

Vigilancia Tecnológica: Metodologías asociadas a la extracción de colorantes naturales desde subproductos de gulupa y aguacate Hass

Laura María Muñoz Echeverri

TecnoParque nodo Rionegro, Immunoze@gmail.com

Laura Cristina Rojas Bedoya

TecnoParque nodo Rionegro, laurarojasb22@gmail.com

Resumen

Los subproductos de las agroindustrias de gulupa y aguacate se presentan como materias primas promisorias de pigmentos o colorantes naturales, ahora apetecidos por diversas industrias. Con el fin de identificar en el estado de la técnica y la literatura científica, metodologías eficientes para la extracción de estos pigmentos, se realizó un proceso de Vigilancia Tecnológica. Este proceso indicó que, efectivamente, se han evaluado diversas técnicas de extracción, entre las cuales se destaca la extracción por solventes, que además puede ser optimizada con ultrasonido o fluidos supercríticos. Finalmente, se conoció que el tipo de pigmentos más abundantes en subproductos de gulupa y aguacate Hass corresponden a antocianinas (o sus precursores), carotenoides y clorofilas.

Palabras clave: aguacate, gulupa, subproductos, extracción, pigmentos naturales.

1 Introducción

Los pigmentos o colorantes son compuestos de origen natural o sintético ampliamente utilizados en diversas industrias, debido a que realzan propiedades y hacen más llamativos los productos (Guirola, 2010). Aunque los colorantes artificiales han sido los más usados a lo largo de la historia, cada vez son menos deseados debido a que pueden tener efectos nocivos sobre la salud. Lo anterior ha acrecentado los esfuerzos por descubrir nuevas fuentes de pigmentos, destacándose la búsqueda de colorantes de origen natural, teniendo gran potencial para este fin el uso de subproductos de frutas y vegetales (Devia y Saldarriaga, 2005; Dabas et al., 2011).



En el aguacate Hass y la gulupa, frutos de gran importancia para el sector agroindustrial del Oriente Antioqueño, se han encontrado diversos compuestos con valor nutricional y comercial (Zeng *et al.*, 2013; Wang *et al.*, 2010), entre ellos pigmentos como antocianinas (o sus precursores), carotenoides y clorofilas. Además de estar en la pulpa, estos pigmentos se encuentran presentes en cáscaras y semillas, dos subproductos que en la actualidad se manejan como simples residuos (Wang *et al.*, 2010; Asthon *et al.*, 2005; Devia y Saldarriaga, 2005; Mercadante *et al.*, 1998).

Dado el potencial de las semillas de aguacate Hass y las cáscaras de gulupa como materia prima de colorantes naturales, y la creciente demanda de productos libres de colorantes artificiales, se realizó un proceso de Vigilancia Tecnológica, con el fin de hallar y seleccionar desde literatura científica, estado de la técnica (patentes) y noticias tecnológicas, métodos de extracción que conduzcan a la obtención eficiente de los pigmentos o colorantes naturales presentes en estos subproductos. Una vez evaluados los métodos y de lograrse una extracción viable, se podría pensar en la generación, a nivel comercial, de colorantes naturales a partir de subproductos no aprovechados, potenciando a su vez las cadenas productivas del maracuyá morado y el aguacate en Colombia.

2 Metodología

Para la realización de la Vigilancia Tecnológica se empleó la metodología InnoViTech (Vigilancia Tecnológica para la Innovación) desarrollada por el TecnoParque nodo Rionegro. Esta metodología está concebida como un proceso cíclico, compuesto por diferentes fases, que conlleva a la toma de decisiones. A continuación, se describen las fases:

- a) **Identificación de la necesidad:** debido al potencial de los subproductos de aguacate y gulupa como fuentes de colorantes, se determinó que la principal necesidad era identificar y apropiar técnicas o procesos reportados en la literatura y estado de la técnica, sobre la extracción de dichos colorantes. Una vez identificados los métodos, evaluar su eficiencia con subproductos de la región y la posibilidad de implementarlos a nivel comercial.

