

**EVALUACIÓN DE LOS MÉTODOS DE EXTRACCIÓN DE COMPUESTOS
FENÓLICOS (ANTOCIANINAS) A PARTIR DEL FRUTO DEL COROZO (*Bactris
guineensis*)**

ANDRÉS CAMILO REGINO RAMÍREZ

ERIKA ANDREA RENGIFO VELANDIA

Proyecto integral de grado para optar por el título de:

Ingeniero Químico

Director

Diana Madelen Galindres Jiménez

Doctora en Ciencias Química

FUNDACIÓN UNIVERSIDAD DE AMÉRICA

FACULTAD DE INGENIERÍAS

PROGRAMA DE INGENIERÍA QUÍMICA

BOGOTA D.C.

2021

NOTA DE ACEPTACIÓN

Ing. David Sotelo

Ing. Oscar Lombana

Bogotá D.C., abril de 2021

DIRECTIVOS DE LA UNIVERSIDAD

Presidente Institucional y Rector del Claustro

Dr. Mario Posada García – Peña

Consejero Institucional

Dr. Luis Jaime Posada García – Peña

Vicerrectora Académica y de Investigaciones

Dra. Alexandra Mejía Guzmán

Vicerrector Administrativo y Financiero

Ricardo Alfonzo Peñaranda Castro

Secretario General

José Luis Masías Rodríguez

Decano General de la Facultad de Ingenierías

Ing. Julio Cesar Fuentes Arismendi

Director del Programa de Ingeniería Química

Ing. Nubia Liliana Becerra Ospina

DEDICATORIA

Mi tesis la dedico con todo mi amor y cariño a mis amados padres Rubén Rengifo y Cristina Velandia, por su sacrificio y esfuerzo, por darme una carrera para velar por nuestro futuro y por siempre tener presente y creer en mis capacidades, aunque hemos pasado momentos muy difíciles siempre han estado brindándome su comprensión, cariño, amor y apoyo incondicional.

A mi pareja Jeferson por ser mi fuente de motivación e inspiración para poder superarme cada día más y así poder luchar para que la vida nos depare un futuro mejor.

A mi familia quienes con sus palabras de aliento no me dejaban decaer para que siguiera adelante y siempre sea perseverante y cumpla con mis ideales.

A mis compañeros de estudio, profesores y amigos presentes y pasados, quienes compartieron su conocimiento conmigo y a todas aquellas personas que durante estos cinco años estuvieron a mi lado colaborando para que este sueño sea hoy en día una hermosa realidad.

Erika Andrea Rengifo Velandia

Dedico este proyecto de investigación a mis padres Misael Regino y Elvinia Ramírez y a mi hermana Amalia Regino quienes me apoyaron desde el primer momento en mi decisión y de estudiar esta bonita profesión.

A mi abuela María Castro que estuvo al tanto de mi proceso de formación al igual que mi abuelo Ernesto Ramírez que descansa en paz.

Andrés Camilo Regino Ramírez

AGRADECIMIENTOS

Mi agradecimiento está dedicado principalmente a mis padres, porque sin ellos la oportunidad de presentar este proyecto no se hubiera dado, a mi familia por su apoyo incondicional, a mis profesores por su gran esfuerzo para enseñarme y ser mi guía, a mis colegas por su aporte a mi vida educativa, a mi compañero de tesis ya que sin él no se hubiera podido llevar a cabo esta investigación y por último a mi directora la profesora Diana Galindres por tanto empeño, comprensión y apoyo en la resolución de este proyecto y la paciencia y compromiso puesto en nosotros.

Erika Andrea Rengifo Velandia

Aprovecho esta parte del documento para agradecer en especial al trabajo realizado por mis padres económica y motivacionalmente durante tantos años de formación, por ellos soy la persona que soy y por ellos estoy en el lugar que estoy, agradezco también a mis familiares y amigos que estuvieron pendientes y de alguna u otra forma me apoyaron.

También agradezco a mi compañera de tesis y a los profesores que me acompañaron en este proceso y a la profe Diana que dedicó de su tiempo hasta el último momento para que se pudiera desarrollar la investigación.

Andrés Camilo Regino Ramírez

TABLA DE CONTENIDO

	pág.
RESUMEN	13
INTRODUCCIÓN	14
OBJETIVOS	15
1. MATERIA PRIMA	16
1.1. Contextualización y caracterización	16
1.1.1. <i>Botánica</i>	16
1.1.2. <i>Distribución geográfica de la materia prima</i>	18
1.1.3. <i>Cultivo</i>	19
1.1.4. <i>Plantación</i>	19
1.1.5. <i>Meses de cosecha</i>	19
1.1.6. <i>Valor nutricional</i>	20
1.1.7. <i>Morfología del corozo (Bactris Guineensis)</i>	21
1.1.8. <i>Propiedades organolépticas</i>	22
1.2. Producción nacional	23
1.2.1. <i>Comercialización</i>	23
2. COMPUESTOS FENÓLICOS	25
2.1. Polifenoles	25
2.2. Antocianinas	26
2.2.1. <i>Estructura</i>	28
2.2.2. <i>Estabilidad</i>	29
2.2.3. <i>Métodos de extracción</i>	30
2.2.4. <i>Métodos de separación y cuantificación</i>	50
2.2.5. <i>Métodos de caracterización</i>	58
3. PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS OBTENIDAS EXPERIMENTALMENTE	65
3.1. Grados Brix	65
3.1.1. <i>Densidad</i>	65
3.1.2. <i>Densidad de Partícula</i>	65
3.1.3. <i>Densidad Aparente</i>	66

3.2. pH	66
3.3. Temperatura de saturación	66
3.4. Presión de saturación	66
4. SELECCIÓN MÉTODO EXTRACTIVO A PARTIR DE REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	67
4.1. Evaluación de métodos de extracción	67
4.2. Construcción de matriz Pugh	69
4.2.1. <i>Comparación bibliográfica</i>	75
4.2.2. <i>Método seleccionado</i>	76
5. ANÁLISIS DE COSTOS	81
5.1. Costo materia prima	81
5.1.1. <i>Transporte</i>	81
5.2. Costo de operación de la extracción para el método seleccionado	83
5.3. Costos totales del método seleccionado	84
6. CONCLUSIONES	86
BIBLIOGRAFÍA	87
ANEXO	95

LISTA DE FIGURAS

	pág.
Figura 1. <i>Planta y tallo de la palma de la que proviene el corozo (Bactris guineensis)</i>	18
Figura 2. <i>Partes del fruto del corozo (Bactris Guineensis)</i>	21
Figura 3. <i>Etapas de maduración del fruto del corozo (B. guineensis)</i>	22
Figura 4. <i>Estructura química principales antocianinas de importancia en alimentos</i>	28
Figura 5. <i>Estructura del grupo flavilo</i>	29
Figura 6. <i>Montaje del equipo Soxhlet</i>	32
Figura 7. <i>Descripción proceso de extracción Soxhlet</i>	34
Figura 8. <i>Descripción proceso de Maceración</i>	36
Figura 9. <i>Antocianinas totales vs tiempo de agitación</i>	40
Figura 10. <i>Diagrama proceso extractivo de compuestos fenólicos</i>	43
Figura 11. <i>Extracción asistida con Ultrasonido</i>	45
Figura 12. <i>Extracción asistida con tecnología de microondas</i>	48
Figura 13. <i>Representación del funcionamiento de la técnica de cromatografía en contracorriente</i>	50
Figura 14. <i>Funcionamiento de cromatografía a contracorriente a altas velocidades (HSCCC)</i>	51
Figura 15. <i>Representación cromatografía en contracorriente rotatoria de baja velocidad</i>	53
Figura 16. <i>Cromatografía HPLC de antocianinas de B. guineensis a 525 nm</i>	56
Figura 17. <i>Diagrama de proceso de separación y cuantificación de compuestos fenólicos por HPLC</i>	57
Figura 18. <i>Antocianinas del fruto del B. guineensis analizadas por cromatografía HPLC</i>	77
Figura 19. <i>Diagrama de bloques (BFD) extracción de antocianinas</i>	79

LISTA DE TABLAS

	pág.
Tabla 1. <i>Clasificación Taxonómica del Corozo (Bactris guineensis)</i>	16
Tabla 2. <i>Información nutricional (Jugo De Corozo - Corozo “Sin azúcar”)</i>	20
Tabla 3. <i>Ventajas y desventajas de los métodos de extracción Soxhlet y Maceración</i>	37
Tabla 4. <i>Solventes empleados para la extracción de antocianinas</i>	39
Tabla 5. <i>Clasificación de los métodos de cuantificación de antocianinas</i>	58
Tabla 6. <i>Parámetros y condiciones de operación de métodos extractivos de antocianinas</i>	67
Tabla 7. <i>Parámetros y condiciones de operación de métodos extractivos de antocianinas del fruto de B. guineensis</i>	68
Tabla 8. <i>Asignación de valor para cada criterio</i>	69
Tabla 9. <i>Descripción del valor asignado a cada criterio</i>	69
Tabla 10. <i>Matriz de comparación Pugh de métodos de extracción de antocianinas</i>	70
Tabla 11. <i>Matriz de comparación Pugh con resultados ponderados de métodos de extracción de antocianinas</i>	71
Tabla 12. <i>Asignación de valor para cada criterio para los métodos determinados</i>	72
Tabla 13. <i>Matriz de comparación Pugh de métodos de extracción de antocianinas del fruto de B. guineensis</i>	73
Tabla 14. <i>Matriz de comparación Pugh con resultados ponderados de métodos de extracción de antocianinas del fruto de B. guineensis</i>	74
Tabla 15. <i>Cantidad de antocianinas contenidas en el fruto de B. guineensis</i>	78
Tabla 16. <i>Costo materia prima</i>	81
Tabla 17. <i>Precio de transporte de una empresa según la distancia y estado de la vía (\$/t)</i>	82
Tabla 18. <i>Costo transporte materia prima Barranquilla-Bogotá</i>	82
Tabla 19. <i>Costos solventes utilizados en la extracción de antocianinas</i>	83
Tabla 20. <i>Costo equipo para extracción, separación, cuantificación y caracterización de antocianinas</i>	84

Tabla 21. *Costo total del método de extracción, separación, cuantificación y caracterización de antocianinas*

85

RESUMEN

En el presente trabajo investigativo se busca definir la mejor alternativa para la obtención de antocianinas a partir del fruto de corozo (*Bactris guineensis*) mediante la recolección bibliográfica de distintos autores donde abordan la extracción de compuestos fenólicos y a su vez la separación de las antocianinas.

En el primer capítulo se realiza la contextualización y caracterización de la materia prima, para esto se tiene en cuenta todos los aspectos que se consideran relevantes en cuanto a propiedades fisicoquímicas del fruto como punto de partida para el desarrollo del estudio.

En el segundo capítulo se aborda la temática central de la investigación, explicando qué son los compuestos fenólicos y las antocianinas que se encuentran mayormente presentes en el corozo (*Bactris guineensis*), además de las distintas alternativas de extracción de estas sustancias.

Para el tercer capítulo se realizó el cálculo de manera experimental y la investigación de las propiedades fisicoquímicas y organolépticas de la materia prima.

En el cuarto capítulo se selecciona el método más conveniente para realizar la extracción de antocianinas a través de una matriz para la toma de decisiones, en este capítulo se tratan diferentes métodos de extracción, cuantificación y análisis de antocianinas que se obtienen a partir del fruto del corozo.

En el quinto capítulo se desarrolla el análisis de costos de la alternativa seleccionada cotizando transporte, costo de la materia prima, solventes a utilizar y los equipos a empleados en el método.

Por último, en el sexto capítulo se tienen las conclusiones de la investigación.

Palabras clave: Corozo, extracción, antocianinas, compuestos fenólicos, matriz pugh.

INTRODUCCIÓN

El fruto de la palma de corozo (*Bactris guineensis*) es cultivado en la región caribe colombiana de forma espontánea en la vertiente del Atlántico en departamentos sabaneros como Córdoba, Bolívar y Sucre. [1] Este tipo de fruto contiene propiedades altamente antioxidantes provenientes de su alta cantidad de polifenoles y antocianinas en estado de maduración, [2] lo que lo convierte en una fuente natural innovadora con aplicación en la industria.

Hoy por hoy, en Colombia, el fruto de corozo es utilizado como materia prima para la extracción del zumo del mismo, el cual es comercializado principalmente en departamentos del caribe por emprendedores que encontraron en el fruto una fuente de ingreso. Microempresas elaboran helados y dulces a base de corozo, sin embargo, aún no ha tenido un fuerte impacto a nivel industrial porque es un fruto poco conocido, pero con grandes capacidades versátiles.

Aquellas capacidades se ven reflejadas en los efectos terapéuticos de las antocianinas sobre la salud con la reducción de enfermedades [3], esto gracias a la capacidad antioxidante de las antocianinas. Además de esto, la molécula de antocianina se comporta como pigmento natural aportando la coloración violácea al fruto. [4]

Se genera la oportunidad de evaluar el contenido de antocianinas como el componente bioactivo fundamental y su extracción a partir de una minuciosa búsqueda bibliográfica de resultados reportados por distintos autores, para así determinar la mejor alternativa de extracción de compuestos fenólicos contenidos en el fruto *B. guineensis* con ayuda de la matriz de decisión Pugh.

OBJETIVOS

Objetivo general

Evaluar los métodos para la extracción de compuestos fenólicos (antocianinas) a partir del fruto del corozo (*Bactris guineensis*).

Objetivos específicos

- Definir las condiciones de materia prima para la extracción de compuestos fenólicos.
- Determinar la mayor cantidad de compuestos de antocianinas obtenidos en los procesos de extracción.
- Determinar el costo de la alternativa más conveniente de extracción de antocianinas.

1. MATERIA PRIMA

En este capítulo se realiza la caracterización, contextualización, determinación de propiedades tanto físicas como organolépticas del fruto del corozo (*Bactris guineensis*) y la producción y comercialización a nivel nacional del mismo, para ello se hará una revisión bibliográfica con el objetivo de obtener la información necesaria para definir las condiciones de la materia prima.

1.1. Contextualización y caracterización

1.1.1. Botánica

-**Nombre común.** Corozo de lata, lata hembra, tamaquito, corocito, chonta, píritu, guis, o su denominación científica *Bactris guineensis* son algunos de los nombres que recibe este fruto silvestre de la familia *Arecaceae* oriundo del caribe colombiano (en la Tabla 1 se muestra la clasificación taxonómica de este fruto), también en otros países como Nicaragua, Costa Rica, Panamá y Venezuela. En Colombia se encuentra en los departamentos de Antioquia, Córdoba, Sucre, Bolívar, Atlántico, Magdalena y Guajira.[5]

Tabla 1.

Clasificación Taxonómica del Corozo (Bactris guineensis)

División	Magnoliophyta
Clase	Liliopsida
Familia	Arecaceae
Especie	Bactris guineensis

Nota. Los datos aquí presentados representan la clasificación taxonómica del corozo y fueron recolectados de diferentes fuentes bibliográficas.

- **Nombre científico.** *Bactris guineensis*
- **Hojas.** Hojas pinnadas, 5-11 por tallo. Las hojas miden aproximadamente 12 pies de largo y se componen de varias filas de hojas delgadas y largas. Las inflorescencias surgen entre las hojas y miden hasta 6 pies de largo. [5]
- **Flores.** Flores de 4 a 6 mm estaminadas y pistiladas. Son plantas monoicas (flores masculinas y femeninas independientes, pero en el mismo individuo). La inflorescencia es un conjunto de flores color crema. El pedúnculo de la inflorescencia (el soporte de la inflorescencia) pedúnculo de 12.5 ± 2.0 cm de largo y un raquis de 17.3 ± 4.2 cm de largo, que tiene 22 ± 5 raquilas. [6]
- **Tallo.** El tallo está cubierto densamente por espinas mucho más cortas que las de las hojas, tiene un diámetro aproximado de 2.5 a 4 cm y 3 a 8 m de largo. [7]
- **Hábitat.** Es característico de zonas bajas y secas usualmente por debajo de 100 metros de altura, a menudo creciendo en las playas marinas. Crece bien en sectores húmedos, pero también se encuentran plantas en zonas de bosque seco tropical en partes secas y altas. comúnmente forma colonias. Su morfología le hace magnífico refugio de las aves ya que sus espinas las protegen. Resiste las quemadas y muchas veces subsiste a las inundaciones en los terrenos arcillosos.[5]
- **Grados de maduración.** La maduración de la fruta consiste en la secuencia de cambios morfológicos, fisiológicos y bioquímicos que desencadenan en la formación de un fruto adecuado para el consumo humano. En el caso del corozo para que se dé el punto óptimo para consumo la temperatura a la cual debe darse la maduración son $27\text{ }^{\circ}\text{C}$. [1] •Una fruta madura no es igual que lo era antes, además de cambiar su sabor y apariencia física, su constitución nutricional puede variar de acuerdo al proceso y temperatura de maduración.
- **Composición Nutricional.** Cuenta con vitaminas de los grupos A, B, C y E, además de minerales como el magnesio, el calcio o el hierro. El corozo tiene grandes características nutricionales y así mismo beneficiosas para la salud, debido a su alto contenido de antocianinas (un pigmento natural que da al corozo un color

característico), tiene cualidades antioxidantes, previniendo el envejecimiento precoz y el deterioro de células, además de esto tiene efectos terapéuticos como lo es en enfermedades tales como el cáncer. [7]

1.1.2 *Distribución Geográfica de la materia prima*

Crece en Colombia de forma natural en la vertiente del Atlántico, usualmente no muy adentro del continente. Es característico de zonas bajas y secas, con más frecuencia en playas marinas. Igualmente, se le encuentra en las sabanas de Córdoba, Bolívar y Sucre en tierras con problemas de drenaje. Su crecimiento se da en bosques, ciénagas, pantanos o zonas abiertas como se muestra en la Figura 1 con buena iluminación, por medio de la semilla distribuida por los animales consumidores en altimetrías de 200 a 1000 m sobre el nivel del mar, es una palma silvestre de 15 pies de altura, con un tallo de 3 cm de diámetro. Se estima que su prolongación es de 28 palmas por hectárea en bordes de ciénagas y 2,6 por hectárea en potreros. Las palmas que se encuentran localizadas en los potreros, por lo general son de menor tamaño y tienen menor cantidad de tallos, mientras que las que se descubren en los rastrojos y los bordes de ciénagas son de mayor altura y presentan muchos más tallos, hecho que puede estar asociado a que en estos sitios la presencia de ganado es más limitada.[8]

Figura 1.

