

EMPLEO DE FICOCIANINA COMO COLORANTE NATURAL EN LA INDUSTRIA ALIMENTARIA

Tamara Forbes^{1}, Mario García¹, Jesús I. Alarcón¹ y Evidio Armas²*

¹*Instituto de Farmacia y Alimentos, Universidad de La Habana, Calle 222, No. 2317, C.P. 13 600, La Habana, Cuba.*

²*Centro Científico Spirulina. Tapaste, San José de las Lajas, Mayabeque, Cuba.*

E-mail: tamaraforbe@gmail.com

RESUMEN

Se evaluó el empleo de ficocianina como colorante natural en la industria alimentaria. La extracción de ficocianina se realizó por dos métodos: uno incluyó ciclos de congelación /descongelación y el otro reposo a 4 °C por 24 h. Se evaluó su pureza y estabilidad del color a diferentes temperaturas y valores de pH. Con el método de extracción de reposo por 24 h a 4 °C se obtuvo la mejor pureza (2,79). A pH ácidos, la ficocianina se mantuvo estable mientras que a pH superiores a 8, se observaron cambios de coloración asociados a la pérdida del pigmento. A partir de 60 °C la ficocianina precipitó y se perdió el color característico del extracto acuoso. Las pruebas sensoriales reflejaron 92,5 % de aceptación del merengue elaborado con ficocianina.

Palabras clave: Spirulina, colorantes naturales, ficocianina.

ABSTRACT

Application of phycocyanin as a natural colorant in the food industry

The use of phycocyanin as a natural colorant in the food industry was evaluated. Phycocyanin extraction was performed by two methods: one included cycles of freezing /thawing and other that consist in rest at 4 °C for 24 h. It was evaluated its purity and color stability at different temperatures and pH values. The extraction method stand for 24 h at 4 °C yielded the highest values of purity (2.79). It was found that acidic pH values remained stable phycocyanin whereas at pH above 8 it was observed color changes associated with the loss of pigment. From 60 °C phycocyanin precipitated and lost the characteristic color of the aqueous extract. Sensory testing showed a 92.5% acceptance of meringue made with phycocyanin.

Key words: Spirulina, natural colorants, phycocyanin.

INTRODUCCIÓN

Los alimentos en su estado natural poseen colores que varían tanto con la estacionalidad de la materia prima como con los tratamientos tecnológicos aplicados en su procesado, de ahí que para hacerlos atractivos a los consumidores muchas veces deben colorearse artificialmente. Para ello pueden utilizarse sustancias obtenidas de fuentes naturales o preparadas por métodos físicos o químicos. No todas las sustancias colorantes son adecuadas para fines alimentarios, algunas pueden incluso, resultar perjudiciales para la salud (1).

***Tamara Yuliett Forbes Hernández:** *Licenciada en Ciencias Alimentarias (2007). Máster en Ciencia y Tecnología de Alimentos (2009). Se desempeña como profesor Instructor de Profesora de pregrado de Toxicología de Alimentos y Dietética en el Instituto de Farmacia y Alimentos de la Universidad de La Habana. Su campo de acción está relacionado con la evaluación de la actividad antioxidante de productos naturales y su impacto en la salud y potencialidades de empleo en la industria alimentaria.*

Las biliproteínas son macromoléculas con grupos prostéticos tetrapirrólicos enlazados a la cadena de la apoproteína. Estas proteínas forman complejos captadores de luz (ficobilisomas) y actúan como pigmentos fotosintéticos accesorios en microalgas (2). Las biliproteínas se pueden clasificar, atendiendo a sus características espectroscópicas, en tres grupos principales: ficocianinas, ficoeritrinas y aloficocianinas. Poseen valor terapéutico debido a su actividad inmunomoduladora y anticarcinogénica. Además, estas macromoléculas pueden utilizarse como colorantes naturales en las industrias farmacéutica y alimentaria, reemplazando a los colorantes sintéticos (3).

En este contexto, la producción de c-ficocianina a partir de la microalga *Spirulina*, resulta un tema de investigación muy interesante debido a que la aplicación industrial y valor comercial de este producto son considerables. El objetivo del presente trabajo fue evaluar las potencialidades de la ficocianina como colorante natural en alimentos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se evaluaron cinco lotes de la *Spirulina* en polvo producidos entre octubre 2011 y marzo 2012. Las determinaciones realizadas fueron humedad, proteínas y cenizas (4).

