

Extracción e identificación de antocianinas

ADALINDA MERCEDES ABONCE LÓPEZ, REGINA DE LA ROSA LIZÁRRAGA, ANDRÉS MITZTLI
SOTELO TORRES

Resumen— En este proyecto se presentan distintas especies vegetales en las cuales se colocaron buffers de pH 1 a 14 para demostrar la actividad que estas tienen (antocianinas). Se muestra que son estables cuando se trata de un medio ácido.

Es de gran utilidad ya que podría sustituir a los indicadores químicos que se utilizan hoy en día.

I. INTRODUCCIÓN

Como objetivo principal de este proyecto es extraer e identificar compuestos de tipo antocianina a partir de diferentes frutas y vegetales que lo contienen.

En este proyecto nos basaremos en las antocianinas, las cuales forman parte de uno de los seis grupos de flavonoides existentes. Inicialmente debemos definir lo que es un flavonoide: son metabolitos secundarios de las plantas, esto quiere decir que son compuestos que la planta elabora, pero no son vitales ya que si no están presentes el organismo, puede continuar viviendo.

Son colorantes naturales, ya que son pigmentos hidrosolubles. Estas son los responsables de los colores rojo, anaranjado, azul y púrpura característicos de las uvas, manzanas, fresas, entre otras frutas.

La estabilidad de las antocianinas está condicionada por una serie de factores como el potencial redox, temperatura, el pH del medio, la interacción con otros radicales y moléculas, entre otros. El pH es la medida de la acidez o de alcalinidad de una sustancia. Se mide dependiendo de la concentración de iones de hidrógeno. Los ácidos fuertes tienen alta concentración de dichos iones y los débiles baja. Se ha estudiado que el cambio de un pH ácido (mayor estabilidad) hacia otro alcalino hace variar de color hacia el rojo (efecto batocrómico) dando compuestos inestables que se decoloran rápidamente.

También las antocianinas son afectadas por la temperatura, produciéndose cambios en su estructura molecular (pérdida del glicósido) que resulta en una pérdida del color.

ABONCE LÓPEZ ADALINDA MERCEDES; DE LA ROSA LIZÁRRAGA REGINA; SOTELO TORRES ANDRÉS MITZTLI pertenece a la carrera QFB de la FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS y realizaron el proyecto dentro del curso(s) LABORATORIO DE QUÍMICA Y ANÁLISIS (Email:adaabonce23@outlook.com).

El proyecto fue asesorado por DR. FRANCISCO REYES RANGEL Y DR. EDGAR ESCALANTE SÁNCHEZ

Los autores agradecen a: sus docentes y a sus familias por su apoyo

II. ANTOCIANINAS

“Las antocianinas a pH ácido (típicamente $\text{pH} < 4$) adoptan una estructura de tipo *oxonio* (catión *flavilio*) y presentan colores en la gama de los rojos intensos gracias a la *conjugación extendida* entre los dos fragmentos aromáticos que permite la absorción de luz visible con una longitud de onda variable ($480 - 550 \text{ cm}^{-1}$), dependiendo de los sustituyentes de los anillos. A pH en torno a 4-5, sin embargo, estas moléculas experimentan un ataque nucleofílico sobre el C2 por parte de una molécula de agua, y adoptan una configuración de tipo *carbinol pseudobase* carente de color debido a la ausencia de conjugación entre el fragmento monocíclico y el resto de la molécula, lo que impide la absorción de luz visible. Por encima de pH 5 vuelven a adquirir colores intensos en la gama de los azules, verdes y amarillos, gracias al predominio de conformaciones neutras o aniónicas con una fuerte conjugación”.(G. Espino, 2014)

“Las antocianinas presentan el inconveniente de ser muy inestables y muy susceptibles a la degradación durante el almacenamiento o el procesamiento. además, son sensibles a factores externos como la luz, el pH y la temperatura. la importancia de las antocianinas radica en su actividad antioxidante. La actividad antioxidante es la capacidad total que tiene una sustancia para disminuir la presencia de radicales libres y retrasando así el daño oxidativo.”

Están constituidas por una aglicona (antocianidina) unida a una azúcar por medio de un enlace glucosídico. la estructura química básica de dicha molécula es que el ion flavilio actúa normalmente como carbocatión”.