Planta y tallo de la palma de la que proviene el corozo (Bactris guineensis)



Nota. La figura representa la planta y el tallo de la palma del corozo. Tomado de: "*Bactris guineensis. Hábitat and Distribution*", [En Línea]. Disponible en: https://www.palmpedia.net/wiki/Bactris_guineensis [Acceso: nov.2020].

1.1.3. Cultivo

Requiere campos abiertos con alta incidencia de luz para aumentar y tener un buen crecimiento, aunque algunas palmas crecen en zonas con sombra, pero su incremento es más lento. En general, el desarrollo y abundancia son mayores en zonas donde las superficies son arcillosas y se inundan un poco. Esta especie, al tener la posibilidad de crecer y propagarse en zonas abiertas, puede poblar potreros y zonas deforestadas, lo que le permite sobrevivir en la región Caribe a pesar del deterioro de su hábitat. [8]

1.1.4. Plantación

Esta palma tiene su natividad desde Panamá y Costa Rica y se desplaza hasta Colombia y Venezuela, en la vertiente del Atlántico usualmente no muy adentro del continente. Aumenta bien en zonas húmedas, pero incluso se encuentran plantas en zonas de bosque seco tropical en partes altas y secas. Las zonas en donde crece el corozo (*Bactris Guineensis*), se caracterizan por tener una temperatura promedio de 27 grados centígrados, una humedad relativa promedio de 85% y una precipitación entre 1500 y 2000 mm al año.[5]

Las semillas germinan bien tras seis meses de letargo y después crecen lentamente durante los primeros años. Empiezan a fructificar entre el cuarto y el sexto año, en función de la fertilidad del suelo, y por entonces tienen una altura de unos 4 m. [5]

Seguido de esto el fruto cae al suelo cuando está maduro, y se pudre rápidamente debido a la acción de hongos saprofitos, lo que produce unos niveles de acidez muy elevados en los aceites de la pulpa. La capacidad en aceite de la pulpa solamente es alta cuando el fruto está maduro, lo cual, junto a su desigual maduración y a la localización de la generalidad de los racimos en lugares de difícil acceso dentro de la copa de los árboles, dificulta la recolección de gran cantidad de fruto fresco y maduro. [8]

1.1.5. Meses de Cosecha

Florece y fructifica mientras la mayor parte del año, aunque muestra picos de producción entre el mes de junio y agosto y de noviembre a enero, estos meses del año son cuando se encuentra mayor cosecha del corozo y mayor comercialización.

1.1.6. Valor Nutricional

En su variedad el jugo de corozo o zumo tiene un gran valor, en la Tabla 2 se presentan dichas propiedades que se encuentran para este fruto.

Tabla 2.

Información nutricional (Jugo De Corozo - Corozo "Sin azúcar")

Calorías	120	Sodio	160 mg
Grasas Totales	7 g	Potasio	190 mg
Saturadas	2 g	Carbohidratos totales	0 g
Poliinsaturados	2 g	Fibra dietética	0 g
Monoinsaturados	4 g	Azúcares	0 g
Trans	0 g	Proteínas	14 g
Colesterol	25 mg		

Nota. Esta tabla muestra los valores nutricionales del corozo. Tomado de: "Calorías del jugo del corozo – Corozo (sin azúcar)", [En Línea]. Disponible en:

<https://www.myfitnesspal.com/es/food/calories/jugo-de-coroza-coroza-sin-azucar-751510551> [Acceso: nov.2020]

Al pasar de los tiempos, muchos de nuestros campesinos han encontrado distintas alternativas de uso tanto de la palma como del fruto del corozo. La palma cespitosa contiene en su tallo con espinas considerables que impiden el fácil aprovechamiento del fruto escondido entre los tallos de animales como método de defensa. Este tallo o lata ha sido usado para suplir las necesidades vitales del ser humano utilizado para la construcción de paredes, techos y cercas de viviendas, siendo esta su mayor aplicación además de estructuras de cubiertas, puentes, artesanías, muebles, instrumentos musicales y demás usos. [8]

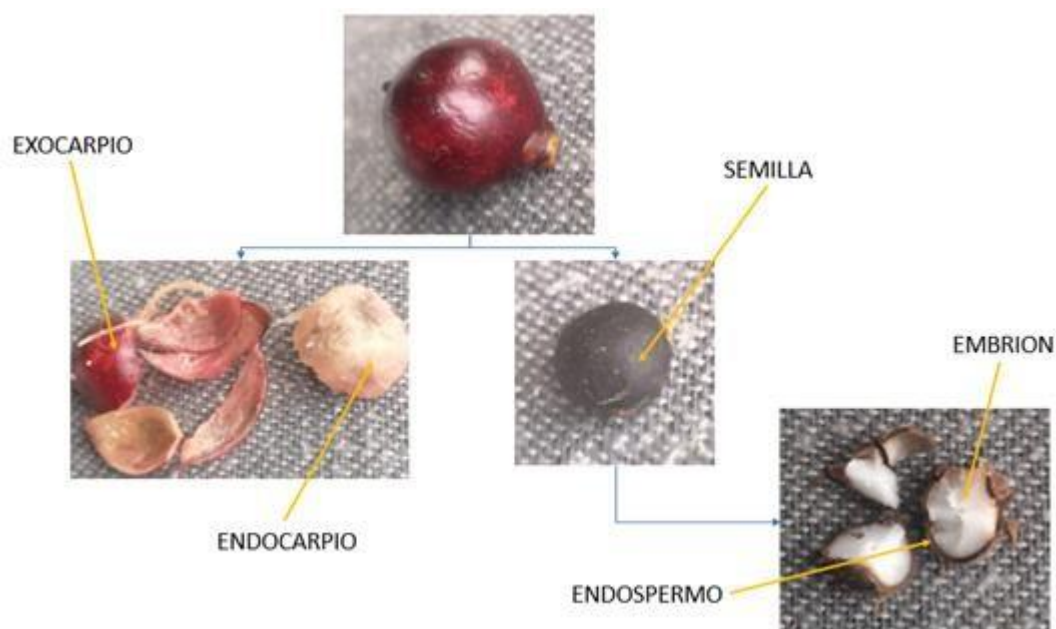
1.1.7. Morfología del Corozo (*Bactris Guineensis*)

El fruto posee forma esférica ovalada terminando en una corta punta, la cáscara es rígida fibrosa que protege la pulpa jugosa y translúcida con un gran contenido de fibra. Esta pulpa envuelve la semilla negra y resistente encerrando una especie de almendra rica en ácidos grasos [8], como se observa en la Figura 2.

- **Descripción de la materia prima:** El fruto del corozo tiene una acción antioxidante alta, por la capacidad de polifenoles presentes y especialmente de antocianinas, por tal motivo es una fuente de antioxidante naturales, útil como alimento nutracéutico, por lo tanto, beneficioso para la salud. [7]

Figura 2.

Partes del fruto del corozo (Bactris Guineensis)



Nota. Las figuras presentadas indican la estructura morfológica del fruto *Bactris guineensis*.

Este tiene un diámetro aproximado de 2 cm y 3,2g compuesto por un 28 % en peso lo que concierne a exocarpio y endocarpio y un 72 % en peso de semilla, siendo esta última una especie de almendra que contiene un embrión de color blanco en mayor proporción. [5]

1.1.8. Propiedades organolépticas

El fruto de la palma de corozo de lata muestra un característico sabor ácido, semejante al gusto ocasionado por la zarzamora, la uva y este tipo de frutas silvestres. Presenta un color predominante violáceo que puede variar su intensidad dependiendo el grado de madurez, además del nivel de contenido de antocianinas presentes las cuales generan la pigmentación del fruto.

Figura 3.

Etapas de maduración del fruto del corozo (B. guineensis)



Nota. En la imagen se observan las etapas por las que pasa el corozo para llegar a su estado óptimo de maduración. Tomado de: “*Determinación del efecto del procesamiento sobre el contenido de compuestos bioactivos, capacidad antioxidante y el perfil de compuestos polifenólicos del jugo de huiscoyol (B. guineensis). Cortés, Carolina.*”, [En Línea]. Disponible en: <http://www.kerwa.ucr.ac.cr/handle/10669/80862> [Acceso: nov.2020]

La coloración violácea es un factor que depende de la madurez del fruto, esto debido al contenido de antocianinas [2] presentes en el fruto del corozo como se muestra en la figura 3, por ende, este podría ser un factor importante en la selección del fruto para realizar un proceso de antocianinas extractivo eficiente.

La coloración rojiza oscura y púrpura en frutos como moras, arándanos rojos y azules, fresas, frambuesas, uvas, es comúnmente asociado a la alta presencia de compuestos polifenólicos de la familia de las antocianinas, tales como la pelargonidina responsable del color rojo, la cianidina a la que se le atribuye el color magenta o púrpura característica del fruto del corozo y los colores azules se le atribuyen a la delfinidina.[6]

1.2. Producción nacional

Actualmente, la palma de corozo de lata no es una plantación la cual sea considerada indispensable en la economía del país, se encuentra en aquel grupo de alimentos que no son consumidos en masa pero que son comercializados a distintas partes del país desde la costa caribe hacia las grandes ciudades.

En la región caribe colombiana la siembra no es intensificada, de por sí, las palmas se reproducen gracias a animales cazadores del fruto que esparcen la semilla o sus residuos en la tierra, de esta forma, en los meses de julio y agosto el campesino recolecta el fruto y lo vende a tiendas del pueblo, vecinos o él mismo se encarga de transformar este fruto silvestre en una refrescante bebida ideal para la temperatura característica del caribe. Es allí donde el fruto al ser calentado en medio acuoso a temperaturas elevadas para que desprenda ese sabor ácido y se disuelva en el agua mezclado con azúcar y hielo se convierte en la fuente de ingreso de algunos habitantes que viven del día a día.

Sin embargo, el campesino utiliza a su vez el tallo de la palma para la construcción de techos, paredes y cercas de viviendas, siendo esta su mayor aplicación además de estructuras de cubiertas, puentes, artesanías, muebles, instrumentos musicales y demás usos.

En cuanto a la producción nacional se estima un rendimiento de fruto de una sola planta promedia 30 kg/año y la productividad anual a través de prácticas tradicionales de cosecha es equivalente a 750 kg/ha.[6] En la Ciénaga de Zapatosa, situada entre los municipios de Chimichagua, Curumaní, Tamalameque (Cesar) y El Banco (Magdalena), se concentran cerca de 2.500 Hectáreas de cultivo de Corozo, subutilizadas y en riesgo de deforestación.[9]

1.2.1. Comercialización

En un análisis de mercados que se realizó en el 2013 se halló que un bulto de corozo es comprado por el acopiador regional directamente al cosechador por COP 5.000-8.000 en época de cosecha, entretanto que en época de escasez el precio sube hasta COP 40.000. Al alcanzar el mercado metropolitano, el valor de este bulto sube a COP 25.000

en cosecha y hasta COP 170.000 en escasez. El peso del bulto también varía, oscilando entre 40 libras cuando no hay frutos, a 100 libras cuando hay cosecha. En Bogotá la libra de corozo se vende en Corabastos entre COP 2500 y 7000.[8]

Toda la producción comercial depende de la existencia de una fuerza de trabajo muy barata que recoge principalmente fruto viejo y podrido debajo de los árboles.

2. COMPUESTOS FENÓLICOS

En este capítulo se caracterizan diferentes métodos de extracción de compuestos fenólicos (antocianinas), a partir de una revisión bibliográfica se explica cada uno de ellos, ya que el fin de este trabajo de investigación es determinar los métodos por los cuales se realiza la extracción de compuestos fenólicos (antocianinas).

2.1. Polifenoles

Según Badui, los compuestos fenólicos son sustancias con uno o más anillos aromáticos y, al menos, un sustituyente hidroxilo. Este grupo de pigmentos se divide en dos subgrupos, los ácidos fenólicos (benzoico y cinámicos) y los flavonoides (flavonoides, antocianinas y taninos).

Estos se pueden encontrar principalmente en las plantas, se consideran indispensables para las funciones fisiológicas vegetales o en defensa ante situaciones de estrés y estímulos diversos. Estos compuestos son sintetizados por las plantas en cantidad, debido a su metabolismo secundario por la ruta del ácido siquimico y la de los poliacetatos, [10] de esta última provienen los compuestos de antocianinas a través de divisiones en subgrupos.

Los compuestos fenólicos son uno de los grupos de micronutrientes que se hayan presentes en el reino vegetal, siendo importantes para la dieta tanto animal como humana. Se encuentran en un amplio grupo de sustancias químicas, los cuales son considerados como metabolitos secundarios de las plantas, estos contienen diferentes estructuras químicas y actividad, englobando más de 8.000 compuestos distintos. [11]

Estas especies son capaces de neutralizar compuestos reactivos de oxígeno y nitrógeno, esto mediante el mecanismo antioxidante de donación de átomos de hidrógeno y absorción de iones metálicos transformándolos en radicales libres estables que no intervienen en otras reacciones. [12] Estos compuestos vienen siendo considerados como antinutrientes, por el efecto adverso que causa uno de sus componentes mayoritarios, los taninos, sobre la digestibilidad de la proteína. Sin embargo, han sido valorados debido a su valor benéfico sobre la salud humana. [11]

Los ácidos de tipo fenólicos tienen un anillo y los flavonoides poseen dos anillos fenólicos, los cuales se encuentran unidos por un anillo que es de tipo heterocíclico. Los pigmentos fenólicos suelen reaccionar con un carbohidrato o un ácido orgánico, como las antocianinas y los flavonoides, o entre ellos para formar polímeros, como los taninos. [4]

Gancel y compañía evaluaron el impacto de procesos industriales, tales como el escaldado y almacenamiento a diferentes temperaturas, sobre los compuestos polifenólicos y la capacidad antioxidante del jugo y pulpa de zarzamora (*Rubus adenotrichus*). Ellos encontraron que evidentemente los procesos térmicos ejercen una reducción de los compuestos fenólicos y del color del producto, por ende, la disminución de compuestos de antocianinas. Además, observaron que, durante todo el procesamiento de la fruta, las antocianinas cianidina-3- glucósido y la cianidina-3- manoilglucósido se redujeron en 52 % y 64 % respectivamente. [13] Siendo la primera el compuesto más común en gran variedad de frutas, flores y vegetales. [14]

2.2. Antocianinas

Las antocianinas son compuestos cuyos alcances han ido más allá de ser solo pigmentos, se consideran una sustancia que puede ser potencialmente utilizada para resolver problemas de salud, sin embargo, su estabilidad ha restringido su uso en diferentes tipos de alimentos. El cuidado de la salud humana es una preocupación del mundo actual; los procesos oxidativos, mediados por la presencia de radicales libres, se asocian con enfermedades en humanos, incluyendo el cáncer y enfermedades coronarias. Tres pigmentos con características antioxidantes, flavonoides, antocianinas y carotenoides, son bases de investigación para con ellos poder disminuir la incidencia de estas enfermedades.

Este tipo de sustancia cumple un papel importante en el cuidado de la salud mejorando la agudeza visual, antiinflamatorio, reducción de las enfermedades coronarias, cáncer, diabetes, cardiovasculares, cáncer, gástricas, respiratorias, neurológicas y del sistema endocrino. [3], [15] Además de ello, las antocianinas son de interés en la industria de alimentos debido a que tienen algunas aplicaciones como colorantes naturales, de hecho

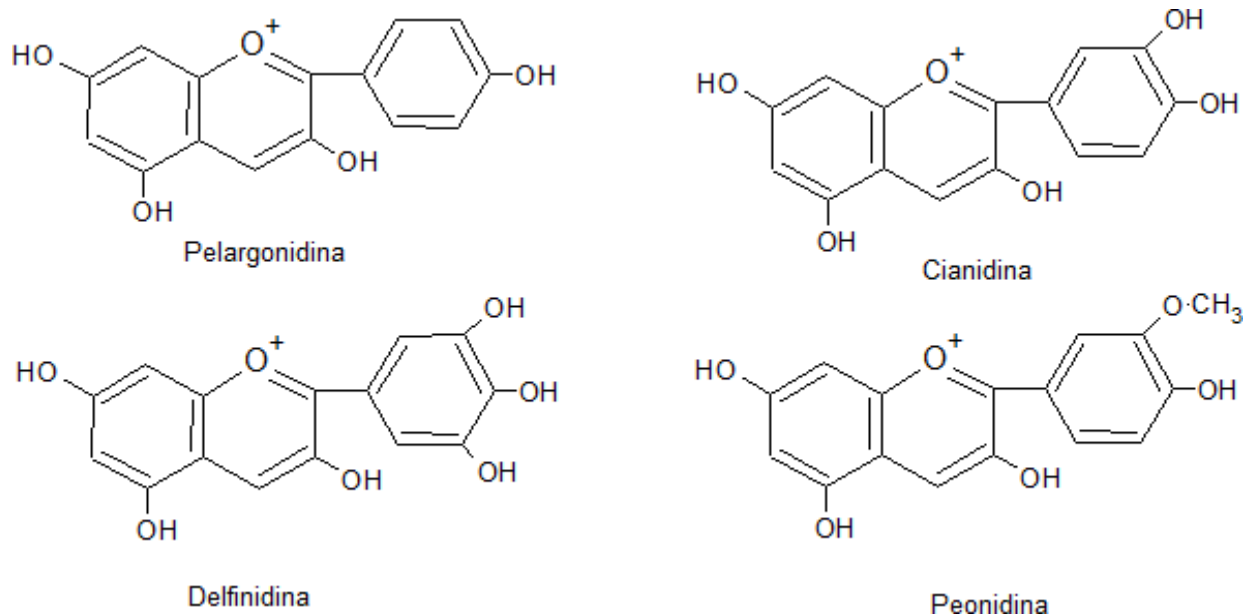
pueden ser consideradas como reemplazo potencial de los colorantes artificiales actualmente empleados en la industria. [8] Se ha considerado que se debe disminuir la demanda de colorantes artificiales por su toxicidad, en países como la Unión Europea, Chile, Colombia, Irán, Israel, Corea del Sur, Malta, Perú, Arabia Saudita y los Emiratos Árabes todos los colorantes derivados de las antocianinas son reconocidos como naturales. [16]

Las antocianinas del griego anthos (flor y kyanos, azul), son consideradas un subgrupo de los flavonoides, estas son un grupo de pigmentos que pueden ser encontradas dentro de la gama de colores de azul a rojo aportando esta coloración a algunos seres vivos del reino vegetal, pueden encontrarse en el exocarpo o el endocarpio del fruto o disueltos en la solución vacuolar de células epidérmicas, sin embargo, en algunos casos las antocianinas se localizan en regiones discretas de la vacuola de la célula, llamadas antocianoplastos.[3]

Químicamente, las antocianinas son glucósidos de las antocianidinas, es decir, están constituidas por una molécula de aglucón que se conforma por la unión de dos anillos de benceno y un heterociclo con oxígeno, a la que se le une un azúcar por medio de un enlace b-glucosídico. Se conocen aproximadamente 20 antocianidinas las cuales al ser combinadas con diferentes carbohidratos tales como la glucosa y la ramnosa, seguidos de la galactosa, xilosa, gentobiosa, rutinosa y soforosa que generan aproximadamente 300 antocianinas, las más importantes son pelargonidina, delphinidina, cianidina, petunidina, peonidina y malavidina [8], algunas de estas estructuras mostradas en la figura 4.

