

Obtención de un colorante natural alimentario de mora de Castilla (*Rubus glaucus benth*)

The Extraction of a Foodstuff Natural Coloring out of Blackberries
(*Rubus glaucus benth*)

Martha Ramírez*, Norma Yadira Rojas-Aguilar**,
Lady Johana Correa-Higuera***

Resumen

En esta investigación se obtuvo un colorante natural alimentario a partir de la extracción metanólica de antocianinas presentes en la mora de Castilla (*Rubus glaucus benth*); se caracterizó el extracto resultante por medio de métodos analíticos de cromatografía de capa delgada, junto con un análisis de estabilidad frente a diferentes condiciones ambientales y pruebas de toxicidad (bioensayo con *Artemia salina*). De igual manera, se estudió el método de obtención del producto final más apropiado. Finalmente, el colorante se aplicó a derivados lácteos comerciales (leche, kumis), para comprobar su efectividad, en comparación con un colorante sintético (Eritrosina E-127), y determinar su rentabilidad. El colorante alimentario resultó ser efectivo, relativamente estable, mantuvo la naturalidad de los productos y garantizó la inocuidad de estos.

Palabras clave

Colorante natural, Antocianinas, Mora de Castilla, Estabilidad, Funcionalidad, Toxicidad.

* MsC Biología, Docente UPTC. marberami@yahoo.com

** Químico de Alimentos UPTC normayadira83@yahoo.es

*** Químico de Alimentos UPTC johanac06@yahoo.es

Dirección correspondencia: Escuela Ciencias Químicas. UPTC. Tunja, Boyacá



Abstract

A natural colored foodstuff was obtained out of extracting methanol of the antocianines which are present in the blackberries (*Rubus glaucus beneth*). The resulting extract was characterized by the thin layer analytical chromatography's method, together with an stability analysis in front of different conditions and toxicity tests (Bio test with *Artemia salina*). Also the methodology to extract a more adequate final product was studied. Finally the colored was applied in commercial milky derivatives (milk and kumis) to test its effectiveness, it was compared with a synthetic colored (Eritrosine E-127) in order to determine its profitability. The colored turned out to be effective, relatively stable, it kept the products' natural quality and preserved their innocuousness.

Keywords

Natural Colored, Antocianines, Strawberry, Stability, Functionality, Toxicity.

1. Introducción

El color es la primera sensación que se percibe de un alimento y determina el primer juicio sobre su calidad, ya que tiende a modificar subjetivamente otras sensaciones, como el sabor y el olor, condicionando el éxito o fracaso de un producto en el mercado.

Los alimentos naturales tienen su propio color y lo ideal sería que se mantuviera a lo largo del proceso de transformación en la industria, pero la mayoría de veces no es así. Sin embargo, los consumidores prefieren en determinados alimentos un color constante, que no varíe en los diferentes lotes de fabricación de un producto y esto solo puede obtenerse modificándolo de forma artificial (Cubero, 2002).

La adición de sustancias químicas ha sido muy usada, pero a medida que los consumidores reconocen la conveniencia de ingerir alimentos naturales, con el mínimo de sustancias conservantes, esta técnica es cada vez menos practicada, sobre todo para los alimentos procesados exportables.

Los colorantes son el grupo de aditivos que se encarga de proporcionar aquel color deseado y esperado de cada alimento, es decir, proporcionan, refuerzan u homogeneizan su color para hacerlo más apetecible de cara al consumidor (Cubero).

Frutas con colores fuertes, como las uvas moradas, las cerezas y las moras, contienen abundantes antocianinas: pigmentos naturales aceptados como colorante alimentario; por lo tanto, pueden ser utilizadas como materia prima en la fabricación industrial de un colorante natural alimentario. Las antocianinas representan un factor importante en la industria alimentaria, debido a las restricciones sanitarias hacia el uso de colorantes sintéticos (Marcano, 1991).

La obtención de un colorante a partir de estos compuestos presentes en los frutos maduros de la mora de Castilla (*Rubus glaucus benth*) mejora las características físicas (color) de muchos productos; además de poseer propiedades antioxidantes (Nagem, 2000); así se garantiza la inocuidad de los alimentos y su naturalidad, buscando aportar mayores beneficios a la salud del consumidor y aumentar el nivel de competitividad de nuestros productos en el mercado actual, que con los tratados de libre comercio exige productos de excelente calidad.

