

**EXTRACCIÓN QUÍMICA DE ANTOCIANINAS DEL FRUTO AÇAÍ COLOMBIANO  
(*Euterpe oleracea* Mart.)**

**ADRIANA MARCELA MORENO SABOYA**



**UNIVERSIDAD DE BOGOTÁ JORGE TADEO LOZANO  
FACULTAD DE INGENIERIA  
PROGRAMA DE INGENIERIA DE ALIMENTOS  
BOGOTÁ D.C.  
2017**

**EXTRACCIÓN QUÍMICA DE ANTOCIANINAS DEL FRUTO AÇAÍ COLOMBIANO**  
*(Euterpe oleracea Mart.)*

**ADRIANA MARCELA MORENO SABOYA**

**TRABAJO DE GRADO COMO REQUISITO PARA OPTAR AL TÍTULO DE**  
**INGENIERA DE ALIMENTOS**

**DIRECTORA:**  
**Liliana Cristina Hernández Bello**  
**Ingeniera Química, Msc.**

**UNIVERSIDAD DE BOGOTÁ JORGE TADEO LOZANO**  
**FACULTAD DE INGENIERÍA**  
**PROGRAMA DE INGENIERIA DE ALIMENTOS**  
**BOGOTÁ D.C.**  
**2017**

## Tabla de contenido

RESUMEN .....	4
INTRODUCCIÓN .....	9
METODOLOGÍA .....	13
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	18
CONCLUSIONES.....	19
AGRADECIMIENTOS.....	19
BIBLIOGRAFIA .....	21

## **RESUMEN:**

Las antocianinas son uno de los pigmentos naturales más estudiados en la industria de los alimentos y una de las opciones más atractivas para el desarrollo de colorantes naturales. Sin embargo los recursos naturales son limitados y su inestabilidad química durante los procesos de extracción resulta ser un reto para la industria de los colorantes. Así, este trabajo evaluó la extracción de antocianinas del fruto del açai (*Euterpe oleoracea Mart.*) cultivado en las zonas del pacífico colombiano utilizando un sistema de reflujo con aspersión. Para determinar el número de ensayos requerido se elaboró un diseño factorial  $2^k$  con  $k = 3$ , para las variables de concentración de etanol en solución acuosa (96% y 50%), ajuste de pH (3 y sin ajuste), y temperatura (30°C y 19°C), utilizando en todos los casos un tiempo de extracción de 24h. La concentración del colorante natural se llevó a cabo a través de rotoevaporación a una presión de 120mBar y una temperatura de 35°C. Para cada extracto se evaluó la cantidad de antocianinas, la actividad antioxidante y su color. Los resultados obtenidos demostraron que las condiciones con las que se logra una mayor extracción de antocianinas son: temperatura de 30°C, solución acuosa de etanol al 96% y pH de 3, obteniéndose una cantidad de antocianinas de 0,40mg/100g fruto. Adicionalmente, se determina que el factor más importante para la estabilidad química de las antocianinas y su actividad antioxidante es el pH.

**Palabras claves:** Açai, antocianinas, colorante natural, FRP y CIELAB.

## **ABSTRACT:**

Anthocyanins are one of the most studied natural pigments in the food industry and one of the most attractive options for natural dyes development. However, the natural resources are limited and the chemical instability during the extraction processes have become a challenge for the dye industry. Therefore, this study evaluated the anthocyanin extraction in the acai fruit (*Euterpe oleracea Mart.*) cultivated in the Colombian pacific areas using a reflux system with aspersion. The number of trials required was determined using a factorial design  $2^k$  with  $k = 3$ , for the concentration of ethanol in aqueous solution (96% and 50%), pH adjustment (3 and without adjustment), and temperature (30°C and 19°C), using in all cases an extraction time of 24h. The concentration of the natural dye was carried out by rot evaporation at a pressure of 120 mbar and a temperature of 35°C. For each extract was evaluated the amount of anthocyanins, the antioxidant activity and their colour. The results showed the best conditions for obtaining the biggest anthocyanin extraction are temperature of 30°C, aqueous solution of ethanol at 96% and pH of 3, obtaining an amount of anthocyanins of 0,40 mg / 100g fruit. Additionally, It was determined that the most important factor for the chemical stability of anthocyanins and its antioxidant activity is pH.

**Key Words:** Key words: Acai, anthocyanin, natural dye, FRP and CIELAB.

## INTRODUCCIÓN

El color es uno de los atributos organolépticos más importantes que influye directamente en la percepción y aceptación del consumidor para seleccionar un alimento (Martins, Roriz, Morales, Barros, & Ferreira, 2016), puesto que es un atributo relacionado con el sabor y la calidad del producto (Garzón, Narváez, Vincken, & Gruppen, 2017). Adicionalmente, los requerimientos de los consumidores cada día son más altos, y sus necesidades se basan en exigir ingredientes naturales con propiedades saludables y funcionales (Agócs & Deli, 2011), es decir, la preferencia de colorantes naturales con características nutraceuticas.

Las antocianinas son unos de los pigmentos naturales más estudiados en la industria de alimentos y una de las opciones más atractivas para el desarrollo de colorantes naturales. Son obtenidas a partir de la extracción de flores, frutas, hojas e incluso plantas enteras (Martins et al., 2016). El recurso natural más común resulta ser la piel de las uvas en la industria de vinos. Otros recursos son las hojas de repollo rojo, la papa dulce y la zanahoria (Deroles, 2008).

El açai (*Euterpe oleracea*) (se pronuncia asaí) es un fruto ampliamente distribuido, exportado y consumido en el Amazonas brasileño (Nogueira, Santana, & Garcia, 2013). En Colombia, se encuentra en la costa del Pacífico y Amazonas (Rojano et al., 2011). El açai colombiano es una fuente atractiva de antocianinas principalmente de cianidina-3-glucosídeo, aproximadamente 268,5 mg /100g de açai liofilizado, aunque varios factores como su tiempo de cultivo, recolección, tiempo de extracción y conservación afectan su contenido (Rojano et al., 2011).

### 1.1. Las antocianinas

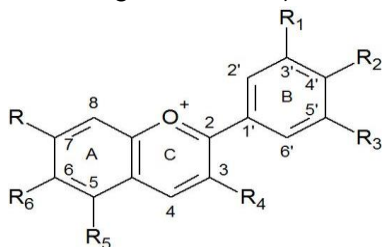
Las antocianinas son pigmentos hidrosolubles que constituyen una de las subclases de los flavonoides, responsables de la coloración rosada, roja, morada y azul en los tejidos vegetales (Deroles, 2008). Estos compuestos fenólicos tienen varias funcionalidades dentro de las plantas, uno de ellos es la atracción de polinizadores por el color vivo y brillante de las flores, son importantes en la foto-protección contra la luz ultravioleta y su mecanismo de defensa biológico como antioxidante (Deroles, 2008). Las antocianinas son altamente inestables y rápidamente perecibles, su estabilidad se afecta por varios factores como el pH, la temperatura de almacenamiento, su estructura química, la concentración, la luz, el oxígeno, los solventes, la presencia de enzimas, flavonoides, proteínas e incluso, iones metálicos (Castaneda, de Lourdes Pacheco, Páez, Rodríguez, & Galán, 2009).

