

## **OBTENCIÓN DE UN COLORANTE ROSADO LÍQUIDO A PARTIR DE LA MANZANA MALAYA (*SYZYGIUM MALACCENSE* [L.] MERR. ET PERRY) DE USO POTENCIAL EN LA INDUSTRIA ALIMENTARIA**

José A. Arencibia<sup>1\*</sup>, Daliannis Rodríguez<sup>1</sup>, Alicia Casariego<sup>1</sup>, Eva Salas<sup>1</sup> y Mario A. García<sup>2</sup>  
<sup>1</sup>Instituto de Farmacia y Alimentos, Universidad de La Habana. Calle 222 No. 2317, CP 13600, La Habana, Cuba.

<sup>2</sup>Dpto. Ciencias Biológicas, Fac. Ciencias de la Salud. Universidad Técnica de Manabí, Ecuador.  
E-mail: jarencibia1995@gmail.com

Recibido: 09-04-2020 / Revisado: 20-04-2020 / Aceptado: 29-04-2020 / Publicado: 05-05-2020

### **RESUMEN**

Se obtuvo un colorante líquido a partir de pulpa de manzana malaya (*Syzygium malaccense* [L.] Merr. et Perry) rico en antocianinas y polifenoles. Para ello, se optimizó el proceso de extracción hidroalcohólica en función de los rendimientos de extracción de antocianinas y polifenoles totales. Las condiciones óptimas de extracción se correspondieron con 60 % de etanol, 24 h como tiempo de extracción, relación sólido/líquido de 1 g por cada 5 mL y 60 °C. El extracto hidroalcohólico de manzana malaya presentó valores de rendimientos de polifenoles totales (53,7 %) y antocianinas (25,1 %), similares a los estimados mediante la optimización numérica del proceso. El colorante líquido no mostró toxicidad aguda oral con una dosis de 2 g/kg en los animales de experimentación; exhibió un contenido de fenoles totales de 1 667 mg/L y antocianinas de 59 mg/L, con un pH de 2,6.

**Palabras clave:** *Syzygium malaccense*, manzana malaya, extracción hidroalcohólica, antocianinas.

### **ABSTRACT**

**Obtaining a liquid pink dye from the malay apple (*Syzygium malaccense* [L.] Merr. et Perry) of potential use in the food industry**

A liquid dye was obtained from Malay apple pulp (*Syzygium malaccense* [L.] Merr. et Perry) rich in anthocyanins and polyphenols. For this, the process of hydroalcoholic extraction was optimized according to the extraction yields of anthocyanins and total polyphenols. The optimal extraction conditions corresponded with 60% ethanol, 24 h as extraction time, a solid/liquid ratio of 1 g for 5 mL and 60 °C. The hydroalcoholic extract of Malay apple showed yield values of total polyphenols (53.7%) and anthocyanins (25.1%), similar to those estimated by the numerical optimization of the process. The liquid dye showed no acute oral toxicity at a dose of 2 g/kg in the experimental animals; exhibited a content of 1667 mg/L total phenols and 59 mg/L anthocyanins, with a pH of 2.6.

**Keywords:** *Syzygium malaccense*, malay apple, hydroalcoholic extraction, anthocyanins.

---

**\*José A. Arencibia-Sánchez:** Graduado de Licenciatura en Ciencias Alimentarias (2019). Ha participado en proyectos de investigación y eventos nacionales e internacionales. Actualmente se desempeña como profesor adiestrado de las asignaturas Principios de Ingeniería en Alimentos, Conservación de los Alimentos, y Ciencia y Tecnología de Frutas y Hortalizas en el Instituto de Farmacia y Alimentos de la Universidad de La Habana.

### **INTRODUCCIÓN**

Se ha revelado que las plantas producen antocianinas, las cuales son metabolitos secundarios (flavonoides) que pueden incidir prósperamente sobre la salud al disminuir la manifestación de enfermedades (1). Dichos

efectos benéficos han promovido la exploración de especies que puedan ser utilizadas para la extracción de antocianinas y ser empleadas posteriormente en aplicaciones tecnológicas, especialmente como ingrediente en la industria alimentaria (2).

