

**NORMA  
VENEZOLANA**

---

**COVENIN  
1309-82**

**ALIMENTOS.  
IDENTIFICACION DE ACIDO  
BENZOICO, ACIDO SALICILICO  
Y ACIDO SORBICO.**

**( 1<sup>ra.</sup> REVISION)**



## PROLOGO

La presente norma sustituye a la Norma COVENIN 1309-77 Alimentos. Identificación de ácido benzóico, ácido salicílico y ácido sórbico del año 77.

TRAMITE

COMITE: CT10 ALIMENTOS

PRESIDENTE: Dr. Horacio Rosales

SECRETARIA: Ing. Milagros Díaz

SUBCOMITE: SC2 ADITIVOS Y CONTAMINANTES

COORDINADORA: Lic. Omaira Guaita

ASISTENTES

ENTIDAD

ESPECIALIDADES ALIMENTICIAS S.A.  
(ESPALSA)

DIVISION MEDICINA DEL TRABAJO (I.V.S.S)

UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA  
FACULTAD DE FARMACIA

FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS

MINISTERIO DE SANIDAD Y ASISTENCIA SOCIAL

DIVISION HIGIENE DE LOS ALIMENTOS

ASOCIACION DE FABRICANTES DE ALIMENTOS  
CONCENTRADOS PARA ANIMALES (AFACA)

INSTITUTO NACIONAL DE NUTRICION

CAMARA VENEZOLANA DE LA INDUSTRIA  
DE ALIMENTOS (CAVIDEA)

ASOCIACION DE INDUSTRIALES DE LA CARNE  
(AICAR)

MINISTERIO DE AGRICULTURA Y CRIA

REPRESENTANTES

Scarlett de Navarro

Yim Ng.

Elvira Bukowski

Rosmarie de Boer

Berenice Chandler de García

Fernando Asuaje

Diego Piña

José Aponte Urquiola

Horacio Rosales

Ofelia Herrera

Javier Ferradas

José Félix Chávez

Manuel Cols Páez

Emigdio Rojas

Elsa Milagros Key

INSTITUTO NACIONAL DE HIGIENE

Haydeé Rosae de Figueroa  
Gladys Villalba de Anderson  
Manuela Rios de Selgrad  
María Luisa Novoa

ACEITES " EL AGUILA "

Joaquín Meneses

ORMAECHEA HNOS C.A.

María Cristina de Martinez

UNIVERSIDAD SIMON BOLIVAR

José Luis Vidaurreta

BRANCA

Idda Pérez Rojas

ALIMENTOS LACTEOS C.A. ( ALACA)

Carlos Bocaranda

ALFONZO RIVAS Y CIA

Irma Herrera

DISCUSION PUBLICA:

FECHA DE ENVID: 15-09-81

DURACION: 45 días

FECHA DE APROBACION POR EL COMITE: 19-08-82

FECHA DE APROBACION POR COVENIN: 14-10-82

NORMA VENEZOLANA

COVENIN

ALIMENTOS 1309-82

IDENTIFICACION DE ACIDO BEN- (1<sup>ra</sup> Revisión)

ZOICO, ACIDO SALICILICO Y  
ACIDO SORBICO

### 1 NORMAS COVENIN A CONSULTAR

Esta norma es completa.

### 2 OBJETO Y CAMPO DE APLICACION

Esta norma contempla el método de ensayo para la identificación de ácido benzoico, ácido salicílico y ácido sórbico en alimentos por cromatografía de papel frente a patrón.

### 3 RESUMEN DEL ENSAYO

El método consiste en la extracción de los ácidos indicados a partir de una muestra del alimento utilizando éter etílico y su separación e identificación por cromatografía de papel.