Figura 4

Estructura química principales antocianinas de importancia en alimentos



Nota. La figura representa algunas de las antocianinas que muestran mayor importancia en los alimentos. Tomado de: "Química de los alimentos". Cuarta Edición. Pág. 421., [En Línea]. Disponible en: http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/Libro-Badui2006_26571.pdf [Acceso: nov.2020].

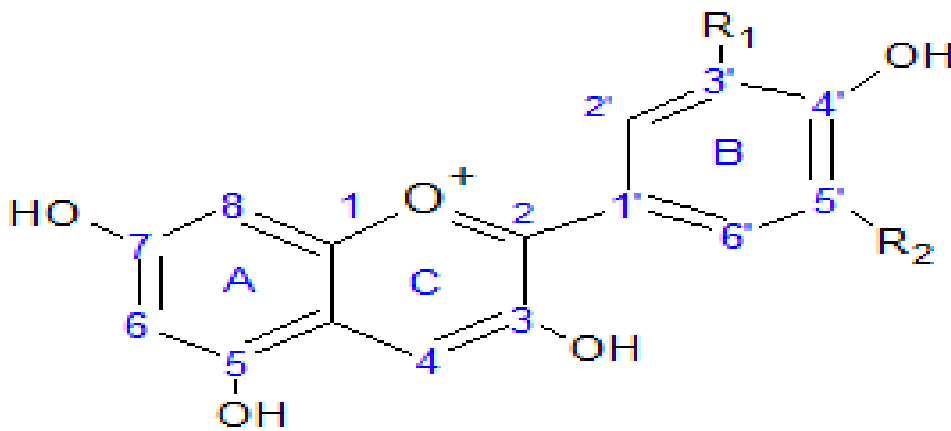
El corozo de lata es conocida a nivel científico como uno de los frutos importantes para la obtención de pigmentos naturales por su alto contenido en antocianinas termoestables, un estudio que posteriormente se describe realizado por Carolia Osorio donde se determinó el compuesto de antocianinas de mayor proporción tales como cianidin-3-rutinosido y cianidin-3-glucósido en 72,2 y 15,7%, respectivamente, seguidos de peonidin-3-rutinosido (5,1%), cianidin-3-(6-O-malonil) - glucósido (4,1%), cianidina-3-sambubiósido (1,8%) y peonidin-3-glucósido (1,1%).[14]

2.2.1. Estructura

Son las formas catiónicas de flavilo las antocianinas, estas se hayan hidroxiladas por los carbohidratos enumerados en las posiciones 3, 5 y 7, y cambian en la sustitución del anillo B como se observa en la figura 5.

Figura 5.

Estructura del grupo flavilo



Nota: La figura representa la estructura del grupo flavilo y la sustitución en el anillo B. Tomado de: "*Extraction techniques and analysis of anthocyanins from food sources by mass spectrometry: An update.*"

Página 2. [En Línea]. Disponible en:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0308814618300645> [Acceso: nov.2020].

A medida que el número de sustituyentes de la fracción antocianidina aumenta, el color del catión flavilo absorbe a mayores longitudes de onda, desde 520 nm en la antocianina pelargonidina y hasta 546 nm en la antocianina delphinidina.[4]

2.2.2. Estabilidad

Una de las razones por las cuales las antocianinas no se hayan empleado hasta el momento como colorante natural es por el hecho de su baja estabilidad y procesos difíciles de purificación para emplearlas como aditivo, el autor sugiere desarrollar extracciones alcohólicas de compuestos de antocianinas de los residuos de las industrias vitivinícola y de la de jugo de frutas como aprovechamiento a estos desechos. [4]

El núcleo de flavilo es insuficiente en electrones, es muy reactivo, igualmente la maduración del fruto afecta el cambio de pH y la estructuración de la molécula de antocianina, es decir, a pH ácido adquieren una estructura oxonio estable de catión flavilio colorido, al aumentar el pH se promueve la desprotonación del catión flavilio; con

un pH neutro o superior debido que se tiene una desprotonación continua van a predominar las formas quinoidales, en esos casos el efecto batocrómico es alto y por tanto afectará el color de tal forma que se verá una coloración azul. [4]

Así mismo, las antocianinas se degeneran por muchos factores como el incremento del pH, la exposición a temperaturas altas y la concentración de oxígeno, luz, solventes estructura química, presencia de flavonoides, proteínas, enzimas y iones metálicos; de esa forma su inestabilidad es un límite para su aplicación en la industria como colorante comercial de alimentos. [17]

Las antocianinas se pueden degenerar durante los procesos de extracción y almacenaje de los alimentos. Un factor relacionado con el color de las antocianinas es el pH y temperatura, porque en esas condiciones van a coexistir en un equilibrio varias especies. Las antocianinas suelen perder color en la disminución de la coloración de las antocianinas, esto es debido a la pérdida del azúcar glicosilante en la posición 3 de la molécula y la apertura del anillo, debido a que el equilibrio se va a ver desplazado con el incremento de la temperatura hacia las formas incoloras carbinol y chalcona,[16] a partir de la bibliografía se refleja la estabilidad de estos compuestos a los efectos del calentamiento hasta 101 °C. [2]

Las antocianinas son comúnmente estables, su estabilidad ocurre bajo condiciones ácidas. La degeneración de las antocianinas ocurrirá durante la extracción del tejido vegetal y también durante el procesado y conservación de los alimentos. [18] Cuando la antocianina tenga valores menores de 2 el pigmento se encuentra en su forma más estable, es aquí donde la mayor proporción del pigmento se encuentra en la forma del ion flavilio de color rojo intenso. Con alto pH ocurre una pérdida de un protón y se da una adición de agua en la posición número 2, esto ocasiona un equilibrio entre la hemiacetal o pseudobase y la forma chalcona (C), o de la cadena abierta. A un pH alto, aproximadamente 7, se observan formas quinoidales de color púrpura que se degeneran por oxidación con el oxígeno. [19]

2.2.3. Métodos de extracción

El proceso de extracción es una operación unitaria de transferencia de masa que permite la separación de uno o varios componentes los cuales estarán presentes en una mezcla compleja en solvente selectivo, se ponen en contacto el sólido y el solvente extractor, produciendo la transferencia de materia entre estas dos fases, en este proceso se tiene como objetivo obtener componentes específicos los cuales sean necesarios o proporcionen valor a un producto final. Este método se puede clasificar de varias formas según la naturaleza del material extraído o de acuerdo a las fases que se van a encontrar en contacto (líquido-líquido, sólido-líquido, etc.). Cuando se desea realizar una extracción a partir de material vegetal se clasifica como extracción sólido-líquido y se llevará a cabo por medio de métodos convencionales o no convencionales. [20]

Para el proceso extractivo de las antocianinas, se encontraron diferentes técnicas que mejoran la extracción para identificar y caracterizar las antocianinas y que sean utilizadas a escala industrial alimentaria. Uno de los métodos empleados para la extracción de estos compuestos bioactivos es el uso de solventes orgánicos, las características polares de las moléculas de antocianinas permiten que sean extraídas por diferentes solventes polares como acetona, metanol y agua. Esta selección de solvente debe ser cuidadosa debido a que las antocianinas son una especie altamente reactivas. [19]

En algunas aplicaciones se utilizó una mezcla de etanol y sulfato de amonio como solvente de extracción de antocianinas este proporciona un gran rendimiento de extracción disminuyendo el uso de etanol y menor tiempo de extracción. También, en el año 2017 García Mendoza realizó una extracción líquida presurizada (PLE) para obtener una alta actividad antioxidante de Jucara (*Euterpe edulis*). Además, como técnica se empleó la extracción asistida por ultrasonido utilizando la metodología de superficie de respuesta (RSM) basada en un diseño de Box Behnken.[21]

Las técnicas clásicas que se utilizaban en la extracción de diferentes componentes partiendo de materiales vegetales son la extracción por Soxhlet y Maceración. Estas técnicas vienen siendo bastante utilizadas en la obtención de compuestos bioactivos y subproductos como aceites de semillas.[22]

2.2.3.a. Soxhlet. En este método el compuesto de interés son las grasas, de estas es importante la solubilidad que van a presentar, esta es la propiedad en la que se basa. Las grasas se disuelven en solventes no polares, como lo son el hexano, cloroformo y el éter de petróleo. Cuando el alimento entra en contacto con uno de estos solventes, las grasas muestran afinidad separándose del resto de los componentes, a esto se le conoce como extracción sólido-líquido. [23]

El equipo como se muestra en la Figura 6 está integrado de abajo hacia arriba por:

1. Parrilla. Fuente de calor para evaporar el solvente.
2. Matraz. Contiene el solvente y el aceite extraído.
3. Sifón. Este es el que contiene la muestra la cual se encuentra dentro de un dedal hecho de celulosa y en este dónde ocurre la extracción sólido-líquido.
4. Refrigerante. Provee un ambiente frío en el que se condensa el solvente.

Figura 6.

Montaje del equipo Soxhlet.



Nota. La figura representa cómo se realiza el montaje de un equipo Soxhlet para una extracción sólido-líquido. Tomado de: "Elementos Químicos Ltda.", [En Línea]. Disponible en: <http://www.elementosquimicos.com.co/equipos/nacionales/soxhlet/soxhlet-extractor-de-grasas-digital-hasta-300-c-sobre-placa-2-puestos-en-acero-inoxidable.html> [Acceso: nov.2020]

El método de Soxhlet se lleva a cabo en un equipo del mismo nombre, este proceso se realiza para determinar la cantidad de grasa que contienen los alimentos. Para iniciar el proceso se toma una muestra seca, para que el agua no se combine con el solvente y no se genere una alteración en la prueba. La cantidad de muestra necesaria se especifica según el alimento que se vaya a tratar, esta muestra se coloca dentro de un cartucho en forma de dedal de celulosa, en el sifón (Figura 6). Lo que pasa en el equipo es que el solvente que se encuentra contenido en el matraz va a alcanzar su punto de ebullición con aplicación de calor, este va a subir en forma de vapor por el cuello del matraz,

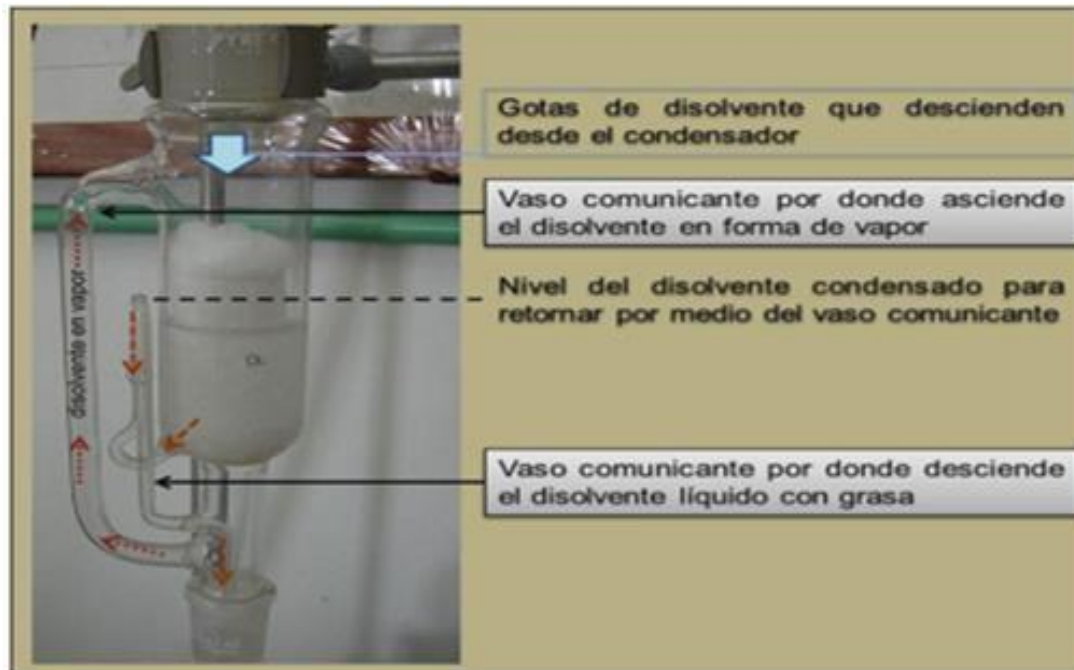
recorriendo el sifón y llegando al refrigerante. En éste, se condensa y regresa al sifón en forma líquida como se presenta en la figura 7.[23]

La condensación se va a dar de forma gradual, se puede observar en la formación de gotas que caen del refrigerante al sifón (Figura 7). De esta manera el solvente se acumula en el cartucho de celulosa, para que así entre en contacto con la muestra y los lípidos sean disueltos en el solvente y extraídos del material vegetal. En el sifón se acumula el solvente con los lípidos hasta que este logra alcanzar el nivel suficiente para volver al matraz. El solvente vuelve a recircular por el equipo, extrayendo en cada recorrido la fracción de lípidos. Conforme se repite este ciclo, se puede observar que el solvente cambia de color, lo que manifiesta la extracción de las grasas y de compuestos de color con solubilidad afín o liposoluble. Dependiendo del material vegetal y la composición que muestra, se determinará el tiempo para la extracción. La cual gasta un promedio de ocho horas. [23]

Con la extracción completa, se realiza un último paso de evaporación, para eliminar por completo el solvente. [23]

Figura 7

Descripción proceso de extracción Soxhlet



Nota. Representación del proceso de extracción sólido-líquido mediante la extracción Soxhlet. Tomado de: "SOXHLET del inventor al método", [En Línea]. Disponible en:

<https://www.sabermas.umich.mx/archivo/articulos/244-numero-29/450-soxhlet-del-inventor-al-metodo> [Acceso: nov.2020].

Con los métodos de extracción se desea evaluar cuál de ellos es con el que se obtiene el extracto más rico en antocianinas y flavonoles, ya que el método por solventes soxhlet es utilizado en la extracción de antioxidantes, porque este presenta características que permiten purificar, concentrar y separar la sustancia de interés (antocianinas) además de ser más efectivo y económico. [24]

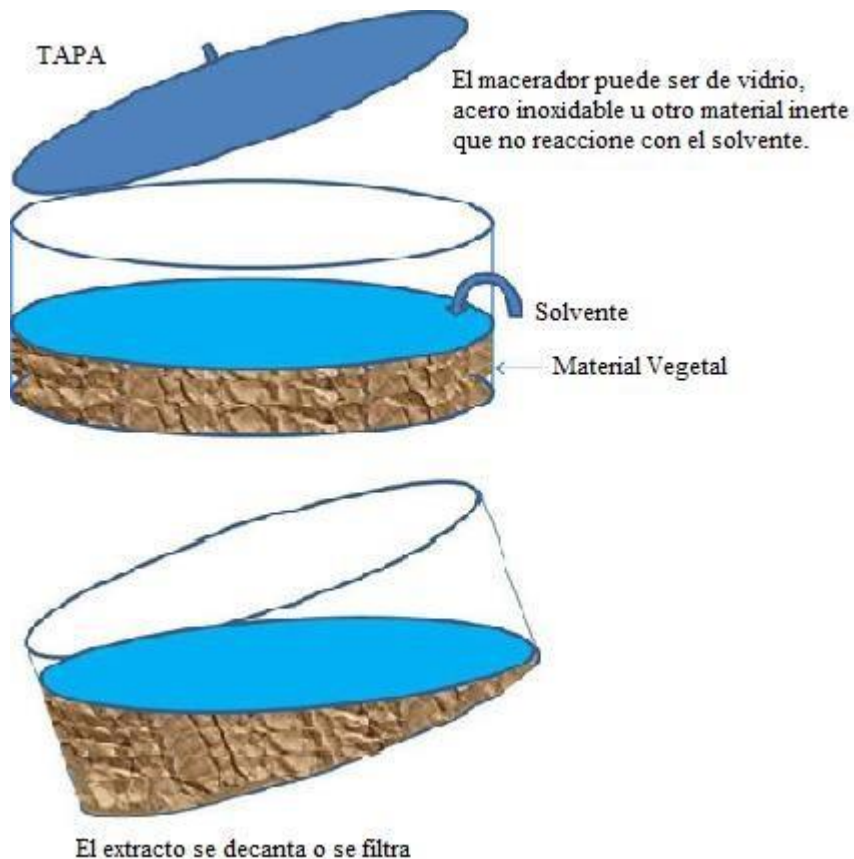
2.2.3.b. Maceración. El método de la maceración se utiliza para la extracción sólido-líquido a partir de material vegetal, como se muestra en la Figura 8, por medio de este proceso se puede realizar la extracción de compuestos antioxidantes, este proceso genera dos productos que se pueden emplear dependiendo la necesidad.

