

ESTRATEGIAS PARA LA ESTABILIZACION ESTRUCTURAL DE LOS PIGMENTOS ANTOCIANICOS

Julia Rodrigo, Elvecia Pérez, Gisela Fabiani, Alfredo Salguero, Héctor. Boggetti

Instituto de Ciencias Químicas. Facultad de Agronomía y Agroindustrias.
Universidad Nacional de Santiago del Estero
boggetti@unse.edu.ar

INTRODUCCION

El color es una característica sensorial importante, debido a que el consumidor juzga los alimentos principalmente por su apariencia.

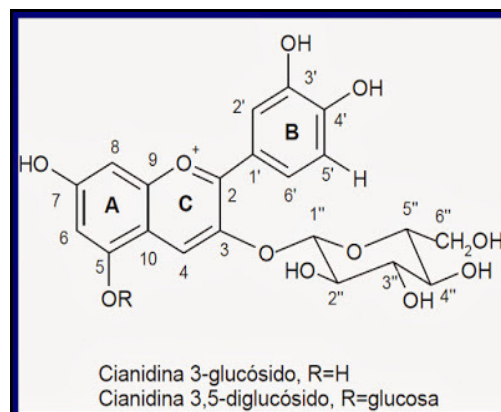
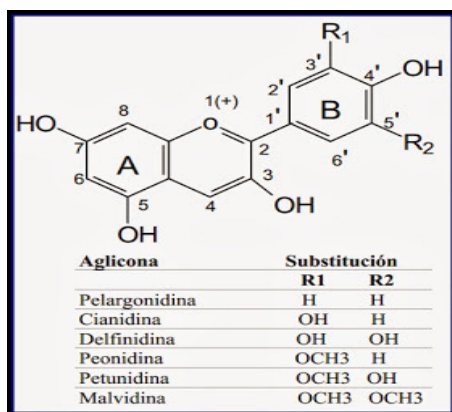
La utilización de colorantes naturales se ha incrementado ante la potencial toxicidad de los colorantes sintéticos existiendo como fuentes para el color rojo: antocianinas, betalaínas y ácido carmínico entre otros.

Las antocianinas, se encuentran principalmente en frutas y flores. Son colorantes naturales que adicionalmente presentan efectos beneficiosos sobre la salud porque reducen el riesgo de enfermedad coronaria, cáncer y accidentes cerebrovasculares.

Sin embargo, estos colorantes presentan baja estabilidad a la luz, a los cambios de pH, a la temperatura de almacenamiento y a la presencia del oxígeno, de enzimas, de ácido ascórbico, etc. De todos modos, existen factores que pueden activar mecanismos de estabilización por copigmentación intra e intermolecular o por autoasociación.

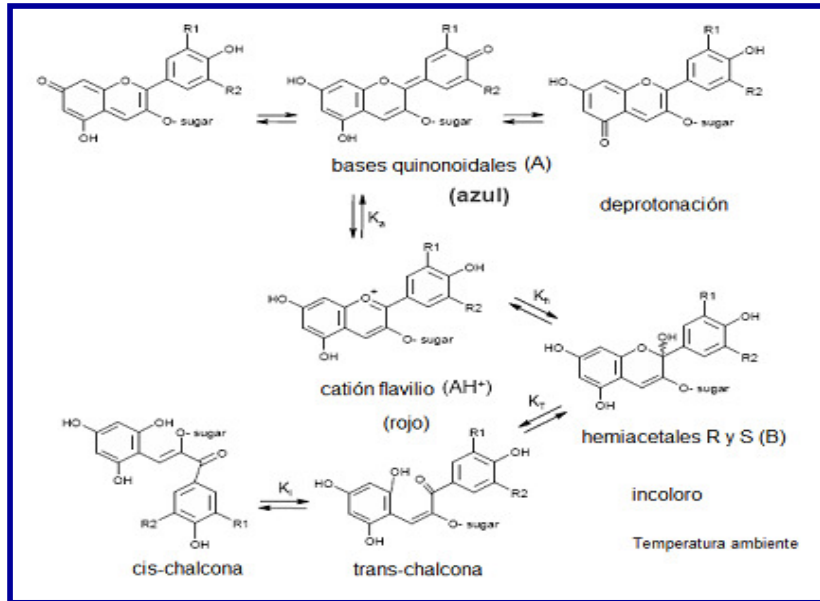
Las antocianinas, son glicósidos polihidroxi y polimetoxiderivados del catión 2-fenilbenzopirilio o catión flavilio (aglicona)

Se conocen más de 20 agliconas siendo seis las más importantes como colorantes de alimentos: pelargonidín (Pg), cianidín (Cn); peonidín (Pn), delphinidín (Df), malvidín (Mv) y petunidín (Pt).