### 4 EQUIPO DE ENSAYO

- 4.1 LAMPARA DE LUZ ULTRAVIOLETA, de ambas longitudes de onda (corta y larga).
- 4.2 PIPETAS AFORADAS DE MOHR
- 4.3 EMBUDOS DE SEPARACION
- 4.4 MATRACES AFORADOS, de 100 ml
- 4.5 VASOS DE PRECIPITADO, de 250 ml
- 4.6 TUBOS DE CENTRIFUGA
- 4.7 EMBUDOS DE FILTRACION
- 4.8 EQUIPO PARA SUCCION

- 4.9 CAPSULA DE PROCELANA
- 4.10 BAÑO-MARIA
- 4.11 BALANZA ANALITICA, con apreciación de 0,1 mg.
- 4.12 MATERIAL PARA CROMATOGRAFIA DE PAPEL
- 4.12.1 Micropipetas de 10 y 20  $\mu$ l.
- 4.12.2 Cámara para cromatografía, saturada con el solvente móvil por lo menos durante 20 min.
- 4.12.3 Papel para cromatografía, de 20 x 20 cm.
- 4.13 ESPECTROFOTOMETRO, de luz ultravioleta con celdas de cuarzo.
- 4.14 CENTRIFUGA
- 4.15 AGITADOR MECANICO
- 4.16 MATRACES ERLLENMEYERS
- 4.17 PAPEL DE FILTRO, de filtración rápida.

## 5 REACTIVOS

Todos los reactivos utilizados a continuación, son de grado analítico y el agua a menos que se indique lo contrario debe ser destilada.

### 5.1 SOLVENTE MOVIL

Mezcla de acetona - etanol - hidróxido de amonio al 25% (70 + 5 + 20).

### 5.2 HIDROXIDO DE SODIO EN LENTEJAS (NaOH)

### 5.3 SOLUCION DE HIDROXIDO DE SODIO (4N)

### 5.4 ETER ETILICO (C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>O)

### 5.5 HIDROXIDO DE AMONIO (NH<sub>4</sub>OH)

### 5.6 SOLUCION DE HIDROXIDO DE AMONIO al 1% (v/v)

## 5.7 SOLUCION DE HIDROXIDO DE SODIO (1N)

5.8 ACIDO SULFURICO ( $H_2SO_4$ , 98% de pureza)

## 5.9 SOLUCION DE ACIDO SULFURICO (4N)

5.10 ACIDO BENZOICO ( $C_6H_5COOH$ )

## 5.11 SOLUCION PATRON DE ACIDO BENZOICO

Se pesan 250 mg de ácido benzoico, se disuelven en éter etílico en un matraz aforado de 100 ml y se lleva a volumen.

5.12 ACIDO SALICILICO ( $C_6H_4OHCOOH$ )

## 5.13 SOLUCION PATRON DE ACIDO SALICILICO

Se pesan 100 mg de ácido salicílico, se disuelven en éter etílico en un matraz aforado de 100 ml y se lleva a volumen.

5.14 ACIDO SORBICO ( $CH_3:CH:CHCH:CHCOOH$ )

## 5.15 SOLUCION PATRON DE ACIDO SORBICO

Se pesan 100 mg de ácido sórbico, se disuelven en éter etílico en un matraz aforado de 100 ml y se lleva a volumen.

5.16 ACIDO ACETICO GLACIAL ( $CH_3COOH$ )5.17 DICROMATO DE POTASIO ( $K_2Cr_2O_7$ )

## 5.18 SOLUCION DE DICROMATO DE POTASIO (0,1N)

Se pesan 1,47 g de dicromato de potasio, se disuelven con agua en un matraz aforado de 100 ml y se lleva a volumen.

## 5.19 SOLUCION A

Se miden 10 ml de la solución de dicromato de potasio (5.18), se agregan 10 ml de ácido acético glacial (5.16) y 80 ml de agua destilada.

5.20 ACIDO TIOBARBITURICO ( $C_4H_4N_2O_2S$ )

## 5.21 SOLUCION B

Se pesan 0,5 g de ácido tiobarbiturico (5.20), se agregan 20 ml de

agua destilada, 10 ml de la solución de hidróxido de sodio (5.7), 11 ml de ácido acético glacial (5.16) en un matraz aforado de 100 ml y se lleva a volumen.

