

Diseño de un proceso experimental para la obtención del pigmento antocianina a partir de la semilla del aguacate Hass (*Persea americana*) para posible aplicación textil.

Huerta Aguilar, Cesar Alberto

2023

<https://hdl.handle.net/20.500.11777/5704>

<http://repositorio.iberopuebla.mx/licencia.pdf>

Obtención de antocianinas de la semilla de aguacate Hass (*Persea americana*) para posible aplicación textil evaluando tres diferentes concentraciones de disolvente.

Amador Rodríguez Luciano Federico (cuarto semestre en Ingeniería Química)¹ Huerta Aguilar Cesar Alberto (cuarto semestre en Ingeniería Química)^{1*}, Salinas Caballero Juan Carlos (tercer semestre en Ingeniería de Negocios)¹, Ramirez Rodriguez Rocío (profesor responsable)¹, Romero de la Vega Gregorio (profesor asesor)¹.

¹Universidad Iberoamericana Puebla, San Andrés Cholula, Puebla, México

Resumen

La industria textil es la segunda más contaminante a nivel global y su principal desecho son los pigmentos sintéticos los cuales son difíciles de eliminar en las plantas tratadoras de agua; por tal motivo es importante encontrar alternativas naturales. Investigaciones previas reportan que la semilla del aguacate Hass contiene pigmentos hidrosolubles (antocianinas); sin embargo, los métodos de extracción reportados son escasos. El propósito de este proyecto fue identificar con que concentración de NaOH se obtiene el mejor rendimiento. La metodología se dividió en dos pasos: a) extracción de las antocianinas y b) identificación del rango del pigmento en el espectrofotómetro. Para la extracción de las antocianinas, la semilla se molió y se puso en el soxhlet en tres diferentes concentraciones de NaOH (0.5, 1.0 y 5.0%), posteriormente se concentró el pigmento en un rotavapor. Para determinar la presencia de antocianinas se en un espectrofotómetro. Se calculó la densidad con el método picnómetro, se realizó el cálculo del rendimiento global del extracto y finalmente, para obtener el extracto en polvo la muestra se liofilizó. La concentración de NaOH al 5.0% p/v es la que presenta mejor rendimiento (57.04%); En cuanto al espectrofotómetro, los picos más altos de abs no son los de las antocianinas siendo estos dentro 200-300 nm, Las densidades aparentes se encuentran dentro del promedio de densidad de las antocianinas (1.5 g/ml). Con base a lo anterior se recomienda probar con otros métodos de extracción, cambiar el disolvente por etanol:agua (80:20) y hacer pruebas de cromatografía en columna.

Palabras clave: Aguacate Hass, Semilla, Pigmento, Antocianinas, Extracción.

***Autor Corresponsal:** 195623@iberopuebla.mx

Introducción

En la industria textil los pigmentos son compuestos sintéticos incoloros, coloreados o fluorescentes. Estos pigmentos se dividen en dos grandes grupos los cuales son cromóforos y auxocromos [1].

Sin embargo, durante la fabricación de estos compuestos la calidad del agua es afectada a través de su descarga en ríos y lagos, ya que aumenta la demanda biológica de oxígeno (DBO₅), son responsables de la emisión de gases de efecto invernadero, generación residuos sólidos y líquidos que contienen metales pesados y otros compuestos tóxicos [2, 3]. Con la finalidad de contrarrestar estos efectos adversos se han generado diversas medidas entre los que destacan el empleo de enzimas para reducir en un 80% la cantidad de residuos generados durante la producción de pigmentos [4]; o emplear la técnica de adsorción para recuperar metales pesados de los residuos de la producción de estos [5], si bien estos métodos son efectivos, solo reducen el daño causado por esta producción, por lo cual en busca de una mejor opción se propone usar pigmentos naturales los cuales se obtienen a partir de fuentes renovables y su producción genera menos residuos, su empleo puede reducir la huella de carbono de los procesos de tintura hasta un 90% [6].

Durante los últimos 10 años, el uso de los colorantes naturales en el ámbito mundial se ha incrementado en forma casi exponencial, la aplicación de colorantes naturales en las industrias del cuero y textil ha vuelto a ser una alternativa debido a su biodegradabilidad y baja toxicidad, estos pueden ser extraídos de una gran variedad de plantas.

