

Extracción y estudio cinético de la degradación de las betalainas presentes en la bugambilia fucsia (*bougainvillea* sp), una alternativa como colorante alimentario

Miguel Román, Chantal Aniceto, Scarlett Pineda, Ismael Alatraste y Víctor Rivera

M. Román, C. Aniceto, S. Pineda, I. Alatraste y V. Rivera
Universidad Tecnológica del Centro de Veracruz, Av. Universidad No. 350, Carretera Federal Cuitláhuac-La Tinaja,
Congregación Dos Caminos, Cuitláhuac, Veracruz, 94910, México.
vmrivera@utcv.edu.mx

M. Ramos., V. Aguilera., (eds.) .Ciencias de la Ingeniería y Tecnología, Handbook -©ECORFAN- Valle de Santiago,
Guanajuato, 2014.

Abstract

Betalains extracts were obtained from *Fuchsia bougainvillea* (*Bougainvillea* sp.) by using ethanol and distilled water acidified with 1% citric acid. The Betalains present were identified by UV-Vis spectroscopy (~ 537 nm), signal from which the total concentration of betalains was obtained. A stability study was performed on the extracts at different storage temperatures by calculating its concentration over time.

The conditions to which the measurements performed were: pH 5.5 (the most stable for this pigments) and temperatures of 4 ° C, 25 ° C and 40 ° C. The temperature has a greater influence on the degradation of betalains, since when stored at high temperatures degrade more rapidly at room temperature degradation slower more however occurs, and 4 ° C samples are stable for at least the time period to which the study was conducted.

7 Introducción

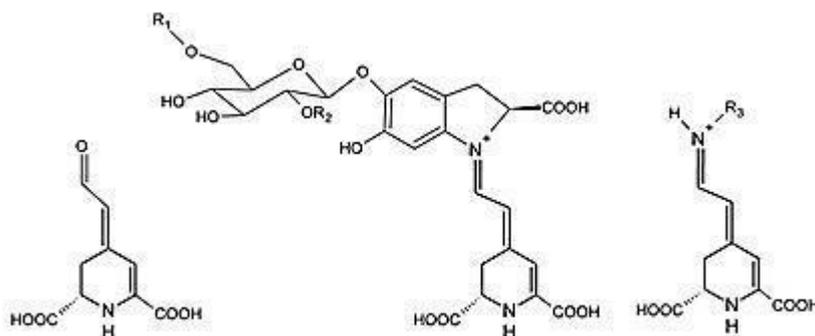
Los consumidores reconocen al color, sabor y textura como los principales atributos de calidad en un alimento, y dentro de estos, el color es de importante relevancia. Actualmente, tres cuartas partes de los alimentos producidos en países desarrollados son alimentos procesados de alguna u otra forma. Como resultado de este procesamiento, es común pérdidas en la apariencia de estos alimentos. Esta es la razón por la cual se utilizan los aditivos alimentarios; en específico, se utilizan para restablecer la apariencia original de los alimentos, asegurar un color uniforme, intensificar los colores, obtener una mejor apariencia, etc. [1]

Desde las antiguas civilizaciones los colorantes han sido utilizados para darle una presentación atractiva a los alimentos. Antiguos reportes muestran el uso de colorantes naturales para la coloración de alimentos, por ejemplo el azafrán fue utilizado para proporcionar sabor y color. Durante los 1800's el uso de colorantes artificiales creció en grandes proporciones. Sin embargo, no fue sino hasta los 1960's que movimientos de activistas atacaron el uso de aditivos alimentarios, en especial el uso de colorantes artificiales. Esta es la razón por la cual el mercado de los colorantes naturales ha tenido un gran crecimiento en los últimos años.[1] Además de que el número de colorantes artificiales apropiados para el procesamiento de alimentos se ha reducido drásticamente como consecuencia de diversos estudios toxicológicos, en los que se han encontrado problemas de salud derivados de su uso,[2-3] motivo por lo cual su uso se ha restringido en diversos países incluido México.[4-7] Por consecuencia en la actualidad existe una creciente búsqueda de nuevas fuentes para la extracción de colorantes naturales como son betalaínas, clorofilas, carotenoides y flavonoides entre otros, con la finalidad de sustituir a los colorantes sintéticos, sobre todo los rojos.[2] Para esta problemática, desde el 2004, el Codex Alimentario, además de la Comunidad Económica Europea y la FDA, ha aceptado al Rojo de Remolacha, clasificándolo con el código E162 y aditivo 73.40 de la sección CFR 21 de la "Food and Drugs Administration" respectivamente. Dicho pigmento presenta el inconveniente de contener en su estructura, un compuesto denominado Geosmina, el cual transfiere el sabor característico del betabel al alimento al que se adiciona. [2]

Es por lo anterior que aún se continúan investigando otras alternativas, siendo las antocianinas y las betalaínas [8-10] las más estudiadas y destacadas.