#### 5.22 SOLUCION C

Se prepara una mezcla con 4 volúmenes de la solución A (5.19) y 1 volumen de la solución B (5.21).

5.23 ETER DE PETROLEO, punto de ebullición 40°C - 60°C.

5.24 SULFATO DE SODIO ANHIDRO ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ )

5.25 ALCOHOL ETILICO ( $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ )

### 6 PROCEDIMIENTO

#### 6.1 PREPARACION DE LA MUESTRA

##### 6.1.1 Jugos, néctares, jarabes y bebidas no alcohólicas

6.1.1.1 Se miden 25 ml de muestra y se diluye con 25 ml de agua destilada.

6.1.1.2 Se acidifica con 2 ml de la solución (5.9).

6.1.1.3 Se transfiere a un embudo de separación y se extrae con 25 ml de éter etílico (5.4) agitando durante 1 min.

##### 6.1.2 Bebidas alcohólicas

6.1.2.1 Se miden 25 ml de muestra y se diluyen con 25 ml de agua.

6.1.2.2 Se alcaliniza la dilución (6.1.2.1) con la solución (5.3).

6.1.2.3 Se evapora en baño de maria hasta cerca de 25 ml o hasta que todo el alcohol se haya evaporado.

6.1.2.4 Se acidifica con la solución (5.9).

6.1.2.5 Se transfiere a un embudo de separación y se extrae con 25 ml de éter etílico (5.4) agitando durante 1 minuto.

### 6.1.3 Mermeladas y jaleas

6.1.3.1 Se pesan 20 g de muestra.

6.1.3.2 Se agregan 50 ml de agua.

6.1.3.3 Se mezcla y se acidifica con 2 ml de la solución (5.9).

6.1.3.4 Se transfiere a un embudo de separación y se extrae con 25 ml de éter etílico (5.4) agitando durante 1 minuto.

### 6.1.4 Carnes, pescados y productos vegetales

6.1.4.1 Se pesan 20 g de muestra en un vaso de precipitado de 250 ml.

6.1.4.2 Se añaden 100 ml de agua y 2 ml de la solución (5.9).

6.1.4.3 Se transfiere a un embudo de separación y se extrae con 25 ml de éter etílico (5.4) agitando durante 1 minuto.

### 6.1.5 Margarina, mantequilla y mayonesa

6.1.5.1 Se pesan 20 g de muestra en un matraz Erlenmeyer con tapa y se añaden 100 ml de alcohol etílico (5.25).

6.1.5.2 Se agita por 15 minutos con agitador mecánico (4.15) y luego se procede a centrifugar.

6.1.5.3 Se decanta el sobrenadante en un vaso de precipitado de 250 ml y se concentra hasta cerca de 5 ml en Baño-maría.

6.1.5.4 Se diluyen con 25 ml de agua destilada y se acidifica con 2 ml de la solución (5.9).

6.1.5.5 Se transfiere a un embudo de separación y se extrae con 25 ml de éter etílico (5.4) agitando durante 1 minuto.

### 6.1.6 Productos de Pastelería (panes, galletas y similares)

6.1.6.1 Se pesan 20 g de muestra, se agregan 50 ml de agua y 2 ml de la solución 5.9 para acidificar.

6.1.6.2 Se filtra con succión, a través de un papel de filtro de filtración rápida.

#### NOTA

Si se forma una emulsión, se agregan 10-15 ml de éter de petróleo (5.23) y se agita.

6.1.6.3 Se transfiere el filtrado a un embudo de separación y se extrae con 25 ml de éter etílico, (5.4) agitando durante un minuto.

#### 6.2 DETERMINACION

6.2.1 Después de la primera extracción con éter etílico y agitación por 1 minuto, se dejan separar las capas.

6.2.2 Se transfiere la capa acuosa a otro embudo de separación.

6.2.3 Se realiza una segunda extracción con 25 ml de éter etílico.

6.2.4 Se reúnen los extractos etéreos.

6.2.5 Si el extracto etéreo queda muy coloreado se purifica agregando 3 porciones de 15 ml cada una de la solución (5.6), se acidifica en presencia de papel tornasol con gotas de la solución (5.9) y se hacen dos extracciones con porciones de 25 ml de éter etílico.