Un indicador de pH es una sustancia que permite medir el pH de un medio. El cambio de color de estos indicadores se debe a un cambio estructural inducido por la protonación o desprotonación de las especies.

Las especies vegetales utilizadas fueron escogidas ya que la extracción del compuesto se da mejor en un medio ácido y estas presentan dicha característica, por ejemplo la zarzamora de 3.2-4.5 y los arándanos de 3.7.

III. METODOLOGÍA

Zarzamora y arándano: Pesar 50 g de zarzamora y 10 g de arándanos. Triturar y agregar 100 ml de una solución de etanol con 90° de pureza con 0.03% de ácido cítrico a cada fruta. Calentar en baño maría a 60°C durante 1h. Filtrar al vacío.

Análisis instrumental: Identificar la presencia de antocianinas por medio del espectrofotómetro UV-vis. Se utilizarán como

búferes ácido cítrico (pH 2) y acetato sódico (pH 4.5) para observar en dónde se encuentra mayor absorbancia. Se deberá realizar un barrido desde 400 hasta 700 nm.

Maíz morado: En este caso se proponen dos procedimientos de extracción:

1. Se procede a pesar 25g y someter a molienda, agregar NaOH 2% en un volumen de 300 ml por un espacio de 1 hora. Separar la suspensión coloreada de las semillas. Medir pH y agregar ácido cítrico al 10% para disminuir el pH hasta alcanzar un pH de 2-2,5 y favorecer la precipitación del colorante.

Análisis instrumental: Realizar un barrido en el espectro UV-vis de 400 a 700 nm a diferentes pH utilizando como buffer ácido cítrico (pH 2) y acetato de sodio (pH 4.5). Realizar el mismo procedimiento con NaOH y KOH.

IV. RESULTADOS

Figura 1. Espectro UV-vis de col morada (pH 5 - pH 2)

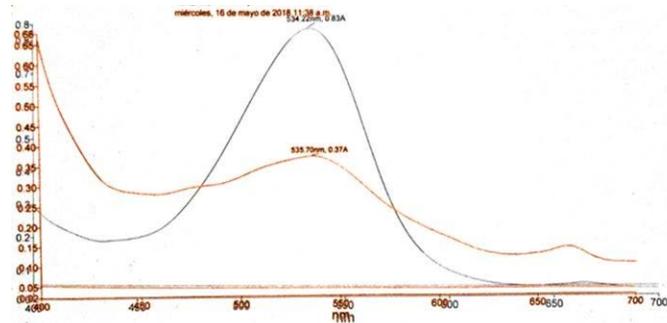


Figura 2. Espectro UV-vis de zarzamora (pH 5- pH 2)

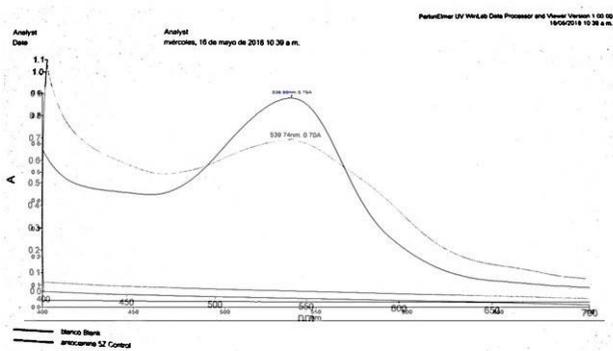


Figura 3. Espectro UV-vis de zarzamora (pH 4- pH 2)

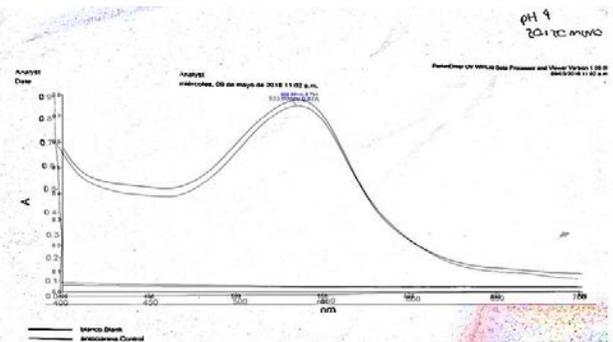


Figura 4. Espectro UV-vis de arándano fresco (pH 4- ac. fosfórico)