Una vez concluida la caracterización y declarada la *Spirulina* apta para el consumo, se procedió a la extracción de la ficocianina. Se ensayaron dos métodos de extracción. En el método 1 se suspendieron 100 g de polvo de *Spirulina* en 2 L de agua destilada y se congelaron y descongelaron sucesivamente por tres veces a 4 °C; mientras que en el método 2 la suspensión de *Spirulina* se dejó reposar en la oscuridad a 4 °C por 24 h. Posteriormente, en ambos casos, se centrifugó a 2 500 s⁻¹ durante 20 min y el sobrenadante se midió espectrofotométricamente a 280 y 620 nm. La eficiencia en la extracción de la ficocianina y su pureza, medida como la relación A620 / A280, se determinaron, por duplicado, para cada una de las condiciones ensayadas (4). A partir de los valores de transmitancia en la región visible se evaluó el color de los extractos acuosos diluidos expresado en las coordenadas cromáticas del sistema CIE L*a*b*. Se empleó el iluminante D65 y un ángulo visual del observador normal de 10° (5).

Para evaluar la estabilidad del extracto acuoso de ficocianina se tuvo en cuenta las posibles aplicaciones del pigmento en la elaboración de alimentos, específicamente los intervalos de pH y temperatura a los cuales sería probable su utilización. Los valores de pH ensayados 2; 3; 4; 8; 9 y 12 se lograron en el extracto acuoso con la adición de ácido cítrico e hidróxido de sodio, respectivamente. Se midió la absorbancia a 620 nm.

Para la evaluar la influencia de la temperatura en la estabilidad, también se realizaron lecturas de absorbancia a 620 nm a intervalos de 15 min. La temperatura evaluada fue 40 °C y se mantuvo un control a 28 °C.

El extracto acuoso de ficocianina se secó por aspersión para su empleo en la elaboración de merengue para dulcería, al que se le realizó una prueba de aceptación/rechazo con 80 consumidores potenciales. El merengue se elaboró siguiendo una receta tradicional consistente en batir tres claras de huevo a punto de nieve y posteriormente añadir suavemente una taza de azúcar mientras se continúa batiendo hasta obtener una crema consistente, firme y espesa. La ficocianina fue añadida conjuntamente con el azúcar; se emplearon 12 g del colorante.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se obtuvieron valores de humedad de 6,3 % (S = 1,5), proteínas 67,8 % (S = 5,4) y cenizas 8,3 % (S = 1,4) para la *Spirulina*. La diferencia entre los lotes evaluados está relacionada con el manejo de la temperatura, oxígeno y suministro de nutrientes al agua de los estanques de cultivo de la microalga. Tanto los valores individuales de cada lote como el promedio de ellos, cumplieron con los parámetros de calidad para estos tres indicadores (4) y fueron similares a los reportados (humedad 5 %, proteínas 65 % y cenizas 12,2 %). Asimismo se ha reportado que la *Spirulina platensis* procedente de EE.UU., tiene valores de proteínas inferiores, de forma general, a los de la *Spirulina* cubana, reportando valores de 62,5 %, cenizas superiores (12 %), mientras que similares de humedad (7 %) (6). Las diferencias en los resultados pueden deberse a las diferencias en las condiciones de cultivo, sobre todo lo referente a la fuente de nitrógeno y cantidad que se emplee para la nutrición de la microalga, además de factores

ambientales como la temperatura, que incide directamente en su desarrollo. Ambos métodos de extracción evidenciaron la presencia de ficocianina en la *Spirulina* evaluada, confirmado con el espectro de absorción de

los extractos (Fig. 1) en el que aparece un máximo de absorción a 620 nm, que se corresponde con la c-ficocianina (7).