El aguacate Hass es uno de los productos más cultivados y exportados en nuestro país, donde se producen alrededor de 20 a 25 toneladas por hectárea [7]. En general, la humedad varía entre el 8% y el 14%, la grasa entre el 1% y el 16%, la fibra entre el 3% y el 7%, las proteínas entre el 3% y el 20%, los carbohidratos entre el 44% y el 80% y las cenizas entre el 2 y el 4%. En [8] han reportado que el hueso del aguacate presenta al menos seis sustancias principales, entre ellas la presencia de flavonoides, taninos, fenoles, entre otras.

Los flavonoides son una familia de compuestos polifenólicos y solubles en agua, su estructura básica consiste en defenilpirano, compuesto de dos anillos fenilo (A y B) unidos mediante un anillo heterocíclico C de pirano.

En función del resto de compuestos que complementan esta estructura, se diferencian seis grupos de flavonoides: flavanos, flavanoles, flavonas, antocianinas, isoflavonas y flavonoles. En el caso de la semilla del aguacate, el tipo de flavonoide mayoritaria son las antocianinas [8], las cuales representan el grupo más importante de pigmentos hidrosolubles en el espectro visible. El espectro de absorción de las antocianinas está entre 490-540 nm [9], por lo que el producto de la extracción deberá tener un pico en ese rango.

Las antocianinas son responsables de la gama de colores que abarcan desde el rojo hasta el azul, se encuentran en la naturaleza principalmente en las flores, frutas y verduras. Actualmente se conocen más de 500 antocianinas diferentes, si bien 90% de ellas provienen de las 6 antocianinas más comunes: cianidina, pelargonidina, delphinidina, malvina y

petunidina, todas ellas derivan de la siguiente estructura básica:

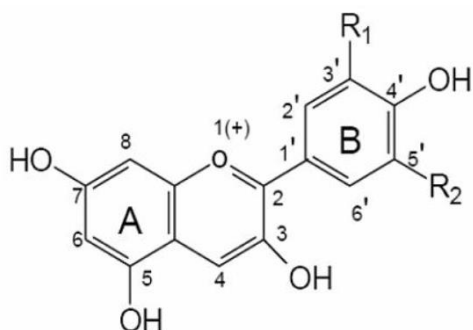


Fig 1. Estructura general de las antocianinas [10].

El color de las antocianinas depende del número y orientación de los grupos hidroxilo y metoxilo de la molécula. Incrementos en la hidroxilación producen desplazamientos hacia tonalidades azules mientras que incrementos en las metoxilaciones producen coloraciones rojas [10].

Tabla 1. Sustituyentes y rango de espectro visible de las antocianinas [10].

Aglicona	Substitución		λ_{max} (nm)
	R1	R2	Espectro visible
Pelargonidina	H	H	494 (naranja)
Cianidina	OH	H	506 (naranja-rojo)
Delfinidina	OH	OH	508 (azul-rojo)
Peonidina	OCH3	H	506 (naranja-rojo)
Petunidina	OCH3	OH	508 (azul-rojo)
Malvidina	OCH3	OCH3	510 (azul-rojo)

Las anteriores investigaciones tienen como objetivo en común demostrar que los colorantes naturales pueden ser una alternativa al uso de colorantes sintéticos en diferentes áreas de la industria. Su extensa aplicación se debe a sus propiedades farmacológicas y terapéuticas, las cuales son usadas en la industria farmacéutica y alimenticia [8]. Sin embargo, en el área de la industria textil existe un escaso aprovechamiento de este pigmento debido a los limitados recursos metodológicos que se han desarrollado hasta la actualidad [11].

A pesar de las ventajas que las antocianinas ofrecen en la industria textil, farmacéutica y alimenticia estas son limitadas en su aplicación debido a su baja estabilidad durante el procesamiento y el almacenamiento. Factores como su misma estructura química, pH, temperatura y presencia de oxígeno determinan la estabilidad del pigmento. Es por ello que el presente proyecto pretende contribuir al aprovechamiento de un recurso natural renovable del cual no se tiene un uso adecuado así diseñando un experimento para la obtención del pigmento Antocianina a partir de la semilla del aguacate Hass para una posible aplicación en la industria textil.

Metodología

Extracción del pigmento

La semilla del aguacate Hass se obtuvo por donaciones de los siguientes restaurantes: “El mestizaje”, “Tortas cuenqueñas” y “La carbonera”.

