de precipitar y llevar muestra a laboratorio para el análisis de concentración y pH (anexo VI)

Etapas 3: Precipitado y prensado de carmín

El lote completo de ácido de carmínico antes de precipitar se calienta entre 90 a 95 °C, se adiciona el sulfato de aluminio, luego el carbonato de calcio, con agitación, produciéndose la reacción química de quelatación entre el ácido carmínico y el ion aluminio, siendo un compuesto de coordinación entre la antraquinona (ácido carmínico) y el aluminio-calcio, acompañando a esta estructura las proteínas, carbohidratos, péptidos, aminoácidos y ceras, compuestos asociados al extracto de ácido carmínico de la etapa de extracción; haciéndolo más complejo y no estequiométrico; obteniéndose así el carmín de cochinilla (estructura insoluble y estable) en suspensión, tal como se indica en la ecuación 5.1 [7]; posteriormente es enfriado, haciendo recircular el precipitado por el intercambiador de calor para bajar su temperatura hasta un rango de 25 - 30 °C aproximadamente, luego se adiciona cuidadosamente solución de ácido sulfúrico hasta obtener un pH entre 2,2 – 2,5; una vez formado el carmín en suspensión, se procede al prensado en un filtro prensa, luego se descarga la pasta de carmín tal como indica la figura 5.9; la pasta de

carmin es llevado a la zona de secado (anexo VII).



AC: Acido carmínico

[]: compuesto complejo de coordinación entre la antraquinona (acido carmínico) y el aluminio-calcio.

En la figura 5.9 se observa a los operarios retirando del filtroprensa la pasta de carmín.



Figura N° 5.9 Operarios retirando la pasta de carmín del filtroprensa

Etapa 4 : Pre-secado, Tratamiento térmico y secado

La pasta de carmín pasa a un pre-secado a una temperatura entre 35 a 40°C, para eliminación de agua hasta un rango de humedad de 15% a 20%, inmediatamente el carmín semiseco es llevado al autoclave para dar un tratamiento térmico a la temperatura de 100° C por 1 h, de esta manera se reduce la carga microbiana y posteriormente se da un secado final a la temperatura entre 70 a 75°C, hasta que el carmín tenga una

humedad de 5 a 8 %, (anexo VIII). En la figura 5.10 se observa al operario desmenuzando manualmente el carmín seco proveniente del pre-secado.



Figura N° 5.10 Operario desmenuzando el carmín semiseco

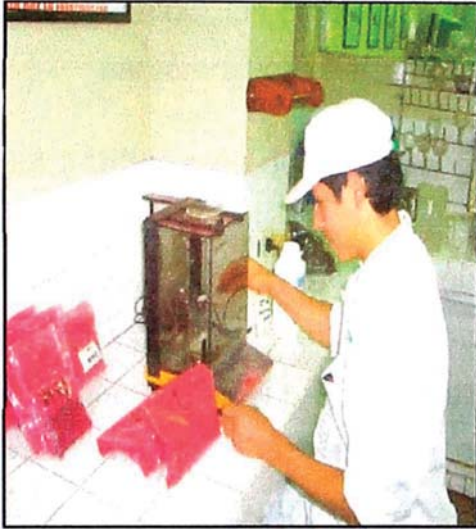
Etapa 5: Molienda, mezclado y envasado

Después de la etapa de secado, el carmín seco pasa al área de molienda, esta operación consiste en reducir el tamaño de partícula, utilizando un molino de martillo, primero se pasa por una malla gruesa N° 35 y luego por una malla fina N° 10. Posteriormente pasa a la sala de mezcla, para mezclar cada lote en el mezclador por un tiempo de 20 minutos, luego se descarga y envasa el producto en bolsas de polipropileno, se pesa e identifica cada lote de producción, se comunica a laboratorio para el análisis respectivo y se lleva el producto a almacén para su internamiento (anexo IX).

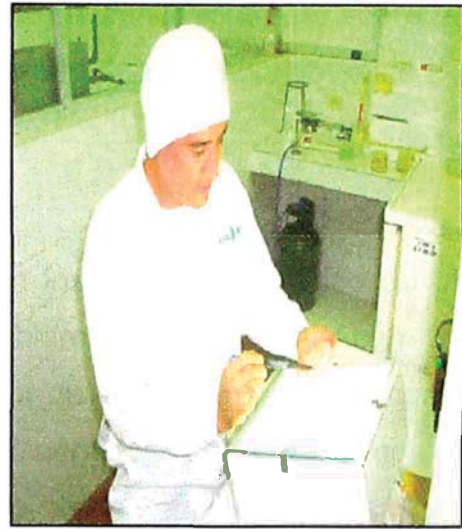
Etapa 6: Control Físico-Químico y Microbiológico

Se realiza los análisis de humedad, % ácido carmínico, y color de cada lote de producción; para luego registrar estos datos. Los análisis microbiológicos se realizan por grupos de tres lotes continuos, mientras se espera los resultados microbiológicos, los lotes de carmín están en

cuarentena; una vez obtenido los resultados microbiológicos aceptables están listos para su estandarización, caso contrario serán reprocesados. En las figuras 5.11 (a) y (b) se observa a los analistas realizando el análisis fisicoquímico y microbiológico del carmín.



(a)



(b)

Figura N° 5.11. (a) Analista realizando el pesaje de cada lote de carmín, para el análisis de % ácido carmínico y color, (b) Microbiólogo haciendo el conteo de colonias.

5.5 Descripción del Proceso de Obtención de Carmín de Cochinilla Aplicando Hidrólisis Enzimática

El desarrollo de la investigación, se basa en la implementación de una etapa de hidrólisis enzimática, antes de la etapa de extracción del colorante, en el proceso tradicional de obtención de carmín de cochinilla. Con la finalidad de ablandar los tejidos del cuerpo de la cochinilla, y dejar libre al ácido carmínico, utilizando en la etapa de hidrólisis una proteasa, que es una enzima que actúa sobre los enlaces peptídicos de las proteínas, presentes en la cochinilla.

5.5.1 Objetivo

- Evaluar el efecto de aplicación de la enzima Neutrasa (proteasa) en el rendimiento del proceso de obtención de carmín de cochinilla, así como del extracto colorante.
- Evaluar los efectos de aplicación de la enzima Neutrasa, sobre las características físico-químicas del carmín de cochinilla obtenido.

5.5.2 Utilización de enzimas

Las proteasas son enzimas que hidrolizan los enlaces peptídico de las proteínas; en cuanto a su acción hidrolítica, se clasifican en endopeptidasas si rompen al azar el interior de las cadenas peptídicas, y exopeptidasas, si separan aminoácidos y dipéptidos, de los extremos de las cadenas polipeptídicas, pudiendo ser aminopeptidasas o carboxipeptidasas, de acuerdo a que ataquen el enlace peptídico en la región amino terminal, ó en la región carboxilo terminal (abreviado N-terminal ó C-terminal) respectivamente (Camacho *et al.*, 1992).

Todas estas proteasas hidrolizan gran número de proteínas diferentes, a través de pépticos hasta aminoácidos; también desdoblan amidas y ésteres de aminoácidos (Schmidt y Pennacchiotti, 1982).

En el cuadro 5.1 se indica una clasificación de las proteasas y en el cuadro 5.2 las características comerciales de éstas.

5.5.3 Hidrólisis enzimática

La hidrólisis enzimática es ampliamente preferida sobre los métodos estrictamente químicos, debido a su alta especificidad; y porque es predecible y controlable. La hidrólisis enzimática es importante en la Industria alimentaria por los efectos fisicoquímicos u organolépticos que produce, como son: **disminución de la viscosidad, mejora la filtración,**

disminución de la tendencia a la cristalización, clarificación y **estabilización de líquidos con vistas a su conservación**, insolubilización de macromoléculas por formación de coágulos, mejora de la fermentabilidad, mejora de la estabilidad bacteriológica, corrección de las deficiencias enzimáticas de origen animal, mejora la digestibilidad, la textura y las características organolépticas, aumentando el poder edulcorante, entre otros. (Berrueta *et al.*, 1992; Lahl y Braun, 1994)

5.5.4 Hidrólisis enzimática de la proteína

La hidrólisis de la proteína puede hacerse con enzimas, álcalis ó ácidos, pero las enzimas son preferidas para aplicaciones nutricionales.

La hidrólisis ácida ó alcalina puede destruir aminoácidos de la forma L, producir aminoácidos de la forma D y **formar sustancias tóxicas** como la **lisino-alanina** (los organismos vivos solo utilizan los aminoácidos de la forma L) (Lahl y Grindstaff, 1989; citados por Lahl y Braun, 1994).

La hidrólisis enzimática de proteínas hasta péptidos o aminoácidos, por acción de enzimas dependerá principalmente de la fuente proteica, del tipo de proteasa usada, de las condiciones de hidrólisis y del grado de hidrólisis alcanzado en la reacción.

La hidrólisis enzimática no se desarrolla en una sola reacción. Se trata de un conjunto de reacciones simultáneas de ruptura de enlaces, con distintas especies cargadas en equilibrio, lo que da una gran complejidad a este tipo de procesos. Se propone un proceso de hidrólisis constituido por tres reacciones consecutivas. Primero, la formación de un complejo enzima-sustrato (proteína), y después la rotura del enlace amídico dando como resultado la liberación de un péptido. Finalmente, el péptido restante se separa de la enzima después de un ataque nucleofílico de una molécula de agua. El proceso puede reiniciarse sobre los dos nuevos péptidos o sobre uno solo de ellos. Estos tres pasos se representan esquemáticamente en la ecuación (5.2) [16]

VI. PARTE EXPERIMENTAL

6.1 Lugar de Ejecución

El Proyecto de investigación, se realizó en los ambientes del Laboratorio de Industrias Alimentarias, Biotecnología y la Planta piloto de Industrias; en la Universidad Nacional Agraria la Molina, distrito la Molina. Provincia de Lima, en coordinación con la Empresa Globenatural Internacional S.A.

6.2 Materia prima e insumos

- Cochinilla de primera calidad (malla 10 ASTM) proveniente del sur del Perú
- Enzima Neutrasa 0,5 L (0,5 AU/g) (Novo Nordisk): líquido claro de color marrón con una densidad aproximada de 1,25 g/mL.

6.3 Materiales

- Material de vidrio: pipetas, erlenmeyer, fiola de 1 litro, embudos, vasos de precipitado de 1 litro, baguetas, buretas, probetas, tubos de prueba.
- Otros accesorios: magnetos, bombillas, gradillas, cocina, termómetros, mortero, papel filtro, tamices.

6.4 Equipos

- Potenciómetro HANNA
- Agitador magnético CAT
- Balanza de Precisión 0 – 200 g marca Adventure
- Baño María con agitación (10-100°C) GFLI083
- Centrifuga de 3000 rpm marca MLW T62.1
- Sistema de filtrado
- Espectrofotómetro marca Termo Spectronic UV 210 – 1100 nm
- Colorímetro modelo Color Quest II de Hunter Lab.
- Secador de aire caliente en contracorriente

6.5 Reactivos

Los reactivos utilizados en la parte experimental se muestran en la tabla 6.1

Tabla N° 6.1 Lista de Reactivos

Nombre	Pureza	Formula
Acido cítrico	USP	C ₆ H ₈ O ₇
Carbonato de sodio	Q.P.	Na ₂ CO ₃
Sulfato de aluminio	Q.P.	Al ₂ (SO ₄) ₃
Carbonato de calcio	Q.P.	CaCO ₃
Lactosa	USP	C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁ .H ₂ O
Talco	USP	Mg ₃ Si ₄ O ₁₀ (OH) ₂
Acido clorhídrico	Q.P.	HCl
Sulfato de potasio	Q.P.	K ₂ SO ₄
Sulfato de cobre	Q.P.	CuSO ₄
Acido sulfúrico	Q.P.	H ₂ SO ₄
Acido bórico	Q.P.	H ₃ BO ₃
Solución indicadora de rojo de metilo	Q.P.	C ₁₅ H ₁₅ N ₃ O ₂
Verde Bromocresol	Q.P.	C ₂₁ H ₁₄ Br ₄ O ₅ S
Hidróxido de sodio	Q.P.	NaOH

6.6 Método de Análisis

6.6.1 Análisis Físico-químicos para caracterizar la cochinilla

- Determinación del contenido de impurezas presentes en la cochinilla.- Se utilizará el método recomendado por la NTP N° 011.203 (1987) INDECOPI [17]

- Determinación de proteína.- se utiliza el método recomendado por la AOAC (1995). [18]
- Determinación del porcentaje de Acido carmínico.- Se utiliza el método recomendado por la FCC (Food Chemicals Codex) (1981). [19].
- Determinación de Humedad.- Se utiliza el método recomendado por la NTP N° 011.207 (1987) INDECOPI.[20]

6.6.2 Análisis Físico-químicos para el extracto de cochinilla en el proceso

- Determinación del porcentaje de Acido carmínico.- Se utiliza el método recomendado por la FCC (Food Chemicals Codex) (1981). [19].
- Determinación de proteína.- Se utiliza el método recomendado por la AOAC (1995). [18]

6.6.3 Análisis de las Propiedades Funcionales del Carmín

- Determinación del poder de tinción.- Se utiliza el método descrito por la Compañía Globe del Perú S.A. (1998). [6].
- Determinación del porcentaje Acido carmínico.- Se utiliza el método recomendado por la FCC (Food Chemicals Codex) (1981). [19].
- Determinación de proteína.- Se utiliza el método recomendado por la AOAC (1995) [18].

