

Extracción de colorantes naturales a partir de materiales de mora de castilla (*Rubus glaucus*)

¹ Myriam Echeverri Valencia.

² Sandra Eugenia Jiménez D

Se realizó la obtención de colorantes naturales para la industria alimentaria a partir de materiales de la *Mora de Castilla (Rubus glaucus)* por medio de operaciones unitarias tales como la lixiviación y extracción con evaporación separativa, los resultados fueron buenos para la obtención de un producto óptimo.

Se requirió caracterizar los componentes químicos y fitoquímicos de la Mora de Castilla identificando las sustancias que dan color para una posterior utilización a nivel industrial. Se concluyó que las antocianinas eran las responsables del poder colorante del material obtenido.

Se desarrollaron prácticas en las cuales se produjeron colorantes naturales a partir de materiales de la *Mora de Castilla (Rubus glaucus)*, alcanzando altos rendimientos que hacen de éste un producto competitivo frente a los colorantes sintéticos o artificiales.

Introducción

El color de la mora en su proceso de maduración va desde un color amarillo verdoso a morado intenso. El color rojizo se debe a la presencia de pigmentos de **antocianina**, que son compuestos hidrosolubles presentes en la savia de la célula. Las antocianinas son un grupo de pigmentos rojizos, solubles en agua, ampliamente difundidos en el reino vegetal, y el azúcar presente en ésta le confiere una alta solubilidad y estabilidad.

En este estudio se analizan cuatro variedades de Mora de Castilla, a las cuales se les hace una **caracterización química y fitoquímica para determinar los componentes primarios en la mora** y así aislar de manera efectiva el material colorante el cual contiene un alto contenido de antocianina.

Parte experimental

Caracterización de materiales de mora de castilla: Se realizaron análisis químicos y fitoquímicos para determinar las condiciones del fruto a las que se puede operar el proceso, siendo necesario determinar humedad, cenizas, fibra, proteína, azúcares totales y reductores, °brix, pH y minerales como calcio hierro y fósforo en la parte química y para la fitoquímica alcaloides, esteroides, flavonoides y cumarinas. El método a seguir para el análisis fitoquímico es la cromatografía en capa delgada (CCD)

Fue necesario identificar cualitativamente el material colorante, para ello la muestra se preparó agregando a la mora alcohol y acidificando con HCl, se maceró y se calentó suavemente, posteriormente se filtra el extracto alcohólico. El extracto es analizado por espectrofotometría

Ingeniera Química. Teléfono (0968) 859446 - Manizales

Ingeniera Química. Teléfono (0968) 851512 - Manizales

Convenio Universidad Nacional de Colombia sede Manizales. Corpoica Reg. 9. SENA Reg. Caldas. C D T F

Tabla 1. Métodos Cromatográficos

Análisis	CCD
Alcaloides	Cloroformo-Acetona- dietilamina Capa de sílica gel G común.
Esteroides	Benceno,O-benceno-acetato de etilo Capa de sílica gel G.
Flavonoides y cumarinas	Tolueno-formato de etilo-ácido fórmico Capa de sílica gel G

Fuente: Enciclopedia de la química industrial. (1) , (2)

Reacciones coloreadas para reconocimiento y determinación: (3)

1. Una vez obtenido el extracto, se le añade igual volumen de ácido clorhídrico concentrado. La solución resultante se calienta a ebullición y se deja enfriar. Se agita con alcohol amílico y se observa si la fase amílica se colorea de violeta, azul o rojo, que son los que determinan un ensayo positivo.
2. A un extracto en solución acuosa se basifica con NaOH concentrado, produciéndose un color azul para las antocianinas.
3. Añadir al extracto pequeños pedazos de magnesio metálico o zinc. Se añade HCl concentrado gota a gota hasta un volumen no superior a la mitad del original. Se desarrolla coloraciones características en 1 - 2 minutos. Si no se observa claramente el color, la solución se lava con alcohol amílico, observando las tonalidades en esta fase.

Un exceso de ácido puede causar modificaciones indeseables de los colores a observar. El ensayo es positivo si se obtiene coloración rosada, rojo escarlata o vino y en pocos casos coloración azul o verde.