### 1.2. Estructura Química de las Antocianinas

La estructura básica de las antocianinas, consiste en la molécula de antocianidina (aglicona) unida a un azúcar (Leguizamón, González, & Báez, 2005). Como se observa en la figura 1, la aglicona está constituida de un anillo aromático (A) unido a un anillo heterocíclico (C) que contiene oxígeno, el cual está unido por un enlace carbono-carbono a un tercer anillo aromático (B) (Kong, Chia, Goh, Chia, & Brouillard, 2003). Se han reportado más de 500 tipos de antocianinas, de las cuales 6 son las más comunes en las plantas vasculares: Pelargonidina (Pg), Peonidina

(Pn), Cianidina (Cy), Malvidina (Mv), Petunidina (Pt) y Delfinidina (Df). De éstos, los glicósidos derivados de las tres antocianidinas no metiladas (Cy, Dp y Pg) son los más comunes en la naturaleza (Castaneda et al., 2009).

Cada tipo de antocianina se diferencia por el número de grupos hidroxilos en el anillo B, por ejemplo, para Pg sólo se presenta un grupo hidroxil en R2, causando una coloración rojiza con el aumento de la hidroxilación del anillo B (Cy presenta dos grupos hidroxil en R1 Y R2 y Df presenta tres grupos hidroxil en R1, R2 y R3) que resulta en una modificación de color en el espectro azul (Ver tabla 1) (Deroles, 2008; Kong et al., 2003).



**Tabla 1.** Distintos patrones de hidroxilación para R1, R2 y R3 lo que origina las diferentes estructuras químicas de las principales antocianidinas glicosiladas no metiladas; adaptado de Kong et al., 2003.

AGLICONA	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>
<b>Pelargonidina</b>	H	OH	H
<b>Cianidina</b>	OH	OH	H
<b>Delfinidina</b>	OH	OH	OH

**Figura 1.** Estructura química del catión flavílio. R<sub>1</sub> y R<sub>2</sub> son H, OH o, OCH<sub>3</sub>; R<sub>3</sub> es un glicosil o un, OH; y R<sub>4</sub> es un OH o un glicosil adaptado de Kong et al., 2003.

### 1.2.1. Estabilidad química de las antocianinas

El pH resulta ser el factor más importante en la estabilidad y estructura de las antocianinas. La acidez logra tener un efecto protector sobre la molécula. Cuando la antocianina se encuentra a valores menores de 2 el pigmento se encuentra en su forma más estable, básicamente 100% del pigmento se encuentra en la forma del ión flavilio de color rojo intenso. A valores de pH más altos ocurre una pérdida del protón y adición del agua en la posición 2, dando lugar a un equilibrio entre la pseudobase o hemiacetal y la forma chalcona (C), o de cadena abierta. A valores altos de pH, como 7, se presentan las formas quinoidales de color púrpura que se degradan rápidamente por oxidación con el aire (Figuerola, Ortega, & Berrios, 2010).

En la figura 2, se observan las diferentes estructuras de la antocianina que se tienen lugar a diferentes valores de pH.

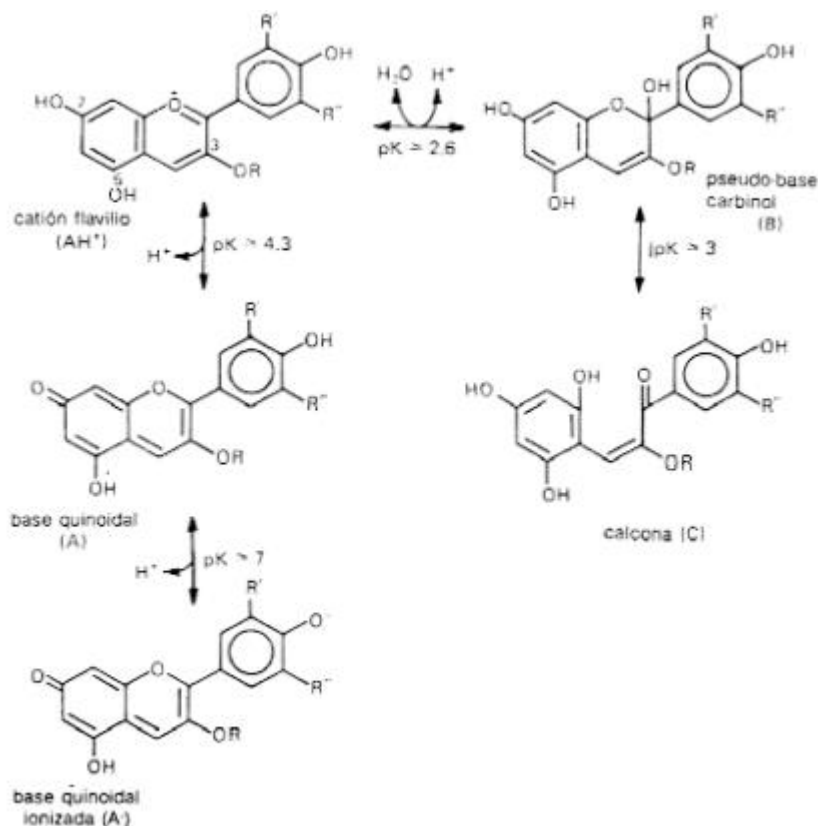


Figura 2. Estructura de la antocianina a diferentes valores de pH. Adaptado de Garzón, G. 2008.

### 1.3. Açaí, fruto amazónico y del pacífico

El açaizeiro (*Euterpe oleracea* Mart), conocido como açaí, palmito o manaca, es una palma ampliamente distribuida en el Amazonas. Su fruto, conocido con el nombre de açaí, es una baya fibrosa con 0,5 cm de diámetro, de color violeta casi negra, con contenido de pulpa oleaginosa y comestible, la semilla posee un endocarpio duro y fibroso (dos Santos et al., 2008).

La bebida, designada también con el nombre “açaí” en el norte de Brasil, y ampliamente conocida como pulpa de açaí, es el producto de consumo final obtenido de la extracción de su fruto. La elaboración de la pulpa básicamente consiste en la fricción de los frutos y adición de agua (Rogez, 2000).

El mayor productor, exportador y consumidor es Brasil y su producción cultivada se concentra en la ciudad de Belém del estado de Pará. En el 2010, esta ciudad logró las 706 488 Ton siendo el 86,9% de la producción total en Brasil. Su producción extractiva fue de 106 562 Ton, representando apenas el 13,1% de la producción total regional (Nogueira et al., 2013).