Las betalaínas dan coloración a diferentes órganos, como flores, frutos, hojas, raíces, donde producen colores que van desde el rojo hasta el amarillo. Se encuentran dentro de las células en las vacuolas con estructura de glucósidos. [11,12]

Figura 7 Estructura de las Betalaínas



Las betalaínas son pigmentos que se sintetizan a partir del aminoácido tirosina en dos grupos estructurales: betacianinas (rojo-violeta) y betaxantinas (amarillo-naranja). El componente principal de este tipo de pigmento es el ácido betalámico, el cual dependiendo de la posición que tome en la estructura del compuesto determina la coloración que dicho pigmento presentará. [13]

Aunque existen investigaciones que utilizan a la bugambilia glabra como fuente de las betalaínas, estas solo indican el posible uso de los pigmentos presentes en esta planta pero ninguno de ellos ha podido adicionar en un alimento como tal. [14,15] Es así que la presente investigación está encaminada a obtener un colorante natural rojo, betalaínas, presentes en la bugambilia fucsia (*Bougainvillea* sp.) cultivada traspatio con fines meramente de ornato en la zona centro del estado de Veracruz, caracterizarlo, estabilizarlo y aplicarlo en diversos alimentos. Para ello es necesario un estudio cinético de degradación el cual indicará o corroborará las distintas rutas de degradación así como, a través de un análisis de experimentos, obtener las zonas óptimas de aplicación.

7.1 Metodología

Las muestras de Bugambilia fucsia se obtuvieron de los municipios de Córdoba, Fortín y Cuitláhuac (zona centro del Estado de Veracruz). Se les retiró el pedúnculo de la corola, para obtener únicamente brácteas de bugambilia, mismas que se lavaron y desinfectaron, para posteriormente ser trituradas y mejorar así la interacción de las muestras con el disolvente en la etapa de extracción. En la extracción se utilizaron como disolventes etanol y agua destilada, ambos acidificados con ácido cítrico al 1% del volumen total usado en la extracción, con la finalidad de evitar la oxidación de las muestras. [7]

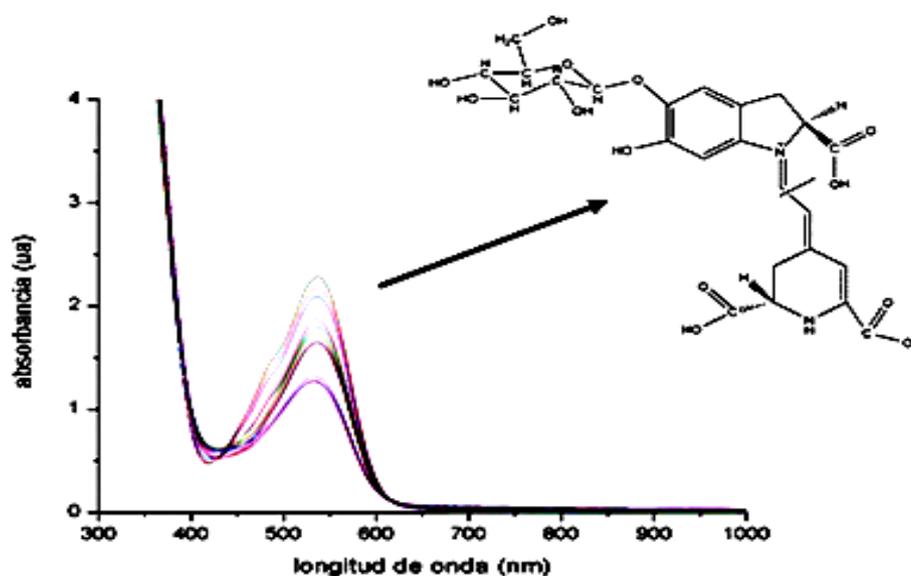
Esta etapa se realizó durante 30 minutos, con agitación mecánica, evitando siempre el contacto directo con la luz. Posteriormente el extracto se filtró y concentró a presión reducida. Los extractos obtenidos se caracterizaron por espectroscopia UV-Vis en un espectrofotómetro Cary 5000. La cuantificación del pigmento se hizo de acuerdo a Stintzing y col [15] a partir de la señal UV-Vis obtenida.

En el estudio de estabilidad se determinó la concentración del pigmento a través del tiempo, las muestras se mantuvieron a pH de 5.5, ya que este se ha reportado en la literatura como el más estable para este tipo de pigmento. [16] Se evaluaron dos disolventes para la extracción de betalaínas: etanol y agua destilada. Las muestras se sometieron a tres distintas temperaturas (4°C, 25°C y 40°C). Para mantener las muestras a 4°C se utilizó un refrigerador Acros AS7501G y para mantener la temperatura de 40°C se utilizó un Horno FELISA FE 291.