6.2.6 Los extractos etéreos se pasan a través de sulfato de sodio anhidro, (5.24), se evapora a sequedad con corriente de aire y se redisuelve con 1 ml de éter etílico.

6.2.7 Se aplica sobre el papel cromatográfico entre 10 y 20  $\mu$ l de la muestra, (6.2.6), 10  $\mu$ l de los patrones sórbico y salicílico y 20  $\mu$ l del patrón benzóico.

6.2.8 Se deja correr el solvente hasta más o menos 18 cm por encima de la línea de aplicación.

6.2.9 Se deja secar el papel a temperatura ambiente y se observa bajo luz ultravioleta.

6.2.10 El ácido salicílico se observa como una mancha violeta brillante, visible a ambas longitudes de onda mientras que los ácidos benzóico y sórbico se observan como manchas violeta oscuro, con longitud de onda corta, con un Rf muy parecido.

Para diferenciarlos se puede proceder de 2 formas:

6.2.10.1 Se practica la reacción colorimétrica característica del ácido sórbico, que se describe a continuación:

6.2.10.1.1 Se redisuelve con 10 ml de éter el residuo procedente de la extracción y se transvasa a una cápsula de porcelana. Se evapora a sequedad con corriente de aire. Se añade 1 ml de reactivo 5.21 (Solución B). Se calienta 5 minutos en Baño-maría y en caso positivo aparece una coloración rojiza debida a la oxidación del ácido sórbico a malonaldehído.

6.2.10.1.2 Si el espectrofotómetro dispone de un registrador se diluye convenientemente el residuo etéreo proveniente de la extracción. Se registra en el espectrofotómetro desde 360 nm (lámpara de hidrógeno y celdas de cuarzo). El ácido sórbico presenta su máxima absorción a 250 nm y el ácido benzóico presenta tres máximos característicos: a 272 nm, a 267 nm y a 276 nm respectivamente.

## 7 EXPRESION DE LOS RESULTADOS

7.1 El ácido salicílico se observa como una mancha violeta brillante.

7.2 El ácido sórbico y el ácido benzóico se observan como una mancha violeta oscuro y para diferenciarlos se procede según lo descrito en 6.2.10.1.2.

## 8 INFORME

El informe del ensayo debe contener como mínimo la siguiente información:

- 8.1 Ensayo realizado según la norma COVENIN Nº 1309
- 8.2 Fecha en la cual se realizó el ensayo
- 8.3 Identificación de la muestra
- 8.4 Resultados del ensayo
- 8.5 Observaciones
- 8.6 Realizado por:

## BIBLIOGRAFIA

- .Proposal made by the Delegation of the U.S.A. CX/M.A.S 72/5 Appendix 1.
- .Nordic Committes on Food Analysis, Nº 60 1967 - Cromatographic Separation of Preservatives.
- .H. Woidick, H Graner and E. Galinousky, Z Lebenson Unters, Forsh 133,317-322 (1967).
- .K.M Floyd J AOAC vol, 50, pág 1123, 1967.
- .Yvan H Tjan and T Konter J AOAC vol 55 Nº 6 p. 1223, 1972.
- .Herman Scmidt Habel Ciencia y Tecnología de los Alimentos pág 210, 1973.

**COVENIN**  
**1309-82**

**CATEGORIA**  
**C**

---

**COMISION VENEZOLANA DE NORMAS INDUSTRIALES**  
**MINISTERIO DE FOMENTO**  
**Av. Andrés Bello Edif. Torre Fondo Común Pisos 11 y 12**  
**Telf. 575. 41. 11 Fax: 574. 13. 12**  
**CARACAS**

publicación de:



CDU : 641 : 543.061.544

RESERVADOS TODOS LOS DERECHOS .  
Prohibida la reproducción total o parcial, por cualquier medio.

---