La manzana malaya (*Syzygium malaccense* [L.] Merr. et Perry) es un fruto ovoide, de piel delgada, lisa, cerosa y color rosa-rojo o púrpura; la pulpa es blanca, crujiente o esponjosa, jugosa, de sabor muy suave y dulce (3). Considerando la presencia de compuestos fenólicos y antocianinas en la manzana malaya (4, 5), se optimizó el proceso de extracción hidroalcohólica a partir de pulpa de manzana malaya en función de los rendimientos de extracción de antocianinas y polifenoles, para la posterior obtención de un colorante líquido.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Los frutos de manzana malaya fueron recolectados en mayo del 2017 en Sagua La Grande, Villa Clara y fueron trasladados hacia el Instituto de Farmacia y Alimentos de la Universidad de La Habana (IFAL). Se seleccionaron frutos que presentaran semejantes características morfológicas, luego se separó la pulpa de la semilla empleando un bisturí No. 3 de acero inoxidable. La pulpa y la piel fueron trituradas y homogenizadas con Ultra-Turrax IKA T25.

Se cuantificó el contenido de polifenoles totales (CPT) (6) y se expresó como ácido gálico (AG) en mg/L. El contenido de antocianinas monoméricas (CAM) se determinó según el método de pH diferencial (7) y se expresó como cianidina-3-glucosa en mg/L. Las mediciones se realizaron en un espectrofotómetro UV-VIS (Rayleigh UV-1601, Beijing). Para poder conocer el CPT y el CAM en la fruta, se realizó una transformación (mg/L a mg/100 g) a partir de la densidad del jugo del fruto empleado en la extracción, en ambos casos se expresó en mg/100 g de fruto fresco.

Se empleó el programa Design Expert 8.0.6 (Stat-Ease Inc., Minneapolis, EE.UU.) para el diseño experimental y procesamiento de los extractos hidroalcohólicos de manzana malaya, de forma tal que el extracto escogido exhibiera los mayores rendimientos de extracción de polifenoles totales (RPT) y antocianinas monoméricas (RAM). Se empleó el método de optimización numérica a través de un diseño de superficie respuesta IV Óptimo. Los factores evaluados fueron porcentaje de etanol

(A), tiempo de extracción (B), relación masa/disolvente (C) y temperatura (D), mientras que el RPT y RAM fueron las variables de respuesta. El número total de combinaciones definidas fue 16 corridas, entre las que se incluyeron cuatro réplicas.

Los extractos se obtuvieron por maceración con agitación ocasional, con adición de 0,5 % de ácido cítrico. Al concluir la extracción, las mezclas resultantes se filtraron y se desecharon los residuos sólidos. Los RPT y RAM (%) se calcularon a partir de la relación entre el CPT y CAM presentes en los extractos y el CPT y CAM de la pulpa empleada en la extracción.

El extracto hidroalcohólico optimizado de manzana malaya (EHO) se evaluó en relación al RPT y RCA. Posteriormente fue sometido a un proceso de concentración, para ello el extracto se filtró a vacío (MLW, Mod. 2DSE4, Hamburgo, Alemania) con papel de filtro Whatman cualitativo estándar 2° de filtración rápida y se concentró a presión reducida en un roto-evaporador (IKA RV-10 Digital) a 40 °C. Al extracto obtenido se le determinó el CPT y CAM según las metodologías anteriormente propuestas y los resultados fueron expresados en mg/L. Al extracto se le determinó el porcentaje de sólidos totales por secado en una balanza termogravimétrica MA-40 (Sartorius, Gotinga, Alemania) a 105 °C hasta masa constante. Además, se le realizó la evaluación del potencial tóxico agudo oral en el Centro de Estudios para las Investigaciones y Evaluaciones Biológicas del IFAL (8). También se determinaron el pH (9) (Mod. Basic 20+, Crison, España) y densidad mediante picnómetro de tubo capilar (10). La determinación del color se realizó mediante el método espectrofotométrico según las recomendaciones de la Comisión Internacional de la Iluminación (CIE) (11, 12).

Se realizó un análisis de varianza simple mediante el programa Statistics (ver. 7, 2004, StatSoft. Inc., Tulsa, EE.UU.) y se utilizó la prueba de los rangos múltiples de Duncan para comparar las diferencias entre los RPT y RAM.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El CPT en la manzana malaya fue 370 mg/100 g, superior al reportado (4), donde el CPT en el fruto en estudio fue 270 mg/100 g. El CAM en la manzana malaya fue 353 mg/100 g, superior al informado para

este fruto (116,25 mg/100 g) (5). La variación de los resultados puede ser explicada por posibles interferencias en la matriz o factores extrínsecos (13).

La Tabla 1 muestra el diseño experimental y el resultado para cada variable. Los mejores ajustes resultaron para los modelos lineal y cuadrático para los RPT y RAM, respectivamente, los que resultaron significativos para 95 % de confianza. Los valores de R<sup>2</sup> revelaron que los modelos ajustados explican el 63,7 y 99,1 % de la variabilidad de los RPT y RAM, respectivamente.

