



PREPARACIÓN Y ESTANDARIZACIÓN DEL EXTRACTO DE COL MORADA

Florencia Salinas^a, F. López^a, J. Valencia^a y G. Cerón^a

^aUniversidad Tecnológica de Tecámac, Estado de México, biotlofencia@yahoo.com.mx, lopezmoralesfernanda4@gmail.com, tsujvalencia@live.com.mx, ivan_gem@hotmail.com.

RESUMEN

En la literatura se reportan diferentes métodos para obtener extractos de col morada y lograr mantener sus propiedades de manera segura ya que tiene un perfil fitoquímico a base de flavonoides entre las que destacan las antocianinas, cuyos componentes más abundantes son la cianidina y la quercetina identificadas con actividad antioxidante y quimioprotectora. El objetivo de este trabajo es obtener el extracto de col morada hasta su estandarización para recuperar sus flavonoides. Como etapa previa para la extracción de antocianinas se preparó col picada y se prepararon los extractos utilizando como agente extractante cuatro ácidos diferentes (dos ácidos orgánicos y dos ácidos inorgánicos) que fueron H₃PO₄ Y HCl en cuatro concentraciones 0,05M, 0.1M, 0.2M y 0.4M, como ácidos orgánicos CH₃COOH y C₃H₈O₇ con una concentración adicional 1M, todas por triplicado dejando en reposo por 24 horas, se midió el pH antes y después de la extracción con etapas posteriores de filtración y dos pasos de dilución (H₂O y buffer pH1 respectivamente); ya realizada las soluciones se llevó la muestra preparada al espectrofotómetro determinando la absorbancia a 520 y 620 nm y se calculó como absorbancia normalizada para medir la concentración aparente de antocianinas. Los resultados reportados indican que el HCl le lleva ventaja de absorbancia al H₃PO₄ por presentar mayor concentración de antocianinas debido a que el extracto con HCL con las cuatro concentraciones trabajadas presenta un pH muy cercano a 1 y en el momento de realizar el ajuste de pH, hubo un menor cambio y la estabilidad de las antocianinas fue menos alterada en comparación del H₃PO₄ y por consiguiente mayor absorbancia para la presencia de antocianinas; en cuanto a los ácidos orgánicos al realizar el ajuste de pH.

1. INTRODUCCIÓN

En la literatura existen diferentes métodos para obtener el extracto de col morada rico en antocianinas, las cuales por su naturaleza química pierden estabilidad dependiendo de factores como pH, oxígeno ,temperatura .Debido a ello es importante encontrar un método de extracción que mantenga sus propiedades fitoquímicas y mejorar el rendimiento . Lograr un extracto de estos compuestos bioactivos y llevarlos a una estandarización facilita el poder mantener las propiedades de manera segura y en mayor cantidad. La col morada contiene flavonoides, entre los que destacan ocho antocianinas, cuyo componente más abundante es la cianidina que confiere el color morado a la lombarda, y la quercetina.

Las antocianinas proveen importantes beneficios como colorante de alimentos, también por su efecto antioxidante y quimioprotector. Para mantener las propiedades de la col se ha realizado un proceso químico para su extracción mediante ácidos orgánicos e inorgánicos, realizando además una serie de pruebas como es pH, el porcentaje de sólidos que están presentes por cada mililitro de extracto, la eficiencia de la extracción basada en un contenido de antocianinas que asegure que se tiene lo que se desea logrando así una estandarización del método más adecuado para obtener el extracto.



Objetivo General

Obtener el extracto de col morada llegando hasta su estandarización para obtener flavonoides (antocianinas) presentes en la col morada.

Objetivos específicos

*Preparar la extracción de la col morada para obtener flavonoides (antocianinas).

*Estandarizar la metodología con mejor resultado en la obtención de flavonoides (antocianina).

2. TEORÍA

La col morada es una planta herbácea anual de la familia de las crucíferas. Su nombre científico es *Brassica oleracea* var. *capitata*, nombre vulgar col lombarda, col morada, col roja. Químicamente la col contiene 92% de agua, fibra, pocas calorías e hidratos de carbono

- Vitaminas: A, C, E y B.
- Minerales: rico en Azufre y Potasio, Fósforo, Aluminio, Calcio, Flúor, Bario, Magnesio, Bromo.
- Otros: Ácido fólico, Niacina, Biotina, Mucílagos, Quercetina, Tirosina, Leucina, Cistina, ácido glutamínico, Arginina, Amoníaco, Nitratos.
- Antocianinas como cianidina.-3-sofóro-5-glucósido. cianidina-3-(diferulil)soforósido-5-glucósido, quercitina, entre otros. (Geza Hrazdina et al., 1977).