En Colombia, la palma açaí es conocida como palma naidi y se encuentra distribuida en la región del pacífico en los departamentos de Nariño, Cauca, Valle del Cauca y

Chocó, zonas con el mayor cultivo. No obstante, la elaboración de productos a partir del fruto de açai todavía es incipiente (Rojano et al., 2011), debido a que el mercado colombiano no conoce su forma de consumo y la elaboración de productos.

El açai, resulta ser uno de los recursos naturales promisorios para la extracción de antocianinas, debido a que es considerado como uno de los alimentos con un alto poder antioxidante. Las principales antocianinas encontradas en la pulpa del fruto son la cianidina-3-rutósido (60 – 67%) y la cianidina-3-glucósido (26 – 30%) (Portinho, Zimmermann, & Bruck, 2012).

Cabe resaltar que, en la literatura los datos reportados en cuanto al contenido de antocianinas son muy divergentes, debido a que estos se encuentran en 100g de fruto o 100g de pulpa sin especificar su contenido de humedad, 100g de pulpa especificando su contenido de humedad y 100g en peso seco. Adicionalmente diversos factores afectan su contenido como la zona geográfica, las condiciones edáficas, su forma de cosecha y los métodos de extracción de pulpa (Constant, 2003).

Por ejemplo para los casos de estudio del açai brasileño, Rogez, 2000 quien caracterizó los estados de maduración del fruto y su cantidad de antocianinas presentes, encontró una concentración de antocianinas de 44mg/100g (de cianidina-3-glucósido) en frutos. El autor cita a Lima et al., 1998; quienes colectaron muestras de açai grueso (pulpa de açai), y obtuvieron en promedio 357 mg de cianidina-3-rutósido/100g de pulpa en periodos de baja producción, para periodos de alta producción, este valor aumenta fuertemente y pasa a 926 mg/100g de pulpa (Rogez, 2000). Constant, 2003 encontró que con 3 extracciones repetitivas en una pulpa de açai (19,84g sólidos totales) se obtiene un contenido de antocianinas de 127,86 mg/100g y en fruto entero de 27mg/100g (Constant, 2003). Para el caso del açai colombiano, Rojano et al., quienes evaluaron la cantidad de polifenoles de açai liofilizado encontraron 268,5 mg cianidina-3-glucósido/100g de açai liofilizado (Rojano et al., 2011) de la empresa CorpoCampo. Garzón et al., 2016 evaluaron la composición polifenólica de açai liofilizado de la misma empresa, reportando un contenido de antocianinas  $4,58 \pm 3,28$  mg cianidina-3-glucósido/g de peso seco (Garzón et al., 2017).

A pesar de los diferentes datos que se encuentran en la literatura, es claro resaltar que la fuente de antocianinas en el açai es atractiva, y se deben realizar estudios físico-químicos de mayor profundidad para los cultivos colombianos.

#### **1.4. Extracción de antocianinas**

Los procesos de extracción de antocianinas con alcoholes, es una de las técnicas más usadas y estudiadas. Castañeda et al. 2009, relatan que los métodos con metanol resultan ser los más eficientes, ya que se ha encontrado que la extracción de la pulpa de uva con metanol es el 20% más efectiva que el etanol. Pese a estos resultados, en la industria de alimentos es preferido el etanol. Los métodos con el uso de metanol o etanol acidificado, se están usando últimamente, puesto que

consiguen la estabilidad de la aglicona a pH inferiores de 3,5. No obstante, se debe tener mucho cuidado en evitar medios fuertemente ácidos, debido a que las antocianinas pueden sufrir hidrólisis ácida rompiendo los enlaces 3-monósidos (Castaneda et al., 2009).

En el caso específico del açai, Novello, 2011 probó diferentes concentraciones de etanol (95%, 80%, 70%, 60% y agua) en mezclas con agentes acidulantes de HCl 0,1% y ácido cítrico 0,3% con el fin de obtener durante el despulpado, un extracto enriquecido de antocianinas. El autor mencionado, observó que el mejor resultado para la extracción de antocianinas fue el etanol a 80% con ácido cítrico al 0,3% obteniendo una cantidad de 1249,74 mg de antocianinas totales/L. Luego, el extracto fue liofilizado para evaluar su poder antioxidante sobre ratas con presencia de arteriosclerosis (Novello, 2011).

Otros estudios se basan en la concentración de antocianinas por medios físicos como la filtración y ósmosis inversa para la obtención de jugos clarificados a partir de la pulpa de açai. Palacio, 2008 estudió el proceso de ósmosis inversa para la obtención açai clarificado, donde encontró necesario el uso de pre-tratamientos como centrifugación y microfiltración con el objetivo de separar lípidos y sólidos gruesos. Posterior al pre-tratamiento, se realizó la concentración del jugo clarificado por osmosis inversa obteniéndose un producto de 14,5°Brix a partir de un jugo clarificado de 1,5°Brix. Durante la extracción se usaron flujos de 28 L/h m<sup>2</sup>, durante 75 minutos de proceso a 45°C y presión transmembrana de 60 bar. La actividad antioxidante alcanzó un valor medio de 78,4 µmol Trolox/100g (Palacio, 2008).

Otro estudio realizado sobre la estabilidad de las antocianinas con la adición de cofactores polifenólicos (ácidos fenólicos, procianidinas y flavona-C-glicósido) a una concentración de 50 mg/L fue el elaborado por Palencia et al., 2010, quienes, realizaron cinéticas de degradación en función de pH (3,0, 3,5 y 4,0) y temperaturas de almacenamiento (5, 20 y 30°C). Encontraron que la presencia de flavona-C-glicósido mejora casi un 40,5% más el color de las antocianinas y aumenta en un 40,7% la estabilidad de las antocianinas comparada con las antocianinas aisladas sin co-pigmentación. Resulta ser una excelente opción para el mejoramiento de la estabilidad de antocianinas en el açai, además que la flavona-C-glicósido se encuentran de forma natural en altas concentraciones en los extractos acuosos de roibos (Pacheco & Talcott, 2010).

Finalmente, se puede observar que existen diferentes estudios relacionados con el tema, sin embargo, faltan muchos aspectos por aclarar como el contenido de antocianinas en fruto, su técnica de extracción y de estabilización química en las condiciones de Colombia. El açai tiene potencial para ser un recurso natural importante en la elaboración de colorantes naturales, por esta razón es de gran importancia la realización de estudios sobre la extracción y estabilización química de las antocianinas que pueda contener con el fin de obtener productos de valor agregado con aplicaciones tanto en el sector de los alimentos como en el cosmético.

## 2. METODOLOGÍA

### 2.1. Recolección de frutos

La recolección de los frutos de la *Euterpe oleracea* se realizó en Puerto Asís, Putumayo en la vereda Nariño en zonas de propiedad de la empresa corpocampo, durante los meses de abril y mayo, a las condiciones ambientales locales de temperatura de 30°C y una humedad relativa de 80%. Los frutos son colocados en canastas, protegidos de la luz y almacenados a temperaturas bajas de 4°C a 6°C. De allí, fueron transportados hasta la universidad Jorge Tadeo Lozano ubicada en la ciudad de Bogotá.