Existen dos métodos de maceración dependiendo la temperatura estos se dividen en:

- **Maceración en frío.** Este método consiste en sumergir el material vegetal a macerar en el recipiente en una cantidad de solvente que cubra todo el producto que se va a macerar. Se lleva a cabo en un rango de tiempo extenso, esto dependiendo de la materia prima a macerar. Las ventajas de este proceso consisten en la utilización de equipos simples que requieren bajas cantidades de energía y en la capacidad de extraer la mayor cantidad de propiedades del material a macerar, puede ser en su totalidad sin alteraciones por temperatura.
- **Maceración con calor.** Consiste en poner en contacto las fases, el material a macerar junto con el solvente; en este proceso se lleva a cabo la variación de la temperatura y pueden variar las condiciones de la maceración. En el caso de la maceración en calor respecto a maceración en frío la diferencia varía respecto al tiempo ya que para la maceración con calor se emplea la utilización de calor para acelerar el proceso. Tiene como desventaja que no logra extraer la esencia pura del producto, debido a que puede destruir algunas de las propiedades, esto ocurre cuando se presentan compuestos que se ven afectados por la temperatura. [25]

Figura 8

Descripción proceso de maceración



Nota. La figura representa la descripción de una extracción sólido - líquido por medio de una maceración. Tomado de: "Maceración", [En Línea]. Disponible en: <https://www.plantas-medicinal-farmacognosia.com/temas/m%C3%A9todos-de-extracci%C3%B3n/maceraci%C3%B3n/> [Acceso: nov.2020].

Estos métodos de extracción tienen como ventaja el bajo costo del montaje de la unidad extractora y como desventajas, los altos tiempos de extracción, el uso de grandes cantidades de solventes, su baja selectividad, la necesidad de realizar una etapa posterior de evaporación del solvente y la posible descomposición de los compuestos lábiles, por tal razón actualmente se opta por realizar métodos no convencionales para hacer la extracción de antocianinas.[22]

Un cuadro comparativo de las ventajas y desventajas de estos métodos se encuentran a continuación en la Tabla 3.

Tabla 3

Ventajas y desventajas de los métodos de extracción Soxhlet y Maceración.

Método	Ventajas	Desventajas
Soxhlet	El solvente y la muestra están en contacto íntimo y repetido de manera que se mejora muchísimo la extracción porque siempre se emplea un solvente limpio.	No aplicable a alimentos que tengan grasas recubiertas (productos lácteos).
	El solvente proviene de una condensación, proceso en el cual pasa a líquido y se mantiene caliente, de tal forma que se favorece la solubilidad del analito.	Es un proceso extremadamente lento e imposible de acelerar, requiere un tiempo mayor a 4 horas.
	No se requiere filtración posterior. El solvente orgánico se evapora quedando solo analito.	Se requiere gran cantidad de solvente 300 mL por cada 20g de muestra.
	Gran capacidad de recuperación.	Inaplicable a analitos termolábiles, que se descomponen con el calor o reaccionan.
	Instrumentación simple.	Necesidad de etapa final de evaporación.
Maceración	Método de extracción directa aplicable a alimentos en general.	Se requiere gran cantidad de solvente.
	El proceso se realiza a temperatura ambiente por lo tanto no hay degradación de compuestos.	Necesidad de etapa final de evaporación.
	Se puede realizar con agitación magnética o sin esta.	
	Se logra extraer todas las propiedades de lo que se macera.	

Nota. La tabla describe las ventajas y desventajas de los métodos de extracción convencionales. Tomado de: "EXTRACCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE LA OLEORRESINA DEL ORÉGANO (*Origanum vulgare*)", [En Línea]. Disponible en: <http://repositorio.utp.edu.co/dspace/bitstream/handle/11059/1839/6650282S159.pdf;jsessionid=6DD9FCC05F659C2AA7D8CED1614FF377?sequence=1> [Acceso: nov.2020]

Observando lo que presenta la tabla 3 y haciendo una comparación entre métodos extractivos convencionales como soxhlet y maceración para la extracción sólido-líquido, se logra inferir que no existe mayor diferencia en cuanto a rendimientos obtenidos por distintos investigadores, sin embargo, el método de Maceración muestra ligeramente mayores resultados en cuanto a compuestos de antocianinas extraídas, es así como se muestra en el artículo desarrollado por Nyi Mekar e Irma Herawati [26] en donde realizan la comparación de distintos métodos en los cuales se incluyen soxhlet, maceración, percolación y extracción con reflujo. Allí se extraen antocianinas de la piel de cebolla donde la maceración y soxhlet permiten obtener 1.463 ± 0.013 mg/g y 0.218 ± 0.021 mg de antocianinas por g de materia prima respectivamente. [26]

En otra investigación realizada por Priscilla C. Veggi y Diego T. Santos [27] donde analizan la extracción de antocianinas de Jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*) por métodos convencionales se logra evaluar los rendimientos de cada una de las alternativas de extracción, siendo el uso de líquidos a alta presión la que presenta mayores rendimientos (13.1 %), seguido de asistencia por ultrasonido (11.93 %), soxhlet (9.92 %) y maceración (9.01 %). De allí se deduce que estos últimos no presentan mayor divergencia en cuanto a posibles rendimientos obtenidos en la extracción de antocianinas de material vegetal.

Según los antecedentes respecto a la obtención de antocianinas del fruto de Corozo, la maceración ha tenido mayor participación en dicha extracción desarrollada por varios investigadores variando las condiciones del proceso como el tipo de solvente empleado, la temperatura y la presión.

2.2.3.c. Extracción con solventes. Este método extractivo consiste en que a partir de una matriz sólida o líquida, dando aprovechamiento a las diferencias de solubilidad de los componentes que se encuentran presentes en la mezcla, y con esto poder separarlos con un solvente adecuado; normalmente, la extracción de estos compuestos de interés se ha realizado mediante técnicas donde se emplean solventes como: agua, metanol, etanol, acetato de etilo, entre otros; con la desventaja de que se obtiene un bajo rendimiento del proceso.[14]

Actualmente, para la obtención de antocianinas se utilizan diferentes solventes con el fin de lograr mayor eficiencia y rendimiento intentando evitar consecuencias relacionadas con la salud, el medio ambiente debido a su toxicidad. En la tabla 4 se describe la combinación y concentración de solventes mayormente utilizados en la extracción de antocianinas seguido de sus características y efectividad.

Tabla 4.

Solventes empleados para la extracción de antocianinas.

Solventes	Características
0.001% HCl en metanol	Este es el solvente más común para extracción, pero el HCl es corrosivo y el metanol tiene efectos tóxicos en la salud humana.
0.001% HCl en etanol	80% tan efectivo como el metanol
0.001% HCl en agua	27% tan efectivo como el metanol
Metanol acidificado con ácido cítrico	Este es el más eficiente de los ácidos orgánicos
Agua acidificada con ácido acético	En eficiencia es seguido por el ácido cítrico, tartárico y clorhídrico.
Agua con 1000 ppm de SO ₂	La extracción es mejor que la obtenida por el uso de la extracción tradicional los cuales implica sistemas de etanol: ácido acético: agua.

Nota. La tabla muestra los diferentes solventes que se utilizan en los métodos de extracción además de sus características y efectividad. Tomado de: "*Determinación de antocianinas, fenoles totales y actividad antioxidante en licores y fruto de mora.*", [En Línea]. Disponible en: Delgado-Vargas et al., 2000. [Acceso: nov.2020].

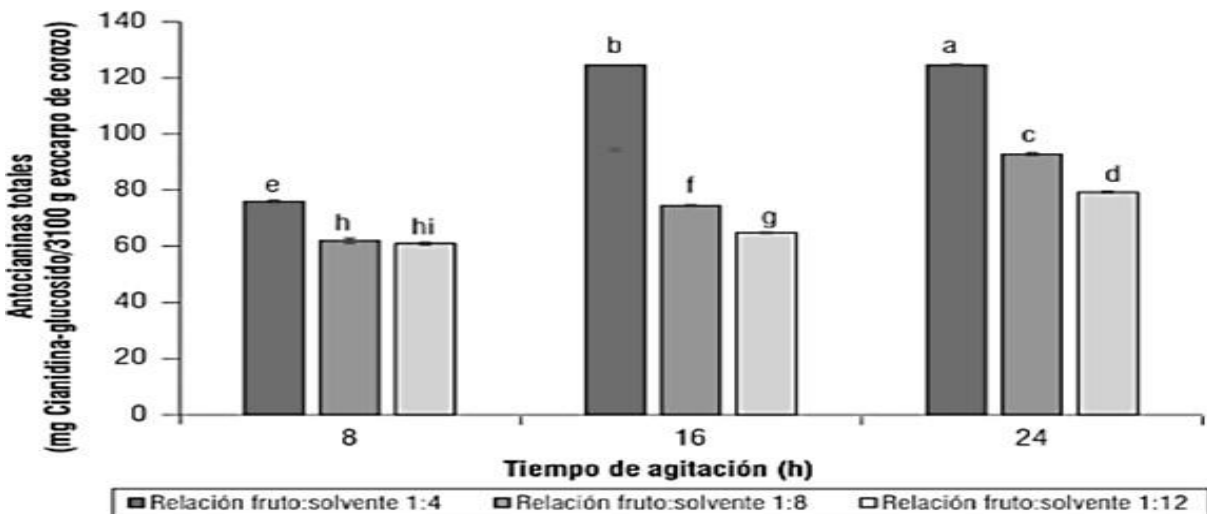
La extracción de antocianinas es comúnmente llevada a cabo con metanol o etanol mezclado con HCl al 1% con el objetivo de obtener la forma del catión flavilio, el cual es estable en un medio altamente ácido.[3] Sin embargo, el uso de HCl concentrado puede desestabilizar la molécula de antocianina, por ende se recomienda la extracción con ácidos débiles como ácido fórmico, ácido perclórico y ácido acético.[28] La molécula de

antocianina, así como los flavonoides en general, se componen de anillos aromáticos que contienen grupos sustituyentes polares (hidroxilo, carboxilo y metoxilo) y glicosilo que generan una molécula polar, por ende, la adición de agua puede mejorar el rendimiento extractivo. [29]

A partir de la revisión bibliográfica, se obtuvo las condiciones apropiadas para la extracción de compuestos de antocianinas del fruto de *B. guineensis*. A partir de 180 g de fruto, específicamente del exocarpo, haciendo uso de solventes como etanol y ácido cítrico en concentraciones de 19:1 respectivamente, se encuentran los compuestos fenólicos. Se encuentra mayor concentración de antocianinas después de 24 horas en agitación constante en una relación de solvente y materia prima de 1:4 respectivamente, además de llevar el extracto a la filtración a vacío y conservación a -30 °C. [30]

Figura 9.

Antocianinas totales vs tiempo de agitación



Nota. Esta figura representa las antocianinas totales cuantificadas contra el tiempo. Tomado de: "Evaluation of antioxidant components of ethanol extracts of the corozo exocarpo (*Bactris guineensis* L.) Bermúdez, Diaz, Fuenmayor (2016) - *Agronomía Colombiana*, (34), 5", [En Línea]. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/313988631_Evaluation_of_antioxidant_components_of_ethanol_extract_of_the_corozo_exocarpo_Bactris_guineensis_L [Acceso: nov.2020].

En la figura 9 se puede evidenciar la cantidad de antocianinas obtenidas en diferentes tiempos de agitación dependiendo la cantidad de solvente utilizado para la extracción estudiada por Bermúdez María y compañía. Esto indica que una mayor concentración del producto, en este caso del exocarpo del corozo, con relación a la cantidad de solvente, va a favorecer el alcance de un valor de concentración de compuestos en la fase líquida más cercano al punto de saturación, o una mayor rapidez en el alcance del punto de equilibrio entre las fases sólida y líquida. [21]

Existen otros métodos de extracción que son aquellos métodos extractivos que aún no han sido empleados de forma masiva, pero tienen un enfoque a nivel industrial importante debido a la eficiencia y rendimiento en los resultados. En las últimas décadas se han desarrollado varias técnicas nuevas para la extracción de solutos de matrices sólidas, entre ellas se tiene: la extracción asistida con microondas, la extracción asistida con ultrasonido, la extracción con fluidos supercríticos y la extracción con solvente acelerado, con el objetivo de recortar el tiempo de extracción, aumentar el rendimiento de extracción, disminuir el consumo de solvente y mejorar la calidad del extracto. [31]

Se han desarrollado investigaciones, que, en el campo de la transferencia de materia, corresponde a las distintas alternativas de extracción y obtención de compuestos de antocianinas descritas en este capítulo.

2.2.3.d. Fluidos a alta presión. Para las extracciones con fluidos a alta presión, se ha mostrado una reducción de los tiempos que dura la extracción y de la cantidad de solvente que se utiliza en el proceso, además se ha estudiado el efecto de la presión sobre la selectividad en la obtención de compuestos específicos (fenólicos) en comparación con los métodos convencionales. [20]

En la actualidad existen dos métodos de extracción con fluidos a alta presión, la extracción con fluidos supercríticos (SFE) y extracción con líquidos a alta presión (PLE) [22] Sin embargo, se han desarrollado únicamente procedimientos extractivos de antocianinas del fruto del corozo empleando fluidos supercríticos ya que el uso de CO₂ como solvente ofrece distintas ventajas, incluida la reducción del consumo de solvente líquido y el tiempo de extracción, la prevención de la degradación de compuestos

sensibles y la potenciación de los fenómenos de transferencia de masa aumentando así el rendimiento del proceso. [32]

- **Extracción con fluidos supercríticos (SFE)**

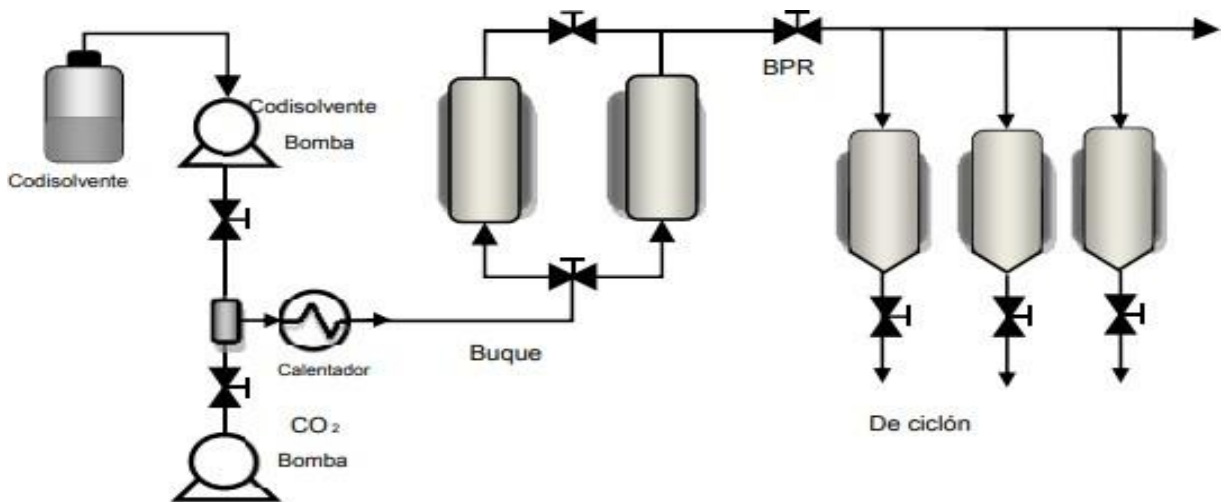
Estos fluidos supercríticos poseen la capacidad de realizar la extracción de algunos compuestos químicos, usando determinados solventes específicos, combinando presión y temperatura. [31] Los fluidos supercríticos se utilizan en la extracción de compuestos de diferentes matrices alimentarias de origen vegetal. Dentro de los fluidos más utilizados se encuentra el dióxido de carbono (CO_2), porque este es un compuesto seguro, no es tóxico, tiene un alto poder de solubilizar y proporciona altas tasas de transferencia de masa.

El fluido supercrítico posee propiedades similares a los gases en cuanto a la difusión, viscosidad, tensión superficial, densidad similar a un líquido y poder de solvatación lo que permite la extracción de compuestos antioxidantes en poco tiempo con mayor rendimiento. [33]

Un proceso de extracción de compuestos fenólicos con SFE actualmente se encuentra a nivel de planta piloto con la implementación de un sistema fraccionado ya que se ha demostrado ser exitoso para fraccionar fenoles de diferentes materias primas con alto contenido de antocianinas.[32] El proceso extractivo contiene dos recipientes de extracción de una capacidad de 5 L provistos de una camisa térmica y dos bombas de alta presión donde serán cargados los agentes extractivos como se muestra en la figura 10. Para este método, a partir de la revisión bibliográfica, las condiciones óptimas de extracción de 329.88 mg GAE / g de compuestos fenólicos a partir de 200 g de exocarpio del fruto con CO_2 , etanol y agua en proporciones de 50:25:25 respectivamente a 200 bar, 110° C Y 10 g/min durante 3 horas de proceso.

Figura 10.

Diagrama proceso extractivo de compuestos fenólicos.



Nota. En el diagrama se presentan las etapas que se realizan para un proceso de extracción de compuestos fenólicos. Tomado de: "High-pressure Fractionation of Tropical Fruits with Potential Antibacterial Activity: *Mangifera Indica L.* and *Bactris Guineensis*." Ponce, Varela, Gil and 3 more. (2019) - Chemical Engineering Transactions, 75, 55-60, [En Línea]. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/333507150_High-Pressure_fractionation_of_tropical_fruits_with_potential_antibacterial_activity_Mangifera_indica_L_and_Bactris_guineensis [Acceso: nov.2020]

2.2.3.e. Tecnología de Ultrasonido. Además de los procesos tradicionales como la maceración y el proceso soxhlet, nuevas tecnologías vienen siendo aplicadas para obtener mayor rendimiento y eficiencia en los procesos de extracción de antocianinas como la homogeneización ultrasónica, esta se utiliza para aislar sustancias bioactivas de material vegetal, como lo desarrolló Gregorio Díaz en su investigación de extracción de antocianinas del ñame morado [34], permitiendo alcanzar una reducción de partículas blandas y duras por intensas fuerzas de cavitación, ocasionando con esto la aceleración de los procesos de extracción y mejoran los procesos de transferencia de masas a bajas intensidades sónicas.[34], [35].