La Tabla 2 presenta el análisis de varianza y significación de los coeficientes estimados para cada modelo en función de las variables de respuesta. El grado de ajuste de los datos experimentales a los modelos sugeridos se evaluó mediante los parámetros F, p, R<sup>2</sup> y falta de ajuste.

La temperatura fue el factor que afectó significativamente los RPT, no siendo así para el RAM pues en este caso, los factores que afectaron significativamente fueron:

porcentaje de etanol, relación masa/disolvente y las interacciones entre A y B, A y C, A y D, B y C, B y D, C y D, además de influir el término B<sup>2</sup>.

Las ecuaciones de los modelos para los RPT y RAM se muestran a continuación:

$$RPT = 42,52 - 3,47A - 0,11B + 1,78C + 8,28D$$

$$RAM = 16,74 + 1,38A - 0,20B + 3,32C - 0,61D - 2,60AB - 1,79AC - 1,89AD + 1,47BC - 1,80BD - 1,49CD + 0,24A^2 + 2,22B^2$$

Donde A: % etanol, B: tiempo de extracción, C: relación pulpa/disolvente y D: temperatura.

Al analizar los coeficientes se observa que el término de la temperatura tiene mayor influencia sobre la variable dependiente, por lo que con su incremento aumentará el RPT. Mientras que el coeficiente que tiene una mayor influencia sobre la variable dependiente para el RAM es el de la relación pulpa/disolvente, seguido por el coeficiente del tiempo de extracción cuadrático y porcentaje de etanol.

**Tabla 1. Rendimientos de extracción hidroalcohólica de polifenoles totales y antocianinas de la manzana malaya**

Corrida	Temperatura (°C)	Tiempo de extracción (h)	Relación masa/disolvente (m/V)	Etanol (%)	Rendimiento de polifenoles (%)	Rendimiento de antocianinas (%)
1	30	24	2	90	34,7 (0,1) e	26,6 (0,6) a
2	30	15	1	90	24,7 (0,8) g	17,8 (0,6) e
3	60	15	2	90	45 (1) cd	15,90 (0,09) fg
4	60	15	1	60	60 (2) a	14,5 (0,4) gh
5	60	15	1	60	43,6 (0,7) d	12,0 (0,4) i
6	30	6	2	90	27,5 (0,8) f	26 (1) ab
7	30	6	2	60	44,6 (0,5) cd	17,5 (0,5) ef
8	30	15	2	75	46 (1) c	22 (1) cd
9	30	24	1	60	33,3 (0,8) e	12,7 (0,8) i
10	60	6	1	90	45 (1) cd	24 (2) b
11	60	6	2	75	49 (1) b	20,6 (0,3) d
12	60	24	2	60	44 (1) cd	25 (1) b
13	60	6	2	75	61 (1) a	20,8 (0,6) cd
14	60	24	1	75	61,6 (0,2) a	13,0 (0,8) hi
15	30	6	1	75	28,7 (0,1) f	14,6 (0,4) gh
16	30	15	2	75	34,7 (0,1) e	22,4 (0,5) c

Media (desviación estándar); n = 3. Letras diferentes indican diferencias significativas para p ≤ 0,05.

**Tabla 2. Análisis de varianza de los modelos codificados para el rendimiento extracción de polifenoles totales y antocianinas**

Fuente	Polifenoles totales		Antocianinas totales	
	Valor F	Valor p	Valor F	Valor p
Modelo	4,83251232	0,0170	26,76806299	0,0102
A	1,649616496	0,2254	13,42827581	0,0351
B	0,001669832	0,9681	0,271908406	0,6381
C	0,709334162	0,4176	132,8968789	0,0014
D	15,73048778	0,0022	4,701047242	0,1187
AB	-	-	27,927504	0,0132
AC	-	-	20,78888698	0,0198
AD	-	-	24,74590082	0,0156
BC	-	-	14,01224409	0,0333
BD	-	-	22,95454883	0,0173
CD	-	-	26,77425965	0,0140
A <sup>2</sup>	-	-	0,17044051	0,7075
B <sup>2</sup>	-	-	14,38974708	0,0321
R <sup>2</sup> ajustado	0,637323372	-	0,990746931	-
Falta de ajuste	0,634885481	0,7303		2

A: % Etanol, B: Tiempo de extracción, C: Relación masa/disolvente, D: Temperatura.