2. Materiales y métodos

Aislamiento y purificación

Para garantizar la naturalidad del colorante obtenido, los frutos de mora de Castilla (*Rubus glaucus benth*) utilizados en este estudio fueron recolectados de un cultivo orgánico,



situado en la ciudad de Sogamoso. Se determinó el índice de madurez de los frutos de acuerdo con la NTC 4106 para mora de Castilla.

Extracción. Se realizó una extracción en frío, utilizando metanol como solvente. Una muestra de 1.852 g de frutos de mora de Castilla fue triturada en presencia de metanol absoluto acidulado con 1% de ácido cítrico, durante 72 horas. El extracto se purificó, evaporando el solvente en un rotoevaporador BUCHI 250, controlando la temperatura (Domínguez, 1988).

Identificación y cuantificación

Cromatografía. Obtenido el extracto metanólico de antocianinas se realizó una CCD en una placa de sílica gel 60 F₂₅₄, utilizando como fase móvil EtOAc:CH₃COOH:H₂O:MeOH (10:2:3:2).

Posteriormente se hizo una cromatografía preparativa, utilizando placas de sílica gel 60 MERCK soporte de vidrio, activadas en una estufa a 100 °C por una hora, con el fin de separar los diferentes componentes del extracto. Se realizó la separación del pigmento utilizando como fase móvil EtOAc:CH₃COOH:H₂O:MeOH 10:2:3:2.

Para comprobar la efectividad de la separación del pigmento, la muestra purificada fue sometida a CCD, utilizando como fase móvil EtOAc:CH₃COOH:H₂O:MeOH 10:2:3:2 y como fase estacionaria: sílica gel 60 soporte de vidrio y Rp 18 soporte de vidrio.

Cuantificación por espectrofotometría. Para calcular la concentración de antocianinas en el extracto crudo se utilizó la Ley de Beer Lambert. Se hizo una dilución acuosa del extracto obtenido (1 g en 100 ml de agua destilada) y se determinó la absorbancia en un espectrofotómetro a la longitud de onda de máxima absorción para antocianinas, y se expresó en gramos de cianidina-3-glucósido /Kg de pulpa de mora de Castilla (*Rubus glaucus benth*).

Para realizar la curva patrón se prepararon soluciones de Carmoisina (colorante sintético mora) de diferente concentración (2, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50 ppm), las cuales se leyeron junto con el extracto de antocianinas, en un espectrofotómetro GENESYS 10 a una longitud de onda de 530 nm (Gomara, 2004) y por extrapolación se determinó la concentración de antocianinas en la muestra expresada como g de cianidina-3-glucósido /Kg de pulpa de mora *Rubus glaucus benth* (Xueming, 2004).

Prueba de toxicidad

Con el fin de determinar el nivel de toxicidad del extracto metanólico se desarrolló el bioensayo con *Artemia salina* para evaluar citotoxicidad en extractos crudos o metabolitos secundarios, por medio del método probitt (Martínez, 1999).

Obtención del producto en polvo

Secado del extracto purificado. Para determinar las condiciones óptimas de obtención del colorante en polvo se realizó el secado del extracto purificado utilizando cuatro tratamientos diferentes de tiempo y temperatura, mostrados en la tabla 1 (Devia, 2005).

Tabla 1. Obtención del colorante seco

Tratamiento	°C	Horas
1	25	24
2	50	10
3	75	6
4	100	1

Evaluación espectrofotométrica del contenido de antocianinas en el colorante obtenido. Con la finalidad de detectar el efecto degradativo por calor, y con esto determinar el producto con mayor poder colorante, un gramo de cada uno de los colorantes obtenidos fue diluido en 50 ml de agua destilada, respectivamente, y se determinó la absorbancia de cada una de las soluciones anteriores a 530 nm, utilizando un espectrofotómetro SMART-SPEC 3000 (Moreno, 2002).

Pruebas de estabilidad del colorante

El colorante escogido de acuerdo con los resultados anteriores fue diluido en agua (0,5 g en 100 ml) y sometido a diferentes condiciones de temperatura, pH y luz. La pérdida de color fue monitoreada por la medida de los espectros de absorción en un rango de 400-600 nm en un espectrofotómetro SMART-SPEC 3000..

pH

En tres tubos de ensayo se colocaron 10 ml de la solución preparada (0,5 g de colorante en 100 ml de agua). Cada tubo se sometió a condiciones diferentes de pH: pH 2 ácido cítrico y pH 8,5 bicarbonato de sodio comparando con el pH inicial 3,5.