### 2.2. Clasificación del fruto

Se realizó una clasificación del fruto descartando los frutos con laceraciones y daños físicos y utilizando la medición del diámetro más ancho con un calibrador pie de rey. Las dimensiones se debían encontrar entre los 16,88mm y los 14,08mm. Fruto encontrado con menor o mayor longitud fue descartado.

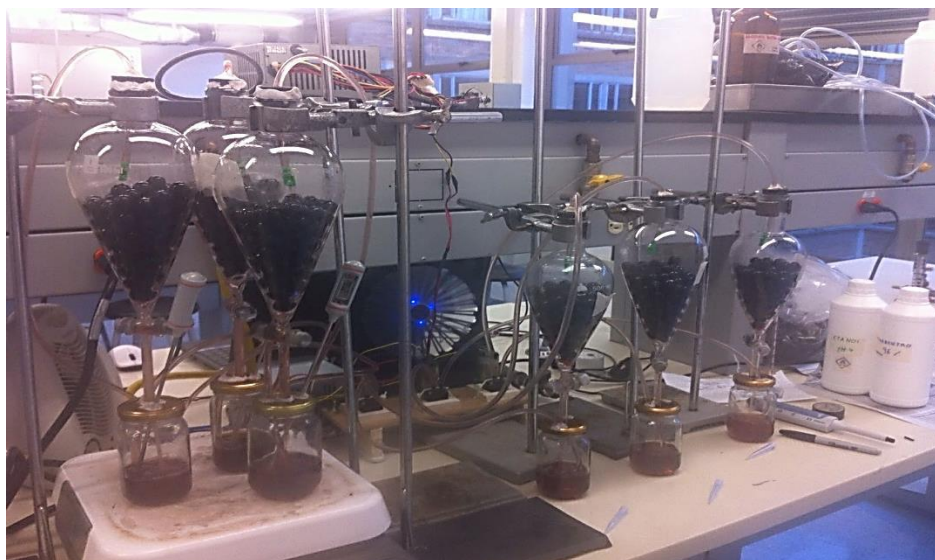
### 2.3. Extracción etanólica del pigmento de açaí

Se realizó la extracción etanólica del pigmento de açaí a partir de un sistema de reflujo continuo. Para el sistema se usaron embudos de decantación cónica de 500 mL, los cuáles se acoplaron a bombas de circulación marca Dohre con una potencia de 12 Voltios, con un flujo de entrada y de salida de 3,47 mL/seg conectadas a mangueras de polipropileno de ¼ in de diámetro, y el flujo de salida fue ensamblado a un micro aspersor de cortina en polipropileno (Ver figura 3). Las extracciones se realizaron a partir de una relación de 220g de fruto por cada 120 mL de etanol. Para evaluar la eficiencia de extracción se ejecutó un diseño factorial  $2^k$  con  $k=3$  para las variables de concentración de etanol extraneutro (grado alimenticio) al 96% y 50%, ajuste de pH a 3 con ácido cítrico 1M y sin ajuste de pH, y temperatura de 30°C  $\pm$  2°C y temperatura ambiente de laboratorio (entre 18°C hasta 23°C) como se muestra en la tabla 3.

Tabla 2. Diseño de experimento 3k

CONDICIONES	VARIABLES	
ETANOL	96%	50%
ÁCIDO CÍTRICO 1M	pH a 3	Sin ajuste
TEMPERATURA	30°C	Ambiente

Para el caso de los tratamientos con ácido cítrico, durante la ejecución se debe ajustar cada hora el pH del solvente de extracción.



**Figura 3.** Sistema de extracción etanólica para pigmento de açaí.

#### **2.4. Concentración del pigmento de açaí**

Para la concentración del pigmento de açaí se usó un rotoevaporador marca EYELA serie N-1200A a condiciones de operación de 120mBa de vacío y temperatura de 35°C (Ver Figura 4). Como resultado se obtuvieron extractos de pigmentos concentrados donde se cuantificó la cantidad de antocianinas como se describe en el ítem 2.5.



**Figura 4.** Concentración del pigmento de açaí usando rotoevaporador marca EYELA serie N-1200A

#### **2.5. Cuantificación de antocianinas**

La concentración de antocianinas se determinó por el método de pH diferencial (Kuskoski, Asuero, Troncoso, Mancini, & Fett, 2005).

La metodología se describe a continuación: Una alícuota de solución acuosa de antocianinas se ajusta a pH 1.0 y otra a pH 4.5. Se utilizan dos sistemas tampón:

ácido clorhídrico/ cloruro de potasio de pH 1.0 (0.025 M) y ácido acético/acetato sódico de pH 4.5 (0.4 M). A 0.2 ml de una muestra diluida (para conseguir una absorbancia en el rango de 0.100 – 1.200 a 510 nm) se añaden 1.8 ml de la correspondiente disolución tampón y se mide la absorbancia frente a un blanco a 510 nm y 700 nm. Se calcula la absorbancia final a partir de la ecuación 1:

$$A = (A_{510} - A_{700})_{pH\ 1.0} - (A_{510} - A_{700})_{pH\ 4.5} \quad (1)$$

La concentración de pigmentos monoméricos en el extracto se expresa en cianidina-3-glucósido, como sigue en la ecuación 2.

$$\text{Antocianos monoméricos} \left( \frac{mg}{100mL} \right) = \frac{A \times PM \times FD \times 100}{\epsilon \times 1} \quad (2)$$

Donde A es la absorbancia; PM el peso molecular; FD factor de dilución y  $\epsilon$  absorptividad molar.

La concentración final de antocianinas (mg/100g) se calcula con base en el volumen de extracto ( $V_e$ ) y peso de muestra ( $P_M$ ) (PM: 449,2 y  $\epsilon$ : 26900). Como se muestra en la ecuación 3.

$$\text{Antocianos monoméricos} \left( \frac{mg}{100g} \right) = \frac{A \times PM \times FD \times V_e \times 100}{\epsilon \times 1 \times P_M} \quad (3)$$

## 2.6. Actividad antioxidante

Para la determinación de la actividad antioxidante de cada extracto concentrado se usó el método de FRP, el cual es una modificación del FRAP, método que mide la potencialidad de los 6 componentes presentes en una solución acuosa para reducir iones iónicos férricos (Valcárcel & Basulto, 2004). La solución FRP se preparó mezclando 1,5 ml de solución de  $FeCl_3$  20 mmol/L y 1 ml de solución de  $K_3Fe(CN)_6$  0.3 mmol/L con 15 ml de tampón acetato 300 mmol/L pH 3,6 calentado previamente a 37°C (Valcárcel & Basulto, 2004). Inicialmente a 200  $\mu$ L de la muestra problema se añaden 400  $\mu$ L de la solución FRP y se deja en reposo durante 60 minutos a temperatura ambiente. Luego se midió su absorbancia a 720 nm por triplicado en un espectrofotómetro UV-Vis EVOLUTION 300. Como blanco se usó agua destilada y para la elaboración de la curva de calibración se elaboraron soluciones patrón de  $FeSO_4 \times 7H_2O$  variando su concentración desde 250mM hasta 1000mM (Valcárcel & Basulto, 2004).