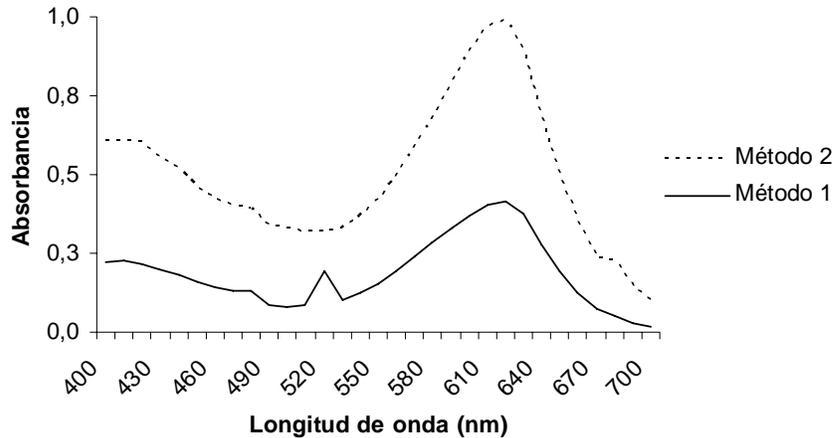


Fig. 1. Espectro de absorción de los extractos acuosos de ficocianina.

No se detectó la presencia de aloficocianina ni de ficoeritrina, pues no se observaron los máximos de absorción que las caracteriza. La Tabla 1 muestra la pureza de los extractos de ficocianina. La ficocianina

obtenida tanto por el método de reposo por 24 h, como por el método de congelación - descongelación tuvo grado de pureza alimento (4).

Tabla 1. Eficiencia en la extracción de la ficocianina (n = 2)

Longitud de onda	Método 1		Método 2	
	Media	Desviación estándar	Media	Desviación estándar
280	0,7	1,0	1,11	0,09
620	1,8	2,4	3,10	0,27
A_{620}/A_{280}	2,1	0,5	2,79	0,01

Con el método 2 se obtuvo la mayor pureza (2,79), lo que puede estar dado porque con las sucesivas congelaciones/descongelaciones en que se basa el método 1, los cristales de hielo formados provocan una mayor ruptura de la pared celular y por tanto se facilita la liberación de otros pigmentos como clorofilas y carotenoides que pudiesen intervenir desfavorablemente en la pureza de la ficocianina, no siendo así para el caso del segundo método.

Además existió una mayor variabilidad en los resultados de pureza determinados para el extracto obtenido por el método 1, lo que pudiera deberse a las fluctuaciones propias de los ciclos de congelación y descongelación. Se informó un valor de pureza de 2,4 del extracto acuoso de c-ficocianina de *Spirulina* máxima mediante extracción con sistemas acuosos de dos fases y de 3,8 cuando se realiza por ultrafiltración y precipitación con sulfato de amonio (8).

La ficocianina evaluada se correspondió con una pureza grado alimento. Según las coordenadas cromáticas obtenidas $L^* = 81,51$; $a^* = -12,51$ y $b^* = -41,32$ (Método 1) y $L^* = 95,46$; $a^* = -5,36$ y $b^* = -35,12$ (Método 2) los extractos fueron de color azul claro (Tabla 1), que sugieren menor pureza de ficocianina con este método.

En el punto correspondiente al método 1 de extracción, la componente cromática a es más negativa, (Tabla 1), que sugieren menor pureza de ficocianina con este método. A partir de los resultados de pureza se seleccionó el lote con mejores resultados y se evaluó la estabilidad del extracto acuoso obtenido por el método 2.

Se obtuvo un valor medio de pH para el extracto acuoso de 5,8 ($S = 0,2$; $n = 3$). La Fig. 2 muestra la variación de la absorción a 620 nm en dependencia de los valores de pH. En la medida que disminuyó el pH, los valores de absorbancia se incrementaron y el cambio de color fue apreciable, observándose un azul más intenso. Estos resultados se corresponden con lo reportado (9), que plantearon que la pureza de ficocianina disminuye con el aumento del pH. La disminución en la pureza puede estar asociada a un aumento en las proteínas contaminantes en la fase acuosa durante la extracción. A valores de $pH > 8$ se observó un cambio de coloración hacia tonalidades terracotas, lo cual sugiere una pérdida considerable de la ficocianina, responsable de la coloración azul verdosa de los extractos de *Spirulina*.