Se trituraron 60 g de semilla de aguacate Hass [2] en una licuadora Oster. El polvo obtenido se introdujo en el equipo soxhelt con 400 mL de solución de hidróxido de sodio (NaOH) en tres distintas concentraciones: a) 0.5% p/v b) 1.0% p/v c) 5.0% p/v, en las siguientes condiciones: reflujo durante 8 ciclos a 10 ciclos (lavados), entre 6 horas y 8 horas con calentamiento (75°C e incrementar hasta 300°C).

Con la finalidad de concentrar el extracto de antocianinas la muestra se colocó en el rotavapor (rotavapor digital 410 Prendo) en las siguientes condiciones: temperatura constante de 65°C, la presión se disminuyó paulatinamente comenzando en 200 mb hasta llegar a una mínima de 30 mb con un rpm entre 98-136 durante 40 minutos.

Posteriormente se realizó una prueba cualitativa del extracto concentrado, se colocó en el espectrofotómetro (Agilent technologies Cary 60 UV-Vis) para determinar si el producto realmente son antocianinas con las siguientes condiciones: como blanco se utilizó una disolución de NaOH al 5.0%, para el análisis de la muestra y con el fin de no saturar al espectrofotómetro se preparó una disolución de 100 μ L de extracto en 10 mL de NaOH al 5.0% para posteriormente colocarlo en una celda de cuarzo y ejecutar el programa Cary 60 version 5.0.0.999 en un intervalo de 200 nm a 600 nm.

Finalmente, el extracto concentrado y congelado alrededor de 4 horas y 3 horas en el ultracongelador (thermoscientific) almacenado dentro de cajas petri a -85 °C, posteriormente se colocó en el liofilizador (Labconco) en las siguientes condiciones: presión: 0.048 mbar y temperatura de -38°C por un tiempo de 12 hrs para obtener el pigmento en polvo.

Para conocer el rendimiento del extracto obtenido en las tres extracciones se emplearon las siguientes ecuaciones: Eq (1) y Eq (2):

$$\varphi(\text{aparente}) = \frac{\text{masa del extracto global}}{\text{volumen del extracto global}} \quad (1)$$

$$\text{Rendimiento del extracto\%} = \left(\frac{\text{Peso extracto final (g)}}{\text{Peso semilla molida (g)} + \text{Peso del NaOH (g)}} \right) (100\%) \quad (2)$$

Donde se hace uso del método del picnómetro para conocer la densidad aparente y posteriormente poder determinar cuál concentración de hidróxido de sodio (NaOH) presenta mejor rendimiento en la extracción.

Resultados y Discusión

Los resultados de la prueba en el espectrofotómetro arrojaron el pico más alto de absorbancia 4.2480 en la longitud de onda entre 200 nm a 300 nm mientras que el rango de interés de las antocianinas según [9] está entre 490-540 nm y el espectrofotómetro presentó una absorbancia de 0.1707 (Fig 2) esto quiere decir que existen las antocianinas en la muestra de extracto global pero no son el compuesto mayoritario, cabe destacar que solo se utilizó la gráfica del NaOH al 5.0% ya que en las otras concentraciones presentaban los mismos valores.

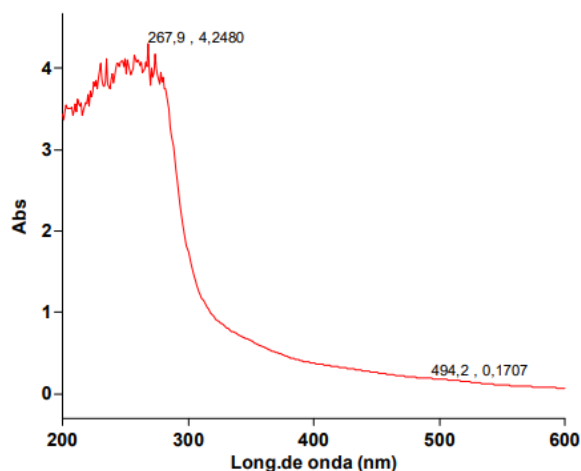


Fig 2. Absorbancia de la muestra de extracto 5.0% (200 nm a 600 nm)

Las densidades aparentes de los tres extractos fueron realizadas por triplicado, son similares y según [19] se encuentran dentro del promedio de densidad de las antocianinas (1.5 g/ml), presentando una desviación estándar no mayor a 0.065 (Tabla 2).