## 2.7. Medición del color

Se usó el modelo triestímulo más usado para caracterizar el color en los extractos: CIELAB. En este método se determina un espacio de color tridimensional donde el eje del  $a^*$  y el  $b^*$  forman un plano ortogonal al eje del  $L^*$ , siendo el  $L^*$  representa el valor de luminisidad del color,  $a^*$  puede variar del verde al rojo y  $b^*$  del amarillo al azul (Cipriano, 201Acti).

También, se usa el modelo CIELCH, este modelo se basa en el modelo de color CIELAB sin embargo, en vez de utilizar coordenadas rectangulares, el utiliza coordenadas cilíndricas, donde  $L^*$  indica la luminosidad exactamente como en el modelo CIELAB, el valor  $C^*$  indica el croma o el grado de saturación y el  $h$  el ángulo de tonalidad. Las coordenadas del sistema CIELCH son obtenidas a través del modelo CIELAB con ecuaciones 3 y 4, siendo los valores  $a^*$  y  $b^*$  obtenidos del modelo CIELAB, y el valor de  $L^*$  es el mismo en los dos modelos (Cipriano, 2011).

$$h^* = \arctan\left(\frac{b^*}{a^*}\right) \quad (3)$$

$$c^* = \sqrt{a^{*2} + b^{*2}} \quad (4)$$

En términos más comprensibles la coordenada  $L^*$  representa cuanto más clara o más oscura es la muestra, con valores variando de 0 (totalmente negra) a 100 (totalmente blanca). La coordenada  $a^*$  puede asumir valores de -80 (verde) a +100 (rojo) y la coordenada de cromaticidad  $b^*$  puede variar de -50 (azul) a +70 (amarillo) (Cipriano, 2011).

## **2.8. ANÁLISIS ESTADÍSTICO:**

### **2.8.1. ANÁLISIS DE COMPONENTES PRINCIPALES:**

Se utilizó el análisis de componentes principales (ACP) del software IBM SPSS Statics para analizar la correlación que existe entre las variables de control (pH, temperatura y concentración de solvente) con respecto a las variables respuesta cantidad de cianidina-3-glucosídeo y poder antioxidante.

### **2.8.2. ANÁLISIS DE COMPARACIÓN DE MEDIAS:**

Mediante análisis de varianza (ANOVA) se compararon las medias de los parámetros de colorimetría con el software SPSS. Donde se consideró que que hubo diferencia estadística significativa entre medias cuando el  $p$  de la tabla ANOVA fue menor que 0,05 y un índice de confianza al 95%. Los tratamientos designaron desde la letra A hasta la H, siendo A los experimentos con condiciones negativas y H con las condiciones positivas.

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 3.1. Identificación de las condiciones óptimas de extracción del pigmento de açái.

Con los datos recolectados de cuantificación de antocianinas como cianidina-3-glucósido para todos los ensayos se realizó una segmentación de datos como se muestra en las figuras 5 y 6, donde se varió la temperatura, la concentración de solvente y el pH.

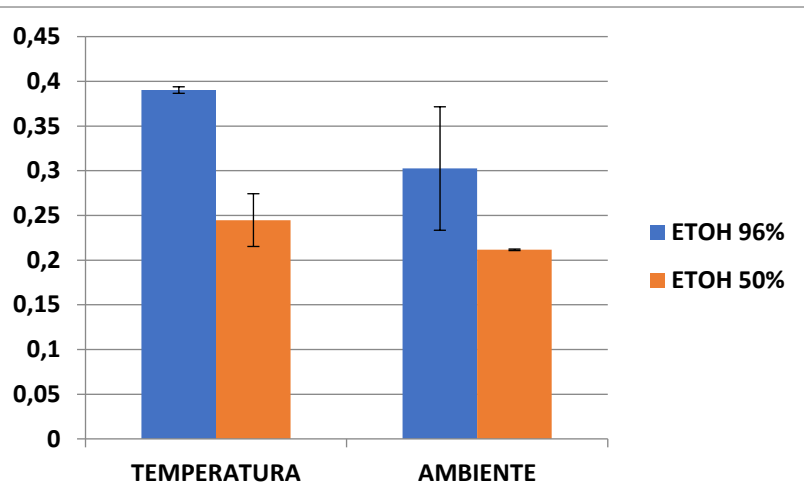


Figura 5. Extracción de cianidina-3-glucosido a pH 3

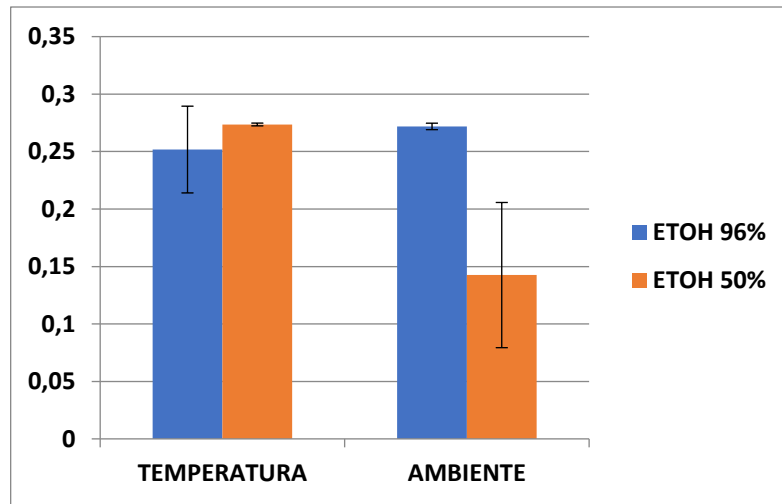
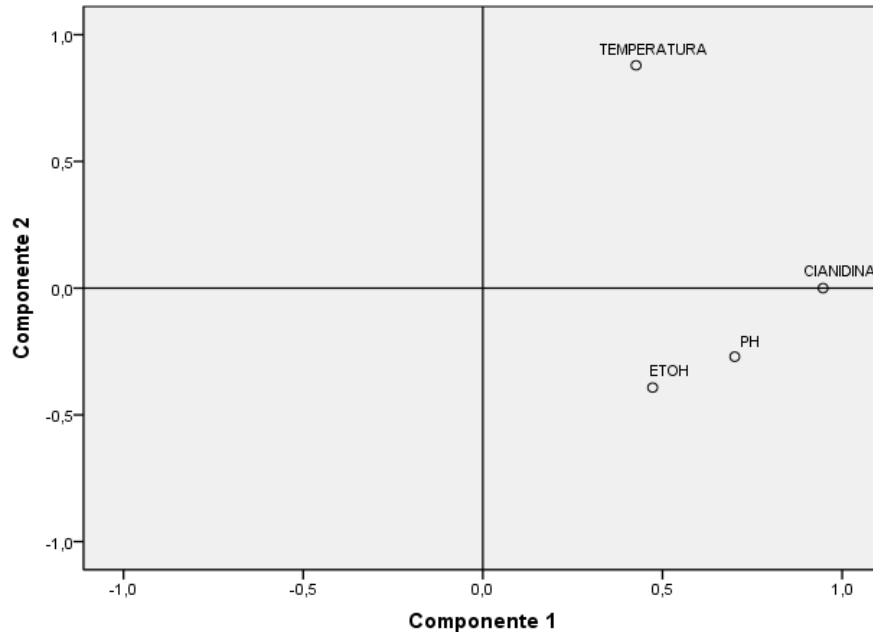


