

## CAPÍTULO III

### *Antecedentes antocianinas*

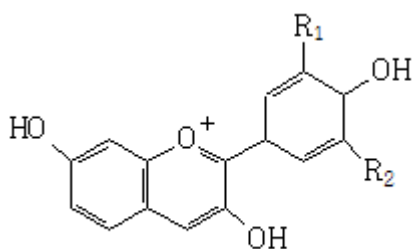
Las antocianinas han demostrado actividad antioxidante potente (Seeram y Muraleedharan, 2001). Las antocianinas son parte de los pigmentos que encontramos comúnmente en frutas, jugos, vinos, flores y varias plantas. En la Tabla 3 se resumen las características físicas de los pigmentos vegetales más representativos.

Las antocianinas son compuestos polares que imparten color rojo, morado y azul a las frutas y varios vegetales por el desplazamiento de longitud de onda que genera su catión flavilio (Wrolstad, 1994). Existen dos tipos de antocianinas las polares y las no polares, las polares son más fáciles de determinar que las no polares por medio de HPLC, los grupos  $R = OCH_3$  son característicos de las antocianinas no polares y la glicosilación de su molécula confiere solubilidad acuosa. En general hay más de 20 tipos de antocianinas y ayudan a determinar la taxonomía de los vegetales pero sólo seis son de interés alimenticio. Es importante notar que cerca del 2% del carbono utilizado por los vegetales es destinado a la síntesis de pigmentos con la finalidad de proteger los tejidos contra la radiación UV y los radicales libres. En la Tabla 4 y Figura 1 se observan las características estructurales de las antocianinas (Durst et al., 2001).

La glicosilación en carbono (3) confiere solubilidad en células vegetales, esto es la antocianina glicosilada y también en esta posición puede encontrarse un hidroxilo en dónde recibe el nombre antocianidina.

<b>Características de los pigmentos naturales.</b>					
<b>Grupo</b>	<b>#</b>	<b>Color</b>	<b>Fuente</b>	<b>Solubilidad</b>	<b>Estabilidad</b>
Antocianinas	120	Azul, morado	Uvas	Polar	pH/termolabil
Flavonoides	600	Amarillo	Plantas	Polar	Poco en calor
Taninos	20	Amarillo	Vinos	Polar	Estable calor
Betalainas	70	Rojo	Cactus	Polar	Sensible calor
Quinonas	200	Amarillo-negro	Microorganismos	Polar	Estable calor
Santonas	20	Amarillo	Plantas	Polar	Estable calor
Carotenoides	300	Amarillo	Plan, anima	No polar	Estable calor
Clorofilas	25	Verde-café	Plan verdes	Ambos	Sensible Cal
Heme	6	Rojo-café	Animal	Polar	Sensible Cal

**Tabla 3.** Pigmentos naturales comúnmente encontrados (Fennema, 1976).



<b>Tipos de antocianinas</b>	<b>Grupos R</b>	
Pelargonidina	R <sub>1</sub> =H	R <sub>2</sub> =H
Cianidina	R <sub>1</sub> =OH	R <sub>2</sub> =H
Delfinina	R <sub>1</sub> =OH	R <sub>2</sub> =OH
Peonidina	R <sub>1</sub> =OCH <sub>3</sub>	R <sub>2</sub> =H
Petunidina	R <sub>1</sub> =OCH <sub>3</sub>	R <sub>2</sub> =OH
Malvidinas	R <sub>1</sub> = OCH <sub>3</sub>	R <sub>2</sub> =OCH <sub>3</sub>

**Tabla 4.** Seis tipos de antocianinas y sus grupos R (Fennema, 1976).

### ***Comportamiento fisicoquímico de las antocianinas.***

Las antocianinas a ciertos pH's presentan diferente actividad debido a que esto repercute en su estabilidad molecular. Los espectros UV-VIS a diferentes pH también cambian y nos ayudan a determinar si está o no polimerizada (Giusti y Wrolstad, 2001) ya que sólo interesa la forma monomérica. A continuación se discute el mecanismo de acción antioxidante de las antocianinas.

El color llamativo de las antocianinas se debe principalmente a la carga positiva del catión flavilio (Figura 1). A pH 1 dará un color intenso tal como se encuentran de forma típica en verduras y frutas. Las cargas van cambiando a lo largo de la variación del pH dando las estructuras y colores que se ilustraron en la Figura 7. El catión flavilio a pH 1 es la forma más estable mientras que las chalconas a pH's > 4.5 son las más susceptibles a degradación (Chandra, 1992; Wesche-Ebeling et al., 1996). La forma del espectro UV-VIS de las antocianinas puede brindar información sobre su concentración y el tipo que se utilizó, como se indica (Figura 8).