7.2 Resultados y Discusiones

Se determinó que la extracción se realizara en proporción 1:4 de brácteas y disolvente respectivamente, pues de esta manera se permitía una agitación homogénea de las muestras. Por otra parte, la adición de ácido cítrico al 1% proporciona mejores resultados al retrasar la oxidación y decoloración del extracto. La concentración máxima de betalaínas obtenida en los extractos analizados fueron de 87.06041 mg/L para el agua destilada y de 97.6937 mg/L para el etanol. Los extractos se analizaron en un espectrofotómetro Cary 5000, en el rango del ultravioleta y visible (200-1500 nm), con el fin de obtener información acerca de los extractos, aunque la única parte que resulto de interés fue en la región del visible (350-800 nm), ya que las betalaínas absorben la luz visible entre 530-540 nm para las betacianinas (color rojo) y a 470-480 nm para las betaxantinas (color amarillo).

Gráfico 7 Identificación de Betalaínas en extractos de Bugambilia Fucsia



La Figura es una muestra representativa de todas las muestras analizadas en las que se corrobora la presencia de betalaínas en el extracto obtenido previamente, de acuerdo a la asignación realizada por Azeredo y col. [17]

Las Figuras presentan los resultados obtenidos de la extracción de betalaínas a 4 °C con agua destilada, primero se presentan sus espectros UV-Vis y después la concentración de las mismas obtenidas, como ya se mencionó en la literatura, de acuerdo a Stintzing y col. [15] Los mismos resultados se muestran para otras temperaturas y otro disolvente. Ver tabla 7.

Tabla 7 Indicación de figuras y condiciones de extracción. (Como ya se mencionó anteriormente, todas las extracciones se llevaron a pH 5.5)

Figuras	Temperatura, °C	Disolvente
3 y 4	4	Agua Destilada
5 y 6	4	Etanol
7 y 8	25 ± 1	Agua Destilada
9 y 10	25 ± 1	Etanol
11 y 12	40	Agua Destilada
13 y 14	40	Etanol

Se puede apreciar en los gráficos de concentración vs tiempo que el punto de partida inicial es muy variado, es por ello que se decide colocar todos los espectros UV-Vis ya que en ellos se puede apreciar más claramente la influencia de la temperatura.

Se aprecia claramente en los espectros UV-Vis que la temperatura tiene una influencia marcada en la degradación de las betalaínas, puesto que al ser almacenados los extractos a temperaturas altas las betalaínas se degradan rápidamente, a temperatura ambiente la degradación de éstas es más lenta más sin embargo ocurre, y a 4°C el contenido de betalaínas permanece prácticamente constante por lo menos durante el lapso de tiempo al cual se realizó el estudio.

Es importante mencionar que en un inicio se planeó que todas las muestras estuvieran estáticas durante su estudio, pues cuando los colorantes se adicionan a un alimento estos permanecen prácticamente estáticos.

Sin embargo cuando se realizó el estudio temperatura de 40 °C se decide agitar para homogenizar la temperatura y tomar muestras a cortos tiempos pues las betalaínas a esta temperatura se degradan con mayor rapidez y se perdía información cinética valiosa.