- b) **Definición del factor crítico:** con la necesidad identificada se determinó que el principal factor crítico a vigilar era “Metodologías para la extracción de pigmentos desde semillas y cáscaras de aguacate y cáscaras de gulupa”. A partir de este se definieron palabras clave en inglés como: extraction, pigment, colorant, avocado, “*Persea americana*”, “passion fruit”, “*Passiflora edulis* Sim”
- c) **Búsqueda y recolección de la información:** Para esta fase se construyeron ecuaciones de búsqueda con las palabras clave seleccionadas y los operadores booleanos, OR y AND. No se usaron otros restrictores. Se emplearon las bases de datos, software especializado y motores de búsqueda: Google Scholar, Google Patents, Science Direct, Patent Lens, Thomson Innovation y Google respectivamente.
- d) **Análisis:** se seleccionaron los resultados relevantes obtenidos desde las búsquedas y se consignaron en una matriz bibliográfica. Se revisaron los diferentes documentos extrayendo de ellos la información requerida. Se aplicaron herramientas estadísticas para determinar tendencias de publicación en el tiempo, tipos de publicaciones, entre otras.
- e) **Elaboración de informes:** se realizaron dos boletines de vigilancia tecnología y se construyó un documento con protocolos de extracción de pigmentos desde subproductos de gulupa y aguacate, este último complementado con técnicas de análisis y cuantificación, a partir de estos se elaboró el presente informe.
- f) **Difusión:** desde las búsquedas y los informes, el grupo de trabajo seleccionó las técnicas de extracción para ser evaluadas a nivel de laboratorio. Así mismo, se espera con este documento, difundir a la comunidad los hallazgos obtenidos desde el proceso de vigilancia tecnológica.

3 Resultados y discusión

3.1. Hallazgos relevantes

La extracción de metabolitos de valor agregado desde plantas o sustratos vegetales puede realizarse a través de metodologías convencionales como destilación, extracción por solventes (sólido-líquido o líquido-líquido), presión, soxhlet, extracción ácida y/o alcalina, que a su vez son complementadas con procesos más modernos como: fluidos supercríticos, microondas, ultrasonido e hidrólisis enzimática (Prado *et al.*, 2015; Tsao, 2010).

De manera particular, la mayoría de los trabajos asociados a la obtención de pigmentos desde subproductos de aguacate y gulupa, emplean extracciones por solventes (extracciones sólido-líquido), extracción alcalina, soxhlet, ultrasonido y/o fluidos supercríticos (Figura 1). Encontrando como pigmentos más importantes antocianinas, carotenoides y clorofilas (Tablas 1 y 2).

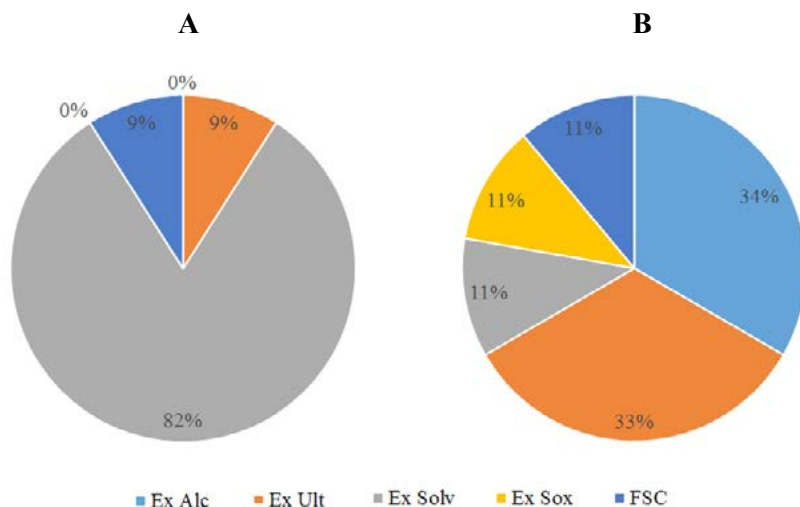


Figura 1. Métodos más usados en la extracción de pigmentos desde subproductos de gulupa y aguacate. **A.** Gulupa. **B.** Aguacate. Nomenclatura: **Ex Alc:** Extracción alcalina; **Ex Ult:** Extracción con ultrasonido; **Ex Solv:** Extracción por solventes; **Ex Sox:** Extracción Soxhlet; **FSC:** Extracción por Fluidos Supercríticos