6.6.4 Rendimiento del proceso

Se calcula dividiendo el contenido de ácido carmínico en el producto final, entre la cantidad de ácido carmínico presente en el insecto seco de cochinilla, multiplicado por 100.

$$\%R = \frac{\text{Masa AC producto (final)}}{\text{Masa AC cochinilla (inicial)}} \times 100$$

6.7 Obtención de Carmín de Cochinilla Aplicando Hidrólisis Enzimática

Para la obtención de carmín de cochinilla en polvo, se utiliza enzima neutrasa 0,5L, se implementa una etapa de hidrólisis antes de la etapa de extracción del proceso tradicional, que aplica la Empresa Globenatural Internacional S.A.

A continuación se describe, el desarrollo experimental del trabajo propuesto a nivel de laboratorio, aplicando la enzima neutrasa en la etapa de hidrólisis, antes de la etapa de extracción del proceso tradicional.

6.7.1 Desarrollo Experimental

El desarrollo experimental se basa en el diagrama de flujo mostrado figura. N° 6.1, donde se aprecia la etapa de hidrólisis enzimática antes de la etapa de extracción, que es el único cambio aplicado al proceso tradicional. Los análisis previos aplicados a la materia prima (cochinilla) correspondieron a determinar el porcentaje de ácido carmínico, humedad y proteína.

En la tabla 6.2 se muestran resultados del análisis de la cochinilla antes de la hidrólisis enzimática.

Tabla N° 6.2 Análisis de la cochinilla

Análisis	Resultados promedios (%)
AC (acido carmínico)	19,4
Humedad	11,5
Proteína	51,0
Otros	18,5

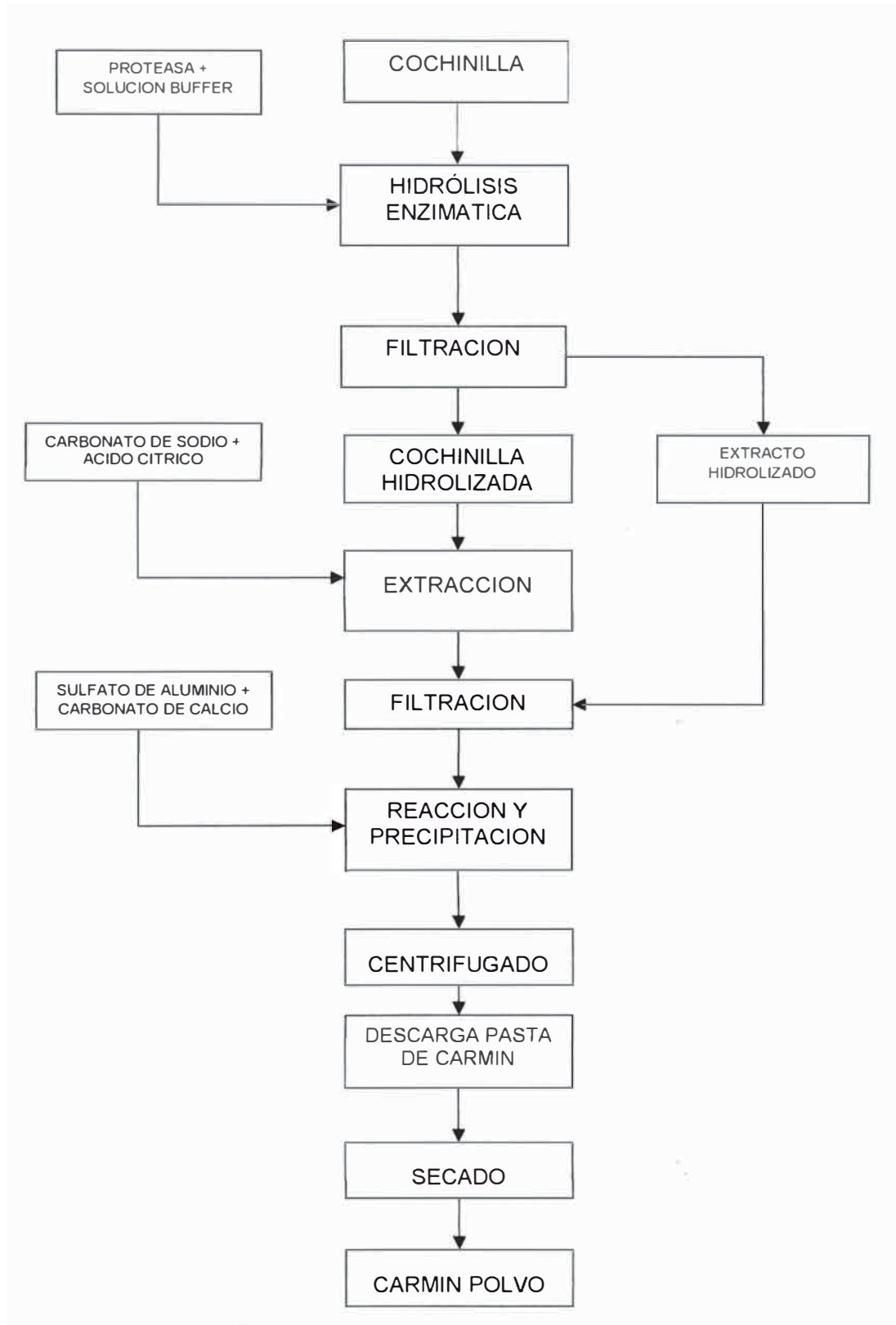
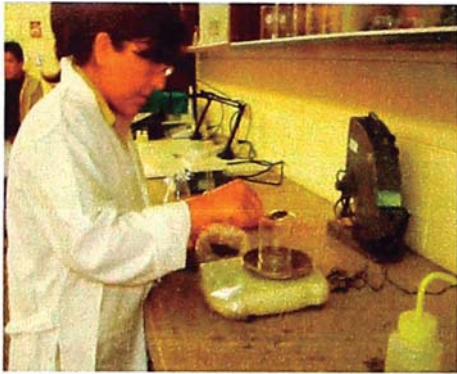


Figura N° 6.1 Diagrama de flujo para la Obtención de Carmin de cochinilla aplicando hidrólisis enzimática

En las figuras 6.2 (a) y (b) se observa al analista realizando el pesaje de la cochinilla y el ensayo de hidrólisis respectivamente.



(a)



(b)

Figura N° 6.2 Trabajo de laboratorio en la UNALM (a) Pesaje de cochinilla
(b) Ensayo de hidrólisis enzimática de la cochinilla

6.7.2 Determinación del Tiempo de Hidrólisis Enzimática

Esta etapa consiste en ablandar los tejidos del insecto, hidrolizar las proteínas que están unidas al pigmento en la cochinilla. Para el ensayo realizado se emplea 25 g de cochinilla entera, en 250 mL de una solución buffer de ácido cítrico y carbonato de sodio a pH= 6,0; las condiciones de ensayo están referidas a la actividad óptima de la enzima Neutrasa : T= 50°C y pH= 6,0.

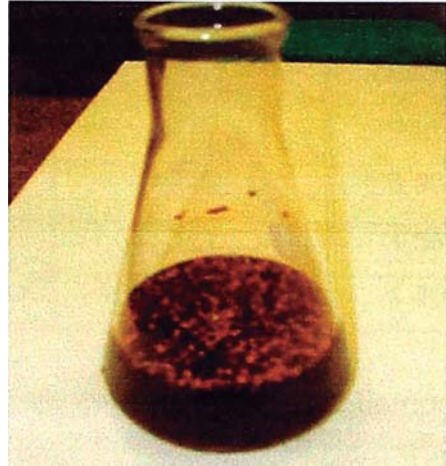
La etapa de hidrólisis se realiza tomando en cuenta los parámetros constantes que se indican:

- Cantidad de cochinilla = 25,0 g
- Concentración de enzima = 0,1% respecto al peso de la cochinilla
- pH promedio = 6,0
- Volumen de solvente (agua desionizada)= 250 mL
- Relación materia prima solvente = 1:10
- Temperatura = 50°C (óptima de la enzima)
- Número de etapas = 1

En las figuras 6.3 que se muestran, se refieren a diferentes etapas del trabajo en el laboratorio de la UNALM.



(a)



(b)



(c)



(d)

Figura N° 6.3 Trabajo de laboratorio en la UNALM **(a)** retiro de muestra después del tiempo de hidrólisis, **(b)** extracto hidrolizado sin filtrar, **(c)** cochinilla hidrolizada , **(d)** extracto hidrolizado filtrado

Se ensayan 4 etapas de acción enzimática (neutrasa): 15, 30, 60 y 90 min. Los resultados se muestran en la Tabla N° 6.3. Luego del proceso enzimático de cada ensayo, se procede a filtrar, y el extracto recuperado es calentado hasta 90 °C con la finalidad de hacer inactiva la enzima, para luego ser almacenado temporalmente a condiciones de laboratorio, y posterior evaluación del contenido de ácido carmínico (%AC).

Tabla N° 6.3 Porcentaje de Acido Carmínico (AC) vs Tiempo de Hidrólisis enzimática

N° Ensayo	Tiempo (min)	Extracto hidrolizado (%AC)	Volumen extracto (mL)	gAC (100%)
1	15	0,32	210	0,67
2	30	0,45	215	0,96
3	60	0,64	213	1,36
4	90	0,66	212	1,40

La figura 6.4 muestra el porcentaje de ácido carmínico (AC) vs tiempo de hidrólisis.

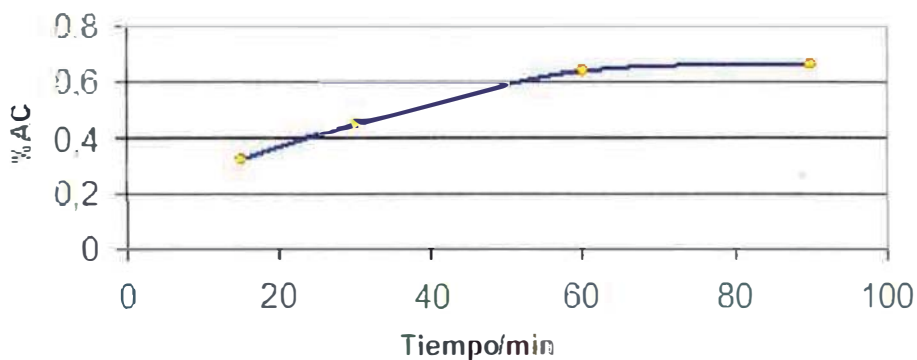


Figura N° 6.4 Porcentaje de AC obtenido vs Tiempo de hidrólisis

6.7.3 Determinación de la concentración de enzima óptima en la obtención de carmín de cochinilla

De acuerdo a la figura 6.4 se observa que a partir de 60 min se hace constante el porcentaje de ácido carmínico, por lo tanto, se considera a 60 min el tiempo mínimo para obtener un mayor porcentaje de ácido carmínico. Considerando este tiempo constante, se procede a realizar 4 ensayos, utilizando diferentes concentraciones de enzima neutrasa. Las concentraciones evaluadas son a: 0,01%; 0,05%; 0,1% y 0,2% respecto al peso de cochinilla.

Luego del proceso enzimático en la etapa de hidrólisis, se procede a filtrar, el extracto hidrolizado se calienta hasta 90°C con la finalidad de hacer inactiva la enzima, para luego ser almacenado temporalmente a condiciones de laboratorio. Con la cochinilla remanente que todavía tiene color, se procede a realizar las extracciones sucesivas (bajo las condiciones del proceso tradicional, a las cuales la enzima remanente en la cochinilla queda inactivada) hasta la extracción total del color de la cochinilla. El tiempo para cada extracción se muestran en la tabla N° 6.5. El extracto recuperado más el extracto hidrolizado se filtran utilizando tierra filtrante, luego continua el proceso de acuerdo a las condiciones tradicionales de operación para obtener el carmín en polvo. En la tabla N° 6.4 se muestran los resultados de los análisis realizados al carmín en polvo. Para el análisis de proteínas, se utiliza el método Kjeldahl y para el análisis de color del carmín, se utiliza el método interno de la empresa (anexo IV) y el porcentaje de ácido carmínico (% AC) mediante el método recomendado FCC II (Food Chemicals Codex) (1981). [19]

El porcentaje de rendimiento del proceso se determina dividiendo, la cantidad de AC (final) obtenido en el carmín, entre la cantidad de AC (inicial) presente en la cochinilla x 100.

Siendo:

$$\text{Masa AC (inicial)} = \frac{\text{masa cochinilla (g)} \times \% \text{ AC (cochinilla)}}{100} = \frac{25 \times 19.4}{100}$$

$$\text{Masa AC (inicial)} = 4,85 \text{ g}$$

$$\text{Masa AC (final)} = \frac{\text{masa carmín (g)} \times \% \text{ AC (carmín)}}{100} = \frac{5,9 \times 61,24}{100}$$

$$\text{Masa AC (final)} = 3,61 \text{ g}$$

$$\% R = \frac{3,61 \text{ g}}{4,85 \text{ g}} \times 100 = 74,50 \%$$

Tabla N° 6.4 Análisis del Carmín de cochinilla vs % enzima

Enzima (%)	AC (%)	L a b (Colorimetro Hunter Lab)**	Proteína* %	Rendimiento de proceso %
	carmin (g)			
0,01	61,24	L= 63,08 a= 30,7 b= 3,37	25,54	74,5
	(5,9)			
0,05	62,35	L= 62,95 a= 29,85 b= 3,10	21,30	76,3
	(5,94)			
0,1	65,14	L= 64,37 a= 25,58 b= 2,93	20,57	78,9
	(5,88)			
0,2	65,95	L= 67,95 a= 20,07 b= 2,37	21,54	79,2
	(5,83)			
Proceso tradicional	60,61	L= 62,5 a= 31,5 b= 2,89	25,45	75,0
	(6,0)			

L: claridad, a: tonalidad roja, b: tonalidad amarilla
 *: método Kjeldahl (Nx6,25)
 **: Análisis de color aplicado en talco

6.7.4. Rendimiento y tiempo de extracción de la cochinilla hidrolizada

- Masa Cochinilla = 25,0 g
- AC cochinilla = 19,4. %
- Masa de AC iniciales = 4,85 g
- Enzima optimo = 0,1 %
- Tiempo : descrito en la tabla para cada extracción
- T= 90 °C, pH= 6
- Agitador SHAKER

En la tabla 6.5 se muestran resultados de las etapas de hidrólisis y de extracción.