Temperatura

En tres tubos de ensayo se depositaron 10 ml de la solución (0,5 g de colorante en 100 ml de agua), respectivamente. Cada tubo se trató con temperaturas diferentes: congelación (-10 °C), refrigeración (4 °C), ambiente (18 °C). Después de tres días bajo estas condiciones se realizó la medida de los espectros de absorción.

Luz

Diez ml del extracto diluido (0,5 g de colorante en 100 ml de agua) se colocaron en dos recipientes de vidrio (translúcido y ámbar), mantenidos a temperatura ambiente (18 °C); el recipiente translucido fue expuesto a luz fluorescente generada por dos tubos paralelos



de 80 w, colocados a una distancia de 1,5 m; la solución contenida en el recipiente ámbar se almacenó en un estante sin la presencia de luz. Después de tres días se realizó la lectura de absorbancia de 400 a 600 nm (Almeida, 2005).

Actividad colorante

Para determinar la cantidad óptima de acción, el colorante obtenido (producto en polvo) fue aplicado en kumis y leche en diferentes concentraciones y se realizó una comparación de efectividad, teniendo como patrón un colorante sintético (Eritrosina) aplicado al mismo producto.

Con el propósito de determinar el tiempo de acción y efectividad, se hizo seguimiento espectrofotométrico a los productos tratados, durante tres semanas, cada tres días. Para esto se realizaron diluciones acuosas de leche y kumis (1 ml en 10 ml de agua), utilizando como blanco el producto sin color diluido.

Rendimiento

Se analizó el rendimiento y la rentabilidad del producto: cantidad de colorante obtenido a partir de 500 g de mora de Castilla.

3. Resultados y discusión

Aislamiento y purificación

En la tabla 2 se muestran las características físicas de los frutos de mora de Castilla (*Rubus glaucus benth*). De acuerdo con la Norma Técnica Colombiana 4106, los frutos utilizados se encuentran próximos a la completa madurez fisiológica, lo cual permite un rendimiento óptimo en la extracción del pigmento, ya que las antocianinas en los frutos aparecen cerca de la maduración (Marcano, 1991; Bautista, 1999; Harborne, 1982). En esta etapa del desarrollo del fruto, el contenido de sólidos solubles no ha alcanzado su valor máximo, parámetro que evita la caramelización de los azúcares en el extracto durante el secado.

Tabla 2. Índice de madurez de la mora de Castilla.

Color	Rojo intenso con algunas drupillas de color morado
% Ác. málico	2,59%
S.S.	6,5
Índice madurez	2,5

Extracción

A partir de 1858,246 gramos de mora de Castilla (*Rubus glaucus benth*), se obtuvieron 580,499 gramos de extracto crudo, es decir, un rendimiento de 31,32%. Esta técnica evitó la caramelización de los azúcares y facilitó la concentración del extracto (Markakis, 1982), mejorando así su respuesta frente al secado, debido al bajo contenido de sólidos solubles, 6,5%. De igual manera, presentó un color atractivo rojo-violeta.

Identificación y cuantificación

Cromatografía en capa delgada. El cromatograma obtenido revela la existencia de compuestos coloreados en el extracto, evidenciándose por la aparición de la mancha superior color violeta (foto 1) que pudo observarse sin el uso de agentes reveladores; de acuerdo con la clasificación por color (Valencia, 1995), esta mancha cromatográfica corresponde a las antocianinas, flavonoides responsables de los colores de flores y frutas, entre las cuales se encuentra la mora de Castilla *Rubus glaucus benth* (Bautista, 1999; Xueming, 2004).



Foto 1. Cromatografía en capa delgada del extracto crudo de mora de Castilla- Carmoisina C I 14720 (colorante comercial).

Debido a la aparición de una segunda mancha naranja oscuro, en la parte inferior del cromatograma, fue necesaria la separación del pigmento a través de una cromatografía preparativa.

- **Cromatografía en capa delgada preparativa**

La cromatografía preparativa permitió la separación efectiva de los componentes de la muestra y la obtención del pigmento de interés para su posterior identificación.

A partir de los 2,1 g de muestra sembrada se obtuvieron 0,13 g de pigmento seco purificado, con un rendimiento de 6,19%.

Cromatografía en capa delgada

Con la fracción purificada se realizó cromatografía en capa delgada, para comprobar la efectividad de la separación.

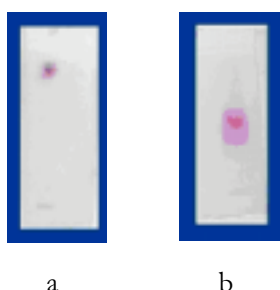


Foto 2: Cromatografía en capa delgada fracción purificada (a. Sílica Gel 60. b. Rp 18).