En la extracción por solventes, de acuerdo al tipo de pigmento se eligen el o los solventes; así para las antocianinas es usual el uso de compuestos polares como agua, etanol o metanol. En muchos casos se utilizan concentraciones pequeñas de ácido clorhídrico, ácido cítrico o ácido acético, esto último debido en parte a la estabilidad de las antocianinas en pH ácidos (Cano, 2011), adicionalmente, la hidrólisis suave generada con este tratamiento facilita la extracción desde las matrices vegetales (Tsao, 2010). Cuando se emplea fluidos supercríticos (CO₂ como solvente) es común adicionar etanol como co-solvente debido a la naturaleza polar de las antocianinas. Por otro lado, en varios trabajos se reporta el uso de ultrasonido, el cual según Guanying (2015) mejora la penetración del solvente en la matriz vegetal y la liberación del producto por el rompimiento de las paredes celulares. Las antocianinas (o sus precursores) por lo general se encuentran en la semilla del aguacate Hass y la cáscara de gulupa.

Para carotenoides y clorofilas, pigmentos presentes en las cáscaras de los dos frutos de interés, se suelen emplear los solventes apolares: éter etílico, éter petróleo, cloroformo, hexano o butilhidroxitolueno, acompañados de acetona (solvente polar aprótico) o metanol (Mercadante *et al.*, 1998; Asthon *et al.*, 2006; Wang *et al.*, 2010; Schoefs *et al.*, 2003). En la extracción por fluidos supercríticos, se encontraron metodologías donde no necesariamente se usaron co-solventes, contrario a lo visto para las antocianinas (Kha *et al.*, 2014). En general, la elección de los compuestos apolares para la extracción de clorofilas y carotenoides se debe a la estructura también apolar de estos dos pigmentos.

Antes del proceso de extracción, la materia prima vegetal se suele congelar, secar usando temperaturas no muy altas (alrededor de 45°C) o procesar hasta formar polvos o pastas (Wong *et al.*, 2014; Dabas *et al.*, 2011; Pruthi *et al.*, 1961).

Una vez extraídos los pigmentos, se acostumbra rotoevaporar mas muestras para concentrar el compuesto de interés o se purifican los pigmentos mediante columnas de silica o resinas porosas (Zeng *et al.*, 2013; Mercadante *et al.*, 1998). Para la caracterización del pigmento (identificación, cuantificación y medición de distintas actividades) se usan diversas técnicas espectrofotométricas y

cromatográficas, de estas últimas la más extendida y precisa es la cromatografía líquida (HPLC) (Tsao, 2010).

Tabla 1. Metodologías de extracción de pigmentos desde subproductos de gulupa

Subproducto	Tipo de extracción	Pigmentos extraídos	Referencia
Cáscaras gulupa	Extracción por solventes	Antocianina	Artículo (Pruthi, 1961)
	Solventes: metanol, HCl, acetato y etil alcohol.	Pelargonidina 3-glucosido	
Gulupa	Antocianinas		Artículo (Kidøy <i>et al.</i> , 1997)
	Extracción por solventes	Cianidina 3-glucosido, cianidina 3-	
	Solventes: metanol, ácido trifluoroacético	(6'-malonilglucosido) y pelargonidina 3-glucosido	
Cáscaras gulupa	Extracción por solventes	Antocianina	Artículo (Diaz <i>et al.</i> , 2006)
	Solventes: etanol, éter etílico, metanol	Malvidina 3-monoglucosido	
Mesocarpio maracuyá	Carotenoides		Artículo (Mercadante et al, 1998)
	Extracción por solventes	Fitoeno, fitoflueno, ζ-caroteno	
	Solventes: acetona, dietil éter y agua.	(carotenoide principal), neurosporeno, β-caroteno, licopeno, prolicopeno, entre otros.	
Cáscaras gulupa	Extracción con ultrasonido	-	Patente
	Solventes: etanol, ácido cítrico, HCl.		(Guanying, 2015)
	Complementada con fluidos supercríticos, CO ₂ como solvente y etanol como co-solvente		