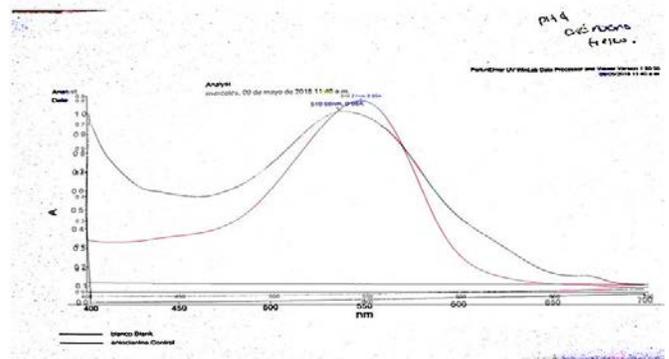


Figura 5. Espectro UV-vis arándano fresco (pH4- buffer 2)

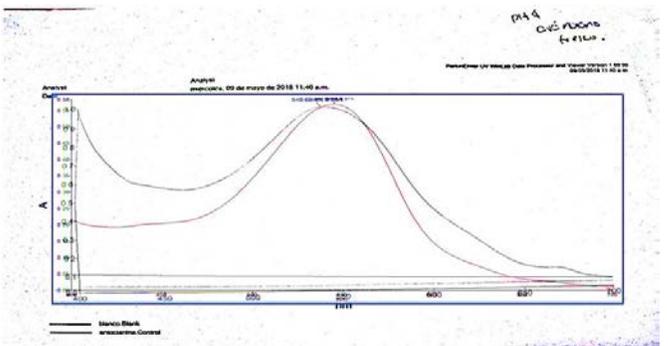


Figura 6. Espectro UV-vis de arándano fresco (pH 4- pH 2)

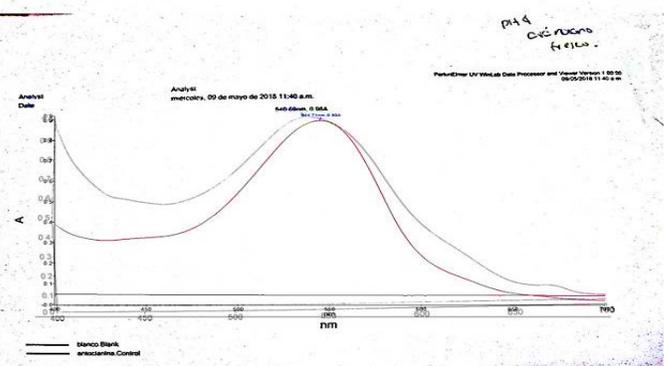


Figura 7. Espectro UV-vis de maíz morado (pH 12 -pH 2)

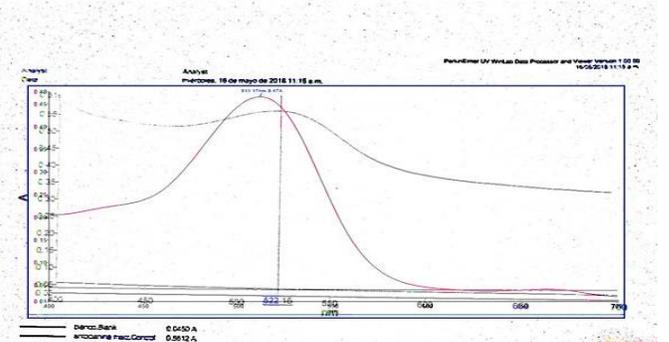


Figura 8. Comportamiento en diferentes pH de los extractos de antocianinas



V. ANÁLISIS DE RESULTADOS

Las antocianinas tienen la máxima absorbancia entre los 530-550nm. Al igual que el pH del medio en el que mejor se presentan es de 2 (ácido). Esto se debe a que en su forma de catión flavilio son moléculas más estables, esta forma se obtiene al tener pH ácido. Este cambio estructural se expresa en la gama de color que presentan las antocianinas dependiendo de su pH.