Tabla 2. Datos de densidad aparente de las diferentes soluciones. El intervalo \pm muestra promedio y desviación estándar. $n = 3$.

Concentración	Densidad aparente (g/ ml)
0.5 % NaOH	1.24 \pm 0.0634
1.0 % NaOH	1.17 \pm 0.0081
5.0 % NaOH	1.24 \pm 0.0094

En cuanto al rendimiento del extracto global en las tres disoluciones de NaOH después del rotavapor, se observó que la disolución al 5.0% p/v obtuvo el promedio más alto (Fig. 3).

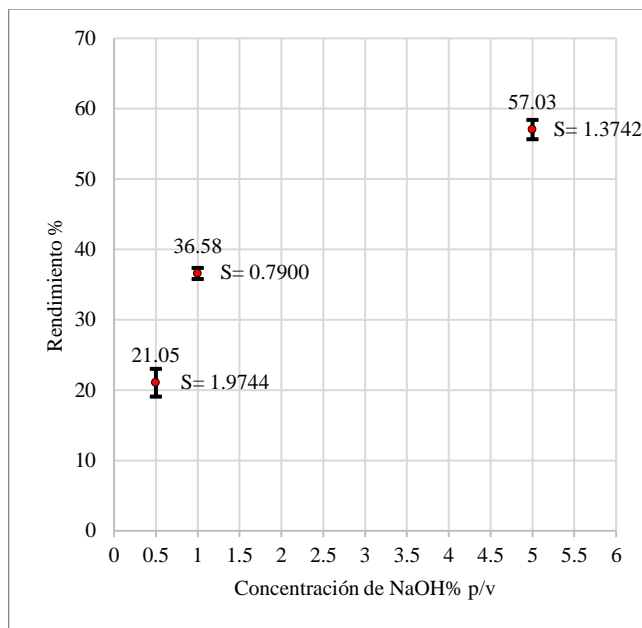


Fig 3. Rendimiento porcentual en relación con la concentración de la disolución de NaOH. La gráfica muestra los promedios y la desviación estándar (S)

La metodología de [12] menciona que la mejor concentración de NaOH es al 0.5% p/v la cual produce discrepancia con los resultados obtenidos en este proyecto, [12] plantea que la mejor relación sólido-disolvente (semilla de aguacate-NaOH) es de 0.05 obteniendo rendimientos del 47.22% mientras que en este proyecto se utilizó una relación 0.15 y se obtuvo un mejor rendimiento.

Conclusiones, perspectivas y recomendaciones

Con base en los resultados obtenidos en el espectrofotómetro se concluye que en efecto se extrajeron antocianinas pero no son el compuesto mayoritario en el extracto global, por ello se recomienda hacer pruebas de cromatografía para determinar la cantidad exacta de antocianinas extraídas así como mejorar el rendimiento cambiando el disolvente NaOH por una mezcla etanol:agua (80:20) para que exista una mayor compatibilidad entre la temperatura de degradación de las antocianinas y la temperatura de ebullición del disolvente. También se recomienda probar otros métodos de extracción como lo son la extracción por maceración, ultrasonido o extractor super crítico.

Referencias

- [1] Rashid, A., Haider, S., & Nawaz, R. (2019). Eco Friendly Dyeing of Cotton Wool Fabrics with Avocado Seed and Peel Extracts. *Journal of Natural Fibers*, 16(1), 1-15. doi: 10.1080/15440478.2017.1417907
- [2] A. Kumar, "Toxicity assessment of organic pigments using *Daphnia magna* and *Vibrio fischeri*", *Environmental Sci. Pollut. Res.*, vol. 23, n. ° 4, 2016, art. n. ° 4.
- [3] R. S. Tanton, Singh, "Ecofriendly and sustainable textile coloration", *Coloration Technol.*, n. ° 130, 2014, art. n. ° 6.
- [4] R. Ravichandran, C. Sundaramoorthy, P. Sathishkumar and T. Palvannan, "Green synthesis of pigments using enzyme biocatalysts," *Green Chemistry*, vol. 19, no. 7, pp. 1694-1708, 2017.
- [5] J. Zhang, Y. Guo, Q. Zhang, Y. Zhao, Y. Guo and C. Li, "Recovery of heavy metals from waste pigment using *Acidithiobacillus ferrooxidans*," *Journal of Hazardous Materials*, vol. 290, pp. 126-132, 2015.