Tabla 2. Metodologías de extracción de pigmentos desde subproductos de aguacate

Subproducto	Tipo de extracción	Pigmentos extraídos	Referencia
Semilla de aguacate	Extracción alcalina Base: hidróxido de sodio	Antocianina	Artículo (Devia y Saldarriaga, 2005)
Cáscaras de aguacate	Extracción por solventes Solventes: butilhidroxitolueno, acetona, dietil éter para <i>clorofilas</i> y <i>carotenoides</i> . Etanol, agua y ácido acético para <i>antocianinas</i>	Carotenoides y clorofilas α -caroteno, β -caroteno, neoxantina, violaxantina, zeaxantina, anteraxantina, clorofila a y b, y feofitinas a y b Antocianina cianidina-3-glucosido	Artículo (Asthon <i>et al.</i> , 2006)
Cáscaras y semillas de Aguacate	Extracción con ultrasonido Solventes: cloroformo, metanol, acetona.	Clorofilas y carotenoides Clorofila a y b, carotenoides totales	Artículo (Wang <i>et al.</i> , 2010)
Semillas de Aguacate	Extracción con ultrasonido Solvente: metanol	Polifenoles Dentro de este grupo se encuentran las antocianinas	Artículo (Dabas <i>et al.</i> , 2011)
Semillas de aguacate	Extracción con ultrasonido Solvente: metanol	-	Artículo (Arlene <i>et al.</i> , 2015)
Cáscaras y semillas de aguacate	Extracción Soxhlet Solventes: hexano, acetato de etilo, etanol. Extracción por fluidos supercríticos Solvente: CO ₂ . Co.-solventes: acetato de etilo y etanol.	Flavonoides y polifenoles Dentro de estos grupos se encuentran las antocianinas	Tesis de Maestría (Polania, 2014)

3.2. Análisis cuantitativo

De acuerdo a los documentos relevantes obtenidos en el proceso de búsqueda, se encontró que un porcentaje importante corresponde a artículos científicos. El número de patentes fue reducido, y las halladas para aguacate presentaron una relación indirecta. Solo se encontró una noticia tecnológica respecto a la gulupa, mientras que para el aguacate se hallaron cuatro, indicando posiblemente que las propiedades colorantes de este último son más conocidas y generalizadas (Figura 2). La categoría otros, incluye capítulos de libros y diversos documentos como trabajos de grado y tesis de maestría, en su mayoría en castellano y desarrollados principalmente en América Latina, incluido Colombia.

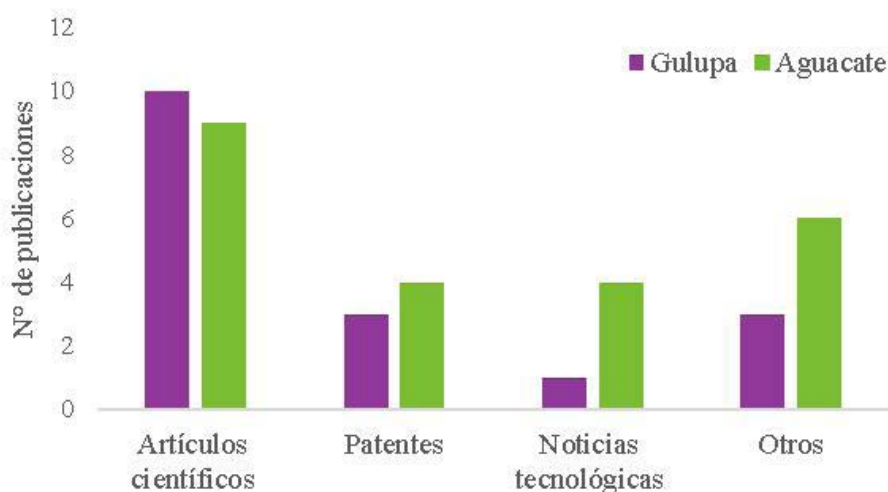


Figura 2. Tipos y número de publicaciones relacionadas con la extracción de pigmentos desde residuos de gulupa y aguacate.

Los países y organizaciones donde se han protegido metodologías de extracción de pigmentos o compuestos relacionados desde gulupa y aguacate, corresponden principalmente a China, Estados Unidos y la Organización Mundial de Propiedad Intelectual (OMPI).

La publicación de documentos con metodologías para la extracción de pigmentos desde gulupa comenzó a mediados del siglo XX, con tres publicaciones entre

1958 y 1963 (Figura 3). Se dejó de publicar por cerca de 30 años, retomando en 1997, y aumentando en los últimos cuatro años. Para el aguacate, las publicaciones comenzaron en los años ochenta, y al igual que la gulupa aumentaron en los años recientes. Estas tendencias podrían estar mostrando hasta cierto punto, la importancia que han tomado estos cultivos, y el interés por darles un aprovechamiento integral a través del uso de los subproductos. Así mismo podría estar reflejando la necesidad de encontrar nuevas materias primas de pigmentos naturales.