Los mayores valores de RPT se alcanzaron a 60 °C, entre 60 y 66 % etanol (v/v), con tiempos de extracción entre 6 y 24 h y una relación masa/disolvente de 1 g por 5 mL. Sin embargo, los mayores valores de RAM se correspondieron con 30 °C; entre 0 y 90 % etanol (v/v), entre 21 y 24 h como tiempo de extracción y empleando la misma relación masa/disolvente. De forma similar, en la optimización del proceso de extracción de antocianinas y polifenoles a partir de la pulpa del cerezo negro (*Syzygium cumini* L. Skeels) (14), las condiciones óptimas de extracción correspondieron a 6 h como tiempo de extracción y una relación pulpa/disolvente de 1 g por 5 mL, con 90 % (v/v) de etanol y a 30 °C. En el caso anteriormente expuesto, se observa que la variable temperatura (para el RPT) no coincide con la reportada en este trabajo por lo que las diferencias pueden relacionarse con esta variable, factor que resultó ser significativo ( $p \leq 0,05$ ).

Para obtener los mayores valores de RPT y RAM en el proceso de optimización numérica solo se tuvieron en cuenta las variables de respuesta y se emplearon

restricciones para los intervalos evaluados de las variables independientes. La Tabla 3 muestra las 15 soluciones optimizadas para el proceso de extracción que presentaron mayor conveniencia estadística. Se seleccionó la solución 1, de elevado RPT y RAM, que coincidió con la que presentó mayor conveniencia desde el punto de vista estadístico, similar a los valores obtenidos de RPT (53,7 %) y RAM (25,1 %) en el EHO. En ambos casos el error relativo resultó ser inferior al 5 %.

La Tabla 4 muestra que con el empleo de la dosis límite de extracto de manzana malaya de 2 g/kg, no murió ninguna de las ratas administradas con el producto objeto de estudio. Además, las mismas no mostraron cambios en su conducta general y existió una tendencia al incremento de peso, lo que sugiere ausencia de efectos tóxicos sistémicos. Por lo antes expuesto esta fruta puede ubicarse en la categoría cinco o sin clasificar (9). Sin embargo, en un estudio anterior (15), al evaluar la toxicidad sub-aguda del extracto de *S. malaccense* en cinco grupos de ocho ratas albinas, mostró que a dosis superiores a los 100 mg/kg de peso de los animales de

experimentación existió una tendencia a afectar los elementos hematopoyéticos y también puede alterar la integridad estructural del tejido hepático.

Los resultados en esta investigación son similares a un estudio sobre la obtención de extracto de antocianinas a partir de arándanos para ser utilizado como antioxidante y colorante en la industria alimentaria (16), el CAM (137,2 mg/100 mL), el CPT (126,2 mg/100 mL) y pH (2,6) en los extractos obtenidos por extracción sólido-líquido.

La evaluación del color (Tabla 5) permitió determinar que el color del extracto concentrado de manzana malaya se debió a la contribución roja y amarilla relacionada con los valores positivos de las componentes a\* y b\*; la combinación de estos con la alta luminosidad (L\*) arrojó como resultado un color rosado tenue poco saturado, relacionado con el valor de cromaticidad (C\*).

**Tabla 3. Soluciones optimizadas que cumplen con las restricciones**

Parámetro	Solución														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Etanol (%)	60	60	60	60	60	90	89,9	90	77,2	60	60	60	60	60	60
Tiempo de extracción (h)	24,0	22,9	6,0	6,1	6,3	6,0	6,0	6,1	6,0	21,9	22,0	22,6	22,8	23,3	20,8
Relación masa/disolvente	2	2	2	2	2	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2
Temperatura (°C)	60	60	60	60	60	60	60	60	60	30	30	30	30	30	30
RPT (%)	55,9	55,9	56,1	56,1	56,1	45,7	45,7	45,7	52,2	39,4	39,4	39,4	39,4	39,4	39,4
RAM (%)	24,8	24,0	20,7	20,6	20,6	24,1	24,1	23,9	20,8	26,6	26,7	27,4	27,5	28,0	25,5
Conveniencia estadística	0,86	0,84	0,71	0,71	0,71	0,69	0,69	0,68	0,67	0,63	0,63	0,63	0,63	0,63	0,61

RPT (%): Rendimiento de polifenoles totales; RAM (%): Rendimiento de antocianinas.

**Tabla 4. Variación de la masa corporal y mortalidad de las ratas durante el ensayo de toxicidad aguda oral**

Tiempo (d)	Masa de ratas (g)	
	Grupo 1	Grupo 2
1	208 (4)	200 (6)
7	238 (8)	219 (6)
14	245 (9)	227 (6)
Mortalidad	0,0	0,0

Media (desviación estándar); n= 3.