Tabla N° 6.5 Resultados de la etapa de hidrólisis y etapa de extracción.

N° extracciones	Tiempo (min)	Agua (mL)	Masa extracto recuperado (g)	AC (%)	AC (g)
Etapa de hidrólisis	60	250	231	0,58	1,34
1	30	250	250	0,89	2,23
2	30	250	245	0,35	0,86
3	15	250	243	0,13	0,31
4	15	125	120	0,02	0,02
TOTAL	150	550			4,76

El porcentaje de rendimiento del proceso se determina dividiendo, masa total de AC (final) entre masa AC iniciales (cochinilla) x 100.

$$\% R = \frac{4,76 \text{ g}}{4,85 \text{ g}} \times 100 = 98,14 \%$$

6.7.5. Rendimiento y tiempo de extracción del proceso tradicional

- Masa Cochinilla = 25,0 g
- AC cochinilla = 19,4. %
- Masa AC iniciales = 4,85 g
- Tiempo : descrito en la tabla para cada extracción
- Agitador SHAKER

En la tabla 6.6 se muestran resultados de la etapa de extracción del proceso tradicional.

Tabla N° 6.6 Resultados de la etapa de extracción del proceso tradicional

N° extracciones	Tiempo (min)	Agua (mL)	Masa extracto recuperado (g)	AC (%)	AC (g)
1	30	250	210	1,02	2,14
2	30	250	245	0,58	1,42
3	30	250	240	0,28	0,67
4	15	250	238	0,18	0,43
5	15	125	123	0,05	0,06
TOTAL	120		1056	0,45	4,75

El porcentaje de rendimiento del proceso se determina dividiendo, masa total de AC (final) entre masa AC inicial (cochinilla) x 100.

$$\% R = \frac{4,75 \text{ g}}{4,85 \text{ g}} \times 100 = 97,9 \%$$

Se almacena por 12 h el extracto del proceso enzimático y el extracto del proceso tradicional, se realiza la evaluación cualitativa y sensorial, los resultados se muestran en el cuadro 6.1

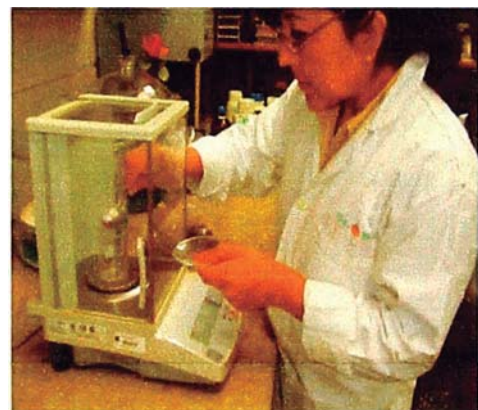
Cuadro N° 6.1 Evaluación Cualitativa y Sensorial del extracto de cochinilla, almacenado por 12 h

Extracto de cochinilla después de la etapa de extracción			
Método	Solubilidad	Olor	Filtración
Enzimático	soluble	característico	buena
Tradicional	viscoso	desagradable	lenta

En las figuras 6.5 muestran las diferentes etapas de trabajo en laboratorio de la UNALM, para la caracterización del carmín.



(a)

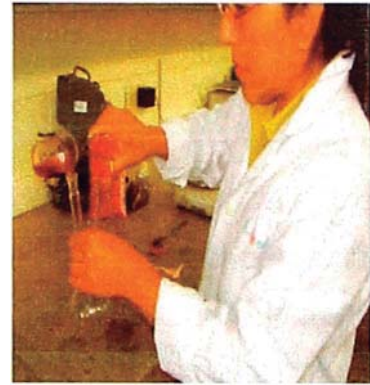


(b)

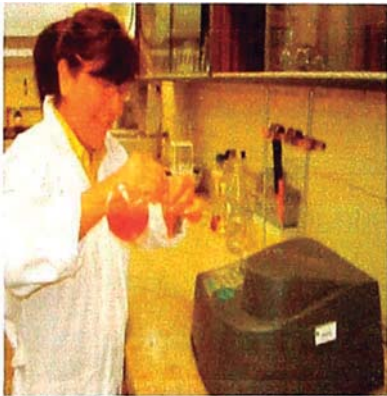
Figura N° 6.5 (a) pesado de carmín obtenido por hidrólisis enzimática, (b) pesaje de carmín hidrolizado para análisis de %Acido carmínico.



(c)



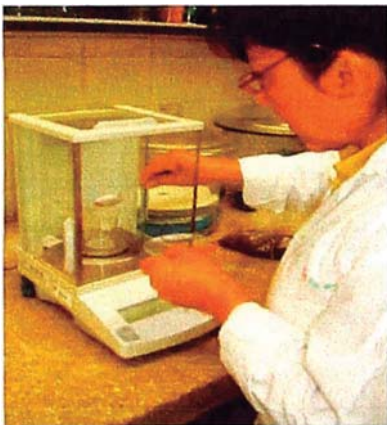
(d)



(e)



(f)



(g)



(h)

Figura N° 6.5 (c) ataque ácido para determinar %Acido carmínico, (d) trasvase de muestra para lectura de Absorbancia (e) muestra en celda para lectura de absorbancia, (f) lectura de absorbancia en el espectofotómetro, (g) pesado de carmín para análisis de proteínas, (h) ensayo para determinación de proteínas.

VII. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

- De acuerdo a los resultados obtenidos en la tabla N° 6.3 y como se muestra en la figura N° 6.4, en el tramo de 15 a 60 min el tiempo de hidrólisis enzimática es directamente proporcional al porcentaje de ácido carmínico, a medida que aumenta el tiempo de hidrólisis no existe diferencia significativa del porcentaje de ácido carmínico, por lo tanto, el valor de 0,64 es el mayor % de ácido carmínico que se obtiene con un tiempo de hidrólisis mínimo de 60 min.
- En el proceso enzimático utilizando 0,1% de enzima, se obtiene un mayor rendimiento de proceso de 78,9% respecto a los demás procesos con porcentajes menores de enzimas, tal como se aprecia en la tabla N° 6.4.
- Evaluando la desviación (diferencia) de color del carmín entre el proceso enzimático y el proceso tradicional, resulta que el proceso enzimático con 0,1 % de enzima, muestra un carmín más claro (limpio) $L = 64,37$ comparado con $L = 62,5$ debido a que está más cerca al valor de 100; el valor de "a" indica un carmín menos rojo y el valor "b" indica ligeramente más amarillo, con respecto a los valores del proceso tradicional. Los resultados, se muestran en la siguiente tabla; siendo la desviación: $dL = 64,37 - 62,5 = 1,87$; $da = 25,58 - 31,5 = - 5,92$; $db = 2,93 - 2,89 = 0,04$.

Enzima (%)	AC (%)	L a b ** (Colorímetro Hunter Lab)	Proteína* %	Rendimiento %
Proceso enzimático (0.1)	65.14	$L = 64,37$ $a = 25,58$ $b = 2,93$	20,57	78,9
Proceso tradicional (0.0)	60.61	$L = 62,50$ $a = 31,50$ $b = 2,89$	25,45	75,0
Desviación de color (d)		$dL = 1,87$; $da = - 5,92$; $db = 0,04$		

- En el proceso enzimático utilizando 0,2 % de enzima, se obtiene un rendimiento ligeramente mayor respecto al de 0,1 % de enzima, es más claro, menor valor en la tonalidad roja y menor valor en tonalidad amarilla respecto a los demás procesos enzimáticos; siendo una desventaja para su uso en la industria cosmética, mientras para la industria alimentaria se puede utilizar ya que su uso es como carmines líquidos, tales como: los carmines líquidos amoniacaes, potásicos, etc.
- En el proceso enzimático utilizando 0,1% de enzima, se obtiene un menor % de proteína respecto a los demás procesos con porcentajes menores de enzimas. Evaluando el porcentaje de proteína obtenido respecto al proceso tradicional, se observa una disminución de 19 %, cumpliendo con las especificaciones internacionales que indican porcentajes proteínicos menores a 25 %.
- De acuerdo a los resultados que se muestran en la tabla N° 6.5, se obtiene 98,14% de rendimiento de extracción, con un tiempo de 150 min. para el proceso de hidrólisis, mientras que con el método tradicional el rendimiento de extracción es de 97,9%, con un tiempo de 120 min, como se muestra en la tabla N° 6.6, concluyendo que el tiempo total del proceso enzimático es 30 min más que para el proceso tradicional.
- Aplicando hidrólisis enzimática en el proceso de obtención de carmín de cochinilla, se elimina la etapa de reposo de 18 h del proceso tradicional, resultando un proceso continuo. Se concluye, por lo tanto, que este nuevo proceso de obtención de carmín de cochinilla es una buena alternativa de obtener carmines más limpios, con menor porcentaje de proteínas, con buenos rendimientos, mejor proceso de filtrado (evitando pérdidas de producto), menor tiempo de proceso, siendo la finalidad de las empresas productoras de carmín mejorar sus rendimientos.

- El proceso con enzimas respecto al proceso tradicional presenta: Mayor solubilidad, facilitando la filtración del extracto, menor tiempo de filtrado. Existe la posibilidad de almacenar el extracto de ácido carmínico sin que sufra descomposición de las proteínas respecto al proceso tradicional, el cual debe ser continuo para evitar este problema. Carmín con buena textura y con mejor claridad. Carmín con bajo nivel de proteína, mejora el proceso de la etapa de filtración. Mientras que en un proceso tradicional, para obtener mejores rendimientos, aumentan el número de extracciones, destruyendo excesivamente la carcasa de la cochinilla, generando así extractos muy sucios, que dificultan la filtración en el filtro prensa, saturando las telas filtrantes.
- Aplicar hidrólisis enzimática al inicio del proceso de carmín ayuda a digerir las proteínas, de modo natural, y dejar libre al ácido carmínico; mientras que los procesos tradicionales, usan reactivos básicos como soda o carbonato de sodio para extraer el ácido carmínico, arrastrando impurezas, contaminando así el producto final, desviándose de los límites permitidos de metales pesados.
- Debido a la elevada cantidad de aguas residuales provenientes del procesamiento de carmín, con alto contenido de proteínas, se recomienda hacer el tratamiento con quitosan (polímero natural) para precipitar las proteínas, y ser usadas estas como alimento para animales.
- Los residuos de cochinilla exhausta se recomienda utilizar, como materia prima para la obtención de un proteinato de calcio (quelato de calcio), de uso como fertilizante.
- Se recomienda continuar evaluando la obtención de carmín de cochinilla utilizando otras proteasas.

VIII. GLOSARIO

- ADEX, Asociación de exportadores
- ASTM, Sociedad Americana para pruebas y materiales, entidad normalizadora de pruebas, especificaciones, guías para soporte a las industrias y gobiernos de todo el mundo.
- AU, Unidades Anson, unidades de medida de la actividad de la enzima
- A.2: ácido cítrico, A.3: ácido clorhídrico Q.P., A.4: ácido sulfúrico Q.P.
- CFR, Código de Regulaciones Federales, compilación de leyes de Estados Unidos
- CIE, Comisión Internacional de Iluminación, organización responsable para recomendaciones internacionales para fotometría y colorimetría.
- D.8: agua desionizada
- E number, número asignado a los colorantes en Europa
- Enzimas, son proteínas altamente especializadas que tienen como función la catálisis o regulación de la velocidad de las reacciones químicas que se llevan a cabo en los seres vivos.
- FD&C, (Food, drugs and cosmetic) colores permitidos por la FDA para uso en alimentos, drogas y cosméticos
- FDA, Organismo Americano encargado de la regulación y especificación de los aditivos alimentarios.
- JECFA, (Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios) es un Comité científico internacional de expertos, administrado conjuntamente por la Organización de las Naciones

Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) y la organización Mundial de la Salud (OMS). Ha venido reuniéndose desde 1956, inicialmente para evaluar la inocuidad de los aditivos alimentarios, pero su trabajo también incluye ahora la evaluación de los contaminantes, las sustancias tóxicas naturales y los residuos de medicamentos veterinarios en los alimentos. El JECFA cumple una función vital al constituir una fuente fiable e independiente de asesoramiento especializado en el ámbito internacional, contribuyendo de este modo al establecimiento de normas de carácter internacional para la protección de la salud de los consumidores de los alimentos y a garantizar la aplicación de prácticas justas en el comercio de alimentos inocuos. Algunos países utilizan información del JECFA para la creación de programas nacionales de control de la inocuidad de los alimentos.