Gráfico 7.1 Espectro UV-Vis de extractos a 4°C en agua destilada

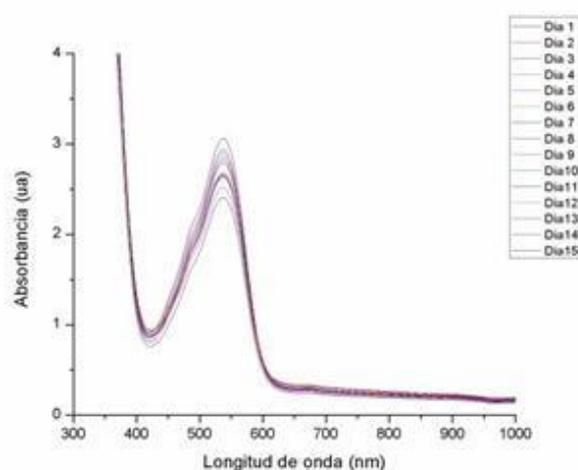


Gráfico 7.2 Espectro UV-Vis de extractos a 4°C en etanol

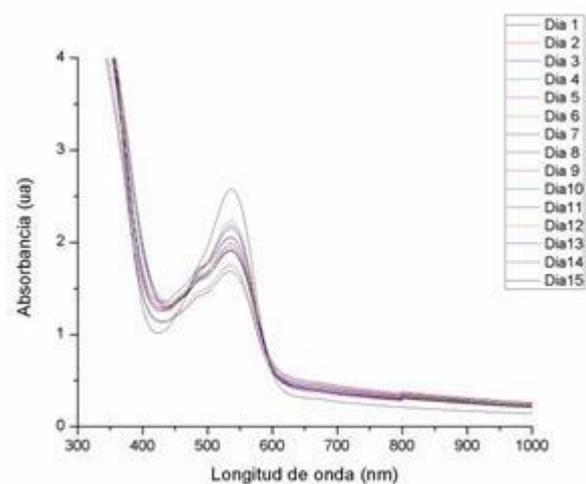


Gráfico 7.3 Concentración de betalaínas a 4°C en agua destilada

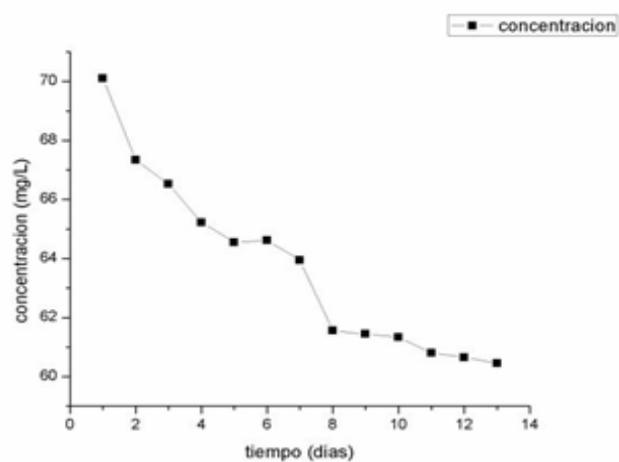


Gráfico 7.4 Concentración de betalaínas 4°C en etanol

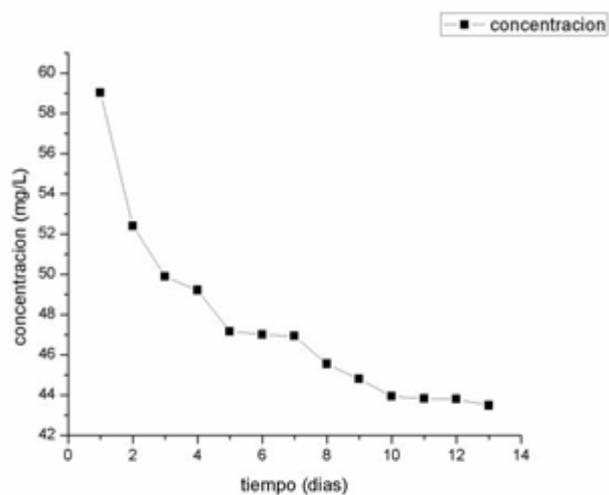


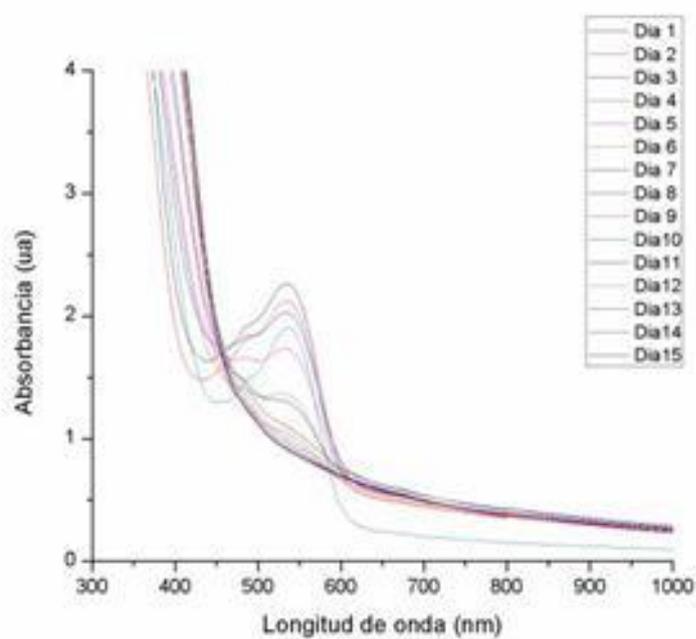
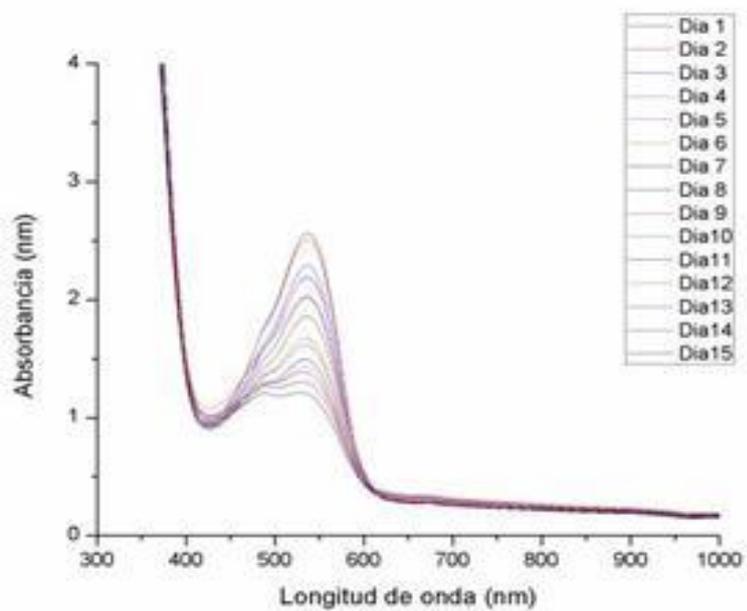
Gráfico 7.5 Espectro UV-Vis de extractos a $25\pm 1^\circ\text{C}$ en**Gráfico 7.6** Espectro UV-Vis de extractos a $25\pm 1^\circ\text{C}$ en agua destilada