La extracción de antocianinas sólido-líquido asistida por ultrasonido se ha demostrado como un método de extracción eficaz y que ahorra tiempo. La potente fuerza ultrasónica proporciona la energía para la extracción, por lo que no es necesario tanto o incluso nada

de solvente. La temperatura puede controlarse bien ya que el reactor de lote o de celda de flujo sometido a ultrasonidos puede enfriarse de manera eficiente (o calentarse si es necesario). [36]

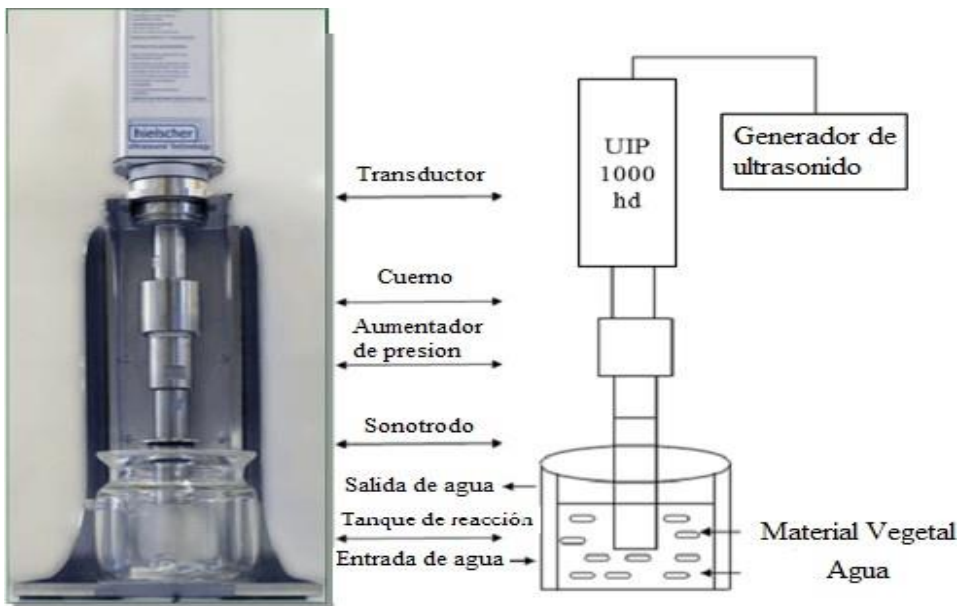
La extracción asistida por ultrasonidos ocasiona la liberación de las antocianinas de buena calidad del material vegetal, produciendo mayor rendimiento y un proceso con tiempo de extracción menor. La sonicación es una técnica ecológica y eficiente para producir industrialmente antocianinas de grado farmacéutico o alimentario. [37]

Dentro de la aplicación de este método para la extracción de antocianinas se tienen las siguientes ventajas de extracción por ultrasonidos: [37]

- Mayor rendimiento
- Proceso de extracción rápida - el tiempo de extracción es menor.
- Extractos de alta calidad - la extracción es suave, y no es térmica a menos que se requiera.
- Solventes verdes (ej.: agua, etanol, glicerina, aceites vegetales, etc.)
- Operación fácil y segura
- Bajos costos de inversión y operación
- Robustez y bajo mantenimiento
- Método ecológico y respetuoso con el medio ambiente

Figura 11

Extracción asistida con Ultrasonido.



Nota. La figura representa el equipo utilizado para la extracción asistida con ultrasonido. Tomado de: "Extracción ultrasónica de antocianinas.", [En Línea]. Disponible en: [UIP1000hd-boldo-extraction-batch-Petigny-et-al.-2013-opt.png \(505x450\) \(hielscher.com\)](http://hielscher.com) [Acceso: nov.2020]

2.2.3.f. Tratamientos enzimáticos. El método de tratamiento con enzimas, no produce contaminación en el medio ambiente, al no producir componentes volátiles. Principalmente la acción de las enzimas se basa en la hidrólisis de los componentes de las semillas y estas necesitan un ambiente acuoso y un tiempo adecuado de contacto, con una temperatura y pH apropiado.

El método enzimático se contempla por las ventajas que proporciona al proceso termomecánico en las pulpas de fruta. Debido a que la hidrólisis enzimática de la pared celular incrementa el rendimiento de extracción del jugo, y como consecuencia libera componentes fenólicos al jugo, también reduce azúcares, materia seca soluble y ácidos galacturónicos en diversos productos. La pulpa resultante tiene una viscosidad menor y la cantidad de desperdicio se reduce. [38]

Los tratamientos enzimáticos implican una extensa degradación de celulosas y pectinas que conforman las paredes celulares del fruto. Hoy por hoy se están usando pectinasas y celulasas en la industria de procesamiento de frutas, debido a que no sólo facilita el prensado, sino también asegura la mayor calidad posible en los productos vegetales tratados. Estas enzimas favorecen al ablandamiento de los tejidos y a la liberación de compuestos que se encuentran atrapados en las células. [38]

A pesar de que la extracción de antocianinas se pueda realizar por tratamiento de enzimas, este método casi no ha sido empleado ya que los resultados que se pueden obtener no van hacia la obtención de antocianinas, si no en general a la obtención de compuestos presentes en el fruto, igualmente al ser un método de extracción y estar evaluando los mismos se tomó como referencia en el presente trabajo.

2.2.3.g. Tecnología de microondas (MAP) y de pulso eléctrico. La tecnología de alta eficiencia se encuentra en los Procesos Asistidos por Microondas (MAP). En las aplicaciones desarrolladas hasta ahora han probado una disminución clara en los requisitos de energía hasta del 90% en comparación con los procesos convencionales. La extracción "MAP" es más eficiente que otros procesos de extracción como lo son los métodos de extracción convencionales (Soxhlet y Maceración en frío), ya que su mecanismo de calefacción localizada por dentro de los tejidos vegetales es más eficiente comparado a una calefacción general de todo el sistema de extracción que ocurre en los otros procesos. [39]

La extracción asistida por microondas es también aplicada en procesos de extracción de antocianinas provenientes de un material vegetal, las ondas electromagnéticas interaccionan con las moléculas de agua en el alimento las cuales vibran o rotan por efecto de las microondas lo cual genera calor y pueden favorecer los procesos de difusión de diversos componentes a la fase líquida. [35]

Las microondas se destacan por ser ondas de alta frecuencia electromagnética que se encuentran en un rango de frecuencia entre 0.3 - 300 GHz (entre las regiones de radiofrecuencia e infrarroja). Una de las principales diferencias que muestra esta técnica con otras es que, a diferencia del calentamiento convencional, el microondas es una técnica en la cual el calentamiento aparece en el núcleo del objeto y se va a extender desde el

interior al exterior del material. Este calentamiento está relacionado con la resistencia de la disolución al flujo de iones producidos por la conducción iónica, al igual que ocurre en la rotación dipolar, dónde el realineamiento de los dipolos frente al campo aplicado produce el calentamiento de la misma. Este se ha empleado para extraer compuestos fenólicos y antocianinas en brócoli, cereales, arándanos entre otras.[40]

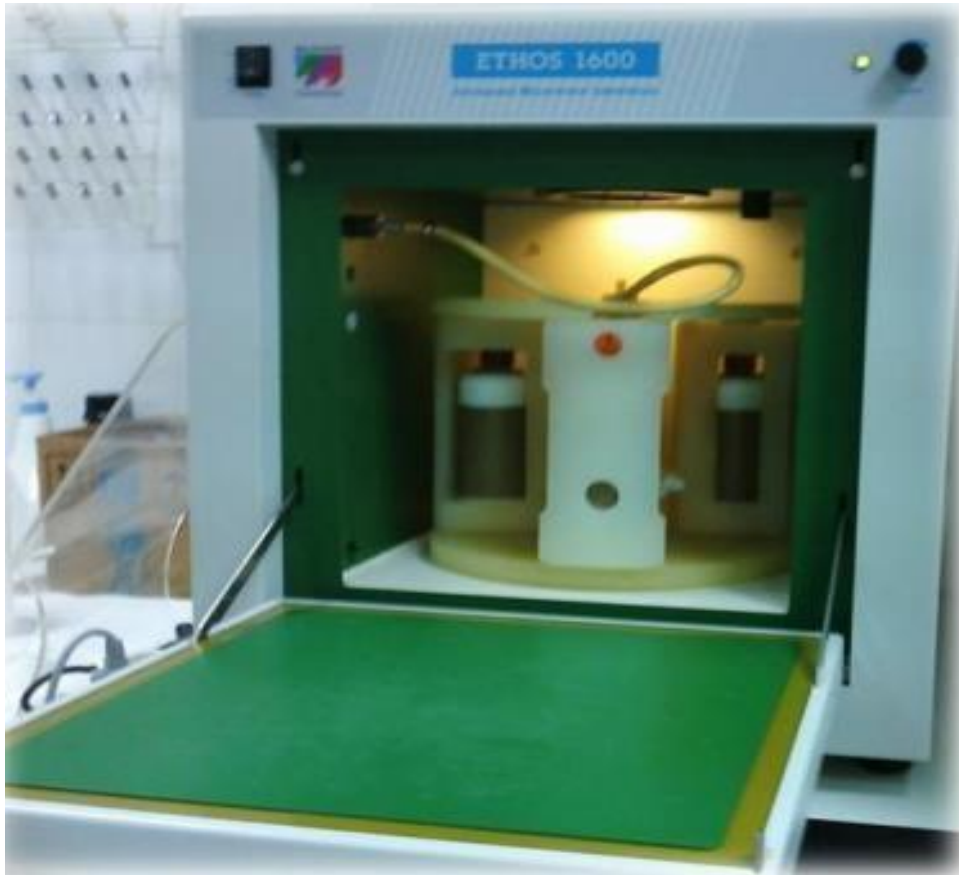
El desarrollo de la extracción asistida por microondas se puede realizar mediante un sistema de extracción ETHOS 1600 (Advanced Microwave Labstation de Milestone, Shelton, CT, EE.UU.) [40]

En la figura 12 se observa que el sistema cuenta con:

- Un panel de control que permite seleccionar las condiciones a las que se llevara a cabo la extracción y el funcionamiento.
- Un carrusel giratorio para ubicar hasta 10 cámaras de extracción.
- Un sistema de agitación magnética que se encuentra acoplado al sistema de extracción.
- Un sistema de seguridad para evitar la sobrepresión de la cámara de extracción.
- Un software de control del equipo denominado "EasyWave".
- Una sonda de control de temperatura.

Figura 12.

Extracción asistida con tecnología de microondas.



Nota: La figura representa el equipo utilizado para realizar la extracción asistida con microondas. Tomado de: "*Desarrollo de Técnicas de Extracción y Análisis de Polifenoles y Antocianos en Açai (Euterpe olearacea)* ", [En Línea]. Disponible en: [\(Desacnicas'de'extracción'y'análisis'de'polifenoles'y'antocianos'en'acai'\(Euterpe'olearacea\) \(uca.es\)](https://www.uca.es/~desacnicas/de/extracción'y'análisis/de/polifenoles'y'antocianos/en/acai'(Euterpe'olearacea)) [Acceso: nov.2020].

2.2.4. Métodos de separación y cuantificación

A continuación, se describen algunos métodos de cuantificación y caracterización que emplean solventes para la obtención de compuestos de antocianinas pero que a su vez esta se favorece por la ayuda de tecnología cromatográfica, como es el caso del método de cromatografía a contracorriente (CCC) y sus derivados, estos métodos son:

- Cromatografía a contracorriente a altas velocidades (HSCCC),
- Cromatografía en contracorriente rotatoria de baja velocidad (LSRCCC),
- La técnica de cromatografía de contracorriente de alto rendimiento,
- El uso de membranas cromatográficas
- La cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC).

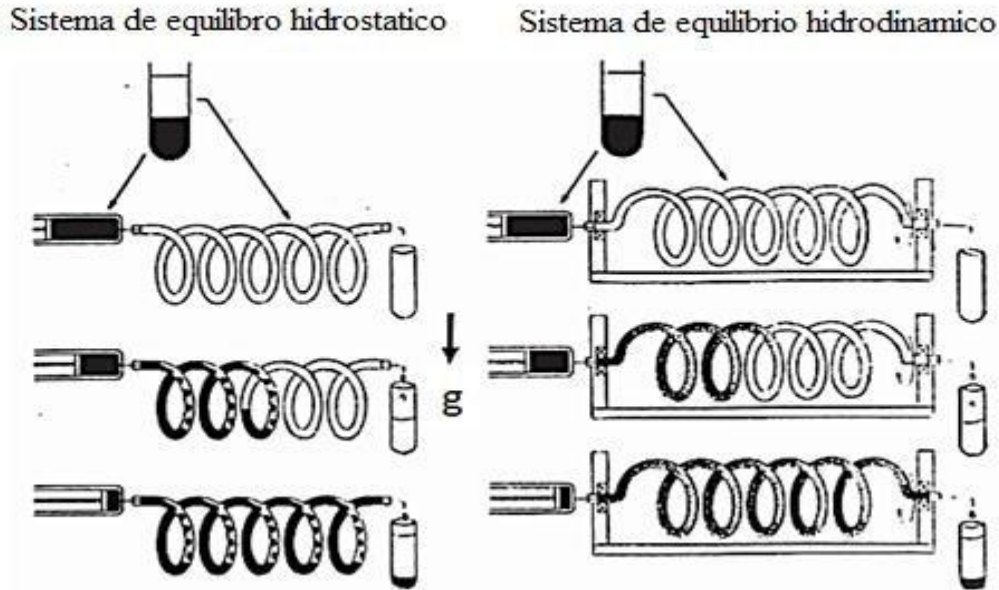
2.2.4.a. Método cromatografía en contracorriente (CCC). La cromatografía en contracorriente (CCC) es una cromatografía de partición líquido que utiliza dos fases de solvente inmiscible en las que actúa como una fase estacionaria y la otra como fase móvil. Esta técnica de extracción utiliza el principio de Nernst en el que se puede observar una distribución de soluto entre solventes inmiscibles. [41]

Este sistema de separación ofrece altos rendimientos favoreciendo la pureza de la sustancia a separar, además de eso, no utiliza un soporte sólido como fase estacionaria por lo que se evita adsorción y la formación de sustancias indeseadas que reduzcan el proceso extractivo. [42]

Los sistemas CCC pueden funcionar en dos modos: sistema de equilibrio hidrostático (HSES) y sistema de equilibrio hidrodinámico (HDES), como se muestra en la figura 13. [41]

Figura 13.

Representación del funcionamiento de la técnica de cromatografía en contracorriente



Nota. La figura representa el funcionamiento de la técnica cromatografía. Tomado de: "Anthocyanins and Copigments From Fruits, Vegetables and Flowers: Characterization, Separation and Isolation by Membrane and Countercurrent Chromatography", [En Línea]. Disponible en: <https://www.amazon.com/-/es/Miriam-Rodriguez-Werner/dp/3736994265>, [Acceso: nov.2020]

El sistema de equilibrio hidrostático (lado izquierdo de la figura 13) utiliza un tubo en espiral estacionario que contiene dos fases, este llena una fase del sistema de solvente, luego la otra fase se introduce en un extremo de la bobina, esta fluye hacia la primera fase en el lado frontal de la bobina, luego se combinan las dos fases y sube la bobina a la siguiente vuelta. Este procedimiento se repite constantemente dejando partes estacionarias de la primera fase en todas las bobinas. El soluto introducido se separa según sus coeficientes de partición. [41]

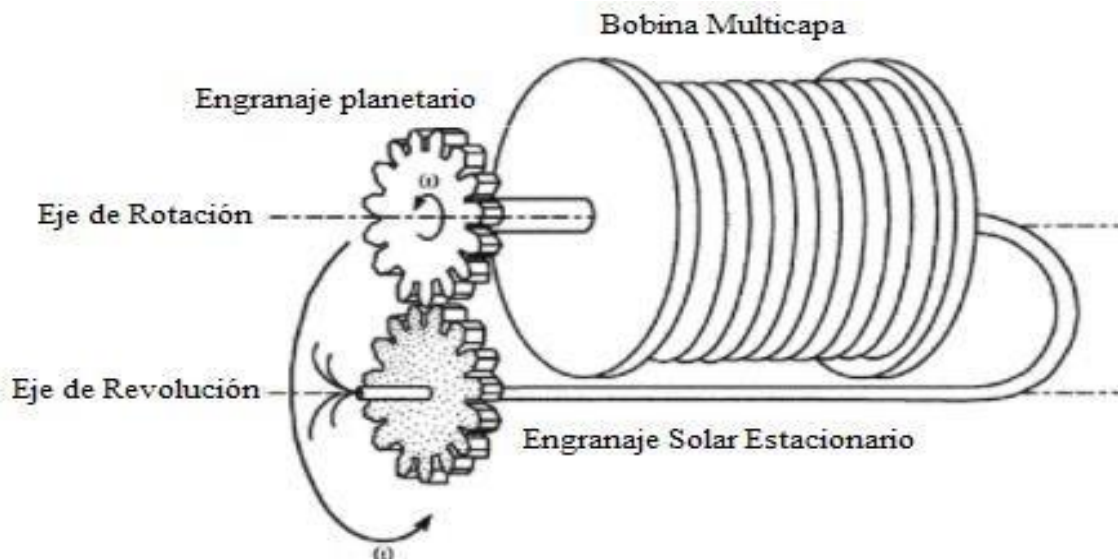
En cuanto al sistema hidrodinámico, es similar al principio hidrostático, pero la diferencia es que el tubo enrollado se mueve con una rotación lenta alrededor de su eje

(figura 13, derecha) según la fuerza del tornillo de Arquímedes. La fase móvil se introduce en la cabeza del tubo enrollado, luego fluye y se mezcla con la fase estacionaria y se produce el equilibrio hidrodinámico. La mitad de la fase estacionaria se retiene en el tubo enrollado mientras se mezcla continuamente con la fase móvil. En consecuencia, existen procesos de partición más eficientes. [41]

2.2.4.b. Cromatografía a contracorriente a altas velocidades (HSCCC). La cromatografía a contracorriente a altas velocidades es una técnica de cromatografía líquida que se basa en la separación de mezclas binarias de líquidos inmiscibles sin soporte sólido. Al igual que la cromatografía de partición centrifugada (CPC) se ha convertido en una de las técnicas principales de cromatografía a contracorriente, estas dos versiones difieren en la forma en que crea el campo de fuerza que mantiene en su lugar uno de los líquidos. [12]

Figura 14.