Los cromatofolios expuestos en la foto 2 muestran la existencia de un único metabolito en la fracción, que debido a la coloración presentada probablemente pertenece a las antocianinas de acuerdo con la relación que existe entre el color de la mancha y la estructura del flavonoide (Lock, 1988).

Cuantificación espectrofotométrica

Se encontró que el extracto metanólico de mora de Castilla presenta un contenido de antocianinas de 1,478 g/kg de pulpa; reportado como cianidina-3-glucósido (fig. 1), que según estudios realizados por Xueming Liu, en 2004, es la antocianina mayoritaria en mora.

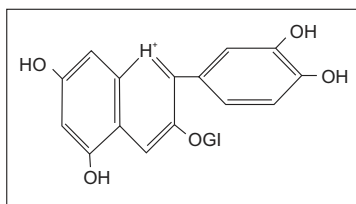


Figura 1. Estructura de cianidina-3-glucósido.

El contenido de antocianinas totales encontrado en el extracto de mora de Castilla (*Rubus glaucus benth*), 1,478 g/kg cianidina-3-glucósido, fue superior, comparado con estudios realizados en Suramérica, que reportan valores de 1,10 g/Kg (Moreno, 2002) y valores inferiores en 43 clones de *Rubus glaucus* en Venezuela (Torre, 1977), así mismo, Deithon, en 2000, analizó 18 cultivares y encontró que *Rubus niveus* es la especie con mayor contenido de antocianinas (1,18 g/kg).

El valor de antocianinas determinado en este estudio es competitivo frente a moras evaluadas en 31 cultivares en China (Xueming, 2004), de los cuales el 70% presenta

valores inferiores a 1,478 g/kg y solo el 30% presenta valores similares al contenido de antocianinas del extracto de mora de Castilla.

Estas variaciones en el contenido total de antocianinas en frutos de mora se deben al clima, la altura, el área de producción y la especie que se trabaje.

Los resultados obtenidos permiten inferir que este extracto presenta una importante capacidad colorante y antioxidante (Pérez, 2003).

Bioensayo con *Artemia Salina*

Para la determinación de la dosis letal 50 (DL₅₀) es necesario el análisis de los datos obtenidos a través de la siguiente ecuación del método probitt:

$$* \text{Log DL}_{50} = \text{Log X}_1 + 50 \frac{Y_2 - Y_1}{Y_2 - Y_1} [\log (X_2) - \log (X_1)]$$

$$X_1 = [\text{inhibición}] Y_1 > 50\%$$

$$X_2 = [\text{inhibición}] Y_2 < 50\%$$

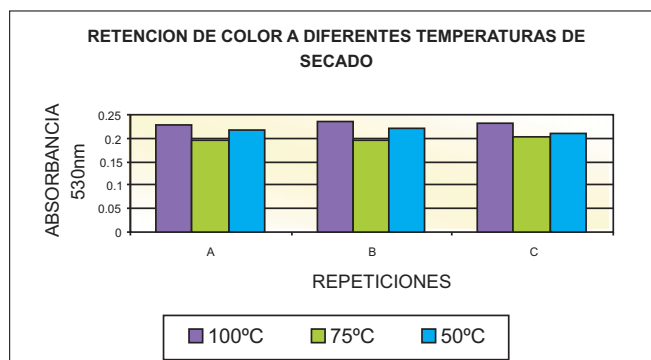
$$\text{Log DL}_{50} = 2,34 \mu\text{g/ml}$$

$$\text{DL}_{50} = 223,6 \mu\text{g/ml}$$

La respuesta biológica de *Artemia salina* frente al extracto metanólico de mora de Castilla (*Rubus glaucus benth*) presentó valores con los cuales se determinó la DL₅₀: 223,6 µg/ml, que lo clasifican como MODERADAMENTE TÓXICO (500-100 µg/ml), según CYTED, lo cual indica una actividad biológica preliminar. Estos resultados harían dudar de su uso como aditivos alimentarios; sin embargo, está demostrado que cuando se ingieren, los antocianos son destruidos en parte por la flora intestinal. Los absorbidos se eliminan en la orina y, fundamentalmente, en la bilis (Cubero, 2002). Esta calificación toxicológica se debe al efecto antioxidante de las antocianinas, demostrado en estudios anteriores (Adukoya, 2004) para la captación de radicales libres en sistemas lipídicos, aunque presentan menor actividad que otros flavonoides (Pokorny, 2001).