Figura 6. Extracción de cianidina-3-glucosido sin ajuste de pH.

De acuerdo con la literatura, según Zapata, 2014 el carácter polar de la molécula de la antocianina permite su solubilidad en solventes como el etanol y el agua (Zapata et al., 2014). Por lo cual, se observa que hay una mejor extracción con etanol al 96%, debido a que la antocianina por su naturaleza orgánica presenta una mejor afinidad con solventes orgánicos. La temperatura resulta ser otra condición indispensable para mejorar el proceso de extracción, donde se observa que la cantidad de cianidina-3-glucósido extraída a 30°C está entre 0,40 – 0,35 mg/100g frutos.

No obstante se debe tener en cuenta la naturaleza en que se agrupan o se relacionan cada una de las variables controladas durante la extracción. A partir del ACP de dos componentes con un porcentaje de retención de varianza al 69,8% de los 24 experimentos realizados, se puede evidenciar en el gráfico de componentes (Ver figura 7), que las tres variables de control tienen una correlación significativa sobre la variable de respuesta de cianidina-3-glucósido como componente 1, pero no se evidencia una relación entre la variable temperatura con respecto a las variables de concentración de etanol y pH como componentes 2.



**Figura 7.** Grafica de componentes principales para el ACP de cianidina-3-glucósido.

A partir de lo anterior, se puede analizar que la temperatura actúa como variable de control independiente durante el sistema de extracción y no va depender de las variables de pH y concentración de solvente para la obtención de cianidina-3-glucósido. Por el contrario con respecto a las variables de control de pH y concentración de solvente al tener una correlación más fuerte entre ellas se observa que se debe tener un control de pH sobre el solvente para mejorar la extracción del proceso.

De aquí que la estabilidad de las antocianinas durante su extracción se vea afectada por el ajuste del pH. En la tabla 3, se muestran las diferentes condiciones con las que fueron realizadas las extracciones y el pH obtenido al final de la extracción, donde se evidenció un aumento del pH en las pruebas con ajuste de pH inicial a 3, es decir, que existe una tendencia hacia la elevación del pH durante el proceso de extracción. Este fenómeno pudo deberse al contacto con el medio de extracción pues los tratamientos sin ajuste de pH presentaron pH finales de 6,0.

Finalmente, se logra verificar que los experimentos con mejores resultados son las condiciones de temperatura a 30°C, etanol al 96% y ajuste de pH a 3 obteniendo una máxima cantidad de cianidina-3-glucósido de 0,40 mg/100g fruto. Con una mayor importancia como componente principal el control del pH dentro del sistema de extracción.

Tabla 3. Resultados de pH finales de cada tratamiento

TEMPERATURA (°C)	ETOH	pH ajuste	pH final
Ambiente	50%	sin ajuste	5,7
30°C	50%	sin ajuste	5,4
Ambiente	96%	sin ajuste	6,0
30°C	96%	sin ajuste	5,7
Ambiente	50%	3	3,6
30°C	50%	3	3,4
Ambiente	96%	3	4,1
30°C	96%	3	4,1

### 3.2. Actividad antioxidante del pigmento de açai

Una vez realizadas las extracciones de antocianinas se determinó el poder antioxidante a través de la actividad reductora férrica de iones  $Fe^{+3}$  a  $Fe^{+2}$ , a las condiciones evaluadas, donde se evidenció que los extractos con ajuste de pH a 3 y 96% de etanol presentaron una actividad antioxidante alta (Ver figura 8). Por el contrario, en una extracción sin pH ajustado se observa la pérdida del poder antioxidante por parte de las antocianinas, dado que estas al encontrarse a un pH de 6,0 logran perder su actividad antioxidante debido a la inestabilidad estructural en que se encuentran (Ver figura 9).