- KAMABOKO: producto alimenticio japonés preparado con pasta de carne de pescado blanco cocido a vapor.
- Lactosa es un disacárido formado por la unión de una molécula de glucosa y otra de galactosa. Concretamente intervienen una β -galactopiranososa y una β -glucopiranososa unidas por los carbonos 1 y 4 respectivamente. Al formarse el enlace entre los dos monosacáridos se desprende una molécula de agua.
- Neutrasa 0,5 L (0,5 AU/g) (Novo Nordisk): proteasa obtenida a partir de Bacillus subtilis, la actividad reportada por el proveedor es de 0,5 AU (Anson Unit/g)
- OMS, Organización Mundial de la Salud, es el organismo que forma parte de la Organización de las Naciones Unidas (ONU), especializado en gestionar políticas de prevención, promoción e intervención en salud a nivel mundial. La OMS gobierna por medio

de la Asamblea Mundial de la Salud, compuesta por representantes de todos los Estados miembros de la OMS.

- San-Ei Gen FFI, Inc se dedica a la fabricación y distribución de colorantes alimentarios, ácidos orgánicos y saborizantes. La compañía era conocida como San- Ei Chemical Industries, Ltd. Y cambio su nombre por el de San-Ei Gen FFI, Inc. en 1992. San-Ei Gen FFI, Inc. fue fundada en 1911 y tiene su sede en Osaka, Japón cuenta con oficinas en Tokio, Sendai, Nagoya, Hiroshima y Fukuoka, Japón, Francia, Hong Kong, el Reino Unido, Suiza, Perú, y Brasil.
- S.1: Carbonato de calcio, S.2: Carbonato de sodio, S.4: Sulfato de aluminio
- UNALM: Universidad Nacional Agraria la Molina

IX. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- [1] FDA, American Food and Drug Administration, Color Additives
- [2] CFR, Código de Regulaciones Federales Leyes de Estados Unidos
- [3] Salvá Ruiz Bettit, Utilización de Enzimas en la Extracción de Colorante a partir de Semillas de Achiote. Tesis para optar el Título de Ingeniero en Industrias Alimentarias. UNALM, 1996
- [4] Kikuchi, K *et al.* (1976) Método de separación por extracción del pigmento rojo tipo antocianina del maíz morado utilizando enzimas. Patente. Japón
- [5] LOCK Olga. 1997. Colorantes Naturales. Fondo Editorial Pontificia Universidad Católica del Perú. Lima. Perú. 274 p.
- [6] GLOBE DEL PERU S.A. (Empresa de Colorantes naturales). 1998. Información no publicada. Departamento de Control de Calidad.
- [7] GLOBENATURAL INTERNACIONAL S.A. (Empresa de Colorantes naturales). 2005. Información no publicada. Departamento de Control de Calidad.
- [8] CHR. HANSEN S.A. (Compañía Colorantes y extractos). 2005. información no publicada. Departamento de Control de Calidad. Lima-Perú
- [9] JECFA (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives) 41st Session, Geneva, 9-18 February 1993; publications Compendium of food additive specifications Addendum 2.
- [10] X-Rite, Incorporated Guia Informativa acerca de la Comunicación de Color 1995 USA.
- [11] SAN-EI. 1991. Natural Colors: Cochineal, Technical Bulletin. SAN-EI Chemical Industries Ltd. Osaka.
- [12] Camacho, F.; Gonzales, P.; Marques, M. C. y Guadix, E. M. 1992. Hidrolizados enzimáticos de interés en la I.A.A. (II) Hidrolizados enzimáticos de proteínas. Departamento de Ingeniería Química, Universidad de Granada, España. Alimentación Equipos y Tecnología. Dic: 174-180.

- [13] SCHMIDT-HEBBEL, H. y PENNACCHIOTTI, I. 1982. Las enzimas en los alimentos. Su importancia en la Química y Tecnología de los Alimentos. Alfabet Impresiones. Santiago. Chile. 94 p.
- [14] Berrueta, J.; Labajos, B. y Coca, J. 1992. Utilización de las enzimas en las industrias alimentarias. Alimentación Equipos y Tecnología, pág. 79-85, Diciembre.
- [15] Lahl, W. J. y Braun, S. D. 1994. Enzymatic Production of Protein Hydrolysates. Food Technology; October, pág. 68-71.
- [16] Benítez, R.; Ibarz, A. y Pagan J. Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana 2008; 42 (2): 227-36.
- [17] INDECOPI. 1987. Cochinilla: Definición, clasificación y requisitos. Norma Técnica Peruana (NTP N° 011.203). Perú
- [18] AOAC (Association of Oficial Analytical Chemists). 1995. Official Methods of Analysis. Fourteen edition. Sydney Williams. Virginia. USA. 1142 p
- [19] FCC (Food Chemicals Codex). 1981. Food Chemist Code II. Third edition. Jhon Wiley & Sons. New York. USA. 1032 p.
- [20] INDECOPI. 1987. Cochinilla: Definición, clasificación y requisitos. Norma Técnica Peruana (NTP N° 011.207). Perú

X. ANEXOS

ANEXO I

COLORANTES ALIMENTARIOS; UN ARCO IRIS DE RIESGOS

Center for Science in the Public Interest: Sarah Kobylewski, Ph.D. Candidate.

Molecular Toxicology Program University of California, Los Angeles and Michael F. Jacobson, Ph.D. Executive Director for Center

Artículo: Food dyes A Rainbow of Risks, el Centro para la ciencia en el Interés Público (CSPI) dice que los colorantes alimentarios artificiales plantean una serie de riesgos y hace un llamamiento a la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA) para prohibir a tres de los colorantes más utilizados rojo 40 (Allura red), amarillo 5 y amarillo 6; que aumentan innecesariamente los riesgos de cáncer e hiperactividad en niños.

Resumen:

Los Colorantes alimentarios sintéticos desde mucho tiempo están siendo cuestionados por sus efectos riesgosos para la salud. Muchos tintes han sido prohibidos por sus efectos adversos que los animales presentaron, durante pruebas realizadas en laboratorio en animales .que ingirieron estos colorantes. Este informe revela que muchos de los nueve colorantes aprobados actualmente aumentan problemas de salud.

Azul 1: estudios realizados en ratas, sugirió la posibilidad de causar tumores en los riñones. Pero un estudio dio también la posibilidad de causar reacciones de hipersensibilidad.

Azul 2 no puede ser considerado seguro, dada la incidencia estadísticamente significativa de los tumores, especialmente los gliomas cerebrales en ratas macho. No se debe utilizar en los alimentos.

Rojo de los cítricos 2, que sólo está permitido para la coloración de la piel de las naranjas no se utilizan para procesamiento de alimentos, es tóxico para los roedores en niveles moderados y causan tumores a la vejiga

urinaria y posiblemente otros órganos. El colorante representa un riesgo mínimo para las personas.

Red 40, el tinte más utilizados, pueden acelerar la aparición de cáncer al sistema inmunológico. El colorante causa reacciones de hipersensibilidad (alergia) en niños consumidores y podría provocar hiperactividad en los niños. Teniendo en cuenta la seguridad en la salud, este colorante debe ser excluido de los alimentos, hasta que nuevas pruebas demuestren su seguridad de consumo

Rojo 3 en 1990 la FDA reconoció como un carcinógeno de la tiroides en los animales y está prohibido en los cosméticos y los medicamentos de aplicación externa. Las lacas de este colorante (combinaciones y sus sales insolubles en alimentos secos) también se han prohibido. Sin embargo, la FDA todavía permite su uso en fármacos y los alimentos, siendo alrededor de 200.000 libras de colorante que se utiliza anualmente. La FDA tiene que revocar esta aprobación.

Yellow 5 Este colorante no causo cáncer en ratas pero los estudios demostraron, que pueden causar hipersensibilidad en un pequeño número de personas y podría desencadenar la hiperactividad y otros efectos sobre el comportamiento en los niños. El, Yellow 5 no deben ser permitidos en los alimentos.

El Amarillo 6 causa tumores suprarrenales en animales, sin embargo, existe la discusión entre la industria y la FDA, que pueden estar contaminadas con químicos y causan cáncer y de vez en cuando provoca reacciones de hipersensibilidad severa. Por tanto es innecesaria la ingesta de este colorante, si existe este riesgo de causar hiperactividad en el comportamiento de los niños. Debido a esta preocupación, el gobierno británico, están asesorando para dejar de usar estos colorantes en alimentos a finales de 2009, y el Unión Europea exige un aviso de advertencia en la mayoría de los colorantes que contienen los alimentos a

partir de julio 20, 2010. El tema de los colorantes alimentarios y el comportamiento ha sido discutido por separado en el informe de la CSPI pide a la FDA prohibir la mayoría de estos colorantes. Mientras tanto las Empresas voluntariamente deben reemplazar estos colorantes por otros más seguros, como los colorantes naturales.

ANEXO II

CARMÍN DE COCHINILLA Y EL CASO DE LAS ALERGIAS

Comisión para la promoción de exportadores (PROMPEX) Perú/ Cooperación Perú-Unión Europea/ Apoyo a la Promoción de las Exportaciones de las Pequeñas y Medianas Empresas (ALA 93/57); Ing. Luis G. Zúñiga Sánchez, 1999

En las convocatorias de la Unión Europea (UE) sobre colorantes están en discusión, el tema de las alergias a causa de las proteínas de alto peso molecular que están presentes en el carmín de cochinilla, debido a los problemas de las alergias causadas por este colorante; según el trabajo realizado por el Dr. James L. Baldwin de la Universidad de Michigan y un grupo de colaboradores realizó un trabajo en una paciente que era propensa a todo tipo de alergias. Este trabajo fue publicado en los anales de Alergia, Asma e Inmunología, Volumen 79, Noviembre 1997 y la noticia se dio en la revista New Scientist.

El Centro para la Ciencia en el Interés Público (CSPI), presenta una demanda a la FDA para una acción de regulación para proporcionar una descripción en las etiquetas de los ingredientes y la procedencia de estos, la revisión científica de alergenicidad y la posible prohibición de los aditivos colorantes Extracto de cochinilla y carmín.

A nivel del Comité de Colorantes Naturales de ADEX (Perú) se han tenido una serie de reuniones y gracias al Apoyo a la Promoción de las Exportaciones de las Pequeñas y Medianas Empresas (ALA 93/57), se decide preparar una serie de acciones para contrarrestar esta campaña negativa ya que somos líderes del Mercado Mundial de cochinilla y Derivados. Tales como hacer prevalecer los estudios realizados por la compañía H. Kohnstamm & Co., Inc de USA sobre la ingesta en ratas con dosis de 50, 250 y 500 mg de carmín por kg de peso corporal y

efectuadas las comparaciones correspondientes con un Grupo control, la FDA determino que el Carmín es completamente seguro y aprobó su utilización en Alimentos Medicamentos y Cosméticos el 19 de Abril de 1967.

El Gobierno peruano el 14 de Marzo de 1978, creó un comité Administrador por DL 22111, autorizando para realizar contratos necesarios con el fin de realizar los trabajos de investigación necesarios conducentes a dilucidar los posibles efectos tóxicos del carmín, suministrados por vía oral. Con este instrumento legal el Comité administrador celebro con los laboratorio British Industrial Biological Research Association (BIBRA) de Carshalton Surrey, Inglaterra llevar a cabo **“Los estudios sobre posibles Efectos Tóxicos del Carmín de cochinilla suministrados por Vía Oral”**; concluyendo sus resultados que la ingesta de Carmín a dosis hasta de 500 mg/kg/día no puede relacionarse con efectos tóxicos o cancerígenéticos de ninguna clase.

ANEXO III

DOCUMENTOS DE PROCEDIMIENTO DE GESTION DE CALIDAD

G-P-AC-01

Versión: 07

ANÁLISIS DE LABORATORIO

Fecha: 08-12-06

1. OBJETIVO

Establecer las actividades para verificar la calidad de las materias primas, insumos y reactivos químicos, productos intermedios y terminados, de la División Colorantes y la División Industrial.

2. ALCANCE

Se aplica desde el aviso para la toma de muestra hasta la entrega de los resultados del análisis realizado.

3. DEFINICIONES

- Desaprobado Negociable: Que puede ser aceptable en la producción y/o comercialización de colorantes, aunque no cumple con los parámetros óptimos de calidad. Su utilización quedará a consideración de Globenatural Internacional S.A.

4. DOCUMENTOS A CONSULTAR

- G-I-AC-01 Muestreo de Materias Primas.
- G-I-AC-02 Muestreo de Insumos.
- G-I-AC-03 Muestreo de Productos Intermedios y Terminados.
- G-I-AC-04 Toma de Muestra para Análisis Microbiológico.
- G-I-AC-07 Toma de Muestra para Análisis Físicoquímico.
- G-D-AC-04 Criterios de Aceptación de Materias Primas.
- G-D-AC-06 Plan de Análisis Microbiológico y Metales Pesados de Productos - División Colorantes Naturales
- G-D-AC-07 Criterios de Aceptación de Insumos y Reactivos.
- G-D-AC-08 Criterios de Aceptación de Productos - División Colorantes Naturales.

- G-D-AC-09 Criterios de Aceptación de Productos - División Industrial.
- Métodos de Análisis de Materias Primas.
- Métodos de Análisis de Insumos y Reactivos.
- Métodos de Análisis de Productos Intermedios y Terminados.
- Métodos de Análisis de Microbiología.