Análisis espectrofotométrico para identificación de material colorante en la mora de castilla:

Este tipo de análisis se trabaja con extracto de mora que contiene antocianina el cual se obtiene según el siguiente procedimiento: (4), (5)

Preparación de la muestra: Agregar a la mora alcohol y acidificar con HCl, macerar y calentar suavemente, filtrar el extracto alcohólico.

Reacciones con ácidos y bases fuertes: Para efecto de apreciar los comportamientos de estos pigmentos en medios ácidos y básicos se tuvieron sólo en cuenta las bases hidrosolubles:

1. Tomar 3 ml de extracto coloreado, dos para cada muestra.
2. Hacer lo mismo para los extractos alcohólicos crudos obtenidos en el proceso de extracción.
3. A un tubo del extracto alcohólico crudo y a uno del extracto hidrosoluble les agrega por las paredes 1 ml de HCl.

4. Repita el mismo procedimiento pero en lugar de HCl agregar NaOH.

Reacciones con metales trivalentes: Preparar soluciones al 1% de cloruro férrico, de aluminio o estaño. Repetir el numeral (3).

Una vez logradas las reacciones se llevan al espectrofotómetro, donde se hace un barrido de absorbancia en un rango de longitudes de onda entre 350 y 600 nm en intervalos de 5 en 5.

Para la extracción del colorante, se sigue un procedimiento de lixiviación el cual se opera en condiciones continuas. Se utilizaron dos técnicas de manejo: la aspersion o goteo de liquido sobre el sólido y la completa inmersión del sólido en el líquido, empleándose el equipo SOXHLET.

El material colorante fue analizado química y microbiológicamente y se determina su estabilidad y solubilidad.

Resultados y discusión

Análisis químico

Tabla 2. Análisis químico

	Guarne	Pácora	Manzanares	San Antonio
Humedad	91.0	90.0	86.0	91.0
% Cenizas	0.5	0.4	0.36	0.4
% Grasa	0.1	0.25	0.22	0.2
% Fibra	0.5	0.7	0.52	0.4
% Proteína	0.6	0.9	0.9	0.5
° Brix	7.8	7.0	7.7	6.8
% Azúcares reductores	2.1	2.5	-	1.7
% Azúcares totales	2.3	2.8	-	2.0
pH	2.7	2.6	2.2	2.9
% Acidez	2.8	2.4	2.5	2.7
Calcio	18.4	18.0	-	32.2
Fósforo	160.0	14.4	-	50.6
Hierro	2.9	3.3	-	1.0

De acuerdo a la tabla anterior, se puede decir que la mora de castilla contiene cantidades mínimas de fibra, grasa, proteína y minerales que no representan cantidades considerables para la dieta humana.

Análisis fitoquímico

Tabla 3. Resultados para las pruebas fitoquímicas

Análisis	Resultados
Alcaloides	-
Esteroides	+
Flavonoides	+
Taninos	+
Gomas y mucilagos	+
Cumarinas	-

La prueba positiva de flavonoides nos indica la presencia de material colorante (antocianina) en la mora de castilla ; los demás metabolitos no afectan la composición final del colorante extractado.

Análisis cualitativo del extracto de la mora de castilla: Los picos de absorción en las longitudes de onda en la región visible en el rango de 510 - 540 nm indican la mayor concentración de antocianina.

Extracción por lixiviación: Se lixivió con solución etanólica la mora de castilla, para separar el extracto coloreado de ésta (con alto contenido de antocianina). Se alimentó el equipo soxlhet con drupas de mora. La operación, se efectúa en forma continua, la solución etanólica se recogió en un recipiente con calentamiento para ser nuevamente recirculado y el proceso se repitió las veces que fuera necesario, cada corrida requirió un tiempo aproximado de 18 minutos; al finalizar la lixiviación se extrajo la mora decolorada.

Análisis del producto: Los resultados obtenidos en la caracterización del material colorante son los siguientes :

Análisis químico: Los resultados del análisis químico son reportados en la tabla a continuación.