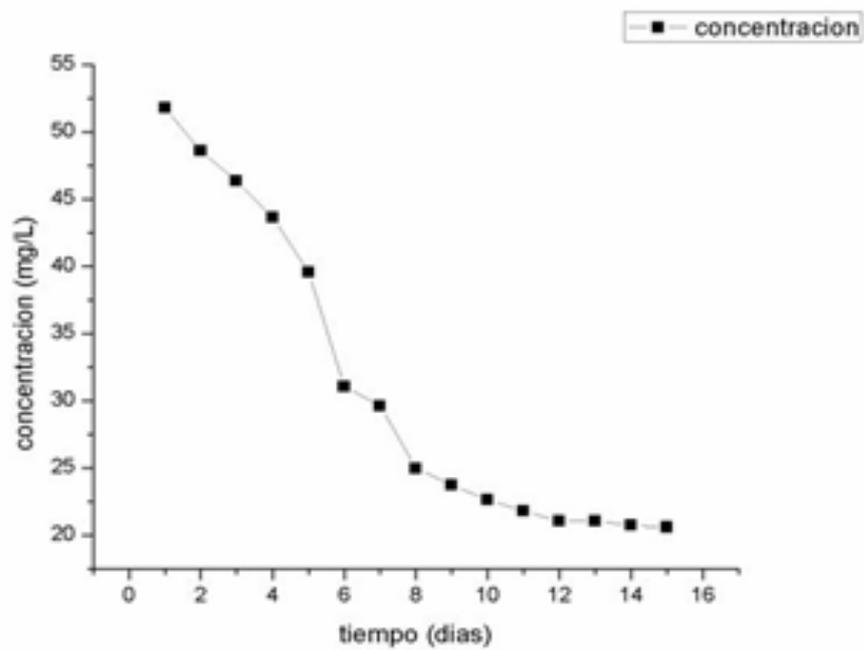
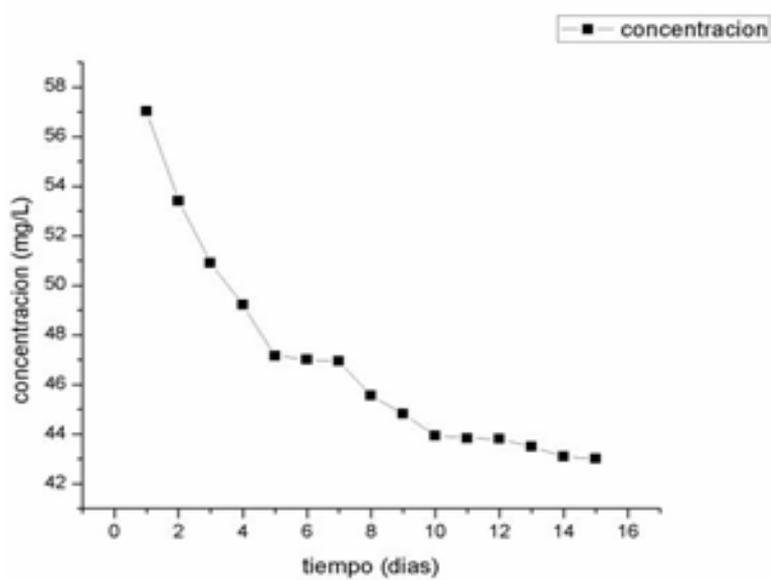
Gráfico 7.7 Concentración de betalaínas a $25\pm 1^\circ\text{C}$ en agua etanol**Gráfico 7.8** Concentración de betalaínas a $25\pm 1^\circ\text{C}$ en destilada