5. RESPONSABLE

- Coordinador de Laboratorio

6. DESARROLLO

6.1 Recepción de Muestra:

- a) Para productos brutos e intermedios, laboratorio toma la muestra o Producción entrega la muestra a Laboratorio y la registra en el Control de Muestras en el Laboratorio. Para productos terminados, Producción avisa a Laboratorio para que tome la muestra. Para materias primas, insumos y reactivos, el Jefe de Almacén avisa a Laboratorio para que tome la muestra.

6.2 Análisis de Materias Primas:

- a) Laboratorio tomará la muestra según el instructivo G-I-AC-01 Muestreo de Materias Primas y analizará según los Métodos de Análisis de Materias Primas.
- b) Las características y los parámetros de control a analizar son los establecidos en el documento G-D-AC-04 Criterios de Aceptación de Materias Primas. Según el cumplimiento de estos parámetros, la materia prima se puede clasificar en: Aprobado, Desaprobado Negociable o Desaprobado (a excepción de la Algarrobina Líquida).
- c) Luego, Laboratorio ingresará los resultados en el sistema y emitirá el Reporte de Análisis de Materia Prima vía correo electrónico dirigido al Sub-Gerente de Abastecimiento y Logística, con copia a Gerente General, Gerente Comercial, Jefe de Almacén y Jefe de Producción

y Mantenimiento e imprimirá 2 copias de este reporte, uno para Laboratorio y otro para Abastecimiento.

- d) *Para la compra de Productos Agrícolas, que ingresen a la planta de Chorrillos, en cualquiera de sus casos deberá fumigarse; esta instrucción deberá ser dada vía reporte de análisis (medio electrónico), e indicar si el producto está Aprobado o Desaprobado. El análisis que realice laboratorio deberá darse en 2 oportunidades, la previa apenas llegue el producto, antes de la fumigación y la post, cuando el producto fue trasegado. El fumigado deberá efectuarla personal del Almacén quien deberá acondicionar un lugar específico para fumigaciones.*

6. 3 Análisis de Insumos y Reactivos Químicos:

- a) El Analista de Laboratorio o Coordinador de Laboratorio tomará la muestra según el instructivo G-I-AC-02 Muestreo de Insumos y la analizará según los Métodos de Análisis de Insumos y Reactivos.
- b) Las características y los parámetros de control a analizar son los establecidos en el documento G-D-AC-07 Criterios de Aceptación de Insumos y Reactivos, verificando según corresponda la información contenida en el Certificado de Calidad que viene con el reactivo. Según el cumplimiento de estos parámetros, los insumos y reactivos químicos se pueden clasificar en: Aprobado o Rechazado.
- c) El Analista de Laboratorio o Coordinador de Laboratorio elabora el Reporte de Control de Calidad de insumos y reactivos químicos, en el cual se muestra el resultado de Aprobado o Desaprobado. Luego, este reporte se envía por correo electrónico a Almacén, con copia a Abastecimiento y Logística y a Producción.

6. 4 Análisis de Productos Intermedios y Terminados:

El Analista de Laboratorio o Coordinador de Laboratorio tomará la muestra según las cantidades definidas en el instructivo G-I-AC-03

Muestreo de Productos Intermedios y Terminados para realizar los análisis físico-químico y microbiológico.

6.4.1 Análisis Físico-Químico

- a) El Análisis Físico-Químico se realiza para todos los productos intermedios y terminados de la División Colorantes Naturales y la División Industrial.
- b) El Analista de Laboratorio o Coordinador de Laboratorio tomará la muestra según las indicaciones descritas en el instructivo G-I-AC-07 Toma de Muestra para Análisis Físicoquímico y la analizará según los Métodos de Análisis de Productos Intermedios y Terminados.
- c) Las características y los parámetros de control a analizar son los establecidos en el documento G-D-AC-08 Criterios de Aceptación de Productos - División Colorantes Naturales o el G-D-AC-09 Criterios de Aceptación de Productos - División Industrial, según corresponda, y/o en los Boletines Técnicos de cada producto. Según el cumplimiento de estos parámetros, los productos se pueden clasificar en: Producto conforme o no conforme.

El análisis de presencia de metales pesados tales como Mercurio, Plomo, Cadmio, Arsénico, entre otros, se realizará periódicamente según el G-D-AC-06 Plan de Análisis Microbiológico y Metales Pesados de Productos - División Colorantes Naturales, enviándolo a un laboratorio de terceros.

- d) Si el producto está conforme, el Coordinador o Analista de Laboratorio avisará a Producción para que se proceda al Análisis Microbiológico e ingresará los datos obtenidos en Datos Técnicos del Lote, en el sistema.

Si el producto no está conforme, se avisará a Producción y se procederá según lo indicado en el procedimiento G-P-SGI-02 Control de Productos y Servicios No Conformes.

- e) Una vez realizado el Análisis Físico-Químico, el Coordinador o Analista de Laboratorio debe registrar los datos correspondientes en el formato G-R-AC-01 Seguimiento de Lotes para Análisis Microbiológicos.

6.4.2 Análisis Microbiológico

- a) El Análisis Microbiológico se realiza para todos los productos terminados de colorantes naturales y la línea barman de la División Industrial, y para los productos intermedios sólo si Producción y/o Gestión de Calidad lo solicitan.
- b) Si el producto está conforme en los análisis fisicoquímicos realizados por el Laboratorio de Control de Calidad, el personal de Producción dará aviso a Laboratorio para que tome la muestra, y lo registrará en el formato G-R-AC-01 Seguimiento de Lotes para Análisis Microbiológicos.
- c) El Coordinador o Analista de Laboratorio tomará la muestra según las indicaciones descritas en el instructivo G-I-AC-04 Toma de Muestra para Análisis Microbiológico, y luego registrará esta acción en el formato G-R-AC-01 Seguimiento de Lotes para Análisis Microbiológicos. Las muestras serán analizadas según los Métodos de Análisis de Microbiología.
- d) Las características y los parámetros de control a analizar son los establecidos en el documento G-D-AC-06 Plan de Análisis Microbiológico y Metales Pesados de Productos - División Colorantes Naturales.

El análisis de presencia de microorganismos no patógenos tales como aerobios mesófilos, mohos y levaduras será realizado en todos los lotes, por el Laboratorio de Control de Calidad.

El análisis de presencia de bacterias patógenas tales como Salmonella SP, Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Bacillus cereus y Coliformes se realizará periódicamente según las

frecuencias establecidas en dicho documento, por el Laboratorio de Control de Calidad y/o por un laboratorio de terceros.

- e) El Coordinador o Analista de Laboratorio debe revisar periódicamente durante el día el registro G-R-AC-01 Seguimiento de Lotes para Análisis Microbiológicos, para asegurarse que estén registrados todos los lotes terminados ese día.
- f) El Coordinador o Analista de Laboratorio ingresa los datos obtenidos de los análisis en los Datos Técnicos del Lote, en el sistema.

Si el producto es aprobado el Coordinador o Analista de Laboratorio elaborará el Reporte de Análisis correspondiente, coordinando con Producción para asignar el número de orden de pedido, y luego lo envía por correo electrónico al Jefe de Almacén, con copia a: Producción, Coordinador de la División Colorantes, Asistente de Comercio Exterior y Gerente Comercial (en caso de la División Colorantes) o a Producción, Asistente de Ventas y Asesor Técnico Comercial (en caso de la División Industrial), según corresponda.

El plazo máximo de entrega del Reporte de Análisis correspondiente será dentro de las 24 h del ingreso del pedido en el sistema por parte de producción.

Si el producto no está conforme, se avisará a Producción y se procederá según lo indicado en el procedimiento G-P-SGI-02 Control de Productos y Servicios No Conformes.

- g) El Coordinador de Laboratorio revisa la información de la marca, enviada vía correo electrónico por el Coordinador de la División Colorantes o Asistente de Comercio Exterior.
- h) El Coordinador de Laboratorio elabora el Certificado de Análisis y entrega al Coordinador o Asistente de la división correspondiente 3 copias en caso de exportación o 2 copias en caso de ventas nacionales. Los plazos de entrega de los certificados de Análisis son los siguientes: para ventas nacionales se entregan como máximo 1

hora antes de la salida del producto y para ventas internacionales se entregarán como máximo con 2 h antes de la salida del producto.

- i) El Coordinador o Analista de Laboratorio informa al Jefe de Almacén respecto a las condiciones de almacenaje requeridas por el producto, en el Reporte de Análisis correspondiente.
- j) Laboratorio debe guardar una contramuestra de todos los productos vendidos de colorantes naturales líquidos y en polvo, como máximo durante 2 años. Asimismo, guardará las contramuestras de los productos agrícolas exportados como mínimo durante 2 meses.

NOTAS:

1. En caso de urgencia por obtener un producto terminado de colorantes, el cliente podrá solicitar la liberación del lote sólo con el análisis de aerobios mesófilos, bajo su responsabilidad. Para ello, el Coordinador de la División Colorantes o Asistente de Comercio Exterior lo comunicará al Sub-Gerente de Gestión de Calidad y/o Coordinador de Laboratorio para que autoricen la liberación del lote. Luego de obtener los resultados de análisis de mohos y levaduras, se enviarán al cliente.
2. En caso de productos terminados comprados a terceros, tales como ácido carmínico, bixina, norbixina y carmín, serán analizados según los parámetros de calidad establecidos por la empresa. Según el cumplimiento de estos parámetros, los productos se pueden clasificar en: aprobado, desaprobado negociable o desaprobado.

7. REGISTROS

- Reporte de Análisis (de Materia Prima)
- Reporte de Control de Calidad (de Insumos y Reactivos Químicos)
- Reporte de Análisis de Colorantes Naturales
- Reporte de Análisis de Productos Industriales
- Certificado de Análisis
- Control de Muestras
- Datos Técnicos del Lote
- G-R-AC-01 Seguimiento de Lotes para Análisis Microbiológicos

G-P-ID-01 INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO DE NUEVOS PRODUCTOS	Versión: 06 Fecha: 09-05-06
---	--------------------------------

1. OBJETIVO

Establecer los pasos a seguir en la investigación y desarrollo de nuevos productos de la División Colorantes Naturales y la División Industrial de la empresa.

2. ALCANCE

Se aplica desde el origen de la idea del nuevo desarrollo hasta la propuesta para producción.

3. DEFINICIONES

- No aplica.

4. DOCUMENTOS A CONSULTAR

- G-BT-AC-01 Boletín Técnico (de colorantes)
- G-D-AC-01 Hoja de Seguridad (o Material Safety Data Sheet, de colorantes)
- G-D-AC-02 Información Nutricional (o Nutricional Data, de colorantes)
- G-BT-AC-02 Boletín Técnico (de productos industriales)
- G-D-AC-03 Hoja de Seguridad (de productos industriales)

5. RESPONSABLES

- *Jefe de Investigación y Desarrollo* (Div. Colorantes), Asesor Técnico Comercial (Div. Industrial).

6. DESARROLLO

6.1 Etapas de Investigación y Desarrollo

6.1.1 Etapa Inicial: Información de Entrada e Hipótesis Inicial

- a) El inicio del proceso de investigación y desarrollo de nuevos productos puede ser solicitado por: requerimiento del cliente,

iniciativa del responsable de Investigación y Desarrollo, iniciativa comercial u otro.

- b) El objetivo de la investigación y desarrollo puede ser: Duplicación o Desarrollo.
- c) La causa de la investigación y desarrollo puede ser: por necesidad del mercado, por problemas técnicos, por ahorro de costos u otro.
- d) Se identificará la información de entrada para la investigación y desarrollo que puede provenir de muestras, hojas técnicas, productos o desarrollos anteriores, u otra información adicional, se revisará que sea coherente y sin contradicciones, identificándose las características requeridas para el producto o desarrollo.
- e) Se propone una hipótesis inicial, que pueda cumplir con las características requeridas para el producto o desarrollo. En caso de duplicación de colorantes, para proponer la hipótesis inicial se realiza una observación preliminar para conocer el comportamiento del producto ante ciertos estímulos, para ver si tiene características similares a otros productos o desarrollos.
- f) Esta información será registrada en el formato G-R-ID-01 Solicitud de Desarrollo de Productos – Hoja Inicial.

6.1.2 Etapa Intermedia: Pruebas

- a) En función a la hipótesis planteada, se realizarán las pruebas para comprobar si la hipótesis es válida, verificando que las características del nuevo desarrollo cumplan con las requeridas inicialmente para el producto. Para ello, se podrán efectuar discusiones matemáticas, formulaciones, pruebas, observaciones, resultados, propuestas de métodos de análisis, entre otros, según se requiera.
- b) Esta información será registrada en el formato G-R-ID-05 Hoja de Desarrollo de Productos – Pruebas.

- c) Las pruebas se realizarán hasta que se obtenga un desarrollo/producto terminado que cumpla con las características requeridas para el producto. Si no se cumple, se volverán a plantear nuevas hipótesis o efectuar nuevas pruebas.

6.1.3 Etapa Final: Desarrollo/Producto Terminado o Final

- a) **Evaluación de Resultados:** El desarrollo/producto terminado será evaluado para comprobar si cumple con las características requeridas para el producto y será aprobado internamente por el responsable.

La información relacionada al desarrollo/producto terminado será registrada en el formato G-R-ID-06 Hoja de Desarrollo de Productos - Terminado o Final, detallando la hipótesis final, la fórmula/insumos empleados, las características del desarrollo/producto, los datos de la evaluación de resultados, y demás información requerida.