Tabla 4. Análisis químico del material colorante

Análisis	Resultado en %
Humedad	48.32
Cenizas	4.68
Fibra	4.95
Proteína	5.81
Calcio	0.08
Hierro, ppm	292.5
pH	2.2
Acidez	28
Nitrógeno	0.93
Grasas	0.45

Tabla 5. Comportamiento del colorante con respecto al pH. (Reacción con NaOH (*) 1 N).

pH	Color
1.44	Rojo intenso
3.20	Rojo escarlata
4.53	Rojo mora
6.30	Uva
10.03	Negro verdoso
11.46	Negro
12.32	Verde oscuro
12.54	Verde menta oscuro

* : Con NaOH puro el colorante se torna de un color amarillo indicando que la antocianina fue destruida.

Estabilidad del material colorante : La estabilidad del material colorante esta basada en los siguientes items :

- Efectos de la temperatura de proceso : El material colorante presenta estabilidad a temperaturas relativamente altas
- Acción de los álcalis y los ácidos : El material colorante obtenido fue estable a la adición de : Hidróxido de aluminio, ácido tartárico, ácido benzoico y ácido cítrico, ya que preservó las características iniciales del pigmento en cuanto a su coloración.

Solubilidad del material colorante : Los resultados obtenidos son expuestos a continuación :

Tabla 6. Solubilidad del material colorante.

Gramos máximos de colorante necesarios para disolver en un litro de disolvente	Disolvente
∞	Agua
3.225	Propilenglicol
12.90	Glicerol

De los resultados mostrados en la tabla anterior podemos deducir que el material colorante extraído es altamente hidrosoluble, y a su vez presenta solubilidad comparativamente alta en compuestos liposolubles.

Análisis microbiológico: El resultado del análisis microbiológico se reporta como : para una concentración del material colorante de 10^{-3} , las unidades formadoras de colonia por ml fueron menores a $1 \cdot 10^2$, lo que nos indica que el material colorante carece de flora bacteriana, debido a que en principio la mora de castilla es un fruto que no alberga fácilmente organismos patógenos.

La mora por poseer un nivel de acidez alto hace que el fruto sea aséptico a muchos microorganismos, ya el material colorante concentrado por estar saturado de una gran cantidad de azúcares ligados en el pigmento hace en si que esta condición se preserve.

Características del colorante de mora de castilla obtenido (reporte de calidad): El colorante obtenido se puede considerar de origen natural y orgánico, fue obtenido con un solvente apto para la industria de alimentos. Debido a que está exento de tóxicos es apto para el consumo humano. Los aglicones le proporcionan a la antocianina estabilidad y solubilidad, motivo por el cual no se hizo la separación de estos dos componentes del colorante.

Como propiedades de la materia colorante obtenida se puede decir que es seguro ya que no imparte propiedades ofensivas al producto en cualquier nivel empleado (dosis), por tanto no tiene las limitaciones impuestas a los colorantes artificiales que no pueden pasar de 300 ppm; no presenta ningún tipo de reacción con los productos en los cuales es empleado; es de fácil aplicabilidad y su poder de fijación en el material a colorear es alto.

De acuerdo a las normas NTC-409 el colorante presenta un alto porcentaje de pureza debido a que no presenta ningún componente de los declarados en dicha norma.

El colorante obtenido posee las misma características de los colorantes en general en cuanto a la naturaleza higroscópica que presenta, por lo cual el empaque debe ser de la misma índole.

Bibliografía

- (1) : **RANDERANTH KURT**. Enciclopedia de la Química Industrial. Cromatografía de capa fina. Tomo 8. 1969.
- (2) : **DOMÍNGUEZ XORGE ALEJANDRO**. Cromatografía en papel y en capa delgada. 1975
- (3) : **ARMANDO CUELLAR CUELLAR**. Química de los fármacos naturales.1993
- (4) : **FOOD CHEMISTRY**. Pigments in fruits, vegetables and meats. Food science and nutrition. 1991
- (5) : **HAHLBROCK, KLAUSS**. Flavonoids. The biochemistry of plants. Vol. 7. Chapter 14. 1981.