El color del pigmento depende del tipo y número de azúcares unidos al catión flavilio, de su concentración, del pH, de la temperatura, etc. Los azúcares más comunes son: glucosa, ramnosa, galactosa, arabinosa y xilosa. Los di y trisacáridos más frecuentes son: rutinosa, soforosa, sambubiosa y glucorutinosa. Pueden estar esterificados por grupos acilo aromáticos o con ácidos dicarboxílicos.

La glicosilación confiere solubilidad y estabilidad a los pigmentos. Los cambios de pH inducen la formación de estructuras en equilibrio como se muestra en el siguiente esquema.



El equilibrio de distribución de estas formas es una función del pH y se ha demostrado su existencia por medio de técnicas cinéticas, termodinámicas y espectroscópicas. Las cantidades relativas de catión, formas quinonoidales, pseudobases y chalconas varían con el pH y la estructura de la antocianina.

La intensidad y la estabilidad de su color depende de la naturaleza y el número de azúcares unidos al catión flavilio, de la estructura y número de residuos acilo unidos a la porción glicosídica y de su sitio de enlace. El matiz del color depende del número y posición de grupos hidroxilo y metoxilo en el ión flavilio.

Si aumenta el número de hidroxilos en el anillo B el color de las antocianinas cambia del rojo naranja al azul. El incremento de hidroxilos en el anillo B de la aglicona, la estabiliza.

La tendencia se invierte en las formas glicosiladas. La glicosilación afecta a la estabilidad del pigmento. Las antocianinas son más estables y solubles en solución acuosa, que sus agliconas. El incremento de grupos acilantes favorece la estabilidad del pigmento.

Las antocianinas que contienen grupos acilos aromáticos son más estables que los pigmentos no acilados que se decoloran rápidamente por hidratación del núcleo pirilio.

Las características electrónicas y estructurales de las formas coloreadas de las antocianinas - cromóforos planares con deslocalización electrónica extendida - les permiten formar complejos moleculares no-covalentes.

Autoasociación:

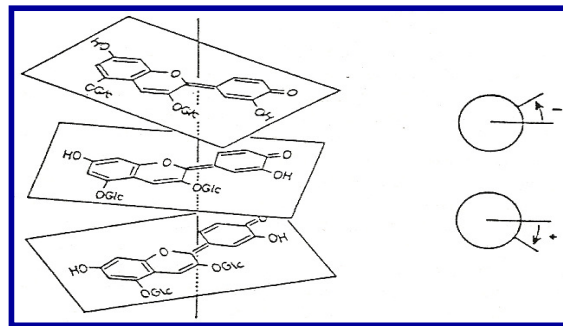
El incremento de la concentración de antocianinas en tejidos vegetales, intensifica su color y puede desarrollar estabilidad por autoasociación.

Esto se refleja en la desviación positiva de la Ley de Lambert y Beer presentada por ejemplo para el Cianidín-3,5-diglucósido a pH 3,1 en donde se observa un desplazamiento hipsocrómico con el aumento de la concentración debido a la formación de agregados quirales.

Timberlake (1980) y Hoshino y col. (1982) obtuvieron una evidencia de la autoasociación de antocianinas en forma de base quinonoidal en solución neutra, aplicando el Dicroísmo Circular. La dilución o el calentamiento causan el cambio de la forma asociada a la forma no asociada. Dos o más cromóforos de antocianina se apilan verticalmente en forma de una hélice dextrógira.

La fuerza impulsora para el apilamiento es atribuida a interacciones hidrofóbicas entre los núcleos aromáticos más que a enlaces por puente hidrógeno. El agregado de urea o de dimetilsulfóxido destruye este apilamiento disminuyendo la elipticidad molecular. Esto constituye la evidencia de interacciones hidrofóbicas entre las moléculas autoasociadas, y probablemente se debe a que se rompe la estructura del agua alrededor del autoagregado debilitando la autoasociación.

En la conformación helicoidal los cromóforos apilados conforman un centro hidrofóbico y las porciones hidrofílicas de azúcares alrededor de este, hacen al autoagregado hidrosoluble y conducen a la estabilización cinética contra la pérdida del color. Las fuerzas de autoasociación siguen el orden: Malvin = Petunin > Delfín = Peonin > Cianin > Pelargonin.



Copigmentación intermolecular:

Consiste en la formación de complejos coloreados entre antocianinas y flavonoides o compuestos relacionados (copigmento) y genera un efecto hiperacrómico y batocrómico fundado en colores que varían del púrpura a diferentes tonos de azul.

La copigmentación, es la interacción electrónica planar en los grupos cromóforos de las antocianinas. Los cambios producidos por el copigmento en la región visible del espectro del pigmento se correlacionan con la transformación de la antocianina en agua. El ion flavilio es casi planar y muestra deslocalización electrónica que se extiende por todo el grupo cromóforo. La forma hemiacetálica presenta dos anillos aromáticos sin conjugar y un anillo central no planar porque contiene un carbono tetraédrico. Por lo que el ión flavilio es la única especie capaz de copigmentar por su forma planar. La copigmentación induce un efecto hiperacrómico.