- b) **Verificación de Parámetros en Laboratorio de Control de Calidad:** Se entrega una muestra al Coordinador o Analista de Laboratorio, *para el análisis respectivo y la verificación de las características o parámetros establecidos para dicho producto. El Coordinador o Analista de Laboratorio registra esta verificación en el G-R-ID-06 Hoja de Desarrollo de Productos - Terminado o Final, firmando en señal de conformidad.*

- c) **Validación del Producto por el Cliente.** Se entrega una muestra al cliente para su validación según el uso previsto o aplicación.

Si el cliente aprueba el desarrollo/producto, el Responsable de Investigación y Desarrollo registra esta validación en el formato G-R-ID-06 Hoja de Desarrollo de Productos - Terminado o Final, marcando "Final". El Sub-Gerente de Gestión de Calidad firmará a manera de conformidad con la culminación de la investigación y desarrollo del producto.

Si el cliente no lo aprueba, el Responsable de Investigación y Desarrollo lo registra en el formato G-R-ID-06 Hoja de Desarrollo de Productos - Terminado o Final, marcando "Terminado" y volverá a la etapa intermedia de pruebas *en caso se requiera*.

6.2 Costo del Producto

- a. En caso de colorantes, se envía una Propuesta a Comercio Exterior – Negocios y/o Nuevos Desarrollos (G-R-ID-03). En caso de productos industriales, se entrega el presupuesto al Jefe de la División Industrial para su revisión.
- b. Si fuera necesaria una prueba piloto, debe ser aprobada por el Gerente General. En este caso, el Jefe de Producción debe participar obligatoriamente en la preparación de este presupuesto.
- c. El Responsable de ID podrá estimar el rendimiento, costo de materia prima y/o costo directo del producto, quedando registrados en el formato G-R-ID-06 Hoja de Desarrollo de Productos - Terminado o Final. No es de carácter obligatorio, *pues el responsable de la misma es el Coordinador de Contabilidad y Costos, que en coordinación con el Jefe de Investigación y Desarrollo, lo realiza a solicitud de Comercio Exterior.*

6.3 Propuesta para Producción de Nuevos Productos

- d. Se elabora la Propuesta para Producción de Nuevos Productos (G-R-ID-02), la cual es enviada a Producción para su consideración en la producción a gran escala. Se debe apoyar en la producción de los 3 primeros lotes y luego queda bajo responsabilidad del *Jefe de Producción y Mantenimiento*.

6.4 Documentación del Producto

- a) Se elabora el Boletín Técnico, la Hoja de Seguridad y/o Información Nutricional del producto según corresponda, los cuales son entregados al Sub-Gerente de Gestión de Calidad para su aprobación y utilización en el Laboratorio.

- b) El Responsable de Investigación y Desarrollo entregará al Sub-Gerente de Gestión de Calidad una copia de la Hoja de Desarrollo de Productos - Terminado o Final (G-R-ID-06) y de la Propuesta para Producción de Nuevos Productos (G-R-ID-02) para su archivo.

6.5 Modificación de Productos

- a) Las modificaciones de los productos darán inicio a un nuevo proceso de investigación y desarrollo, en el cual se utilizarán nuevamente los siguiente formatos según corresponda:

- Solicitud de Desarrollo de Productos – Hoja Inicial (G-R-ID-01)
- Hoja de Desarrollo de Productos – Pruebas (G-R-ID-05)
- Hoja de Desarrollo de Productos – Terminado o Final (G-R-ID-06)

El formato Hoja de Desarrollo de Productos – Terminado o Final (G-R-ID-06) será firmado por el Sub-Gerente de Gestión de Calidad a manera de conformidad con la modificación del producto.

- b) Asimismo, se utilizará un nuevo formato de “Propuesta para Producción de Nuevos Productos (G-R-ID-02), especificando los cambios realizados en la formulación y en la producción del producto, y se entregará a Producción para que su conocimiento y aplicación.
- c) El Responsable de Investigación y Desarrollo entregará al Sub-Gerente de Gestión de Calidad una copia de la Hoja de Desarrollo de Productos – Terminado o Final (G-R-ID-06) y de la Propuesta para Producción de Nuevos Productos (G-R-ID-02) para su archivo.
- d) El nombre del producto modificado puede: mantenerse igual al anterior (controlando los cambios con la fecha de modificación) o incluir algunas letras o números que lo diferencie.
- e) De ser necesario, también se modificarán el Boletín Técnico, Hoja de Seguridad y/o Información Nutricional del producto, según

corresponda, y se entregarán al Sub-Gerente de Gestión de Calidad para su aprobación y utilización en el Laboratorio.

7. REGISTROS

- Solicitud de Desarrollo de Productos – Hoja Inicial (G-R-ID-01)
- Propuesta para Producción de Nuevos Productos (G-R-ID-02)
- Propuesta a Comercio Exterior – Negocios y/o Nuevos Desarrollos (G-R-ID-03)
- Hoja de Desarrollo de Productos – Pruebas (G-R-ID-05)
- Hoja de Desarrollo de Productos – Terminado o Final (G-R-ID-06)

ANEXO IV

METODOS DE ANALISIS APLICADOS

IV.1 METODO DE ANALISIS DE COCHINILLA DE PRIMERA (MÉTODO ADEX III) G-MT-AC-02

1. OBJETIVO

Determinar el contenido de ácido carmínico en una muestra de cochinilla por el método ADEX III.

2. EQUIPOS

- Espectrofotómetro - doble haz UV-Visible con celda de 1 cm (UV-1601 SHIMADZU).
- Balanza analítica – capacidad 200 g.
- Vaso de precipitación de 150 mL.
- Luna de reloj.
- Fiola de 1 000 mL. con tapa.
- Espátula de acero inoxidable.
- Pizeta conteniendo agua desionizada.
- Bomba al vacío.
- Filtro büchner.
- Papel filtro Watman # 42.
- Mortero.

3. REACTIVOS

- Solución de HCl 2N
- Agua desionizada

4. DESARROLLO

- Mezclar bien la muestra.

- Pesar aproximadamente 10 g de muestra y molerla usando el mortero, hasta un tamaño de malla #60.
 - De esta cochinilla molida pesar en el vaso de precipitado una muestra de aproximadamente 0,26 g. (m)
 - Adicionar 30 mL de HCl 2N y tapar el vaso con una luna de reloj.
 - Llevar a ebullición durante 2 minutos y lavar con agua desionizada de la pizeta las paredes del vaso para que no se queden residuos pegados. Dejar hervir por 3 minutos más.
 - Filtrar esta solución sobre el papel filtro del embudo büchner con ayuda de la bomba al vacío.
 - Adicionar agua desionizada caliente (80° - 90°C) al vaso de precipitado como lavándolo y adicionar estas soluciones al filtro y luego echar más agua caliente al papel hasta que se retire completamente el color (aprox. 500 mL.)
 - Dejar enfriar esta solución hasta temperatura ambiente.
 - Trasvasar a una fiola de 1 000 mL, luego aforar hasta la marca con agua desionizada.
 - Mezclar bien invirtiendo cada vez (10 veces como mínimo).
 - Leer la densidad óptica en el espectrofotómetro a 494 nm usando como blanco agua desionizada.
- **CALCULO DEL CONCENTRACIÓN DE ACIDO CARMÍNICO:**

Donde: A = Absorbancia (D.O.)

m (g) = Masa de la muestra

13,9 = Coeficiente de absorción

El valor de la absorbancia leída debe estar comprendido en un rango de 0,65 a 0,75 en caso contrario corregir masa de la muestra.

$$\% \text{ AC} = \frac{A \times 100}{13,9 \times m \text{ (g)}}$$

5. DOCUMENTOS A CONSULTAR

- Método ADEX III.
- FCCII. Food Chemical Codex, 2da edition. [19].

IV.2 METODO DE ANALISIS DE DETERMINACION DE PROTEINAS (KJELDAHL)

1. OBJETIVO

Determinar el contenido de proteína.

2. PRINCIPIO

Se basa en la conversión de nitrógeno orgánico a nitrógeno inorgánico, el sulfato de amonio así formado es diluido y alcalinizado con hidróxido de sodio y el amoniaco destilado es recibido en una cantidad conocida de ácido sulfúrico y determinado por titulación.

3. METODO

Kjeldahl.

4. RESPONSABLE

Coordinador de Laboratorio y Analistas de Laboratorio.

5. EQUIPOS

- Molino con malla 20
- Equipo Kjeldahl de digestión y destilación
- Balanza analítica
- Balones de 800 mL.
- Vasos de 600 mL.

6. REACTIVOS

- Acido sulfúrico concentrado Q.P.
- Sulfato de potasio anhidro Q.P.
- Sulfato de cobre Q.P.
- Hidróxido de sodio al 50% Q.P.
- Solución indicadora de rojo de metilo, 0,1% en alcohol al 95%
- Solución indicadora de ácido sulfúrico o clorhídrico al 0,1N (valorada)
- Solución de hidróxido de sodio o potasio al 0,1N (valorada)

- Solución de hidróxido de sodio al 50% en masa.

7. DESARROLLO

- Preparación de la muestra que se realiza en un área especial cerca al almacén de manera que el 95% de las partículas pasan por el tamiz N° 20.
- Se pesa un gramo de muestra molida, con precisión de 0,1 mg y colocar en el balón Kjeldahl.
- Se agrega 15 g de sulfato de potasio anhidro.
- Luego un gramo de sulfato de cobre.
- Añadir 25 mL de ácido sulfúrico concentrado.
- Colocar el balón en posición inclinada y calentar suavemente hasta desaparición de la espuma.
- Se lleva luego a ebullición vigorosa, hasta que la solución quede limpia, una coloración verde intensa es la señal mayormente, y se mantiene el calentamiento durante 1 h. Reacción.
- Enfriar temperatura ambiente y añadir 450 mL de agua destilada.
- Agregar 80 mL de hidróxido de sodio al 50% teniendo cuidado de hacerlo resbalar por las paredes del balón, coloración azul. Reacción.
- Inmediatamente se conecta el balón con el refrigerante y la trampa, se rota el balón para mezclar el contenido, se sumerge el pico del refrigerante en un vaso conteniendo un exceso conocido de solución de ácido sulfúrico o clorhídrico 0,1 N (100 mL).
- Calentar hasta que se haya destilado el amoníaco (300 mL por lo menos).
- Valorar el exceso de la solución de ácido con la solución alcalina valorada de hidróxido de sodio, usando dos gotas de rojo de metilo como indicador.
- Corregir el resultado efectuando un ensayo en blanco de los reactivos.

Cálculos:

$$\% P = \frac{(Bk - G) \times 0.014 \times N \times F \times Fs \times 100}{m}$$

Donde:

Bk = Gasto del hidróxido de sodio 0,1 N de la muestra

G = gasto de la solución, en mL

0,014 = miliequivalentes de Nitrógeno

N = Normalidad de la solución

F = factor de conversión de Nitrógeno a proteína (6,25)

Fs = factor de la solución

m = masa de la muestra en gramos

IV.3 METODO DE ANALISIS DE CARMÍN FCCII G–MT-AC–90

1. OBJETIVO

Determinar el contenido de ácido carmínico en una muestra de carmín, basado en el método FCCII, expresado como porcentaje.

2. ALCANCE

Aplica Carmín producido y comercializado por Globenatural Internacional S.A.

3. RESPONSABLE

Coordinador de Laboratorio.

4. EQUIPOS

- Espectrofotómetro - doble haz UV-Visible con celda de 1 cm (UV-1601 SHIMADZU)
- Balanza analítica – capacidad 200 g.
- Vaso de precipitación de 150 mL
- Fiola de 1 000 mL con tapa
- Luna de reloj
- Espátula de acero inoxidable
- Embudo pequeño
- Plancha eléctrica

5. REACTIVOS

- Solución de HCl 2N
- Agua desionizada

6. DESARROLLO

- Mezclar bien la muestra usando la espátula.
- Pesar exactamente m (g) (*) de la muestra en el vaso de precipitado de 150 mL, previamente tarado (el vaso debe estar bien seco). Adicionar 30 mL de HCl 2N y tapan el vaso con una luna de reloj.

- Poner el vaso a la plancha eléctrica bien caliente y hervir 1 min; con ayuda de las pinzas mover cuidadosamente el vaso para disolver el producto.
- Si el producto se queda pegado a las paredes del vaso levantar la luna de reloj con ayuda de las pinzas y lavar las paredes del vaso con la ayuda de la piseta que contiene agua desionizada.
- Hervir la solución hasta completa disolución (aproximadamente 3 minutos).
- Retirar el vaso de la plancha y dejar enfriar hasta temperatura ambiente.
- Trasladar el contenido del vaso a la fiola de 1 000 mL con ayuda del embudo, enjuagar el vaso con agua desionizada que está contenida en la piseta y echar las soluciones a la fiola de 1 000 mL.
- Enrasar hasta la marca con agua desionizada y tapar. Mezclar bien agitando e invirtiendo cada vez (10 veces como mínimo).
- Leer la densidad óptica en el espectrofotómetro a 494 ± 5 nm usando como blanco agua desionizada.
- Colocar los resultados en el cuaderno de laboratorio.
- Calculo del porcentaje de ácido carmínico:

Donde: A = Absorbancia (D.O.) a 494nm +/- 5 nm

m = masa de la muestra en gramos

(*) Para carmín de 50% o 52% pesar 0,1 g y si tiene diferente concentración a estas, pesar de tal manera que la absorbancia leída esté entre 0,65 - 0,75.

$$\% \text{ Ac.} = \frac{A \times 100}{13,9 \times m}$$

7. DOCUMENTOS A CONSULTAR

- Second Supplement to the Food Chemicals Codex, 2nd Edition (FCCII) [19].