Obtención del producto en polvo

En la gráfica 1 se puede observar la retención de color del producto seco en cada una de las temperaturas aplicadas; a pesar de que no hubo una amplia diferencia entre las temperaturas reportadas, la mayor retención se da a 100 °C; sin embargo a una temperatura de 25 °C, durante 24 horas, no se alcanzó una deshidratación total del extracto crudo de mora de Castilla (*Rubus glaucus benth*), por lo cual fue descartada como posible método de secado.



Gráfica 1. Retención de color a diferentes temperaturas de secado

Para la obtención del producto final se eligió la temperatura en la cual se presentó mayor retención de color; de acuerdo con la lectura espectrofotométrica, 100 °C es la temperatura óptima de secado, en la cual se elimina totalmente el agua, no hay caramelización de azúcares y es evidente una coloración morado intenso. Lo anterior confirma lo predicho por Markakis (1982), quien recomienda utilizar altas temperaturas por cortos tiempos de procesamiento para una mejor retención del pigmento.

Sin embargo, el producto seco es altamente higroscópico debido a la presencia de azúcares en las moléculas responsables del color (antocianinas), lo que interfiere en la manipulación del producto, haciendo necesaria una aplicación inmediata o un almacenamiento al vacío.

Es evidente la disminución de la absorción del color del extracto seco frente a la absorción inicial (0,294), debido a la degradación de las antocianinas, inducida por el calor; en donde hay una hidrólisis de la unión glucosídica (posición 3), seguida por una abertura del heterociclo (aglicón) y la consecuente formación de la chalcona (figura 2), que, de acuerdo con las reacciones de equilibrio de las estructuras de antocianinas, favorece su aparición con la introducción de calor, generando la decoloración del pigmento (figura 3) (Markakis, 1982).

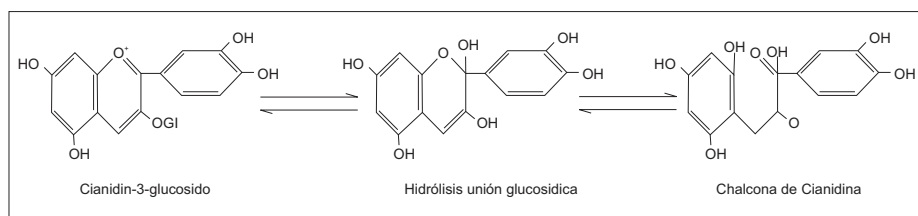


Figura 2. Degradación de antocianinas.

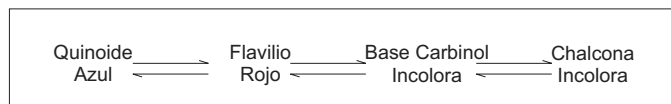


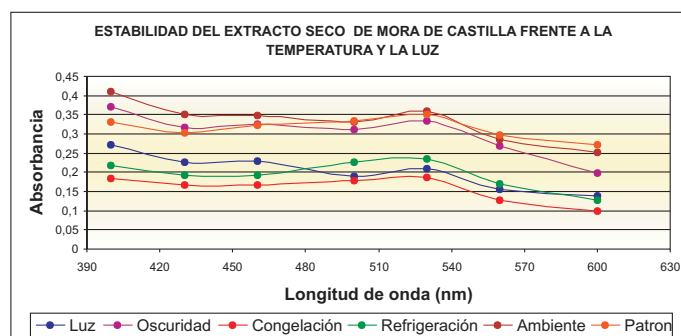
Figura 3. Reacciones de equilibrio de las estructuras de antocianinas.

A partir de 60 ml de extracto crudo se obtuvieron 3,63 g de colorante en polvo. El porcentaje de rendimiento en la obtención del producto en polvo es de 6,05%, teniendo en cuenta que además de pigmento (antocianinas) podrían estar presentes otros compuestos hidrosolubles del fruto como proteínas, carbohidratos, vitaminas y minerales, ya que el secado se realizó al extracto crudo sin purificar, porque no se puede obtener un producto exclusivamente a partir de las antocianinas debido a su baja concentración en tejidos vegetales, lo que demanda gran cantidad de materia prima. No obstante, los componentes adicionales no interfieren con la funcionalidad del producto obtenido.

Pruebas de estabilidad

Temperatura y luz

La gráfica 2 muestra los espectros de absorción de las soluciones tratadas bajo las diferentes condiciones de temperatura y luz durante tres días, en un rango de 400 a 600 nm, en un equipo SMART-SPEC 3000.