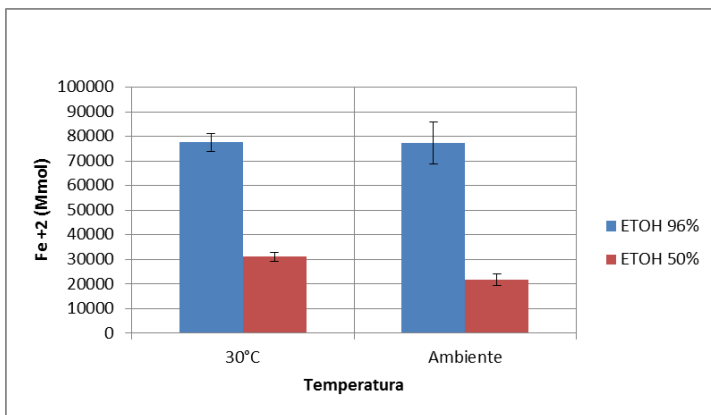


Figura 8. Actividad antioxidante del extracto de antocianinas a pH 3

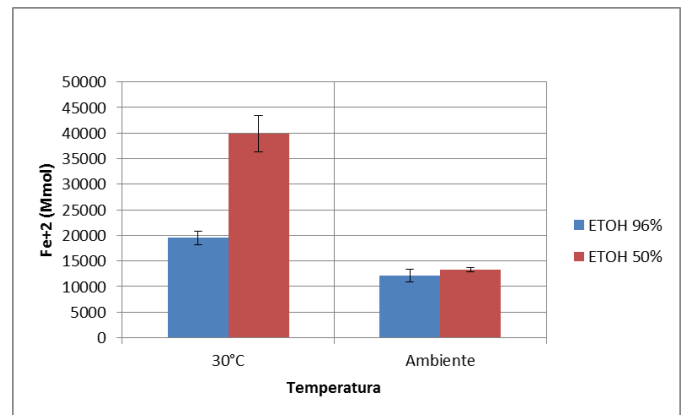
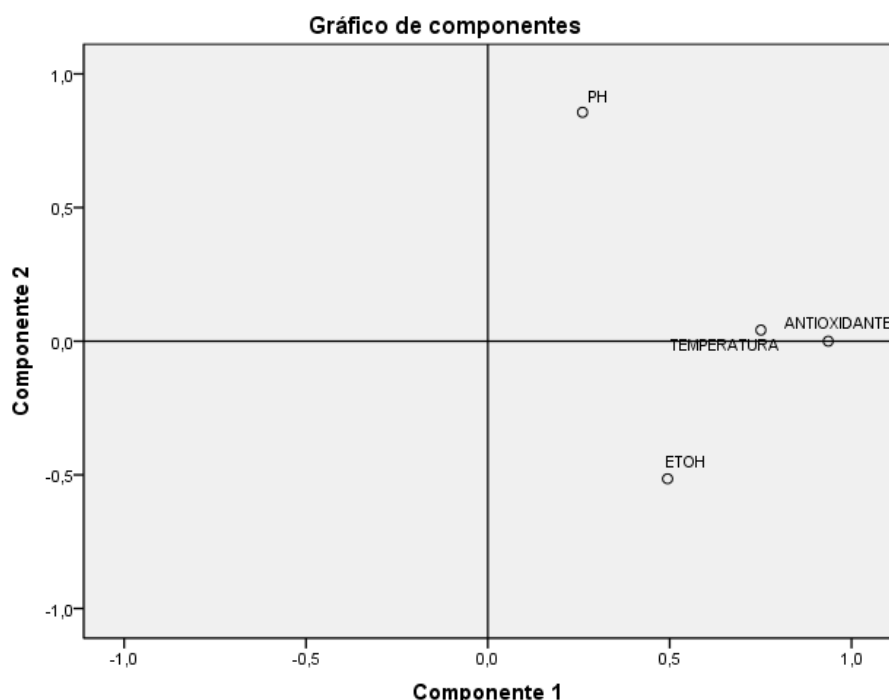


Figura 9. Actividad antioxidante del extracto de antocianinas sin ajuste de pH

A partir del ACP realizado para el poder antioxidante de dos componentes con un porcentaje de retención de varianza al 68,8% de los 24 experimentos realizados, se puede evidenciar en el gráfico de componentes (Ver figura 10) que las variables de control y la variable de respuesta (componente 1) tienen una correlación significativa, con una mayor importancia la variable temperatura, seguido de la concentración de etanol y por último el pH. Entre los componentes dos no se observa ninguna relación entre sí, por las ubicaciones dispersas encontradas en el gráfico de componentes.



**Figura 10.** Actividad antioxidante del extracto de antocianinas sin ajuste de pH.

A partir de lo anterior, se debe tener en cuenta que la estabilidad de las antocianinas se ve afectada fácilmente por la temperatura, por eso su mayor relación con respecto al valor antioxidante, ya que este factor induce a una destrucción lenta de los pigmentos y transforman la estructura de la antocianina en chalcona (estructura inestable que se degrada en compuestos de color café o incoloros) o aglicona (por hidrólisis de los enlaces glicosídicos unidos al anillo B) (Garzón, 2008).

El pH puede tener una baja correlación debido al valor dado para realizar el ACP, un valor de pH 3.0 para valores altos de poder antioxidante puede significar una tendencia inversamente proporcional, sin embargo, para tener este tipo de afirmación se sugiere realizar estudios con mayor precisión en cuanto al impacto

en la estabilidad química que tiene el pH durante los procesos de extracción y su poder antioxidante.

### 3.3. Colorimetría en los extractos del pigmento de açai

Para cada uno de los extractos obtenidos del pigmento de açai, se realizó una evaluación del color donde los parámetros  $a^*$  y  $b^*$  para todas las muestras dieron un promedio de +6,72 y +4,54, respectivamente. A partir del análisis ANOVA con un P-Valor menor a 0,05 y usando un índice de confianza del 95%, se evidencia que las medias obtenidas en cada uno de los tratamientos para luminosidad los experimentos que tienen condiciones positivas de extracción presentan una menor luminosidad con respecto a las condiciones negativas de extracción (Ver figura 11). Para el caso del ángulo HUE se evidencia en la figura 12 que los tratamientos con condiciones positivas (E-H) tienen una tendencia hacia los colores rojizos.

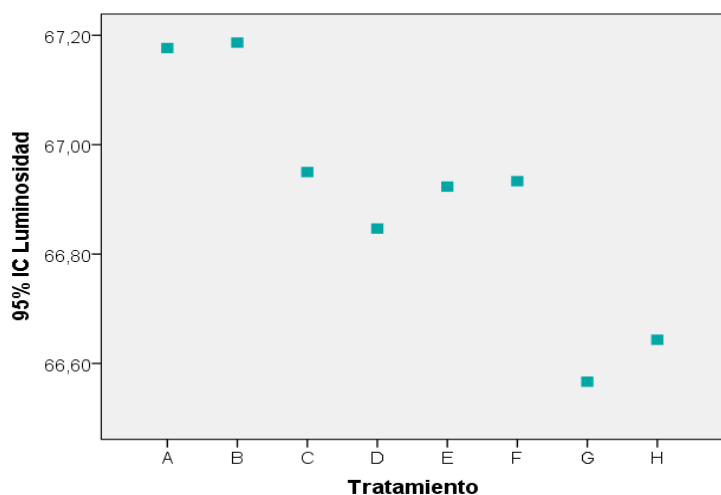


Figura 11. Gráfica de dispersión ANOVA para Luminosidad.

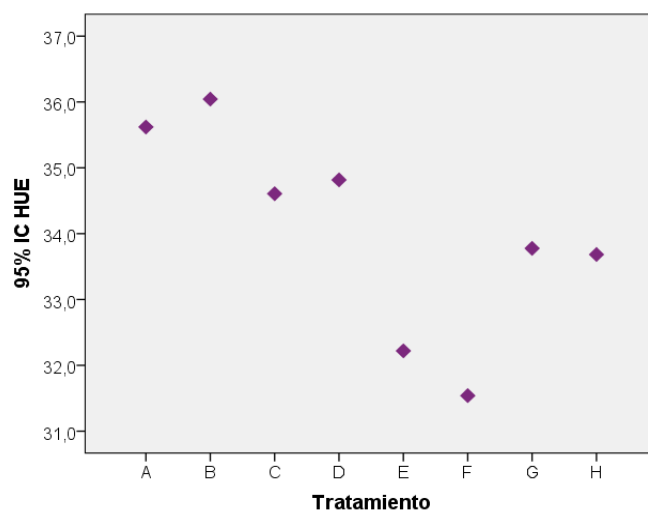


Figura 12. Gráfica de dispersión ANOVA para el ángulo HUE

Por lo anterior, los tratamientos a condiciones positivas dentro del rango de los valores de color, presenta un color oscuro debido a la concentración del pigmento y una tendencia hacia los colores rojizos, color que caracteriza a la cianidina-3-glucósido.