IV.4 METODO DE ANALISIS DE COLOR EN TALCO, G-MT-AC-127

1. OBJETIVO

Establecer el color en base a los valores del L*, a* y b* (o según escala de algún cliente), en una muestra de carmín mezclado con talco.

2. ALCANCE

Aplica a todos los carmines brutos, en proceso y finales producidos por Globenatural Internacional S.A.

3. RESPONSABLE

Coordinador de Laboratorio.

4. EQUIPO:

- Balanza analítica – capacidad 200 g.
- Licuadora OSTER.
- Colorímetro Hunter Lab.
- Espátula.
- Cuchara de acero inoxidable
- Recipiente de plástico.
- Bolsas de plástico

5. REACTIVO:

- Talco

6. DESARROLLO

- 6.1 Colocar la bolsa dentro del recipiente de plástico doblando la bolsa hacia fuera de tal manera que no se manche con el producto al momento de pesar.

- 6.2 Con una cuchara pesar 19 g de talco y usando una espátula pesar 1g de carmín al 52%, en la bolsa que está dentro del recipiente de plástico previamente tarado.
- 6.3 Si la concentración del carmín es diferente de 52%, calcular masa del talco de la siguiente manera:
- $$\text{Masa de talco} = 20 - \frac{(52)}{C}$$
- Donde C = Concentración del carmín.
- 6.4 Completar a 20 g con el carmín
- 6.5 Una vez pesado, mezclar un poco en la bolsa para evitar que el carmín se pegue en la bolsa, vaciar el contenido en el vaso de la licuadora OSTER.
- 6.6 Seleccionar la velocidad de LIQUEFY y mantener así por 1 min usar la cuchilla No. 1 de la licuadora, sacar el vaso de la licuadora y tratar de que los restos de carmín pegados en las paredes se desprendan, golpeándolos en las paredes.
- 6.7 Repetir el paso 6.6 usar la cuchilla No. 2 de la licuadora.
- 6.8 Repetir el paso 6.6 usar la cuchilla No. 3 de la licuadora.
- 6.9 Vaciar el contenido en otra bolsa y realizar las lecturas de L*, a*, b* (o según escala de algún cliente) en el Colorímetro Hunter Lab, según el instructivo G-I-AC-13.

7. DOCUMENTOS A CONSULTAR

- G-I-AC-13 Calibración, Verificación y Lectura de Muestra del Colorímetro.

IV.5 METODO DE ANALISIS DE CARMÍN FCCIII G–MT-AC–91

1. OBJETIVO

Determinar el contenido de ácido carmínico en una muestra de carmín, basado en el método FCCIII, expresado como porcentaje.

2. ALCANCE

Aplica al carmín producido y comercializado por Globenatural Internacional S.A.

3. RESPONSABLE

Coordinador de Laboratorio.

4. EQUIPOS

- Espectrofotómetro - doble haz UV-Visible con celda de 1 cm (UV-1601 SHIMADZU)
- Balanza analítica – capacidad 200 g.
- Vaso de precipitación de 150 mL
- Fiola de 1 000 mL con tapa
- Luna de reloj
- Espátula de acero inoxidable
- Embudo pequeño
- Plancha eléctrica

5. REACTIVOS

- Solución de HCl 2N
- Agua desionizada

6. DESARROLLO

- Mezclar bien la muestra usando la espátula.
- Pesar exactamente m (g) (*) de la muestra en el vaso de precipitado de 150 mL, previamente tarado (el vaso debe estar bien seco). Adicionar 30 mL de HCl 2N y tapar el vaso con una luna de reloj.

- Poner el vaso a la plancha eléctrica bien caliente y hervir 1 min; con ayuda de las pinzas mover cuidadosamente el vaso para disolver el producto.
- Si el producto se queda pegado a las paredes del vaso levantar la luna de reloj con ayuda de las pinzas y lavar las paredes del vaso con la ayuda de la piseta que contiene agua desionizada.
- Hervir la solución hasta completa disolución (aproximadamente 3 minutos).
- Retirar el vaso de la plancha y dejar enfriar hasta temperatura ambiente.
- Trasladar el contenido del vaso a la fiola de 1 000 mL con ayuda del embudo, enjuagar el vaso con agua desionizada que está contenida en la piseta y echar las soluciones a la fiola de 1 000 mL.
- Enrasar hasta la marca con agua desionizada y tapar. Mezclar bien agitando e invirtiendo cada vez (10 veces como mínimo).
- Leer la densidad óptica en el espectrofotómetro a 494 ± 5 nm usando como blanco agua desionizada.
- Colocar los resultados en el cuaderno de laboratorio.
- Calculo del porcentaje de ácido carmínico:

Donde: A = Absorbancia (D.O.) a 494nm +/- 5 nm

m = masa de la muestra en miligramos

(*) Para carmín de 50% o 52% (FCCIII) pesar 30 mg y si tiene diferente concentración a estas, pesar de tal manera que la absorbancia leída esté entre 0,20 - 0,25.

$$\% \text{ Ac.} = \frac{A \times 100 \times 15}{0.262 \times m}$$

7. DOCUMENTOS A CONSULTAR

- Food Chemicals Codex, 3rd Edition (FCCIII).

ANEXO V

GESTIÓN DE DOCUMENTO DE ASEGURAMIENTO DE LA CALIDAD

(G-D-AC-04)



CRITERIOS DE ACEPTACIÓN DE MATERIAS PRIMAS

COCHINILLA	RESULTADO		
	APROBADO	DESAPROBADO NEGOCIABLE	DESAPROBADO TOTAL
Características	Parámetros de Control de Calidad		
Concentración	19% mín.	18,9% - 17,5%	< a 17,5%
Humedad	10% máx.	10,1% - 12%	> a 12%
Segunda	2% máx.	2,1% - 3%	> a 3%
Piedras	0,5% máx.	0,6% - 2%	> a 2%
Adulterados	1,5% máx.	1,6% - 3%	> a 3%
Polvillo	0,5% máx.	0,6% - 2%	> a 2%

SEMILLA DE ACHIOTE	RESULTADO		
	APROBADO	DESAPROBADO NEGOCIABLE	DESAPROBADO TOTAL
Características	Parámetros de Control de Calidad		
Concentración (1)	2,5% mín.	2,4% - 1,9%	< a 1,9%
Impurezas	0,5% máx.	0,6% - 1%	> a 1%
Semillas hongeadas	3% máx.	3,1% - 6%	> a 6%

JALEA ALGARROBINA LÍQUIDA	RESULTADO		
	Parámetros de Control de Calidad		
% Sólidos insolubles	4% - 5%		
% Sólidos secables	70% - 80%		
% Sólidos solubles secables	67,2 - 76%		
<i>Aerobios Mesófilos</i>	< 1 000 UFC / g		
<i>Mohos</i>	< 100 UFC / g		
<i>Levaduras</i>	< 100 UFC / g		
<i>Salmonella sp</i>	Ausencia / 25 g		
<i>Escherichia coli</i>	Ausencia		
<i>Staphylococcus aureus</i>	Ausencia		
<i>Coliformes (NMP)</i>	Ausencia		
pH 1%	5,5-6,5%		

CORONTA DE MAÍZ MORADO	RESULTADO		
	APROBADO	DESAPROBADO NEGOCIABLE	DESAPROBADO TOTAL
Características	Parámetros de Control de Calidad		
Concentración	1,2% mín.	1,1% - 0,8%	< a 0,8%
Humedad	10% máx.	10,1% - 12%	> 12%

CURCUMINA EN CRISTALES	RESULTADO
	Parámetros de Control de Calidad
Características	
% Humedad	≤ 12 %
Concentración (% curcumina)	≥ 70 %
<i>Aerobios Mesófilos</i>	< 1 000 UFC / g
<i>Mohos</i>	< 100 UFC / g
<i>Levaduras</i>	< 100 UFC / g
<i>Salmonella sp</i>	Ausencia / 25g
<i>Escherichia coli</i>	Ausencia
<i>Residuos de pesticidas</i>	Dentro de los límites permisibles
<i>Mercurio</i>	< 1 ppm
<i>Plomo</i>	< 10 ppm
<i>Cadmio</i>	< 1 ppm
<i>Arsénico</i>	< 3 ppm
<i>Metales pesados</i>	< 40 ppm

Fuente: Globenatural Internacional S.A. (2005)

NOTAS:

(1) En caso de semilla de achiote para exportación, el porcentaje mínimo de concentración será el requerido por el cliente.

Sub-Gerente de Gestión de Calidad

Aprobado el 01/08/06

ANEXO VI

INSTRUCTIVO G-I-PR-20 EXTRACCIÓN Y FILTRADO CARMÍN

G-I-PR-20 EXTRACCIÓN, FILTRADO CARMÍN	Versión: 03 Fecha: 11-09-06
--	--------------------------------

1. INSTRUCCIONES GENERALES

- a) Tener el uniforme limpio y completo, según el instructivo G-I-SGI-06 Normas de Higiene Personal.
- b) Verificar que las áreas, equipos y utensilios estén limpios y desinfectados, antes de comenzar a trabajar.
- c) Cada Bach deberá ser identificado con su respectivo número de lote.
- d) Los datos obtenidos tendrán que ser registrados en la Orden de Producción.

2. DESCRIPCIÓN**a) Recepción de Insumos**

Solicitar a Almacén la materia prima y/o insumos necesarios. Verificar producto y peso según -Orden de Requerimiento de lotes, insumos y reactivos.

Control de Agua para proceso

En un vaso de precipitación agregar aprox. 20 ml de D.8 proveniente del ablandador. Adicionar el reactivo indicador, agregar 3 gotas de solución Buffer y agitar. El color obtenido debe ser celeste, si se torna rosa, volver a regenerar el D.8.

b) Extracción-filtración

Esta etapa se inicia, adicionando D 8 al tanque reactor, proveniente del intercambiador de calor (etapa de precipitación), calentar a 70-80°C , agregar S.2, A.2, calentar a *ebullición* luego adicionar la cochinilla , mantener la temperatura aprox.=100 °C, por 15 min, se

descarga el extracto, y deriva a un tanque de almacenamiento, se continua con las demás extracciones, agregando los reactivos y agua correspondiente; derivar los extractos al tanque de almacenamiento, estas cinco extracciones forman un lote completo, donde reposa de 12 a 18 h, después se retira los residuos sólidos sedimentados, el extracto es filtrado en un filtro prensa, previamente se forma la pre-capa de tierra filtrante. Homogenizar el extracto antes de precipitar y llevar muestra a laboratorio para el análisis de concentración y pH.

3. ACCIONES CORRECTIVAS

PROBLEMA	ACCION INMEDIATA
Extracto viscoso <i>no se puede filtrar</i>	Calentar el extracto y <i>volver a filtrar formando una nueva pre capa.</i>

4. REGISTROS

Sistema Orden de producción.

Sistema Orden de Requerimiento de lotes, insumos y reactivos.

G-R-PR-18 Orden de producción de Carmín.

ANEXO VII

INSTRUCTIVO G-I-PR-23 PRECIPITADO Y PRENSADO DE CARMIN

G-I-PR-23

Versión: 03

PRECIPITADO Y PRENSADO DE CARMIN

Fecha: 11-09-06

1. INSTRUCCIONES GENERALES

- a) Tener el uniforme limpio y completo, según el instructivo G-I-SGI-06 Normas de Higiene Personal.
- b) Verificar que las áreas, equipos y utensilios estén limpios y desinfectados, antes de comenzar a trabajar.
- c) Cada Bach deberá ser identificado con su respectivo número de lote.
- d) Los datos obtenidos tendrán que ser registrados en la Orden de Producción.

2. DESCRIPCION

a) **Recepción de Insumos**

Solicitar a almacén la materia prima y/o insumos necesarios. Verificar producto y peso según Orden de Requerimiento de lotes, insumos y reactivos.

b) **Precipitado**

Bombear el extracto al reactor de precipitación.

Para la ejecución de la precipitación de cada método se debe respetar la secuencia del cuadro, parámetros de tiempo, temperatura y pH. Los reactivos en solución se preparan según lo indicado en el Instructivo Preparación de Reactivos G-I-PR-04.

En la última etapa de precipitado hacer recircular el precipitado por el intercambiador de calor para bajar su temperatura entre 25-30 °C

aprox., luego adicionar solución de A.4 hasta obtener un pH aprox. de 2,2 – 2,5.

c) **Prensado y Descarga de pasta de Carmin**

- Bombear el precipitado al filtro prensa constantemente y sin interrupción. Hacer recircular de 20 a 30 min aprox. dependiendo del color del líquido de retorno. Cuando el agua a la salida del filtro prensa no contenga sólidos en suspensión, cerrar el retorno y abrir simultáneamente la línea que va al tanque de almacenamiento de agua de Carmin.
- Cambiar la alimentación por D.8 para lavar la pasta. La cantidad de D.8 es de aprox. 150 gal.
- Abrir la válvula del aire comprimido por 45 minutos aprox.
- Colocar el coche de recepción de pasta debajo del filtro prensa con una manga abierta de polietileno, abrir el filtro prensa y proceder a recibir la pasta contenida en cada placa. Por lo general toda la prensa requiere de dos mangas por lote.
- Identificar cada una de las partes con una etiqueta rotulando el número de lote y almacenarlas temporalmente en el coche hasta pasar a la siguiente etapa de secado; de no alcanzar la capacidad del coche, usar parihuelas.
- Si el almacenamiento temporal, excede las 24 h aprox. almacenar las pastas en la cámara de frío hasta pasar a la siguiente etapa de secado.