Gráfica 2. Estabilidad del extracto seco de mora de Castilla (*Rubus glaucus benth*) frente a la temperatura y la luz

Se observa un comportamiento similar del espectro, ubicándose el punto máximo de absorción a 530 nm.



La solución, expuesta a temperatura ambiente en completa oscuridad, presentó un aumento de absorbancia, mientras que la absorción a temperaturas de congelación y refrigeración decreció; sin embargo, a temperatura de congelación hubo mayor degradación de color que en refrigeración. En condiciones de oscuridad la solución mostró un aumento en la absorción de la luz visible; por otra parte, frente a la exposición a la luz hubo una disminución de la absorbancia, producto de la fotosensibilidad del pigmento. El aumento en la absorbancia de la solución expuesta a temperatura ambiente y oscuridad puede ser causado por la degradación de las antocianinas y la formación de compuestos poliméricos pardos que absorben luz en la misma longitud de onda (Fennema, 2000). La figura 4 muestra el mecanismo de esta reacción.

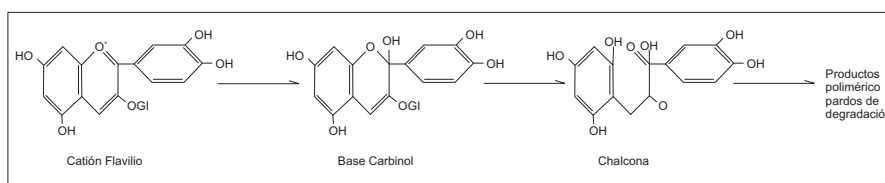
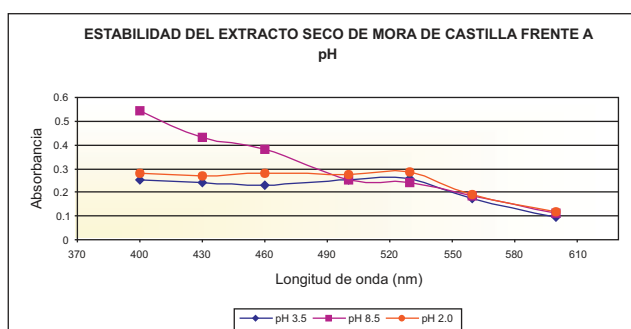


Figura 4. Mecanismo para la degradación de antocianinas.

Por el resultado de las pruebas anteriores se puede inferir que el almacenamiento óptimo de un producto coloreado con antocianinas extraídas de mora de Castilla (*Rubus glaucus benth*), o con presencia de estos pigmentos, resulta ser: temperatura de refrigeración y completa oscuridad, por ser estos parámetros los que afectaron en menor proporción la coloración inicial de la solución.

pH



Gráfica 3. Estabilidad del extracto seco de mora de Castilla frente a pH

La gráfica 3 muestra el comportamiento del colorante diluido, en diferentes condiciones de pH, siendo el pH inicial de 3,5. A pH básico, la solución presentó un cambio de color

a amarillo azulado, lo cual cambia la longitud de máxima absorción en el espectro, por la transformación estructural en solución acuosa dependiente del pH.

La figura 5 muestra la isomerización por cambios de pH en las antocianinas. (Badui, 1986).

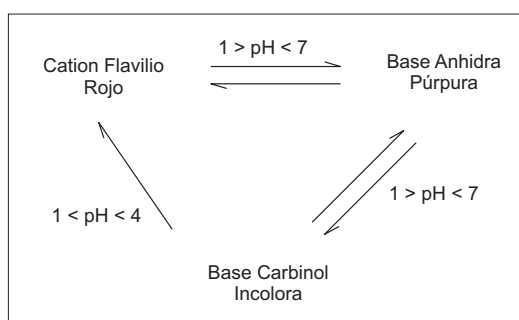


Figura 5. Isomerización de antocianinas por cambios de pH

La disminución del pH aumenta la estabilidad de las antocianinas y con esta la intensidad de color, lo cual es confirmado por el espectro de absorción obtenido. Las antocianinas muestran su fuerza tintórea más intensa aproximadamente a pH 1, cuando las moléculas del pigmento están principalmente en la forma no ionizada (Fennema, 2000).

Actividad colorante

Para determinar la actividad colorante se aplicaron, gradualmente, pequeñas cantidades de colorante seco de mora de Castilla (*Rubus glaucus benth*) a 100 ml de leche descremada Alpina® y 100 ml de kumis descremado Finesse de Alpina®, hasta obtener un color agradable, que diera la apariencia de producto lácteo de mora. La concentración que logró dicha apariencia, para ambos casos, fue de 1 g de colorante seco en 100 ml de producto. El color resultante después de la aplicación comprueba la efectividad del colorante de mora de Castilla (*Rubus glaucus benth*), que generó una apariencia natural y uniforme a los productos de aplicación.