Los factores más importantes son las posiciones glicosídicas y tipos de acilaciones (Giusti, 2004). La concentración se mide con el valor de la absorbancia a un pH diferencial. Los tipos de antocianinas se determinan de las dos bandas de absorción que todas ellas dan, una en la región UV (260 – 280 nm) y otra en la región visible (490 – 550 nm). En casos particulares las antocianinas pelargonidina (520nm), delphinina (546nm) y sus variantes glicosídicas tendrán su absorbancia máxima de 10 a 15 nm menor. Las sustituciones glicosídicas aparecen con una absorbancia en 440 nm y la presencia de sustituciones glicosídicas en otras posiciones como los glicósidos (3) y (7) pueden definirse porque dan diferentes curvas espectrales. La presencia de acilaciones de ácido cinámico es revelada por

una tercera banda de absorción en el rango de 310 – 360 nm y su cociente con la  $\lambda_{max}$  da el número de acilaciones (Harborne, 1967).

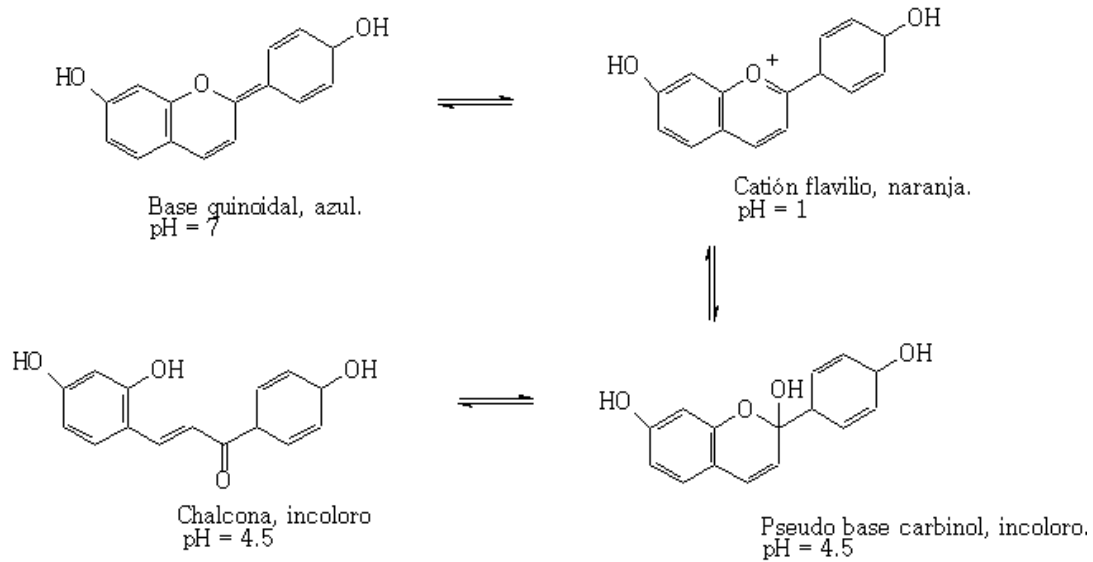
Los colores y por tanto las formas espectrales de las antocianinas también cambian en presencia de iones de hierro ya que pueden formar complejos con los sustituyentes hidroxilo de las antocianinas. El acomplejamiento en la posición (3) tiene un efecto batocrómico (Fennema, 1996). Los metales como el hierro también pueden generar un flujo de electrones sobre las antocianinas (Walford, 1980).

### ***Capacidad antioxidante de antocianinas en sistemas de estrés oxidativo.***

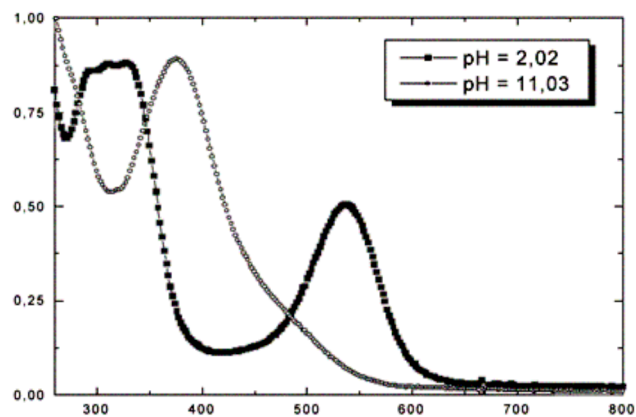
La capacidad antioxidante de antocianinas (AOP ), puede ser determinada por un cambio en la absorbancia entre un sistema con antocianinas y otro sin ellas de la siguiente manera:

$$AOP = \frac{1 - \lambda_{234nm} \text{ con antiox}}{\lambda_{234nm} \text{ sin antiox}} \times 100$$

La  $\lambda_{234nm}$  corresponde a la absorbancia máxima del producto de la peroxidación lipídica, en este caso es dieno conjugado hidroperóxido DCHP (Chiou, 2002). Este valor puede cambiar si se generan varios peróxidos lipídicos.