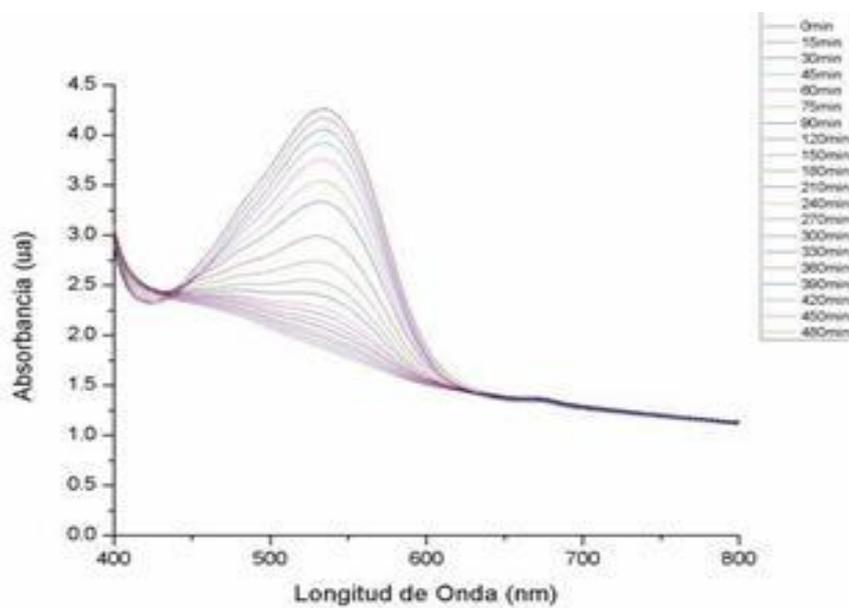
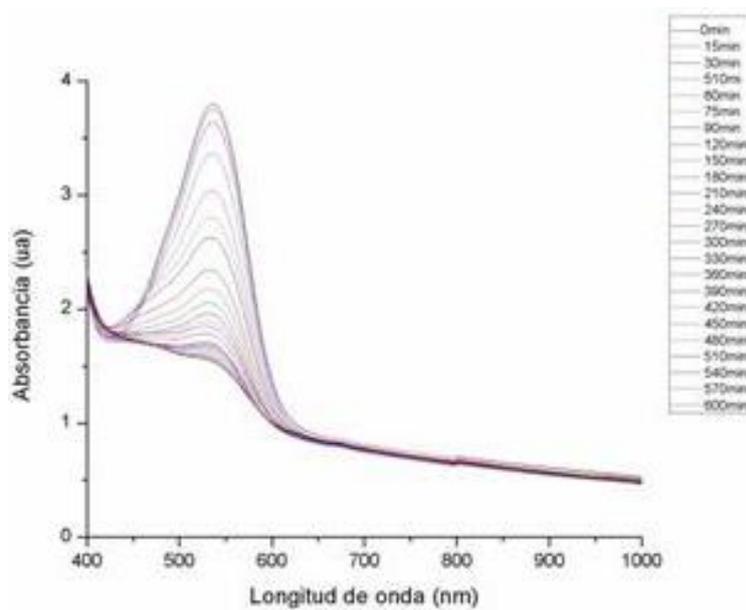
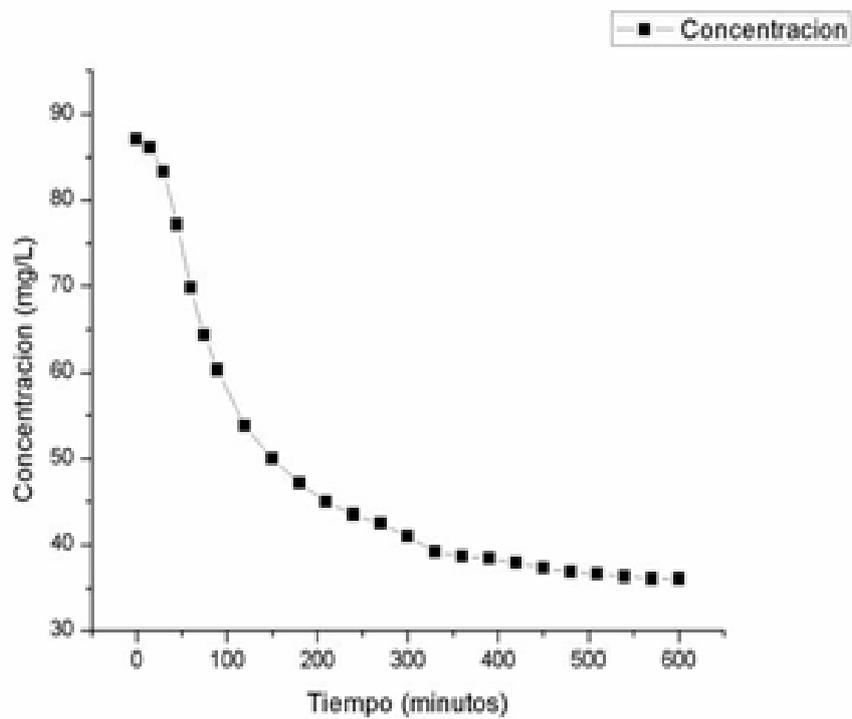
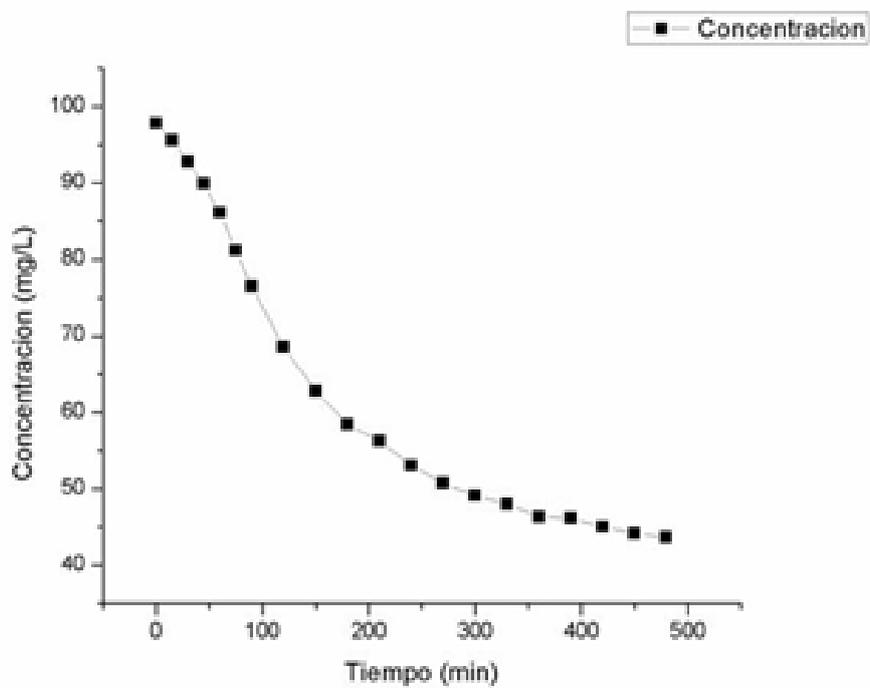
Gráfico 7.9 Espectro UV-Vis de extractos a 40°C en agua destilada**Gráfico 7.10** Espectro UV-Vis de extractos a 40°C en etanol