El colorante de mora de Castilla tiene un potencial de tinción menor que el colorante sintético utilizado como referencia E-127, no obstante, este es un comportamiento característico de todos los colorantes naturales.

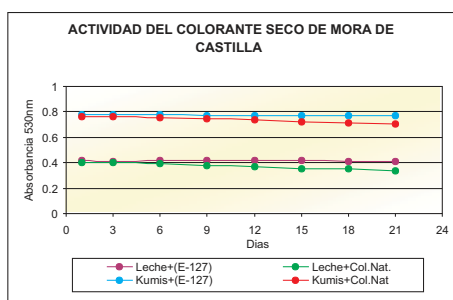
Las características físicas y organolépticas de los productos de aplicación no se vieron alteradas con la adición del colorante natural de mora de Castilla.

Para la determinación del tiempo óptimo de acción se realizaron lecturas



espectrofotométricas cada tres días durante tres semanas, lecturas que fueron comparadas frente a un colorante sintético, Eritrosina (E-127).

En la gráfica 4 se presenta el cambio de absorción durante las tres semanas de estudio del colorante de mora de Castilla (*Rubus glaucus benth*), frente al colorante sintético Eritrosina en los productos de aplicación.



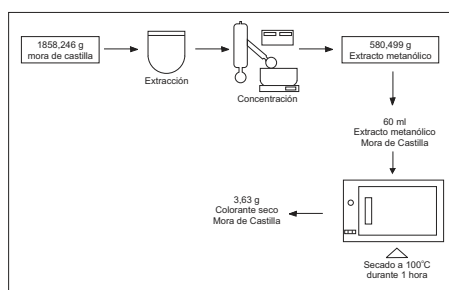
Gráfica 4. Actividad del colorante de mora de Castilla (*Rubus glaucus benth*)

Las curvas de absorción confirman una coloración más intensa en el kumis que en la leche, debido a la mayor concentración en aquel de azúcar, que confiere estabilidad a las antocianinas. Este efecto se cree es debido a la disminución en la actividad de agua (Fennema, 2000).

El seguimiento durante las tres semanas de los productos coloreados muestra un comportamiento estable del colorante sintético, mientras que el colorante de mora de Castilla presenta una leve degradación, principalmente a partir del día doce, sin embargo, dicha degradación no fue visualmente notoria.

Rendimiento

La gráfica 5 muestra las diferentes operaciones a las que fue sometido el fruto de mora de Castilla para la obtención de un colorante natural en polvo.



Gráfica 5. Obtención del colorante natural de mora de Castilla

De acuerdo con el balance de materia y energía, el costo de producción aproximado a partir de 1 kg de mora de Castilla es de \$5.400, con un rendimiento de 1,864%. Este valor representa el doble del precio comercial de 10 g de un colorante sintético en el mercado; los colorantes naturales, por su bajo rendimiento, requieren mayor cantidad de materia prima para su obtención.

4. Conclusiones

- El contenido total de antocianinas para el extracto metanólico de mora de Castilla (*Rubus glaucus benth*) reportado en este estudio permite inferir que esta presenta una importante capacidad colorante frente a moras evaluadas en estudios anteriores en Suramérica.
- De acuerdo con el bioensayo con *Artemia salina*, el extracto metanólico de mora de Castilla (*Rubus glaucus benth*) se encuentra catalogado como moderadamente tóxico, sin embargo, esta prueba indica una actividad biológica preliminar; para obtener resultados más específicos se hace necesario el uso de organismos de metabolismo superior, como ratones y conejos.
- El almacenamiento óptimo de un producto coloreado con antocianinas, o con presencia de estos pigmentos, es con temperatura de refrigeración y completa oscuridad, por ser estos parámetros los que afectaron en menor proporción las antocianinas presentes en el colorante de mora de Castilla (*Rubus glaucus benth*).
- El colorante de mora de Castilla (*Rubus glaucus benth*) presenta una estabilidad elevada en la mayoría de condiciones físicas a las que se puede someter durante un procesamiento de alimentos, y es muy sensible a cambios de pH, principalmente; sin embargo, esta propiedad podría ser utilizada para la aplicación en diferentes productos, dependiendo de la coloración que se desee obtener.
- El colorante natural obtenido tiene un poder de tinción menor que el colorante sintético Eritrosina E-127; esto hace que se necesite más dosis de aplicación y, por tanto, aumente su costo.
- La espectrofotometría es una herramienta útil en el análisis de la cuantificación y la degradación del color, por ser una técnica de alta sensibilidad a pequeños cambios de color.