**Figura 7.** Formas de antocianinas a diferentes pH's (Giusti y Wrolstad, 2001).



**Figura 8.** Formas de los espectros UV-VIS de las antocianinas en general (Giusti y Wrolstad, 2001).

La peroxidación se determina dividiendo el incremento de absorbancia de dieno conjugado hidroperóxido (CDPH) (Chiou,2002). Por otro lado entre mayor sea el cambio en la absorbancia máxima de las antocianinas mayor será su actividad. Durante la peroxidación de lípidos, las antocianinas muestran actividad antioxidante dependiente de la sustitución en la posición (3) (Seeram y Muraleedharan, 2001) y su actividad antioxidante aumenta con el grado de sustituyentes hidroxilo. Para antocianinas polares su actividad será mayor (delfinina, cianidina, pelargonidina), que para las no polares como la malvidina (Giusti, 2002). De hecho, la delfinina resultó ser de los más potentes antioxidantes en un estudio (Seeram y Miraleedharan, 2001). Un sustituyente hidroxilo del grupo (3) tiene la potencial habilidad de quelar el hierro. Esto sugiere que en metodología de los sistemas que son de primer orden se puedan tener concentraciones molares de hierro y antocianina equivalentes. Como algunas ppm de hierro conducen la oxidación de ácido ascórbico bien se podría anular el impacto con antocianidinas en exceso molar. El anillo (A) (Figura 1) parece ser que no tiene actividad antioxidante alguna y se tiene sospechado que en la peroxidación de lípidos por antocianinas se debe a que estas también acomplejan  $Fe^{+3}$  (Seeram y Miraleedharan, 2001).

En el proceso de peroxidación lipídica las antocianinas pueden funcionar como agentes reductores naturales o donadores de protones. Se ha documentado también que tienen mecanismos de acción protectora a la quelación de metales pro-oxidativa y se sospecha que la quelación sea un factor determinante en su capacidad antioxidativa más que tratarse de agentes reductores (Seeram y Muraleedharan, 2001).

Estudios realizados con flavonoides de este tipo han demostrado inhibición de peroxidación de lípidos inducida por  $Fe^{3+}$  (Seeram y Muraleedharan, 2002). Entonces encontramos aquí dos variables importantes, que las antocianinas bien pueden necesitar de

la quelación de hierro para su actividad antioxidante o por lo menos se promueve de esta manera y, por otro lado, sus moléculas funcionan como donadores de electrones para la estabilización del electrón radical. Los estudios antes mencionados no involucran al ácido ascórbico y su posible actividad sinérgica con las antocianinas.

### ***Interacciones ácido ascórbico y antocianinas.***

Se sabe que los factores que degradan el color de las antocianinas como son el pH, el calor, el oxígeno, la luz, la hidrólisis, sulfitos, fenómenos de polimerización y degradación enzimática (Wesche-Ebeling, 1984). Se han hecho trabajos anteriores con ácido ascórbico que reaccionan con antocianinas y degradan su color. Se han observado también reacciones resultado de la degradación de ambos compuestos a temperatura ambiente (Chichester, 1972; Starr et al, 1968). También se sospecha una gran actividad por parte de productos de degradación del ácido deshidroascórbico (ADA) al degradar antocianinas que pierden color y forman precipitados color café (Fennema, 1976).

Por ejemplo, el jugo de arándano contiene 9 mg de antocianinas y 18 mg de ácido ascórbico por cada 100 mg, pero se pierden hasta el 80% de antocianinas en 6 meses a temperatura ambiente (Fennema, 1976). Actualmente el mecanismo de esta reacción no está completamente claro pero se sospecha la intervención de un intermediario de peróxido en la degradación de antocianinas.

Como posible mecanismo de reacción el peróxido de hidrógeno hace un ataque nucleofílico en la posición (2) de las antocianinas produciendo ésteres incoloros y derivados de cumarina para después sufrir una degradación mayor por polimerización (Fennema, 1996). También puede efectuarse un ataque a la posición (3) de la sal flavilio. Como consecuencia de esto existe en una alta tasa de destrucción de antocianinas incluso a

pH 1, donde las antocianinas son más estables. Otros compuestos como los aminoácidos, azúcares y fenoles pueden producir degradación por polimerización de los cuales se excluyen de los sistemas.