Desde el punto de vista químico, las antocianinas pertenecen al grupo de los flavonoides y son glicósidos de las antocianidinas, están constituidas por una molécula de antocianidina, que es la aglicona, a la que se le une un azúcar por medio de un enlace glucosídico. La estabilidad de las antocianinas está determinada por el grado de oxidación, la temperatura, acidez, fuerza iónica e interacción con otras moléculas (Garzon, 2008).

El científico alemán Richard Willstätter (1872-1942) fue el primero en describir el cambio de color de las antocianinas, moléculas en las que se produce el efecto batocrómico, que consiste en que al cambiar la acidez, es decir el pH, se pasa del rojo anaranjado en condiciones ácidas, como el de la pelargonidina, al rojo intenso-violeta de la cianidina en condiciones neutras, y al rojo púrpura-azul de la delfinidina, en condiciones alcalinas. El pH tiene efecto en la estructura y la estabilidad de las antocianinas. La acidez tiene un efecto protector sobre la molécula. (Aoki et al., 2002)

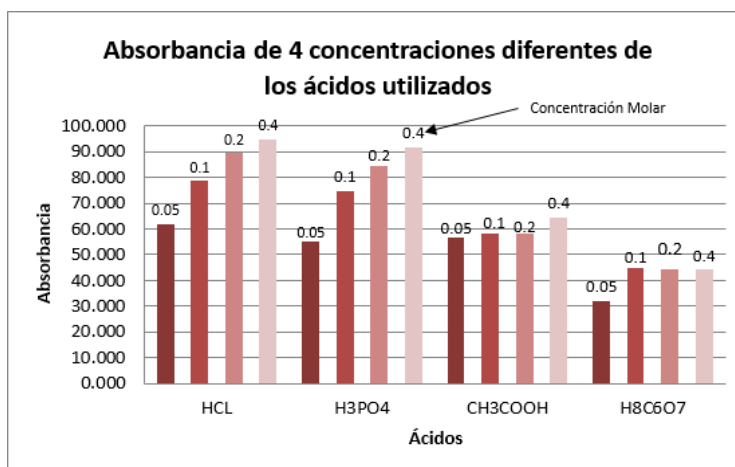
3. PARTE EXPERIMENTAL

Se seleccionó col morada fresca, se almacenó y se embolsó manteniendo en refrigeración a 4 °C. Se prepararon soluciones de HCl, H₃PO₄ (0.05M, 0.1M, 0.2M, 0.4), CH₃COOH y C₆H₈O₇ (con concentración adicional 1M). Se realizó la extracción de antocianinas dejando en contacto 80 g de col morada con cada uno de los agentes extractantes por triplicado, se filtró después de este tiempo, los sólidos retenidos se guardaron en refrigeración, a los cuales se determinó % de sólidos en termobalanza. Se preparó ajustador ácido a pH 1 (mezcla de 50 ml de KCl 0.02N y 134 ml HCl 0.2M), Posteriormente se realizaron dos diluciones, la primera en relación 1:10, la segunda se realizó empleando 9 ml de la solución buffer pH1 obteniendo una dilución 1:100. La determinación de antocianinas se realizó mediante espectrofotometría a 520nm.