Funcionamiento de cromatografía a contracorriente a altas velocidades (HSCCC)



Nota. La figura representa el equipo utilizado para este tipo de extracción. Tomado de: "Anthocyanins and Copigments From Fruits, Vegetables and Flowers: Characterization, Separation and Isolation by Membrane and Countercurrent Chromatography", [En Línea]. Disponible en: <https://www.amazon.com/-/es/Miriam-Rodriguez-Werner/dp/3736994265>, [Acceso: nov.2020]

El método se basa en la partición de la muestra entre dos solventes inmiscibles según los respectivos coeficientes de partición. En la bobina generalmente se introduce la fase destinada a ser la fase estacionaria y la fase móvil se bombea al final de la columna. Sin embargo, el sistema de solventes debe evaluarse para cumplir con algunos requisitos. Por ejemplo, la estabilidad y solubilidad en el sistema solvente, la formación de dos fases con proporciones de volumen adecuadas, la retención aceptable de la fase estacionaria (entre 50 y 90%), así como un coeficiente de reparto apropiado (K). [41]

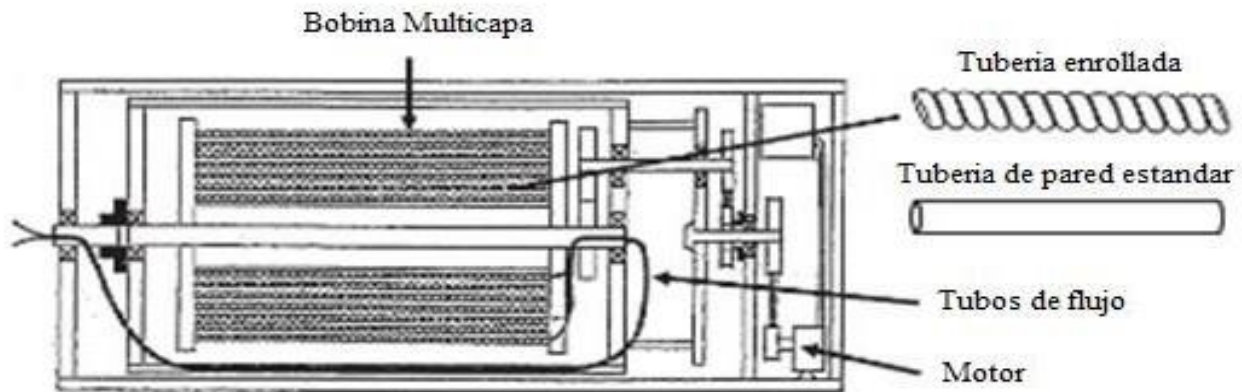
Para la extracción de compuestos de antocianinas del fruto de *B. guineensis* las condiciones operativas se emplea metanol y ácido acético como solventes en proporciones de 19:1 a temperatura ambiente durante 12 horas. Dicho extracto es asistido por HSCCC para aumentar el rendimiento extractivo de antocianinas. [14]

2.2.4.c. Cromatografía en contracorriente rotatoria de baja velocidad (LSRCCC). La cromatografía en contracorriente rotatoria de baja velocidad se basa en un equilibrio hidrodinámico y utiliza una columna en espiral multicapa. En los sistemas LSRCCC, se requiere el uso de tubería enrollada porque proporciona mayores retenciones de fase estacionaria que la tubería de pared estándar como se muestra en la figura 15. [41]

Estudios sobre aislamiento preparativo de antocianinas empleando este método sobre frutos como chokeberry negro (*Aronia melanocarpa*), cereza (*Prunus subg. Cerasus*) y ñame de agua (*Dioscorea alata*) proporcionó separación de compuestos polifenólicos, aislamiento de compuestos individuales a gran escala, particularmente antocianinas, ácidos clorogénicos, glucósidos de quercetina y glucósidos de kaempferol.[41]

Figura 15

Representación cromatografía en contracorriente rotatoria de baja velocidad



Nota. La figura representa el proceso de cromatografía en contracorriente rotatoria de baja velocidad. Tomado de: "Anthocyanins and Copigments From Fruits, Vegetables and Flowers: Characterization, Separation and Isolation by Membrane and Countercurrent Chromatography", [En Línea]. Disponible en: <https://www.amazon.com/-/es/Miriam-Rodriguez-Werner/dp/3736994265>, [Acceso: nov.2020]

2.2.4.d. Cromatografía en contracorriente de alto rendimiento (HPCCC). La técnica de cromatografía de contracorriente de alto rendimiento (HPCCC) es un desarrollo actual de los métodos CCC basados en la partición líquido-líquido con una bobina tipo J que se gira en un movimiento planetario. Sin embargo, sus separaciones se realizan en una columna de menor volumen y en menor tiempo que en HSCCC. Se ha demostrado que el parámetro de nivel g (g) puede influir en el rendimiento de retención y separación de la fase estacionaria. Mientras que HSCCC crea muchas veces la aceleración de la gravedad de la tierra ($54-80 \times g$) y trabaja con una velocidad de rotación entre $750-1000$ rpm, las separaciones de HPCCC se realizan a 1600 rpm ($240 \times g$) reduciendo así el tiempo de separación. [41]

2.2.4.e. Cromatografía de Membrana. Esta técnica cromatográfica de separación es un proceso de simple operación, corto tiempo de procesamiento, fácil escalado, automatización, así como el alto rendimiento, por lo que los investigadores recomiendan impulsar la cromatografía de membrana o adsorbentes de membrana en los procesos de separación y purificación. La cromatografía de membrana, en particular, contiene

membranas microporosas con ligandos funcionales unidos a su superficie y se caracteriza por la falta de difusión porosa. Esta ausencia produce caídas de presión más bajas y la capacidad de unión dinámica de los absorbedores de membrana puede ser muchas veces mayor que en la cromatografía de lecho compacto convencional, así mismo, tiempos de extracción reducidos de aproximadamente 2 horas logrando a gran escala mayores cantidades de antocianinas de alta pureza. [41]

2.2.4.f. Cromatografía líquida de alta resolución (HPLC). La cromatografía líquida a veces llamada de alta presión (HPLC) es la máxima eficiencia a velocidades de flujo bajas a causa de las velocidades de difusión típicamente lentos entre fases líquidas. Esta técnica cromatográfica consiste en la inyección de la muestra en la columna con la ayuda de un sistema de inyección de muestras. Varios componentes de la muestra se fraccionan durante su paso por la columna. El sistema de detección detecta estos componentes a medida que eluyen la columna y produce una señal proporcional a la cantidad de solutos que pasan por el sistema de detección. El detector determina qué separación ha tenido lugar y proporciona datos que permiten la evaluación cualitativa y cuantitativa de los resultados. Esto se puede lograr simplemente registrando la respuesta del detector en forma de cromatograma y / o con la ayuda de un equipo de manejo de datos. También se pueden recolectar los componentes individuales de la muestra separados en la columna. [29]

Los componentes esenciales para la instrumentación de HPLC incluyen los siguientes:
[27]

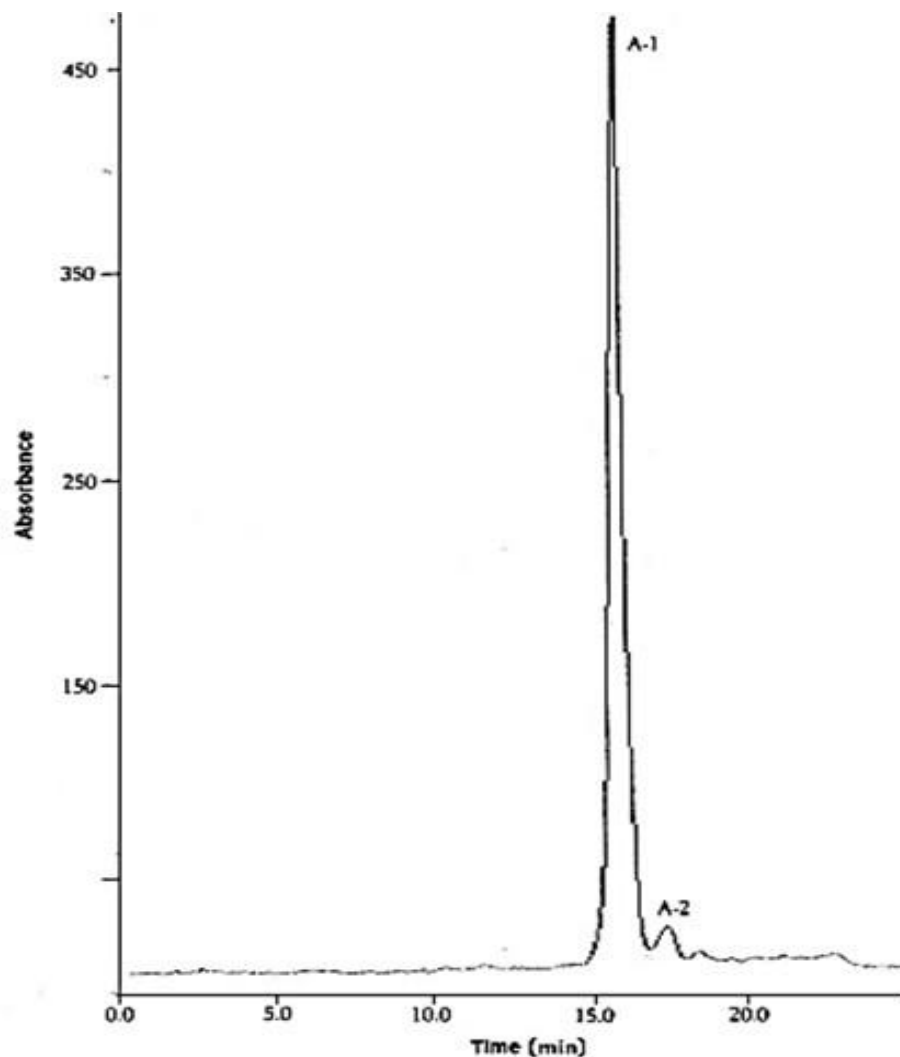
1. Una bomba o bombas para forzar la fase móvil a través del sistema.
2. En el sistema se colocan manómetros y caudalímetros adecuados.
3. Válvulas de muestreo y bucles para inyectar la muestra en la fase móvil justo en la cabeza de la columna de separación.
4. Una columna de separación en la que los componentes de la muestra se separan en picos individuales antes de la elución.
5. Un detector y dispositivo de lectura para detectar la presencia de solutos en la fase móvil y registrar el cromatograma resultante. Para recopilar, almacenar y analizar los

datos cromatográficos, se utilizan con mayor frecuencia computadoras, integradores y otros equipos de procesamiento de datos junto con el registrador de gráficos de banda.

Esta es una técnica versátil ya que permite tanto el análisis como se muestra en la figura 16, la separación y purificación del compuesto de interés, para el caso de las antocianinas provenientes del fruto de *B. guineensis*, se emplean inicialmente solventes que extraen los compuestos fenólicos y además de ellos, estos se purifican por medio de cromatografía líquida de alta presión (HPLC).

Figura 16.

Cromatografía HPLC de antocianinas de B. guineensis a 525 nm



Nota. La figura representa los resultados de la cromatografía realizada por el método HPLC. Tomado de: "isolation and Chemical Characterization of Two New Anthocyanin Pigments from Güiscoyol (*Bactris guineensis*) Fruit", [En Línea]. Disponible en:

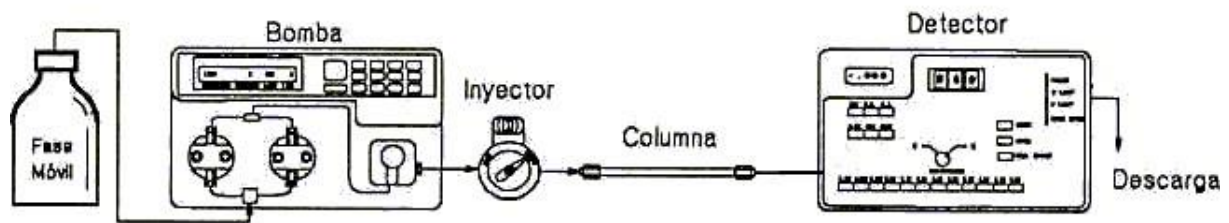
https://www.researchgate.net/publication/326519058_Isolation_and_Chemical_Characterization_of_Two_New_Anthocyanin_Pigments_from_Guiscoyol_Bactris_guineensis_Fruit [Acceso:

nov.2020]

A partir de la bibliografía, investigadores como el alemán Sevcan Erşan han desarrollado sus estudios basados en esta técnica obteniendo resultados diversos, a esto se le puede atribuir la cantidad de materia prima empleada, el proceso de pretratamiento realizado y las condiciones bajo las cuales se llevó a cabo la separación y cuantificación.

Figura 17.

Diagrama de proceso de separación y cuantificación de compuestos fenólicos por HPLC



Nota. La figura representa el proceso de separación por el método HPLC. Tomado de: "Anthocyanins and Copigments From Fruits, Vegetables and Flowers: Characterization, Separation and Isolation by Membrane and Countercurrent Chromatography", [En Línea]. Disponible en: <https://www.amazon.com/-/es/Miriam-Rodriguez-Werner/dp/3736994265>, [Acceso: nov.2020]

La cromatografía es una técnica utilizada para separar una muestra en varias fracciones y luego medir o identificar las fracciones que se desea cuantificar. Los componentes que van a ser separados se distribuyen entre dos fases mutuamente inmiscibles. Lo principal en una cromatografía es la fase estacionaria, a veces es sólida pero comúnmente líquida. La fase estacionaria está unida a un soporte, un material inerte sólido. La muestra, a menudo en forma de vapor o disuelta en un solvente, se mueve a través de la fase estacionaria. A medida que la fase móvil pasa por la fase estacionaria, los componentes de la muestra realizan una serie de intercambios entre las dos fases.

Cuando un componente de muestra ha emergido de la salida de un cromatógrafo, se dice que ha sido eluido. La separación se obtiene cuando un componente se retrasa lo suficiente para evitar la superposición con el pico de un vecino adyacente. [35]

2.2.5. Métodos de caracterización

De este punto en adelante se realizará la caracterización de los compuestos obtenidos por los métodos que se explicaran a continuación, teniendo en cuenta que los principales son UV- VIS y RMN.

Hoy en día hay métodos como ABTS, FRAP, TRAP, que caracterizan la actividad antioxidante con un porcentaje de inhibición a tiempo determinado, con una desventaja que distintos antioxidantes, suelen tener un mismo porcentaje a un tiempo establecido pero distinto a otro tiempo determinado. También se tiene que otros métodos miden la extensión del tiempo de inhibición a un porcentaje de inhibición establecido. A diferencia de otros métodos como el ensayo ORAC se centran en desarrollar la reacción de la especie reactiva con el sustrato oxidable hasta el fin.[36]

En la tabla 5 se muestran algunos de los métodos que se utilizan para la cuantificación de los compuestos antioxidantes en muestras biológicas.

Tabla 5.

Clasificación de los métodos de cuantificación de antocianinas.

Mecanismo	Método
Transferencia de Hidrógeno	TRAP (<i>parámetro antioxidante de captura total de radicales</i>)
	ORAC (<i>Capacidad de absorbanca de radicales de oxígeno</i>)
	Inhibición de la oxidación de las LDL (<i>lipoproteínas de baja densidad</i>)
Transferencia de un electrón	TEAC (<i>capacidad antioxidante equivalente a Trolox</i>)
	ABTS (<i>ácido 2,2'azinobis (6-sulfonato-3-etilbenzotiazolina)</i>)
	FRAP (<i>poder antioxidante férrico-reductor</i>)
	DPPH (<i>2,2-difenil-1-picrilhidracilo</i>)

Nota: La tabla muestra algunos de los métodos que se utilizan para realizar la cuantificación de antioxidantes presentes en una muestra vegetal. Tomado de: "Determinación de antocianinas, fenoles totales y actividad antioxidante en licores y fruto de mora.", [En Línea]. Disponible en: http://jupiter.utm.mx/~tesis_dig/10876.pdf [Acceso: nov.2020]

2.2.5.a. Espectroscopia de resonancia paramagnética (EPR). Es una técnica de espectroscopia para la caracterización, también denominada electrón spin resonance (ESP) utilizada en el estudio de la estructura y la unión de una sustancia paramagnética basada en transiciones inducidas por microondas entre los niveles de energía de electrones desapareados [15]

Se ha aplicado una amplia gama de métodos para evaluar la capacidad antioxidante de distintas frutas y verduras, siendo los más utilizados el ácido 2,2-azino-bis (3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico) (ABTS), poder antioxidante reductor férrico (FRAP), capacidad de absorción de radicales de oxígeno (ORAC), parámetro de captura total de radicales (TRAP), capacidad antioxidante reductora de iones cúpricos (CUPRAC) y 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH). [16]

2.2.5.b. TEAC (capacidad antioxidante equivalente a Trolox) y ABTS (ácido 2,2'-azinobis (6-sulfonato-3-etilbenzotiazolina)). En el caso de métodos in vitro, el objetivo es realizar una revisión de actividades antioxidantes, los métodos ABTS y DPPH son buenas elecciones, debido a su facilidad de uso y accesibilidad. [35]

El método TEAC es el procedimiento espectrofotométrico basada en la inhibición de los antioxidantes de la absorbancia del catión ABTS (2,2'- azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-sulfonato), un cromóforo verde-azul y estable que tiene un espectro de absorción una longitud de onda larga que lo caracteriza.

Lo que se produce son los cationes radicales de ABTS; con el peróxido de hidrógeno H_2O_2 y diferentes oxidantes fuertes, como lo es el persulfato potásico en unión de metamioglobina y así crean un radical intermedio de ferrilmioglobina que posteriormente reacciona con ABTS y forma el catión radical ABTS.

Seguido de esto los antioxidantes pueden neutralizar estos cationes radicales mediante la transferencia de electrones o átomos de hidrógeno (ET y HAT). Esto hace que el catión radical (cromóforo) vaya perdiendo la coloración y esto conlleva a la disminución de la absorción espectrofotométrica. El porcentaje de inhibición de la formación catión radical ABTS por la muestra antioxidante añadido en un punto de tiempo

establecido se cuantifica como el resultado. Los cuales se reflejan en equivalentes de Trolox (mmol de Trolox/L de muestra problema). El tiempo de inhibición habitualmente es de 6 minutos para el procedimiento del ensayo TEAC. [35]

2.2.5.c. DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidracilo). El método DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidracilo) es un radical libre constante que tiende a reaccionar con compuestos antioxidantes por medio de un procedimiento caracterizado por la trasmisión de un átomo de hidrógeno, el cual es proporcionado por el agente antioxidante, este proceso se genera a través de una reacción de pseudo primer orden la cual que puede seguir midiendo el descenso de la absorbancia en función del tiempo.[3] En solución aparece de color violeta y tiene una absorción máxima de UV-vis en el rango de longitud de onda de 515-520 nm. En el transcurso de la reacción, la solución va perdiendo coloración debido al número de electrones emparejados siendo medida por un espectrómetro UV-vis. [17] Este cambio de color en absorbancia es cuantificado como capacidad antioxidante DPPH después de 30 a 60 minutos de reacción redox.[36]

Por lo tanto. Osorio Carolia y compañía [33] desarrollan una investigación donde evalúan la actividad antioxidante del corozo (*Bactris guineensis*) por medio de la captación de radicales libres presentes en el Corozo ARE y tres de sus compuestos de antocianinas mediante la técnica EPR. Se utilizaron dos radicales libres estabilizados diferentes, ABTS Y DPPH donde aquellos electrones desapareados absorben radiación en el rango de microondas en un campo magnético y la integración del área bajo la curva se correlaciona con el número de radicales libres. Por ende, puede realizarse la medición de degradación en función del tiempo de los radicales libres por los compuestos antioxidantes de las muestras. [38]

Se procedió a utilizar metanol, ABTS y DPPH como fuente de radicales libres, persulfatos de potasio, 2 kg de materia prima provenientes de Montería, Córdoba.