- [6] Liu H. Lu Y. Wu C. Cai J. Zhang Y. Chen J., "Sustainable production of natural pigments from plants", *J. Cleaner Prod.*, n. ° 166, pp. 1246–1255, 2017.
- [7] J. C. Reyes-Alemán, J. Mejía-Carranza, O. R. Monteagudo-Rodríguez, M. E. Valdez-Pérez, J. G. González-Díaz, and M. de la C. Espíndola-Barquera, "Phenology of the 'Hass' avocado in the State of Mexico, Mexico," *Revista Chapingo Serie Horticultura*, vol. 27, no. 2, pp. 113–114, 2021, doi: <https://doi.org/10.5154/r.rchsh.2020.09.020>.
- [8] L. Bachiller Soria, "Obtención de colorante a partir de la semilla de aguacate", Trabajo de grado, Universidad Politécnica de Madrid, Madrid, 2022.
- [9] M. Aguilera-Otíz, M. d. C. Reza-Vargas, R. G. Chew-Madinaveita y J. A. Meza-Velázquez, "PROPIEDADES FUNCIONALES DE LAS ANTOCIANINAS", *BIOtecnia*, vol. 13, n.º 2, p. 16, agosto de 2011. Accedido el 23 de abril de 2023. [En línea]. Disponible: <https://doi.org/10.18633/bt.v13i2.81>
- [10] G. A. GARZÓN, "LAS ANTOCIANINAS COMO COLORANTES NATURALES Y COMPUESTOS BIOACTIVOS: REVISIÓN," *Acta Biológica Colombiana*, vol. 13, no. 3, pp. 27–36, 2023, Accessed: Mar. 14, 2023. [Online]. Available: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-
- [11] J. Magaly, C. Ramos, H. Abraham, and Q. Cardenas, Available: <https://biblioteca farmacia.usac.edu.gt/Tesis/QF1440.pdf548X2008000300002#:~:text=Las%20antocianinas%20son%20pigmentos%20respo nsables,muchas%20frutas%2C%20vegetales%20y%20cereales>.
- [12] J. Devia Pineda, D. Saldarriaga, "Proceso para obtener colorante a partir de semilla del aguacate" *REVISTA Universidad EAFIT* Vol. 41. No 137. 2005. PP. 36-43, 2005
- [13] "Pruebas de compostera industrial". https://www.heredia.go.cr/sites/default/files/pruebas_en_compostera_industrial.pdf.
- [14] Raigoza Montoya Evelin, Rúa Peláez Luis M, Restrepo Ana M, Álzate Luz M "evaluación de la capacidad antimicrobiana de la semilla de aguacate (Persea americana Mill): POTENCIAL APLICACIÓN DE SUBPRODUCTOS." 2016
- [15] "Contaminación generada por colorantes de la industria textil". Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo: UAEH. <https://www.uaeh.edu.mx/scige/boletin/prepa4/n3/e1.html> (accedido el 20 de febrero de 2023).
- [16] "Diferencias entre los colorantes naturales y los artificiales - Farbe Naturals I". *Farbe Naturals I*. <https://farbe.com.mx/diferencias-entre-los-colorantes-naturales-y-los-artificiales/> (accedido el 20 de febrero de 2023).
- [17] "Funcionalidades y Ventajas del Extractor Soxhlet | TECNILAB," *Tecnilab*, Dec. 09, 2020. <https://www.tecnilab.es/soxhlet-automatiko/#:~:text=El%20Soxhlet%20es%20un%20aparato,se%20devuelve%20a%20la%20muestra>. (accessed Mar. 28, 2023).
- [18] Cislalab Admin, "Uso y Funciones del Rotavapor - Cis-Lab Blogs," Centro Integral de Servicio para Laboratorio, nov. 06, 2020. <https://www.cislalab.mx/uso-y-funciones-del-rotavapor/> (accessed Mar. 28, 2023).
- [19] "Colorante Antocianina, Colorante Natural Alimentario E-163 - Flavorix," *FLAVORIX*, Aug. 20, 2019. <https://flavorix.com/producto/colorante-natural-antocianina-e-163/> (accessed May 04, 2023).