Gráfico 7.11 Concentración de betalaínas a 40°C en agua destilada**Gráfico 7.12** Concentración de betalaínas a 40°C en etanol

Cuando se realiza este cambio, se puede apreciar en los espectros de concentración con respecto al tiempo, la curva se suaviza y sigue un patrón un tanto aún más definido de cuando las muestras no se agitaron, pero lo que es aún más importante es que a tiempos cortos se aprecia que existe un pequeño periodo de inducción, mismo que ahora se encuentra bajo estudio. Así como también se trabaja la repetición de todos los datos a temperatura ambiente y de 4 °C con agitación buscando los resultados similares obtenidos a la temperatura de 40 °C.

En un principio nos atrevemos a suponer que este periodo de inducción se debe a que la reacción es autocatalítica, por lo cual el controlar, inhibir o retardar este periodo afectará de manera directa la degradación de las betalaínas reduciéndola así drásticamente y por consecuencia manteniendo el color característico. Para ello se trabaja en un ajuste cinético que nos ayude a proponer un mecanismo de reacción más detallado de los que se reportan en la literatura [18] con la finalidad de controlar el paso inicial que se asigna prematuramente a la formación de un intermediario que cataliza la degradación de las betalaínas. Cabe destacar que ya hay estudios realizados por von Elbe [19-21] y Kopelman [22] en que siguen la degradación de betalaínas analizando distintos factores (temperatura, pH) obtenidas de fuentes naturales distintas y en ninguno de los casos notan el efecto de inducción que se presenta en esta investigación.

7.3 Conclusiones

La bugambilia es una alternativa natural para la obtención de betalaínas, con altas posibilidades de aplicación en alimentos. De acuerdo a los resultados obtenidos se cree idóneo emplearlo en bebidas y yogurts debido a las temperaturas de procesamiento y almacenamiento, y a la corta vida de anaquel de estos alimentos. Aunque de poder identificar y controlar el efecto de inducción apreciado en este estudio abriría un abanico aún mayor para su empleo, mismo periodo que se encuentra bajo estudio. Por último es importante mencionar el beneficio de utilizar una planta que se da en abundancia en la región centro del estado de Veracruz y que tiene simplemente fines de ornato, beneficiando también a todos los floricultores de la región.