Los métodos FRAP, ABTS, DPPH, ORAC-PE y TRAP, son usados para medir la capacidad antioxidante presente en la fase móvil, donde se van a localizar los compuestos antioxidantes que son solubles en agua (ácido úrico, proteínas y ácido ascórbico). La labor antioxidante de los compuestos liposolubles, que se encuentra en

las lipoproteínas del plasma, como los tocoferoles y carotenoides, no participan en las medidas realizadas con este tipo de métodos, y tienden a estimarse mediante otros ensayos. [36]

A continuación, se explican otros métodos de cuantificación de antioxidantes.

2.2.5.d. ORAC (Capacidad de absorbanza de radicales de oxígeno). El ensayo ORAC mide la capacidad antioxidante mediante un mecanismo de transferencia de protones HAT (hydrogen atom transfer), desarrollando la reacción de la especie reactiva con el sustrato oxidable hasta el fin y en base a esto, usa la técnica (AUC) del área bajo la curva de descenso para la caracterización, que reúne los porcentajes de inhibición sobre el período de tiempo que dura la inhibición. [36]

Por medio de la descomposición térmica de un azoderivado AAPH (2,2'-azo-bis (2-amidino-propano) dihidrocloruro) se generará el radical peroxilo. Este a su vez oxidará un sensor fluorescente y oxidable y por lo opuesto el antioxidante eludirá esta oxidación. Durante la oxidación del radical, el sensor fluorescente irá abandonando poco a poco su fluorescencia (dicha fluorescencia se medirá con un fluorímetro).[37]

Para hacer el cálculo de la capacidad antioxidante, se debe tener en cuenta el rendimiento de AUC (área bajo la curva) en un lapso de tiempo establecido, el AUC en existencia de un antioxidante menos el AUC sin presencia del antioxidante. Por lo tanto, combinará el porcentaje de inhibición y el tiempo de duración de la misma para la acción de radicales libres por los antioxidantes en una cantidad establecida. Con la finalidad de poder comparar los resultados obtenidos, esto se hace para distintas muestras y matrices, empleando un patrón interno que es un análogo de vitamina E y se dará como resultado en equivalentes de Trolox, un antioxidante estándar utilizado como valor de referencia. [37]

Frente a otros métodos el ensayo ORAC presenta inconvenientes debido a que este requiere aproximadamente 60 min más de la FRAP o ensayo Randox-TEAC para poder cuantificar los resultados. [37]

En la investigación realizada por Cristina Roja el cual tiene como título “Estabilidad de antocianinas y valores de capacidad de absorción de radicales oxígeno (ORAC) de extractos acuosos de corozo (*Bactris guineensis*)”[12] se obtuvo como resultado que los valores ORAC de corozo (23 039,0 M Tx/L), este dato puede casi duplicar los obtenidos para infusiones acuosas de algunas variedades de café colombiano y que para la ingesta de antioxidantes en humanos por día, las cantidades adecuadas se pueden lograr mediante el consumo de 100 a 200 mL por día de la bebida que proporciona el corozo (*Bactris guineensis*), como la única fuente de antioxidantes.[12]

2.2.5.e. Poder antioxidante férrico-reductor (FRAP). Para la prueba FRAP, el Fe^{2+} creado en la reacción de reducción del ensayo FRAP reacciona con H_2O_2 para obtener OH, el cual es considerado el radical libre más nocivo encontrado in vivo. [36]

En el ensayo FRAP se ejecuta un procedimiento espectrofotométrico, el cual medirá la disminución de un complejo que es formado por un cromógeno, regularmente de hierro férrico (Fe^{3+}) y TPTZ (2, 4, 6-15 tripiridil-s-triazina), incoloro a un complejo ferroso Fe^{2+} de un color azul verdoso cuando está en presencia de antioxidantes, dentro de un medio ácido. [37]

La acción antioxidante, será determinada como el incremento de la absorbancia de forma lineal y los productos se reflejan como mg equivalentes de Fe^{2+} o micromolar de Fe^{2+} /L. [37]

2.2.5.f. Parámetro antioxidante de captura total de radicales (TRAP). Para esta táctica de caracterización se usa un azo-iniciador como en el caso de AAPH o ABAP, para producir los radicales peroxilos, con esto se mide el oxígeno consumido durante la reacción.

A medida que se integra la materia con el antioxidante se va controlando el oxígeno empleado por este. El lapso en el que la oxidación se inhibe por el antioxidante se relaciona con una muestra con el Trolox el cual es el antioxidante de referencia. Los resultados se expresan en equivalentes de Trolox (mmol de peroxilo capturado por molécula de Trolox/L plasma). [37]

2.2.5.g. Diferencial de pH. La técnica actualmente más utilizada para la cuantificación de antocianinas, relacionando la absorción de luz con la concentración de los compuestos de interés. Este es un método espectrofotométrico basado en la transformación estructural que sufren las antocianinas con respecto a la variación del pH, este se va a ver reflejado por un cambio en la absorbancia, para poder notar este cambio se preparan soluciones buffer que tienen como objetivo mostrar la forma oxonium que predomina a pH 1 (coloreadas) y la forma hemiacetal presente a pH 4.5 (incoloras). El extracto será diluido en estas soluciones para su respectiva lectura de absorbancia. [18]

Teniendo en cuenta que uno de los agentes principales del medio es el pH ya que perjudica la solidez del pigmento de las antocianinas, los espectros de UV-Visibles que se hallan a diferentes valores de pH también varían y nos apoyan para determinar si las antocianinas se encuentran o no polimerizadas. La concentración de antocianinas es determinada con la absorbancia a un pH diferencial. Estas moléculas presentan dos bandas de absorción en la región visible (490-550 nm) y la región UV (260-280 nm). Los productos de esta se reflejan como pigmentos de antocianinas monoméricas, frecuentemente como cianidina-3- glucósido. [38]

A partir de este método Benjamin Rojano, Isabel Zapata y Farid Cortes en el artículo “Estabilidad de antocianinas y valores de capacidad de absorción de radicales oxígeno (ORAC) de extractos acuosos de corozo (*Bactris guineensis*)”[2] publicado en la revista Cubana de Plantas Medicinales, obtuvieron la determinación de antocianinas totales, las absorbancias se midieron a 530 nm y 700 nm en buffers con pH 1,0 y 4,5; empleando la fórmula $A = [(A_{530} - A_{700})_{pH\ 1.0} - (A_{530} - A_{700})_{pH\ 4.5}]$, y cianidina 3-glucósido con un factor de extinción molar de 26900, como referencia. Los resultados son expresados como miligramos equivalentes de cianidina-3-glucósido/L. [12]

2.2.5.h. Espectroscopia de UV-Visible. Como se mencionó anteriormente existen diferentes métodos para realizar la determinación de antocianinas en matrices alimenticias, entre ellos la espectroscopia UV-Vis es el método más utilizado para cuantificar antocianinas totales. [39]

Los espectros UV Visible presentan bandas de absorción características en la región UV entre (250 y 370 nm) y visible (500 a 545 nm) y con ello indica la presencia de antocianinas. [40]

Los fenoles se absorberán en la región ultravioleta (UV). En el caso de los fenoles de tipo flavonoides se encuentran presentadas 2 bandas de absorción:

- La banda del anillo aromático A con un límite de absorción en el rango que se encuentra entre 240 nm y 285 nm (banda benzoil)
- La banda del anillo B con límite de absorción en el rango que se encuentra entre 300 nm 550 nm (banda cinamoil). [41]

2.2.5.i. Espectroscopia de infrarrojo cercano (NIR). La técnica de espectroscopia NIR (infrarrojo cercano), permite examinar una gran cantidad de muestras en lapso de tiempo corto, sin requerir una extracción anterior de los compuestos. El NIR es un método sencillo, que tiene un costo bajo, el cual permite lograr los resultados en tiempo real, y es muy útil en programas en los que hay mejoramiento donde se debe analizar gran número de muestras en periodos de tiempo relativamente cortos. [39]

3. PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS OBTENIDAS EXPERIMENTALMENTE

Estudios realizados sobre propiedades fisicoquímicas del fruto de la palma de corozo, determinan que además de su poder antioxidante, la semilla es un potencial de ácidos grasos. Sin embargo, a pesar de tener todas estas propiedades beneficiosas para la salud humana, los cultivos de palmas de corozo no se han intensificado de tal forma que la extracción de sus componentes pueda realizarse de forma masiva.

A continuación, se muestran los resultados obtenidos de las propiedades fisicoquímicas del fruto del corozo determinadas experimentalmente en los laboratorios de la Fundación Universidad de América:

3.1. Grados Brix

Para la medida de la cantidad de sólidos disueltos que hay en un líquido, el cual se obtiene a través de la gravedad específica y se usa para medir el azúcar disuelto, sabiendo que 1 grado Brix es un gramo de sacarosa en 100 gramos de solución, el valor obtenido para el corozo es de 2.1, este valor se calculó de forma experimental en el laboratorio de la Universidad de América por medio de un refractómetro con referencia HI 96801, este instrumento es una herramienta exacta para medir los grados brix, como la temperatura afecta la medición esta se hizo a la temperatura ambiente de la ciudad de Bogotá cerca a los 20°C.

3.2. Densidad

La densidad al igual que algunas de las propiedades que se tienen para el corozo fueron determinadas a partir de la experimentación y para ello se hizo el cálculo tanto de la densidad de partícula, como la densidad aparente que tiene el fruto.

3.2.1. Densidad de Partícula

La densidad de partículas es una cantidad relativamente bien definida, ya que no depende del grado de compactación del sólido, el valor es $1280 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-3}$.

3.2.2. Densidad Aparente

Es la relación entre el volumen y el peso seco, incluyendo huecos y poros que contenga, aparentes o no, se tiene una densidad aparente de $282.54 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-3}$.

3.3. pH

El potencial de hidrógeno es útil para determinar el grado de alcalinidad o acidez de una disolución, para el caso del corozo se obtuvo un valor de 3.5, según la escala en extremadamente ácido y el cálculo del mismo se hizo de forma experimental por medio de un potenciómetro de mesa modelo LAB 850 con este se obtiene un valor exacto del pH de la fruta y esto se realizó para determinar esta propiedad.

3.4. Temperatura de saturación

La temperatura de saturación es la temperatura para una presión de saturación correspondiente a la que el líquido o zumo del fruto hierve. Se puede decir que el líquido está saturado a una temperatura aproximada de 86°C en la ciudad de Bogotá, este valor fue hallado de forma experimental.

3.5. Presión de saturación

La presión de vapor que se maneja a la temperatura específica anteriormente mencionada en el punto 1.1.1.3 que es de 86°C es una presión atmosférica de 0.74 atm, a estas condiciones el fruto del corozo llega a su temperatura y presión de saturación en la ciudad de Bogotá.

4. SELECCIÓN DE MÉTODO EXTRACTIVO A PARTIR DE REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

4.1. Evaluación de métodos de extracción

Para la selección del método más apropiado para la extracción de antocianinas se utiliza la matriz Pugh como herramienta de apoyo para la toma de decisiones, [43] donde se asignan valores dependiendo el nivel de importancia que tiene cada variable en el proceso extractivo. Se genera una primera matriz (tabla 6) donde se describe los métodos extractivos de antocianina en general, donde se analiza el fruto de *Sambucus nigra L. subsp. peruviana* [44], fruto similar al de *B. guineensis*. Métodos donde los autores dedicaron su investigación en la extracción de compuestos de antocianinas contenidas en el fruto de *B. guineensis* se describen en la tabla 7, dentro de estos se encuentra el uso de solventes extractivos y extracción a alta presión con fluidos supercríticos, sin embargo, este último extrae compuestos fenólicos más no antocianinas, pero aclara en la investigación que es más probable encontrar mayor cantidad de antocianinas en la experimentación que realiza. [21] Posteriormente se detalla el método de extracción adecuado además de la comparación bibliográfica con las demás investigaciones.

Tabla 6.

Parámetros y condiciones de operación de métodos extractivos de antocianinas

Método	Temperatura (K)	Tiempo de extracción (min)	Rendimiento %
Tratamiento Enzimático	313,15	120	<150
Microondas	313,15	120	>150
Ultrasonido	293,15	5	>150
Maceración	343,15	20	<150
Fluidos a Alta Presión	383	200	-

Nota. En esta tabla se observa la comparación entre algunos de los métodos no convencionales a partir de la temperatura, tiempo de extracción y rendimiento obtenido por los autores en el proceso de extracción de antocianinas del fruto de *Sambucus nigra L. subsp. peruviana* y *B. guineensis*.

A partir de la revisión bibliográfica y resultados obtenidos por los autores donde se realiza la extracción de antocianinas del fruto de *Sambucus nigra L. subsp. peruviana* y *B. guineensis*, se determina como mejor alternativa la asistencia con ultrasonido por su alto rendimiento, el reducido tiempo de extracción, costo de extracción y las condiciones a las que opera.

Tabla 7.

Parámetros y condiciones de operación de métodos extractivos de antocianinas del fruto de B. guineensis.

Solventes	Temperatura (K)	Presión (bar)	Rendimiento mg/100g muestra
Etanol, ácido cítrico	298	Vacío	124,579
Ultrasonido- Metanol, ácido fórmico	308	Vacío	154
Metanol, ácido acético	298	Vacío	77,1
Fluidos a Alta Presión	383	200	-

Nota. En esta tabla se observa la comparación entre algunos de los métodos no convencionales a partir del solvente, temperatura y presión utilizada para el proceso de extracción de antocianinas del fruto de *B. guineensis*.

La aplicación de fluidos supercríticos, que, aunque es una buena alternativa en cuanto a posibles rendimientos alcanzados, pero de la cual no se han realizado experimentaciones de extracción de antocianinas a partir del fruto del Corozo y este es un factor importante a tener en cuenta, por tal motivo y por su elevado costo de extracción no permite ser una alternativa viable para este caso. [41]

4.1.1. Construcción de matriz Pugh

Se produce la matriz Pugh para distinguir los criterios que van a dar más valor de una forma cuantitativa, facilitando la toma de decisión de forma rápida evaluando cada una de las variables decisivas en el proceso mostrando su relevancia en la obtención de antocianinas.

En la tabla 8 se asigna el valor de cada criterio de evaluación necesario para la comparación entre métodos, siendo el método extractivo si fue empleado en el fruto del *B. guineensis* como el criterio inicial para selección de la mejor alternativa de extracción. Además, en la tabla 9 se define la influencia de cada valor asignado.

Tabla 8

Asignación de valor para cada criterio

Valor	Uso del método extractivo
-1	El método no fue empleado para la extracción de antocianinas del fruto de <i>B. guineensis</i>
0	El método puede ser empleado para la extracción de antocianinas del fruto de <i>B. guineensis</i>
1	El método fue empleado para la extracción de antocianinas del fruto de <i>B. guineensis</i>

Nota. La tabla representa los valores asignados para el criterio del uso o no del método extractivo.

Tabla 9

Descripción del valor asignado a cada criterio

Peso de Calificación	Descripción
1	El factor no es necesario tenerlo en cuenta en el proceso extractivo
2	El factor es necesario tenerlo en cuenta en el proceso extractivo
3	El factor es muy importante tenerlo en cuenta en el proceso extractivo

Nota. En la tabla se representa la descripción de cada punto de calificación y que tan importante es el proceso de extracción de antocianinas.

A continuación, en la tabla 10 se muestra el total de la suma del valor asignado a cada criterio como lo describe el método Pugh, posteriormente se ponderan los resultados dependiendo el peso de cada criterio sobre el método extractivo mostrado en la tabla 11 la cual presenta el ranking de las alternativas dependiendo en mayor grado del rendimiento obtenido por los autores de cada una de las investigaciones y si es utilizado en la extracción de antocianinas del fruto de *B. guineensis*.

Tabla 10.

Matriz de comparación Pugh de métodos de extracción de antocianinas

Métodos Extractivos						
Factor	Peso	Tratamiento Enzimático	Microondas	Ultrasonido	Maceración	Fluido Supercrítico
Uso de método extractivo	3	-1	-1	1	1	-1
Rendimiento	3	0	1	1	0	-
Tiempo de Extracción	1	1	1	1	1	-
TOTAL		0	1	3	2	-1

Nota. En esta tabla se realiza la matriz de comparación Pugh para que a partir de la calificación de unos criterios determinados para darle peso a los métodos finalmente se escoja uno.

En la tabla 10, se observa que los métodos utilizados para la extracción de antocianinas a partir del Corozo son, ultrasonido y maceración. Este factor es de gran influencia a la hora de escoger el método a utilizar, pero por otro lado haciendo la comparación con el rendimiento que es otro factor de gran importancia, se puede ver que se obtiene mayor rendimiento del método de Ultrasonido respecto a lo establecido.

Tabla 11.

Matriz de comparación Pugh con resultados ponderados de métodos de extracción de antocianinas

Métodos Extractivos						
Factor	Peso	Tratamiento Enzimático	Microondas	Ultrasonido	Maceración	Fluido Supercrítico
Uso de método extractivo	3	-1	-1	1	1	-1
Rendimiento	3	0	1	1	0	-
Tiempo de Extracción	1	0	0	0	-1	-
TOTAL		-1	0	2	0	-1
PONDERADO		-2	0	6	2	-3
RANKING		4	3	1	2	5

Nota. La tabla presenta el ranking de los métodos de extracción de antocianinas.

Se puede inferir de la tabla 11, entonces que los métodos de ultrasonido y maceración son las técnicas que permiten obtener extractos de antocianinas a partir del fruto de *B. guineensis*, dichos métodos serán analizados por medio de la matriz Pugh para determinar la mejor alternativa de extracción de antocianinas contenidas en el fruto.