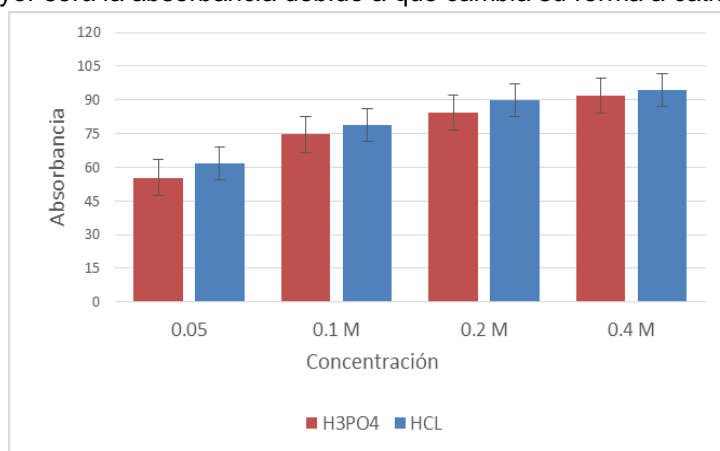
4. RESULTADOS

En la gráfica 1 se muestran las absorbancias obtenidas para la presencia de antocianinas con los ácidos orgánicos e inorgánicos utilizados, donde se puede observar que para la concentración 0.05 M en el ácido clorhídrico, fosfórico y acético las absorbancias obtenidas son cercanas (61.6, 55.3, 56.4) entre si mientras que en el ácido cítrico se presentan en una absorbancia menor (32.1)



Gráfica 1: Absorbancia de cuatro concentraciones diferentes de los ácidos utilizados

En el ácido clorhídrico y fosfórico hay un aumento de antocianinas favorable lo cual indica que es el mejor medio de estabilidad de las antocianinas, indicando así que en éstos entre mayor es la concentración, mayor será la absorbancia debido a que cambia su forma a catión favilio.

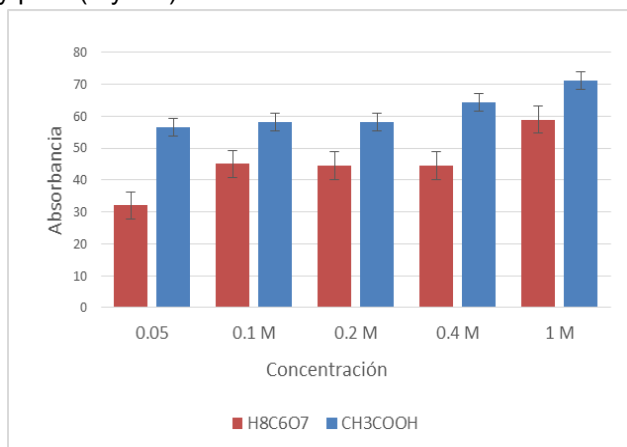


Gráfica 2: Comparación de absorbancia normalizada de los ácidos inorgánicos.

En la gráfica 2 se observa que el ácido clorhídrico presenta mayor absorbancia que el ácido fosfórico debido a que el extracto realizado las concentraciones trabajadas presentan un pH muy cercano a 1 y en el momento de realizar el ajuste de pH (pH 1) hubo un menor cambio de pH's y la estabilidad de las antocianinas fue menos alterada en comparación del H₃PO₄. La comparación se



hizo en base a absorbancia normalizada que se calcula considerando a la absorbancia multiplicada por el factor de dilución y se obtuvo por la diferencia aritmética a dos longitudes de onda 520nm y 600nm y pH's (1 y 4.5)



Gráfica 3: Comparación de absorbancia normalizada de los ácidos orgánicos.

En la gráfica 3 podemos observar que el ácido cítrico se muestra más inestable al ajuste de pH 1 dando mejor resultado el uso de ácido acético como agente extractante.

5. CONCLUSIONES

Durante el proceso de la extracción de flavonoides (antocianinas) se buscó el mayor rendimiento para la extracción de antocianinas empleando diferentes concentraciones de ácidos. Se encontró que el mejor ácido para la extracción de flavonoides a partir de la col morada es el ácido clorhídrico ya que bajo las mismas condiciones y con las mismas concentraciones es el que presenta mayor absorbancia.

Los resultados obtenidos permitieron la estandarización de la técnica de extracción de antocianinas a partir de col morada.

BIBLIOGRAFÍA (ARIAL, bold, 10 pt. justificado a la izquierda)

1. Aoki, P.W. *Physikalische Chemie*, VCH, Weinheim, 2002.
2. Garzon, G. 2008. Anthocyanins As Natural Colorants And Bioactive Compounds: A Review. *Acta Biol. Colomb.* 13, no.3, p.27-36. ISSN 0120-548X.
3. Geza Hrazdina, Henry Iredale y Leonard R. Mattick. 1977. Anthocyanin composition of *Brassica oleracea* cv. Red Danish. *Phytochemistry* 16: 297-299.