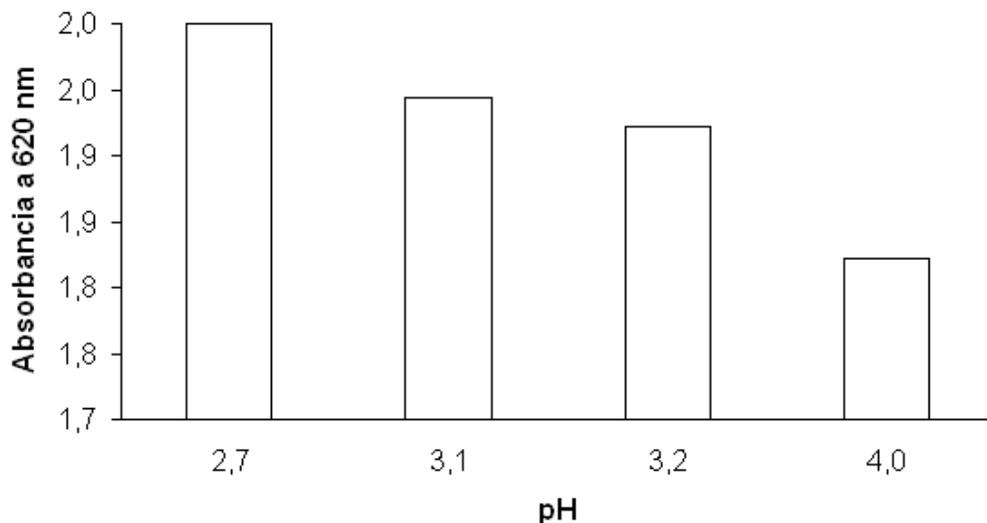


Fig. 2. Comportamiento de la absorbancia del extracto acuoso de ficocianina según los valores de pH.

La Fig. 3 representa la absorbancia a 620 nm de los extractos acuosos a 28 y 40 °C, donde se observa que con el incremento de la temperatura ocurrió una disminución en los valores de absorbancia, relacionado con la degradación de la ficocianina. A partir de 60 °C se observó la precipitación inmediata del extracto acuoso, lo que pudo deberse a la desnaturalización de la ficocianina. Se obtuvo un merengue de color azul similar al de uno coloreado con el colorante sintético azul

brillante FCF. La incorporación de la ficocianina en la formulación del merengue no influyó en sus características generales. Como resultado de la prueba de aceptación/rechazo realizada a los consumidores se obtuvo que la mayoría de ellos (92,5 %) aceptó el merengue; además refirieron que no se apreciaron olores ni sabores característicos de la *Spirulina*, lo cual incidió en la actitud para el consumo.

CONCLUSIONES

La ficocianina obtenida tanto por el método de reposo por 24 h, como por el método de congelación - descongelación tuvo grado de pureza alimento. Con el método de extracción de reposo por 24 h se obtuvo el mayor grado de pureza (2,79). En los intervalos ácidos de pH la ficocianina se mantuvo estable, mientras que a pH superiores a 8 se observaron cambios de coloración asociados a la pérdida del pigmento. A partir de los 60 °C, el extracto acuoso de la ficocianina precipitó. La incorporación de ficocianina en la formulación del merengue no influyó en sus características generales, pues 92,5 % de los consumidores aceptó el producto.

REFERENCIAS

1. Ibáñez, F. C.; Torre, P. e Irigoyen, A. Aditivos alimentarios. Universidad Pública de Navarra. 2003, 15 p.
2. Glazer, A. N. *Methods Enzymol.* 167: 291-303, 1988.
3. Liang, S.; Liu, X.; Chen, F. y Chen, Z. *Hydrobiologia* 512: 45-48, 2004.
4. PNO PQI 52-3-01 al 07. Procedimiento Normalizado de Operación. Especificaciones de calidad de espirulina. Métodos de ensayo.
5. CIE-Lab. Committee TC. 13. *J. Opt. Soc. Am.* 64: 896-897, 1976.
6. Earthrise. Earthrise Farms and Earthrise trading Co Inc. Earth food Spirulina [en línea]. Consultado diciembre 2003 en www.spirulinasource.com
7. Glazer, A. N. Photosynthetic accessory proteins with bilin prosthetic groups. En: *The Biochemistry of Plants* Conn, E. E. y Stumpf, P. K. (Eds.), Academic Press Inc., New York, 1981, pp. 51-96.
8. Rito-Palomares, M.; Núñez, L. y Amador, D. *J. Chem. Tech. Biotech.* 76: 1273-1280, 2001.
9. Rito-Palomares, M.; Núñez, L. y Amador, D. *Revista Digital de Posgrado, Investigación y Extensión del Campus de Monterrey* 16 (62), 2003.