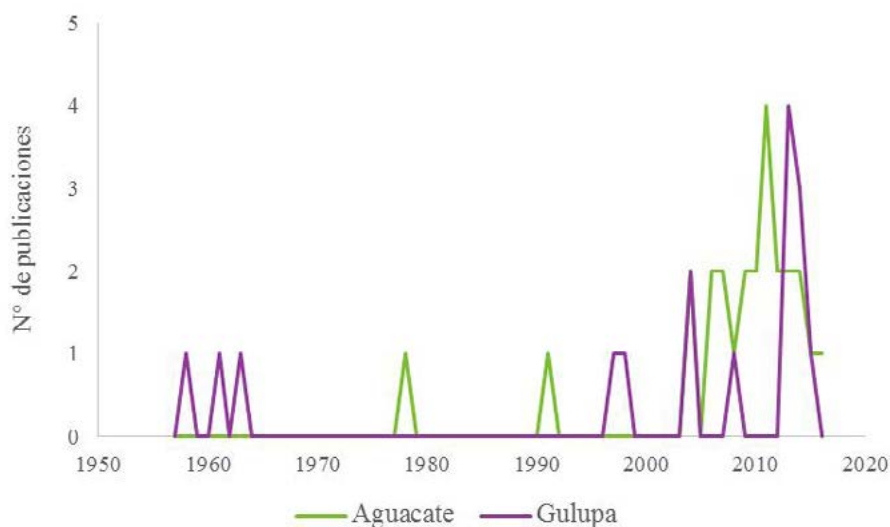


Figura 3. Tendencia anual en la publicación de documentos científicos y técnicos relacionados con la extracción de pigmentos desde subproductos de gulupa y aguacate.

4 Conclusiones y recomendaciones

Las agroindustrias del aguacate y la gulupa además de producir frutos apetecidos en el ámbito internacional y posicionados en el sector agrícola colombiano, generan subproductos ricos en compuestos de alto valor, como colorantes o pigmentos naturales.

Dependiendo del tipo de residuo y de la maduración del mismo se pueden

obtener determinados pigmentos o colorantes. En las semillas de aguacate Hass y cáscaras de gulupa es común encontrar antocianinas (o sus precursores), mientras en las cáscaras de aguacate Hass adicionalmente se han identificado carotenoides y clorofilas.

Para la extracción de los pigmentos han sido desarrolladas y evaluadas diferentes metodologías, de las cuales la más extendida es la extracción por solventes. Las antocianinas, por tratarse de colorantes polares, se extraen fácilmente a través de solventes también polares. Los carotenoides y clorofilas requieren de procesos más extensos en los cuales es reiterativo el uso de dimetil éter y acetona.

Algunos investigadores han optimizado la extracción de los pigmentos implementando técnicas como ultrasonido y extracción por fluidos supercríticos. Adicionalmente para la extracción desde semilla de aguacate es usual la extracción alcalina.

En términos generales se puede afirmar que es posible dar un valor agregado a los subproductos del aguacate y la gulupa, tras su utilización como materia prima de colorantes o pigmentos. Es necesario, sin embargo, determinar entre las metodologías existentes la más adecuada para el tratamiento de los subproductos que se producen en el Oriente Antioqueño.

Agradecimientos

Al SENA CIAA, el programa SENNOVA y a TecnoParque nodo Rionegro por la financiación del proyecto. Al grupo de investigación Interacción Genotipo Ambiente y Calidad de los Alimentos, por el apoyo y acompañamiento.