Por la baja estabilidad de origen entrópico de la copigmentación, se requieren grandes concentraciones de copigmento. Pigmento y copigmento inicialmente son especies independientes. El complejo formado por su asociación es sostenido por la reducción simultánea de los grados de libertad del sistema.

La copigmentación es común en la naturaleza. Flavonoides y polifenoles incoloros se asocian con las antocianinas en las vacuolas celulares de los órganos coloreados de plantas superiores. También se produce en jugos de frutas y en vinos.

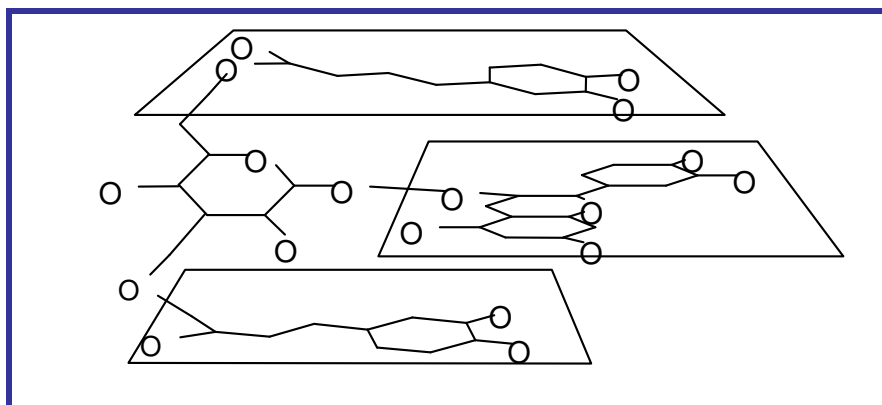
La copigmentación se genera tanto con la forma flavilio como con la base quinoidal y el efecto se incrementa con el grado de glicosilación y de mutilación.

El incremento de la temperatura, reduce el efecto de intensificación del color por copigmentación. La eficiencia de la copigmentación intermolecular se incrementa con el aumento de la concentración de antocianina y de la relación [copigmento] / [antocianina].

Copigmentación intramolecular

Designa a la estabilización del color de la antocianina, determinada por la acilación de la molécula de pigmento que contiene dos o más residuos acilos aromáticos. Si bien la estabilidad del color aumenta con el número de residuos malonilo y acilos, también influye la estructura de la aglicona, naturaleza, número y posición del enlace de los grupos acilo en el azúcar y la estructura del mismo y su localización. Los residuos glucosilos actúan como espaciadores que confieren flexibilidad conformacional al pigmento para que sea posible el pliegue del grupo acilo sobre la aglicona.

El color de las antocianinas diaciladas en solución neutra o débilmente ácida se estabiliza por generación de un apilamiento tipo sándwich determinado por interacciones hidrofóbicas entre los anillos de antocianidinas y los de los grupos acilo. El apilamiento protege de la hidratación en las posiciones del C-2 y del C-4 del anillo pirilio del catión flavilio.



Este modelo ha sido confirmado por medición del Efecto Nuclear Overhauser (NOE) a partir de antocianinas "Heavenly Blue" que determinan una conformación doblada para esta antocianina.

CONCLUSIONES

En la copigmentación intermolecular la función del copigmento es controlar la extensión de la reacción de hidratación del catión flavilio (coloreado) a la seudobase carbinólica incolora. La eficiencia de la copigmentación intermolecular depende de la estructura de la antocianina, de la temperatura de trabajo, de las concentraciones de antocianina y de pigmento utilizadas y también del rango de pH.

Con respecto a la copigmentación intramolecular, es más efectiva que la copigmentación intermolecular probablemente por la fuerza de los enlaces involucrados. La competencia entre los procesos de copigmentación inter e intramoleculares favorece al último ya que presenta una importante ventaja entrópica porque los grupos interactuantes se encuentran en la misma molécula.

BIBLIOGRAFIA

1. Baranac, J.M., N.A. Petranovic, and J.M. Dimitric-Markovic. Spectrophotometric study of anthocyan copigmentation reactions. *J. Agric. Food Chem.* 44:1333-1336 (1996a).
2. Brouillard, R., M-C. Wigand, O. Dangles, and A. Cheminat. pH and solvent effects on the copigmentation of malvin with polyphenols, purine and pyrimidine derivatives. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*:1235-1241 (1991).
- 3..Kong, J., L. Chia, N. Goh, T. Chia & R. Brouillard, Analysis and biological activities of anthocyanins. *Phytochemistry*, 64, 923-933. 2003.
- 4.Torskangerpoll,K. & Andersen, O.M., Colour stability of anthocyanins in aqueous solutions at various pH values. *Food Chemistry* .89, 427-440. 2005.