**Tabla 5. Parámetros químicos y físicos evaluados al extracto concentrado**

Indicador	Media (desviación estándar)
Contenido de polifenoles totales (mg/L)	1 667 (44)
Contenido de antocianinas (mg/L)	59 (1)
Densidad (g/mL)	1,154 (0,001)
Sólidos totales (%)	15,03 (0,33)
pH	2,6 (0,01)
L*	74,02 (0,40)
a*	13,58 (0,53)
b*	15,31 (0,55)
C*	20,48 (0,27)

L\*: Luminosidad; a\*: Componente rojo-verde; b\*: Componente amarillo-azul; C\*: Cromaticidad.

## CONCLUSIONES

Se demostró la influencia significativa del porcentaje de etanol y la relación masa/disolvente sobre la extracción de antocianinas. El extracto optimizado de manzana malaya no produjo toxicidad aguda oral en los animales de experimentación con el empleo de una dosis inicial de 2 g/kg de masa corporal. El colorante líquido presentó un contenido de antocianinas de 59 mg/L, contenido de polifenoles totales de 1 667 mg/L, contenido de sólidos totales de 15,03 % y pH de 2,6 el cual favoreció la coloración del colorante. Este colorante pudiese ser empleado en alimentos que mantengan un pH ácido y que no requieran tratamientos térmicos prolongados, para así evitar la degradación de las antocianinas en el mismo.

## REFERENCIAS

1. Soto-Vaca A, Gutiérrez A, Losso JN, Xu Z, Finley JW. Evolution of phenolic compounds from color and flavor problems to health benefits. *J Agric Food Chem* 2012; 60:6658-77.
2. Castañeda-Ovando A, de Lourdes Pacheco-Hernández M, Páez-Hernández ME, Rodríguez JA, Galán-Vidal CA. Chemical studies of anthocyanins: A review. *Food Chem* 2009; 113:859-7.
3. Donadio LC. Introdução e avaliação de novas frutíferas de clima tropical e subtropical. *Rev Brasileira de Fruticultura* 1991; 13(3):49-54.
4. Reynertson KA, Yang H, Jiang B, Basile MJ, Kennelly EJ. Quantitative analysis of antiradical phenolic constituents from fourteen edible Myrtaceae fruits. *Food Chem* 2008; 109:883-90.
5. Augusta IMIM. Extração e segagem da casca de Jambo Vermelho (*Syzygium malaccense*, (L.) Merryl et Perry) para obtenção de corante (Tesis Doctoral). Universidad Federal del Rio de Janeiro. Brasil; 2011.
6. Slinkard K, Singleton VL. Total phenol analysis: automation and comparison with manual methods. *Am J Enol Viticult* 1977; 28(1):49-55.
7. Lee J, Durst RW, Wrolstad RE. Determination of total monomeric anthocyanin pigment content of fruit juices, beverages, natural colorants, and wines by the pH differential method: collaborative study. *JAOAC Int* 2005; 88(5):1269-78.
8. OECD (Organización para la Cooperación Económica y el Desarrollo). Guidelines for testing of chemical. Paris.423; 2001.
9. NC-ISO 1842. Productos de frutas y vegetales. Determinación del pH. Cuba; 2001.
10. Miranda MM, Cuellar AC. Manual de Prácticas de Laboratorio Farmacognosia y Productos Naturales. La Habana: Instituto de Farmacia y Alimentos. Edit. Félix Varela; 2000.
11. CIE. International Commission on Illumination. Colorimetry: Official Recommendations of the International Commission on Illumination. Paris, Bureau Central of the CIE; 1971.
12. de l'Eclairage CI. Recommendations on uniform color spaces, color-difference equations, psychometric color terms. Paris: CIE; 1978.
13. Sonawane S, Arya S. Antioxidant activity of jambhul, wood apple, ambadi and ambat chukka: an indigenous lesser known fruits and vegetables of India. *Adv J Food Sci Technol* 2013; 5(3):270-75.
14. Gaibor FM, Cuba A, Rodríguez D, García MA, Casariego A. Optimización del proceso de extracción hidroalcohólica a partir de pulpa de cerezo negro (*Syzygium cumini* L. Skeels). *Cienc Tecnol Alim* 2018; 27(2):51-59.
15. Adebayo AH, Ogundare OC, Adebite OS. Sub-acute evaluation of extract of *Syzygium malaccense* in albino rats. *Res J Med Plants* 2015; 9:60-71.
16. Zapata L, Heredia A, Quinteros C, Malleret A, Clemente G, Cárcel J. Optimización de la extracción de antocianinas de arándanos. *Cienc Doc Tecnol* 2014; 25(49):166-192.