3. **ACCIONES CORRECTIVAS**

PROBLEMA	ACCION INMEDIATA
Precipitado formado por partículas finas	Centrifugar
Precipitado gelatinoso	Centrifugar

PROBLEMA	ACCION INMEDIATA
Mala reacción	Adición de A.4 hasta pH= 2 – 2.5 aprox. y analizar las aguas de carmín. Si son mayores de 0.1% de concentración, se adicionarán a los lotes siguientes en alícuotas de 100 gal aprox. por lote al extracto antes de precipitar.

4. REGISTROS

Sistema Orden de producción.

Sistema Orden de Requerimiento de lotes, insumos y reactivos.

G-R-PR-18 Orden de producción de Carmín.

ANEXO VIII

**INSTRUCTIVO G-I-PR-17 PRESECADO, TRATAMIENTO TERMICO,
SECADO Y ENFRIAMIENTO DE CARMÍN.**

G-I-PR-17 PRESECADO, TRATAMIENTO TERMICO, SECADO Y ENFRIAMIENTO DE CARMÍN	Versión: 03 Fecha: 03-10-06
--	--------------------------------

1. INSTRUCCIONES GENERALES

- a) Tener el uniforme limpio y completo, según el instructivo G-I-SGI-06 Normas de Higiene Personal.
- b) Verificar que las áreas, equipos y utensilios estén limpios y desinfectados, antes de comenzar a trabajar.
- c) Cada Bach deberá ser identificado con su respectivo número de lote.
- d) Los datos obtenidos tendrán que ser registrados en la Orden de Producción.

2. DESCRIPCIÓN**2.1 PRESECADO**

- a) Colocar la pasta de carmín en los castillos circulares del secador vertical, formando una capa delgada y uniforme.
- b) Identificar con una etiqueta en una de las bandejas el número de lote y la cantidad de bandejas ingresadas por lote.
- c) Apilar las bandejas circulares unas sobre otras y colocarlas en el secador vertical.
- d) Prender el ventilador de aire y abrir la llave de ingreso de vapor.
- e) La temperatura de secado es a 40 °C y hasta 60 °C aprox.
- f) El tiempo total de secado es de 4 a 5 h aproximadamente.

- g) Cambiar de posición las bandejas a las 2 h aprox. de secado, las que se encuentran en la parte superior, cambiarlas a la parte inferior para que el secado sea uniforme, retirando las que ya se encuentren secas.
- h) Verificar al tacto la textura del carmín para asegurarse que esté seco.
- i) Cuando el carmín esté seco, descargar en bandejas, remover el carmín luego colocarlas en bolsas de polietileno de 50 kg., en espera para su posterior etapa.
- j) Registrar en la Orden de Producción, las temperaturas del secador.

2.2 TRATAMIENTO TERMICO

- a) Revisar que los controles y válvulas estén apagados y cerrados respectivamente.
- b) Revisar que la autoclave esté limpio por dentro y por fuera antes de usar.
- c) Recibir el carmín pre secado o cualquier otro derivado del Carmín a tratar. Se distribuirá en las bandejas de acero inoxidable con plásticos de polietileno como base.
- d) Colocar las bandejas sobre el coche transportador de bandejas; estas estarán cubiertas con mangas de polietileno abiertas.
- e) Colocar las bandejas en el castillo (*) del autoclave (así mismo este estará sobre su coche transportador).
- f) Cerrar la autoclave, abrir la válvula de vapor y presionar el botón de encendido en el panel de control de la autoclave.
- g) Una vez que el autoclave alcance la temperatura de (100°C) *registrar hora de inicio*, esperar 1 h aprox. de tratamiento térmico para que se apague automáticamente y se encienda la luz de alarma.

- h) Paralelamente, acondicionar el secador para que el tiempo entre abrir el autoclave y traslado de las bandejas al secador sea mínimo (para mantener la temperatura y evitar contaminación).
- i) Cerrar la válvula de vapor y registrar la hora al terminar el tratamiento en la Orden de Producción.
- j) *El Tratamiento térmico puede repetirse según las indicaciones del Coordinador de Operaciones.*
- k) Sacar el castillo (*), colocarlo sobre el coche transportador y trasladar el producto a los secadores.

Nota importante: - No manipular los controles ya que estos están programados.

No abrir la puerta mientras el equipo esté trabajando.

2.3 SECADO

- a) La temperatura de secado es entre 70-75 °C y el tiempo de secado es de 2 h aproximadamente, tiempo necesario para que el carmín ya este seco (tener cuidado de no manipular el producto), retirar las bandejas del secador, colocarlas sobre los coches de transporte, cubrirlos con una manga abierta de polietileno y trasladarlos hacia la sala aséptica. Colocarlos en los nichos de enfriamiento.
- b) Dejar en la sala aséptica durante 45 minutos aprox. con la luz ultravioleta encendida.
- c) Envasar, pesar el lote y registrar en la Orden de Producción.

3. ACCIONES CORRECTIVAS

PROBLEMA	ACCION INMEDIATA
Presencia de oxido en el secador	Paralizar el secado y comunicar al Coordinador de operaciones.

PROBLEMA	ACCION INMEDIATA
Presencia de partículas extrañas en el producto	Comunicar al Coordinador de Operaciones.
No llega vapor suficiente al secador: <ul style="list-style-type: none"> • La Temperatura en el secador estático es menor de 80°C. 	Comunicar al Coordinador de Operaciones.
Cualquier otra falla con el equipo	Comunicar al Coordinador de Operaciones y/o al Supervisor de Mantenimiento
Emergencias	Presionar el botón manual de parada

(*) Porta bandejas

4. REGISTROS

Sistema Orden de Producción

G-R-PR-18 Orden de Producción Carmín Bruto.

ANEXO IX

**INSTRUCTIVO G-I-PR-13 MOLIENDA Y MEZCLA DE PRODUCTOS
BRUTOS**

G-I-PR-13 MOLIENDA Y MEZCLA DE PRODUCTOS BRUTOS	Versión: 03 Fecha: 21-08-06
--	--------------------------------

1. INSTRUCCIONES GENERALES

- a) Tener el uniforme limpio y completo, según el instructivo G-I-SGI-06 Normas de Higiene Personal.
- b) Verificar que las áreas, equipos y utensilios estén limpios y desinfectados, antes de comenzar a trabajar.
- c) Cada batch deberá ser identificado con su respectivo número de lote.
- d) Los datos obtenidos tendrán que ser registrados en la Orden de Producción.
- e) Verificar el estado del equipo: Fajas, pulsadores, extractor.
- f) A la hora de refrigerio, el responsable de molienda y mezcla debe encender las luces ultravioletas (UV) de la sala aséptica para que se esterilice.

2. DESCRIPCION**2.1 MOLIENDA**

- a) Armar el molino según el instructivo G-I-PR-14 Operación, Limpieza y Desinfección de Equipos de Planta, colocar una bolsa de recepción del producto a la salida del molino, sujeto con una abrazadera.
- b) El número de malla que se utiliza dependerá del tipo de producto a moler y la textura del mismo:

N° de Malla	TIPO DE PRODUCTOS
<p style="text-align: center;">10, 13 (Malla Fina)</p>	Para molienda fina de Carmín Bruto, Carmín WS, Antocianina, Ácido carmínico, Globebix WS, Norbixina y derivados de los mismos.
<p style="text-align: center;">35 (Malla Gruesa)</p>	Para molienda gruesa de Carmín Bruto, Carmín WS, Antocianina, Ácido carmínico, Globebix WS, Norbixina y derivados de los mismos.

El carmín bruto, se molerá con malla gruesa N° 35 y luego con malla fina N° 13.

En caso que el producto se encuentre fino, sólo se utilizará la malla fina N° 13.

La malla fina N° 10 será usada según las indicaciones del Coordinador de Operaciones.

- c) Controlar el peso del producto a moler.
- d) Presionar el botón de encendido del extractor de polvo.
- e) Encender el molino, primero *el helicoidal* y *después los martillos* (en ese orden).
- f) Alimentar con el producto la tolva del molino con ayuda de un cucharón. Con ayuda de una espátula remover el producto para facilitar su ingreso.
- g) Identificar los lotes con una etiqueta, pesar y registrar en la orden de producción correspondiente.
- h) Limpiar y desinfectar el equipo cada vez que se muele un producto nuevo y/o indicaciones del Coordinador de Operaciones.

2.2 MEZCLA:

- i) El mezclador tendrá que estar limpio y desinfectado según el instructivo G-I-PR-21 Operación, Limpieza y Desinfección de Equipos de Planta.
- j) Verificar los pesos del producto a mezclar, si es que hubiera alguna diferencia registrarlo en la orden de producción correspondiente. Abrir

las tapas de ingreso y cargar el producto. El producto cargado no debe exceder aprox. las $\frac{3}{4}$ partes de la capacidad del mezclador. La capacidad en peso va a depender del tipo de producto a mezclar.

- k) Cerrar el mezclador y asegurar la tapa. Se da un balanceo manual inicial para evitar que el motor se esfuerce y se procede a encender el equipo.
- l) Los tiempos de mezcla son de 20 minutos para lotes brutos.
- m) Apagar el mezclador y registrar los datos en la orden de producción correspondiente.
- n) Si son lotes brutos, colocar a la salida del mezclador la bolsa de recepción, sujeta de una abrazadera, abrir la válvula de compuerta y recepcionar el producto, ayudando a bajar el mismo con una espátula esterilizada.
- o) Llevar la muestra a laboratorio para su análisis.
- p) Para cambiar de bolsa, cerrar la válvula de compuerta y realizar la misma operación.
- q) Pesar el producto y registrarlo en la orden de producción correspondiente.
- r) Antes de tomar la muestra para análisis microbiológico, encender las luces UV para esterilizar los ambientes de la sala estéril.
- s) Comunicar a laboratorio para el análisis respectivo.
- t) Llevar el producto a almacén para su internamiento.

3. ACCIONES CORRECTIVAS

PROBLEMA	ACCIONES INMEDIATAS
Cualquier sonido extraño en el mezclador o molino.	Comunicar al <i>Coordinador de Operaciones</i> ; de no encontrarse comunicar al <i>Supervisor de Mantenimiento</i> .
Ruptura de bolsa receptora de producto	Cambiar de bolsa para el producto total. Si hubiese producto afectado separarlo y

	comunicar al <i>Coordinador de Operaciones</i> .
Ruptura de malla en molino	Parar la operación de molienda, comunicar al <i>Coordinador de Operaciones</i> .

4. REGISTROS

Sistema Orden de Producción.

Orden de Producción correspondiente

ANEXO X

JECFA

Comité mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios, es un comité internacional de científicos que es administrado conjuntamente por la Organización de Alimentos y Agricultura (FAO) de las Naciones Unidas y la Organización Mundial de la Salud. Que se viene reuniendo desde 1956, inicialmente para evaluar la seguridad de los aditivos alimentarios. Actualmente su trabajo incluye la evaluación de contaminantes, sustancias tóxicas naturales y residuos de medicamentos veterinarios en los alimentos.

Hasta la fecha, la JECFA ha evaluado más de 2.600 aditivos alimentarios, aproximadamente 50 sustancias tóxicas naturales y 95 medicamentos veterinarios. El comité también desarrolla, los principios para la evaluación de la inocuidad de los productos químicos en alimentos, que tienen relación con la evaluación de riesgos que estudia la toxicología y otras ciencias.

ANEXO XI

CONSTANCIAS DE LA RELACION PROFESIONAL - EMPLEADOR



GLOBENATURAL INTERNACIONAL S.A.

GLOBENATURAL INTERNACIONAL S. A. Con R.U.C. # 20382056681, domiciliado en Alameda San Marcos # 1455 Los Huertos de Villa en el Distrito de Chorrillos y representado por el Apoderado El Sr. José Manuel Candia Mendoza identificado con DNI # 08820147 según poder que corre inscrito en la Partida # 11030129 del Registro Mercantil de Lima.

CERTIFICA

Que la Sra. **INGA CUEVA, TULA NORMA** identificada con DNI. N° **07388190** ha laborado para nosotros en el cargo de JEFA DE CONTROL DE CALIDAD, en esta empresa, desde el **03 DE ENERO DEL 2,007 HASTA EL 03 DE ENERO DEL 2008**.

Expedimos el presente certificado a solicitud del interesado para los fines que estime por conveniente de acuerdo a ley.

Chorrillos, 03 de Enero del 2008.

José Manuel Candia Mendoza
SUB GERENTE DE ADMINIST. Y FINANZAS
GLOBENATURAL INTERNACIONAL S.A

GLOBE

naturales

GLOBENATURALES
S.A.C.

GLOBENATURALES SAC

Germán Schreiber 175

San Isidro -- Lima Perú

Telf. 442-9760 / Fax 442 -6138

globe@globenaturales.com

El Sr. Luis Vega, Gerente General de la empresa GLOBENATURALES S.A.C.

CERTIFICA

Que la Sra. TULA NORMA INGA CUEVA, identificada con DNI N°07388190, ha laborado en el cargo de:

- Asistente de Investigación y Desarrollo, periodo de Abril 1998 a Marzo 2001 en Globe Industrial S.A.*
- Supervisora de Producción de la Línea Bixina y Norbixina, periodo de 1992 a 1996, en Globe del Peru S.A.*

Expedimos el presente certificado para los fines que estime conveniente.

Chorrillos, 10 de Junio del 2008.


LUIS VEGA
Gerente General