Un factor muy importante es que cuando le medimos el pH al agua destilada tenía un pH de 5, realizamos estas mediciones con un papel pH, esto nos indicaba que estaba ácida, creemos que es un factor muy importante con que no nos haya dado la misma gama de colores de la col morada, ya que esta tendría que ser neutra. El agua destilada se obtuvo del laboratorio de la universidad.

Un espectro que muestra de mejor manera el comportamiento de las antocianinas dependiendo del pH es el maíz morado, ya que se encontraba en un medio básico (12). La curva de máxima absorbancia se encuentra casi recta, sin embargo, al cambiar el pH a un medio ácido se define de mejor manera esta curva. Otro indicativo de esto es el cambio de color ya que en un medio básico se encontraba de color verde y en un medio ácido cambio este color a rosa. Se realizó diferentes pruebas con el arándano fresco y creemos que se encuentra de mejor manera al utilizar ácido fosfórico ya que este tiene un pH de 1, estabilizando al catión, al igual que la curva es un poco más prolongada.

Se tuvo una complicación al momento de realizar el procedimiento con el maíz morado ya que por equivocación calentamos el macerado en hidróxido y sucedió una hidrólisis causando que se formara una especie de gel. Observamos que cuando no se calentaba se separaba de manera casi instantánea. Así se aprendió que este tipo de compuestos

es susceptible a disociarse y se tendrá en cuenta para futura experimentación.

Se observó que los frutos secos (arándano seco), no presentan dicha especie, ya que al correr el espectro no presentaba un rango donde se tenía la mayor absorbancia, esto se debe a que esta deshidratado y las antocianinas son una molécula hidrosoluble.

VI. CONCLUSIONES

Se puede concluir que se confirmó espectrofotométricamente la presencia de compuestos antocianidínicos en los extractos vegetales obtenidos y se determinó en todos los casos que la máxima absorbancia se encuentra cuando el pH es de 2.

Se determinó que este compuesto podría servir como un indicador ácido-base tomando de referencia los colores que este toma en los diferentes valores de pH y con esto sustituir los indicadores químicos. Esta propuesta se basa en que los indicadores que se utilizan actualmente son azo-compuestos en su mayoría, y por este tipo de enlace que presentan, suelen ser muy tóxicos y contaminantes, siendo su remoción muy complicada y riesgosa.

También se concluye que con los resultados y observaciones obtenidos en los avances del presente proyecto se continuara con la estandarización de procedimientos analíticos de cuantificación de antocianinas en distintas especies vegetales conocidas.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a nuestros docentes que nos apoyaron para realizar este proyecto y siempre estar al tanto de nosotros, así como brindarnos los conocimientos que ellos tienen acerca de este tema.

VII. REFERENCIAS

- [1] Rosa Sotomayor . (2013). En el siguiente esquema se observa una diferencia entre colorante, tinte y pigmento natural.. 14 de marzo 2018, de Ciencia y desarrollo Sitio web: <http://revistas.uap.edu.pe/ojs/index.php/CYD/article/view/1120/1098>
- [2] L.Paucar . (2014). Características y propiedades funcionales del maíz morado (*Zea mays L.*) var. subnigroviolaceo. 14 de marzo 2018, de Scientia Agropecuaria Sitio web: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S2077-99172014000400005&script=sci_artte
- [3] "EXTRACCIÓN Y USO DE TRES PIGMENTOS NATURALES PARTIR DE TOMATE DE ÁRBOL (*Solanum betaceum Cav.*), MORTIÑO (*Vaccinium myrtillus L.*) Y MORA DE CASTILLA (*Rubus glaucus*) COMO ALTERNATIVA COLORANTE NATURAL PARA ALIMENTOS", CANO LASSO ALEJANDRA PATRICIA. 17 DE OCTUBRE DE 2011. <https://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/4929/1/T-ESPE-IASA%20I-004583.pdf>
- [4] G. Espino. (2014) Antocianinas, los otros pigmentos del reino vegetal. 14 de marzo de 2018 de UBUS Scientia: <http://ubuscientia.blogspot.com/2014/01/antocianinas-los-otros-pigmentos-del.html>