Referencias

Delgado-Vargas, F. y Paredes-López, O. (2002) *Natural Colorants for Food and Nutraceutical Uses*, 2003, CRC Press.

Madhava, N. M. y Sowbhagya, H. B. (2012). Technological advances in food colours. *Chem. Ind. Digest.* 3, 79-88.

Moreno, D.; García-Viguera, C.; Gil, J. I.; Gil-Izquierdo, A. (2008). Betalains in the era of global agri-food science, technology and nutritional health. *Phytochem. Rev.*, 7 (2), 261-280.

Norma Oficial Mexicana NOM-038-SSA1-1993. Norma Oficial Mexicana NOM-118-SSA1-1994. Norma Oficial Mexicana NOM-119-SSA1-1994.

Norma General Del Codex Para Los Aditivos Alimentarios, CODEX STAN 192-1995.

Strack, D.; Vogt, T.; Schliemann, W. (2003). Recent advances in betalain research. *Phytochem.* 62 (3), 247-269.

Herbach, K.; Rohe, M.; Stintzing, F. C.; Carle, R. (2006). Structural and chromatic stability of purple pitaya (*Hylocereus polyrhizus* [Weber] Britton & Rose) betacyanins as affected by the juice matrix and selected additives. *Food Res. Int.* 39 (6), 667-677.

Herbach, K.; Maier, C.; Stintzing, F. C.; Carle, R. (2007). Effects of processing and storage on juice colour and betacyanin stability of purple pitaya (*Hylocereus polyrhizus*) juice. *Eur. Food Research.* 224 (5), 649-658.

Herbach, K.; Stintzing, F. C.; Carle, R. (2006). Betalain stability and degradation—structural and chromatic aspects. *J. Food Sci.* 71 (4), R41-R50.

Barrera, F. A.; Reynoso, C. R.; González de Mejía, E. (1998). Estabilidad de las betalaínas extraídas del garambullo (*Myrtillocactus geometrizans*) / Stability of betalains extracted from garambullo (*Myrtillocactus geometrizans*). *Food Sci. Technol. Int.* 4 (2), 115-120.

Mai, D. S.; Thuan, N. T.; Trinh, L. T. N.; Trinh, T. T. N.; Ngo, T. X. (2012). Survey the Betacyanin extraction from the flower of purple *Bougainvillea* of Vietnam and the stability of this pigment. *J. Food Sci. Eng.* 2, 524-528.

Hernandez-Martinez, A. R.; Estevez, M.; Vargas, S.; Quintanilla, F.; Rodriguez, R. (2011). New dye-sensitized solar cells obtained from extracted bracts of *bougainvillea glabra* and *spectabilis* betalain pigments by different purification processes. *Int. J. Mol. Sci.* 12, 5565-5576.

Kugler, F.; Florian C.; Stintzing.; Carle, R. (2007). Characterisation of betalain patterns of differently coloured inflorescences from *Gomphrena globosa* L. and *Bougainvillea* sp. by HPLC–DAD–ESI–MSⁿ. *Anal. Bioanal. Chem.* 387, 637-648.

Márquez-González, E.; García-Vigoa, Y. (2007). Colorantes naturales de origen vegetal. *Ciencia y Tecnología de Alimentos.* 17 (1), 68-74.

Azeredo, H. M. C.; Pereira, A. C.; Rodrigues De Souza, A. C.; Gouveia, S. T.; Barbosa-Mendes, K. C. (2009). Study on efficiency of betacyanin extraction from red beetroots. *Int. J. Food Sci. Tech.* 44 (12), 2464-2469.

Azeredo, H. M. C. (2009). Betalains: properties, sources, applications, and stability—a review. *Int. J. Food Sci. Tech.* 44, 2365-2376.

Huang, A. S.; von Elbe, J. H. (1987). Effect of pH on the degradation and regeneration of betanine. *J. Food Sci.* 52 (6), 1689-1693.

Huang, A. S.; von Elbe, J. H. (1985). Kinetics of the degradation and regeneration of betanine. *J. Food Sci.* 50, 1115-1129.

Attoe, E. L.; von Elbe, J. H. (1985). Oxygen involvement in betanine degradation: effect of antioxidants. *J. Food Sci.* 50, 106-110.

Saguy, I.; Kopelman, I. J.; Mizrahi, S. (1978). Thermal kinetic degradation of betanin and betalamic acid. *J. Agric. Food Chem.* 26 (2), 360-362.