Agradecimientos

Las autoras agradecen a la Escuela de Ciencias Químicas de la Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, al grupo Química y Tecnología de Alimentos y a todas las personas que colaboraron en el desarrollo de este proyecto.



Bibliografía

- ADUKOYA; Olukemi, A. y Olukemi, O. (2004): *Hibiscus sabdarifa and sorghum bicolor as natural colorants*. Nigeria: Journal of Environmental, agricultural and food chemistry.
- ALMEIDA, E; Aproxelas, V. y Da Silva, D. (2005): "The effects of light and freezing temperature upon the stability of purple Surinam cherry's anthocyanins". *Revista Ciencia y Tecnología de Alimentos* 25(1), Brasil.
- BADUI, Salvador (1986): *Química de los alimentos*. México: Alhambra Ltda. Universidad Autónoma de México.
- BAUTISTA, D. y Hernández, R. (1999): "Crecimiento y cambios bioquímicos durante el proceso de maduración de la mora (*Rubus glaucus benth*)". *Revista Agronomía Tropical* 27(2), Venezuela.
- CUBERO, Nubia; Monferrer, Albert y Villalta, Jordi (2002): *Aditivos alimentarios*. Madrid: Mundi-Prensa, pp. 21-49.
- DEVIA, J, y Saldarriaga, D. (2005): "Proceso para obtener un colorante a partir de la semilla de aguacate". *Revista Universidad EAFTT* 41(137), Medellín.
- DOMÍNGUEZ, Xorge (1988): *Métodos de investigación fitoquímica*. México D.F.: Limusa.
- FENNEMA, Owen (2000): *Química de los alimentos*. Zaragoza: Acribia, pp. 807-820.
- GOMARA, F; Sato, Meo y Pontarolo, L. (2004): "Desarrollo y validación de un método espectrofotométrico para cuantificación de ácido Kójico". *Ars Pharm.* 45(2), Brasil.
- HARBORNE and Mabry (1982): *The flavonoids advances in research*. London: Chapman and Hall, pp. 135-175.
- INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMAS TÉCNICAS Y CERTIFICACIÓN (1997): *Frutas frescas: mora de Castilla*. Bogotá: ICONTEC, pp. 4-6, 8-9 (NTC 4106).
- LOCK DE UGAZ, Olga (1988): *Investigación fitoquímica, métodos en el estudio de productos naturales*. Lima: Fondo Editorial, pp. 91-111.
- MARCANO DE, Deanna y Hasegawa, Masahisa (1991): *Fitoquímica orgánica*. S./.: Litopar, pp. 105-111.
- MARKAKIS, Pericles (1982): *Antocyanins as Food Colours*. USA: Academic Press, pp. 1-7, 163-175, 181-204.
- MARTÍNEZ, Clemente y Beltrán, Maritza (1999): *Estudio fitotoxicológico preliminar de 10 especies vegetales utilizadas en medicina natural*. Bogotá: Tesis Química Farmacéutica, Universidad Nacional de Colombia.
- MORENO, Mario; Viloría, Alfredo y López, Eliécer (2002): *Estabilidad de las antocianinas en jugos pasteurizados de mora *Rubus glaucus benth**. Venezuela: Laboratorio de biomoléculas. Universidad Simón Rodríguez.
- NAGEM, T. y Toledo de Oliviera (2000): *Propiedades biológicas de los tintes naturales*. Brasil: Universidad Federal de Vicosa.
- PÉREZ, Gilberto (2003): "Los flavonoides: antioxidantes o prooxidantes". *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas*, 22(1), La Habana.
- POKORNY, Jon et al. (2001): *Antioxidantes de los alimentos, aplicaciones prácticas*. Zaragoza: Acribia.
- TORRE, L. y Barritt, B. (1977): "Quantitative Evaluation of *Rubus* Fruit Anthocyanins Pigments". *Journal Food Science*, 42.
- VALENCIA ORTIZ, Ciria (1995): *Fundamentos de fitoquímica*. México D.F.: Trillas, pp. 127-145.
- XUEMING, L. et al. (2004): "Quantification and purification of mulberry anthocyanins with macroporous resins". *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 5, pp. 326-331, China.