Referencias

Arlene, A. A., Prima, K. A., Utama, L., & Anggraini, S. A. (2015). The Preliminary Study of the Dye Extraction from the Avocado Seed Using Ultrasonic Assisted Extraction. *Procedia Chemistry*, 16, 334–340. <http://doi.org/10.1016/j.proche.2015.12.061>

- Asthon, O.B., Wong, M., McGhie, T.K., Vather, R., Wang, Y., Jackman, C.R., Ramankutty, P., & Wolf, B.A. (2005). Pigments in Avocado Tissue and Oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 54, 10151-10158
- Cano, L.A. (2011). Extracción y uso de tres pigmentos naturales a partir de tomate de árbol (*Solanum betaceum* Cav.), mortiño (*Vaccinium myrtillus* L.) y mora de castilla (*Rubus glaucus*) como alternativa colorante natural para alimentos. [Trabajo de grado]. Escuela Politécnica Del Ejército. Sangolquí
- Dabas, D., Elias, R. J., Lambert, J. D., & Ziegler, G. R. (2011). A Colored Avocado Seed Extract as a Potential Natural Colorant. *Journal of Food Science*, 76(9), 1335–1341. <http://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2011.02415.x>
- Devia, J.E., & Saldarriaga, D.F. 2005. Proceso para obtener colorante a partir de la semilla de aguacate. *REVISTA Universidad EAFIT*, 41 (137), 36-43.
- Díaz, L. S., Padilla, C., Sepúlveda, C. (2006). Identificación del Principal Pigmento Presente en la Cáscara del Maracuyá Púrpura (*Passiflora edulis*). *Información Tecnológica*, 17(6), 75–84. <http://doi.org/10.4067/S0718-07642006000600013>
- Guanying, Z. (2015). Passion fruit extraction method Pigment. CN103952012 (CO9B 61/00; CO9B 67/54). 14 Oct 2015. Appl 201410179090 30 April 2014. 5p
- Guirola, C., (2010). “Tintes naturales: su uso en Mesoamérica desde la época prehispánica”, FLAAR, Mesoamérica.
- Kha, T.C., Phan-Tai, H., Nguyen, M.H. (2014). Effects of pre-treatments on the yield and carotenoid content of Gac oil using supercritical carbon dioxide extraction. *Journal of Food Engineering* 120, 44–49
- Kidøy, L., Nygard, A.M., Andersen, O.M., Pedersen, A.T., Aksnes, D.W., Kiremire, B.T. (1997). Anthocyanins in Fruits of *Passiflora edulis* and *P. suberosa*. *Journal of Food Composition and Analysis*, 54, 49–54. [http://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)84657-9](http://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)84657-9)
- Mercadante, A.Z., Britton, G., Rodríguez, D.B. (1998). Carotenoids from yellow passion fruit (*Passiflora edulis*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46, 4102-4106
- Prado, J.M., Vardanega, R., Debien, I.C., Almeida, M.A., Gerschenson, L.N., Sowbhagya, H.B., Chemat, S. (2015). Conventional extraction.

En Galanakis, C.M. Food Waste Recovery Processing Technologies and Industrial Techniques (pp. 127-148). United States of America. Elsevier Inc.

Polania, B.W. (2014). Actividad antioxidante de los residuos del aguacate Hass (*Persea americana* Mill. var Hass) sometidos a extracciones clásicas y a fluidos presurizados. [Tesis de Maestría]. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá

Pruthi, J.S., Susheela, R., Lal, G., (1961). Anthocyanin pigment in passion fruit rind. Journal of Food Science. Volume 26, Issue 4, 385–388

Schoefs, B. (2003). Chlorophyll and carotenoid analysis in food products. A practical case-by-case view. Trends in Analytical Chemistry. 22 (6). Wang, W., Bostic, T. R., & Gu, L. (2010). Antioxidant capacities, procyanidins and pigments in avocados of different strains and cultivars. Food Chemistry, 122(4), 1193–1198. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.03.114>

Tsao, R. (2010). Chemistry and Biochemistry of Dietary Polyphenols. *Nutrients* 2010, 2, 1231-1246; doi:10.3390/nu2121231

Wang, W., Bostic, T. R., & Gu, L. (2010). Antioxidant capacities, procyanidins and pigments in avocados of different strains and cultivars. Food Chemistry, 122(4), 1193–1198. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.03.114>

Wong, Y.S., Sia, C.M., Khoo, H.E., Ang, Y.K., Chang, S.K., Yim, H.S. (2014). Influence of extraction conditions on antioxidant properties of passion fruit (*Passiflora edulis*) peel. Acta Scientiarum Polonorum, Technologia Alimentaria. 13. 257-265.

Zeng, S., Bin, P., Baodong, Z., Fang, D., Jie, C. (2013). Extracting method of passion flower fruit pigment. CN102757664B. (C09B 61/00). 13 nov 2013. Appl 201210226177 3 jun 2012. 6p