#### **4. CONCLUSIONES**

En la extracción de antocianinas del fruto de açai colombiano se observó que las mejores condiciones para la obtención de cianidina-3-glucósido fueron valores de pH de 3, etanol al 96% y temperatura de 30°C. Las condiciones de extracción temperatura y concentración de solvente resultan ser importantes en los procesos de obtención de antocianinas, sin embargo, el factor más importante es el pH pues permite la estabilización del ión flavilio a valores inferiores de 4. Adicionalmente, La actividad antioxidante también se ve afectada, por causa de la inestabilidad química de las antocianinas al encontrarse a un pH alrededor de 6 cuando no se hace control de esta variable durante la extracción.

La variable temperatura es independiente de las variables de pH y concentración de etanol, por el contrario el pH debe ser regulado sobre el etanol para tener una relación de mayor importancia durante la obtención de cianidina-3-glucósido.

La temperatura es un factor que tiene una mayor importancia sobre el poder antioxidante que tiene la molécula, y el control de pH resulta ser relevante gracias a la estabilidad que le proporciona la molécula.

#### **5. AGRADECIMIENTOS:**

Quiero agradecer, en primera mano a Dios, a mis padres, familia y amigos, que con su apoyo, comprensión y entrega me dieron fuerzas para seguir adelante.

Gracias a Liliana Cristina Hernández Bello, directora de éste proyecto de investigación quién con sus conocimientos, su experiencia, su paciencia me orientó en la culminación de este trabajo.

También expreso mis más sinceros agradecimientos hacia los recursos humanos en los laboratorios de la universidad Jorge Tadeo Lozano, gracias a ustedes que con su guía y experiencia trabajo en equipo y paciencia, se obtuvieron los grandes resultados del proyecto.

Juan David Correales; Técnico de laboratorios.  
Andrés Camilo Lara; Técnico de instrumental.  
Carol Rodriguez; Técnico de instrumental  
José Felipe Mendoza Abella; Jefe de laboratorio de ciencias

Gracias al gerente general CorpoCampo, Edgar Montenegro quien permitió el uso y la bioprospección del fruto de açai colombiano.

Gracias por que sin la ayuda y el aporte de cada uno de sus conocimientos no hubiera sido posible llevar a cabo la realización de éste proyecto.

## 6. BIBLIOGRAFIA

- Agócs, A., & Deli, J. (2011). Pigments in your food. *Journal of Food Composition and Analysis*, 24(6), 757-759.
- Castaneda, A., de Lourdes Pacheco, M., Páez, E., Rodríguez, J., & Galán, C. (2009). Chemical studies of anthocyanins: A review. *Food chemistry*, 113(4), 859-871.
- Cipriano, P. d. A. (2011). *Antocianinas de açaí (Euterpe oleracea Mart.) e casca de jaboticaba (Myrciaria jaboticaba) na formulação de bebidas isotônicas*. (Magister Scientiae), Universidade Federal de Viçosa.
- Constant, P. (2003). Extração, caracterização e aplicação de antocianinas de açaí (Euterpe oleracea, M.).
- Deroles, S. (2008). Anthocyanin biosynthesis in plant cell cultures: A potential source of natural colourants *Anthocyanins* (pp. 108-167): Springer.
- dos Santos, G., Maia, G., de Sousa, P., da Costa, J. M., de Figueiredo, R., & do Prado, G. (2008). Correlação entre atividade antioxidante e compostos bioativos de polpas comerciais de açaí (Euterpe oleracea Mart). *Archivos latinoamericanos de nutricion*, 58(2), 187.
- Figuerola, M. d. P., Ortega, A., & Berrios, C. (2010). Piranoantocianinas: Modificaciones estructurales de antocianinas. *Temas selectos de Ingenieria de Alimentos*, 1(4), 84-95.
- Garzón, A., Narváez, C., Vincken, J., & Gruppen, H. (2017). Polyphenolic composition and antioxidant activity of açaí (Euterpe oleracea Mart.) from Colombia. *Food chemistry*, 217, 364-372.
- Kong, J.-M., Chia, L.-S., Goh, N.-K., Chia, T.-F., & Brouillard, R. (2003). Analysis and biological activities of anthocyanins. *Phytochemistry*, 64(5), 923-933.
- Kuskoski, M., Asuero, A., Troncoso, A. M., Mancini, J., & Fett, R. (2005). Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. *Food Science and Technology (Campinas)*, 25(4), 726-732.
- Leguizamón, G., González, A., & Báez, R. (2005). Antocianinas en uva (*Vitis vinifera* L.) y su relación con el color. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 28(4).
- Martins, N., Roriz, C., Morales, P., Barros, L., & Ferreira, I. (2016). Food colorants: Challenges, opportunities and current desires of agro-industries to ensure consumer expectations and regulatory practices. *Trends in Food Science & Technology*, 52, 1-15.
- Nogueira, A. K., Santana, A., & Garcia, W. (2013). The dynamics of açaí market in Pará State from 1994 to 2009. *Revista Ceres*, 60(3), 324-331.
- Novello, A. (2011). Extração de antocianinas dos frutos do açaí da Mata Atlântica (Euterpe edulis Martius) e sua atuação nas atividades antioxidante e antiaterogênica em camundongos ApoE.
- Pacheco, L., & Talcott, S. (2010). Chemical stability of açaí fruit (Euterpe oleracea Mart.) anthocyanins as influenced by naturally occurring and externally added polyphenolic cofactors in model systems. *Food chemistry*, 118(1), 17-25.
- Palacio, D. (2008). Concentração de suco clarificado de açaí por osmose inversa. *UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO—ESCOLA DE QUÍMICA*, 73.
- Portinho, J., Zimmermann, L., & Bruck, M. (2012). Efeitos benéficos do açaí. *International Journal of Nutrology*, 5(1), 15-20.
- Rogez, H. (2000). Açaí: preparo, composição e melhoramento da conservação.
- Rojano, B., Zapata, I., Alzate, A., Martínez, M., Juleza, A., Cortés, F., & Gamboa, L. (2011). Polifenoles y actividad antioxidante del fruto liofilizado de palma naidi (açaí colombiano)(Euterpe oleracea Mart). *Revista Facultad Nacional de Agronomía, Medellín*, 64(2), 6213-6220.

- Valcárcel, P. B., & Basulto, Y. (2004). El potencial reductor férrico (FRP). Un ensayo para evaluar la capacidad antioxidante en suero. *Correo Científico Médico de Holguín*, 8(4), 4.
- Zapata, L. M., Heredia, A. M., Quinteros, C. F., Malleret, A. D., Clemente, G., & Cárcel, J. A. (2014). Optimización de la extracción de antocianinas de arándanos. *Ciencia, docencia y tecnología*(49), 166-192.