En la tabla 12 se asigna el valor de cada criterio de evaluación necesario para la comparación entre métodos extractivos de antocianinas del fruto de *B. guineensis*, evaluando criterios importantes como propiedad del solvente, rendimiento obtenido y tiempo de extracción. Además, en la tabla 9 se define la influencia de cada valor asignado.

Tabla 12

Asignación de valor para cada criterio para los métodos determinados.

Valor / Factor	Propiedad del solvente	Rendimiento	Tiempo de Retención
-1	La toxicidad del solvente es alta	Baja cantidad de antocianinas obtenido (<100%)	Superior a 12 horas
0	La toxicidad del solvente es moderada	Contenido medio de antocianinas obtenido (entre 100 y 150%)	Entre 5 a 12 horas
1	La toxicidad del solvente es baja	Alta cantidad de antocianinas obtenidas (superior a 150%)	Menor a 5 horas

Nota. La tabla representa los valores asignados para cada criterio que se tuvo en cuenta al momento de tomar una elección para el método de extracción de antocianinas.

En la tabla 13 se muestra el total de la suma del valor asignado a cada criterio como lo describe el método Pugh, posteriormente se ponderan los resultados dependiendo el peso de cada criterio sobre el método extractivo de antocianinas del fruto de *B. guineensis* mostrado en la tabla 14 la cual presenta el ranking de las alternativas dependiendo en mayor grado del rendimiento obtenido por los autores de cada una de las investigaciones, además del costo del proceso, propiedad del solvente y tiempo de extracción.

Tabla 13.

Matriz de comparación Pugh de métodos de extracción de antocianinas del fruto de B. guineensis

Métodos Extractivos				
Factor	Peso	Etanol/ ácido cítrico	Ultrasonido- Metanol/ Ácido fórmico	Metanol/ Ácido Acético
Propiedad de solvente	2	0	0	0
Costo de Proceso extractivo	2	0	0	0
Rendimiento	3	0	1	-1
Tiempo de Extracción	2	-1	0	-1
TOTAL		-1	1	-2

Nota. En esta tabla se realiza la matriz de comparación Pugh para que a partir de la calificación de unos criterios determinados para darle peso a los métodos finalmente se escoja uno.

En la tabla 13 se muestran los solventes que fueron utilizados para la extracción por medio de ultrasonido y maceración para obtención de antocianinas y se hace la comparación con respecto a unos factores muy importantes otorgándoles peso para definir la alternativa más conveniente para el objetivo planteado en esta investigación.

Tabla 14.

*Matriz de comparación Pugh con resultados ponderados de métodos de extracción de antocianinas del fruto de *B. guineensis*.*

Métodos Extractivos				
Factor	Peso	Etanol/ ácido cítrico	Ultrasonido Metanol/ Ácido fórmico	Metanol/ Ácido Acético
Propiedad de solvente	2	0	0	0
Costo de Proceso Extractivo	2	0	0	0
Rendimiento	3	0	1	-1
Tiempo de Retención	2	-1	0	-1
TOTAL		-1	1	-2
PONDERADO		-2	3	-1
RANKING		3	1	2

Nota: En la tabla se realiza la comparación de los métodos extractivos dándole un valor ponderado y así obtener un ranking definiendo el mejor método.

Se obtiene de la tabla 14 el ranking siendo comparados los métodos de extracción por solventes y asistencia por ultrasonido obtenidos de la tabla 11 de manera bibliográfica a partir de los resultados publicados por los autores que dedicaron sus estudios a la extracción de compuestos de antocianinas a partir del fruto de *B. guineensis*, como resultado de la implementación del método Pugh, la alternativa que mejor se ubica es la extracción asistida por ultrasonido, aunque sea una técnica que genera un impacto ambiental, su alto contenido de antocianinas obtenido la ubica en el primer lugar ya que es el criterio de mayor importancia y por el cual se fundamenta esta investigación, adicionalmente a esto se tienen menores costos de extracción con en esta técnica con respecto a las demás. Por esta razón, el método extractivo que hasta el momento permite

un alto contenido de antocianinas es asistencia con ultrasonido a partir del uso de solventes como metanol y ácido fórmico.

4.1.2. Comparación Bibliográfica

En la investigación realizada por María Bermúdez[30] donde se emplea extracción con solventes asistida por ultrasonido se concluye que la relación 1:4 exocarpo: solvente, siendo este último una solución etanol (96% v/v)/ácido cítrico (19:1 v/p), presenta mayor contenido de compuestos de antocianina a medida que aumenta el tiempo de agitación, se obtienen **124,579 mg equivalente como compuesto mayoritario de antocianinas cianidina 3-glucósido por cada 100 g** de materia prima después de 24 horas de proceso extractivo a temperatura y presión normales.[35]

Para el estudio realizado por Carolina Cortés[13] la cantidad de antocianinas totales obtenidas se encuentran en el rango de los **28,3 - 47,9 mg equivalentes de cianidina-3-glucósido /100 g de muestra** a partir de una extracción previa con una solución de acetona y agua destilada (70/30) y agitación continua magnéticamente durante 15 min.[8] Este valor es muy parecido al que presentan las cerezas 19,0-49,1 mg equivalentes de cianidina-3-glucósido /100 g, siendo la cianidina-3-glucosilrutinosido el compuesto de antocianina mayoritario; en el caso de la frambuesa los valores están entre 35-40 mg equivalentes de cianidina-3-glucósido /100 g, siendo la cianidina-3-soforósido, la cianidina-3-glucosilrutinosido y la cianidina-3-glucósido las mayoritarias, Las zarzamoras oscuras (moradas) poseen un contenido alto de antocianinas, de aproximadamente 200 mg equivalentes de cianidina-3-glucósido /100 g, mientras que las zarzamoras rojas tienen menos de 60 mg equivalentes de cianidina-3-glucósido /100g. Con respecto al *Bactris setosa* (“tucum-do-cerrado”) el contenido de antocianinas es bajo, este fruto reporta en promedio 83,2 mg equivalentes de cianidina 3-glucósido /100 g. [13]

Tras el proceso extractivo realizado por el alemán Sevcan Erşan[45] utilizando metanol al 80% y ácido fórmico al 5% asistida por ultrasonido y además por el método HPLC para el análisis, se obtuvo 398 mg / 100 g de materia prima en donde 132 mg de antocianina cianidina 3- O- rutinósido se extrajo del exocarpio y sólo 1.6 mg en del mesocarpio, en segundo lugar 12 mg de peonidina 3- O- rutinósido en el exocarpio y 0.21 en el

mesocarpio y por último pero no menos importante 4.8 mg de cianidina 3- O- glucósido en el exocarpio y 0.05 en el mesocarpio, después de 41 minutos de proceso extractivo, **el contenido total de antocianinas obtenidas fueron de 154 mg/100 g de materia prima.** [36]

Carolia Osorio [14] y colaboradores extrajeron compuestos de antocianinas con metanol / ácido acético (19:1 v / v) a temperatura ambiente durante 12 horas analizado por cromatografía en contracorriente de alta velocidad (HSCCC) y HPLC preparativa. A partir de la identificación, el compuesto mayoritario de la mezcla de antocianinas ARE es la antocianina **cianidina-3-rutinósido con un 72.2%, es decir, 59.4 mg , seguido de cianidina-3-glucósido con un 15.7% correspondiente a 9.2 mg**, estos como compuestos de antocianinas principales en mayor proporción, después con un 5.1% la antocianina peonidin-3-rutinósido, siendo la antocianina peonidin-3-glucósido la de menor porcentaje en volumen, para un **total de antocianinas obtenidas de 77,1 mg/100 g de muestra.**[9]

En el estudio realizado por María Fernández, Zamira Soto, Pacífico Castro Gil Lourdes Casas, Casimiro Mantell y Enrique Martínez, para la investigación “High-pressure Fractionation of Tropical Fruits with Potential Antibacterial Activity: Mangifera Indica L. and Bactris Guineensis” [32], se obtuvo resultados de los compuestos fenólicos presentes en la fruta, con un valor de **compuestos fenólicos de 329.9 mg GAE / g de extracto seco**. Sin embargo, en esta investigación no se realiza la extracción de antocianinas presentes en el fruto, pero se afirma que puede encontrarse un alto contenido de este compuesto bioactivo.[32]

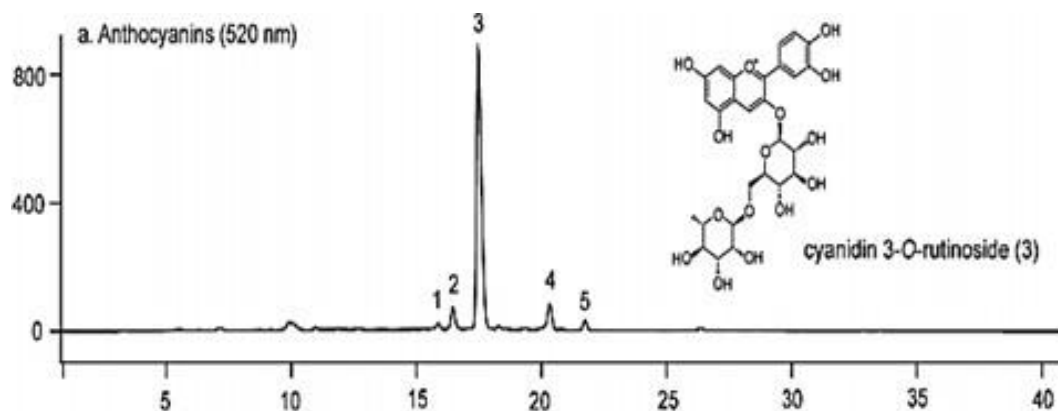
4.1.3. Método seleccionado

La técnica que permite obtener mayor cantidad de antocianinas provenientes del fruto del corozo (*Bactris guineensis*) hasta el momento es aquella donde se emplea metanol al 80% y ácido fórmico al 5% asistida por ultrasonido, tras el proceso extractivo realizado por el alemán Sevcan Erşan[46] y colaboradores **se obtuvo 132 mg de cianidina 3- O- rutinósido en el exocarpio**, confirmando así el compuesto de antocianina mayoritario encontrado en el fruto de *Bactris guineensis* como se muestra en la figura 18, **en**

segundo lugar 12 mg de peonidina 3- O- rutinósido en el exocarpio y 0.21 en el mesocarpio y por último, pero no menos importante 4.8 mg de cianidina-3-O-glucósido en el exocarpio y 0.05 en el mesocarpio, para un total de antocianinas de 154 mg/100 g de muestra, de los resultados obtenidos por el autor se puede inferir que el exocarpio del fruto de *B. guineensis* es la parte que contiene la mayor cantidad de antocianinas.

Figura 18.

Antocianinas del fruto del B. guineensis analizadas por cromatografía HPLC



Nota. La figura representa los resultados de la cromatografía por HPLC para la caracterización de antocianinas. Tomado de: "*Phytochemical and mineral composition of fruits and seeds of wild-growing Bactris guineensis (L.) H.E. Moore palms from Costa Rica*" Ersan, Berning, Esquivel and 2 more. (2020) - *Journal of Food Composition and Analysis*, 94, 11, [En Línea]. Disponible en:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0889157520313168>

Tabla 15.*Cantidad de antocianinas contenidas en el fruto de B. guineensis*

Número	Nombre	tr (min)	exocarpio (mg/ 100 g)	mesocarpio (mg/ 100 g)
1	cianidina pentosil-hexósido	15,9	2,8	0,05
2	cianidina 3- O- glucósido u	16,5	4,8	0,05
3	cianidina 3- O- rutinosido	17,5	132	1,6
4	peonidina 3- O- rutinosido	20,3	12	0,21
5	cianidina malonil-hexósido	21,8	2,6	0,03

Nota: Esta tabla representa la cantidad de antocianinas que se encuentran presentes en mayor porcentaje en el fruto del corozo (*Bactris Guineensis*).

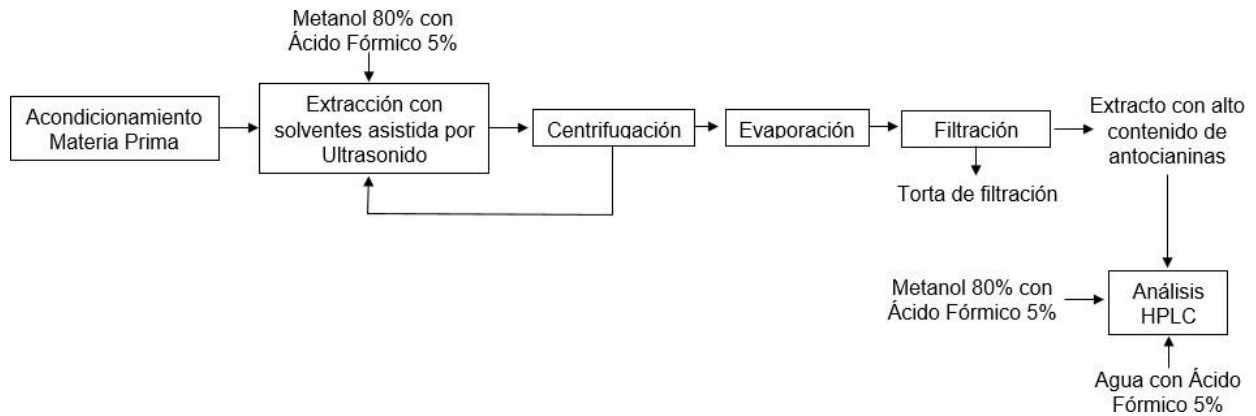
En la figura 18 se observa las 5 antocianinas contenidas en el fruto de *B. guineensis* analizadas en el exocarpio y mesocarpio, siendo el primero el que mayor contenido de estos compuestos almacena, el método HPLC permite detectar por distintos niveles de absorbancia los compuestos de antocianinas, además, la discriminación en cantidad en mg de antocianinas contenidas en 100 g de materia prima como se muestra en la tabla 15.

El proceso extractivo con solventes asistido por ultrasonido en el cual se emplean el metanol al 80% y ácido fórmico al 5%, es el que representa el mayor rendimiento de los métodos de extracción, después el extracto se somete a hidrólisis alcalina para realizar la posterior determinación de compuestos fenólicos, seguido de esto se disuelve el extracto en metanol acuoso al 50%, ácido fórmico al 5% y se filtra por medio de filtros de membrana de celulosa regenerados. Los compuestos fenólicos fueron analizados por HPLC y para lograr la separación se utilizó agua y metanol como eluyente ambos con ácido fórmico al 5%, con una temperatura de columna de 35°C y un caudal de 0.8 ml/min de eluyente.

A continuación, en la figura 19 se presenta el diagrama de bloques del proceso de extracción de antocianinas a partir del fruto del corozo (*B. guineensis*).

Figura 19.

Diagrama de bloques (BFD) extracción de antocianinas.



Nota: La figura representa el diagrama de bloques del proceso de extracción de antocianinas a partir del fruto del Corozo (*Bactris Guineensis*).

Para este proceso se tienen las siguientes etapas:

1. Acondicionamiento de materia prima:

En esta etapa del proceso se realiza el despulpado liofilizado y almacenamiento a vacío y 80°C, que posteriormente será molido a través de un molino analítico.

2. Extracción con solventes asistida por Ultrasonido:

A partir de metanol al 80% y ácido fórmico al 5% se extrae de la materia prima las antocianinas, siendo asistido por ultrasonido.

3. Centrifugación

El proceso de centrifugación se llevó a cabo a 3000 rpm durante 3 minutos, el sobrenadante fue recolectado y los residuos sólidos fueron re-extraídos por 4 veces.

4. Evaporación

Los extractos se combinan y evaporan por secado vacío a una temperatura de 30°C.

5. Filtración

El extracto seco se redisuelve en metanol puro que contiene 1% de ácido fórmico (v/v), posteriormente los extractos redisueltos se filtran a través de membranas de celulosa regeneradas.

6. Cromatografía HPLC

En esta etapa del proceso se realiza la separación y posterior análisis de los compuestos extraídos del fruto, por medio de la cromatografía HPLC con detección de matriz de diodos (DAD), adicionalmente ionización por electropulverización (ESI), espectrometría de masas de alta resolución (HR-MS) y espectrometría de masas con trampa de iones multietapa (MS norte).

5. ANÁLISIS DE COSTOS

En este capítulo se hará la determinación de los costos para las diferentes etapas de procesos para la extracción de antocianinas a partir del corozo (*Bactris guineensis*), para ello se tendrá en cuenta que la experimentación se realizará a escala laboratorio partiendo de que la capacidad del equipo principal (Ultrasonido MS73 microtip, Sonopuls UW 3100) es 500 ml y para no saturar el lote se hará a partir de 300 ml de mezcla de materia prima y solventes, para ello se calcula el costo de la materia prima, el transporte de la misma, los solventes y los equipos necesarios para implementar el método seleccionado en el capítulo anterior.

5.1. Costo materia prima

En Barranquilla es plausible conseguir corozo y jugo de corozo durante casi todo el año, con un rango de precios varían bastante entre temporadas se puede decir que la libra de corozo se puede encontrar en un valor aproximado al que se observa en la tabla 16. Esta ciudad es sin lugar a dudas el centro de comercialización de la fruta en el Caribe, a donde llega el producto de diversas regiones y de donde se distribuye a mercados lejanos como el de Bogotá. [8]

Tabla 16.

Costo materia prima

Materia	Cantidad (kg)	Valor
Corozo (<i>Bactris guineensis</i>)	1	\$5400

Nota. En esta tabla se representa el valor por kg de materia prima.

5.1.1. Transporte

Las diferencias de valor en el flete de una empresa varían entre \$8.000 y \$70.000 por tonelada de referencia transportada como se puede observar en la tabla 17, para distancias menores a 10 km y superiores a 200 km, respectivamente; esta tarifa varía para un mismo rango de distancias de acuerdo con el estado de la vía. Por ejemplo, cuando las distancias son menores a 10 km, se observa que el costo del flete se

incrementa de \$8.000 a \$12.000 por cada tonelada de referencia transportada por consecuencia del estado de la vía.[47]

Tabla 17.

Precio de transporte de una empresa según la distancia y estado de la vía (\$/t)

Estado de la vía	Distancia			
	0 a 10 km	11 a 30 km	30 a 50 km	200 km
Excelente	\$8.000	\$18.000	\$22.000	\$70.000
Bueno	\$8.000	\$18.000	\$22.000	-
Aceptable	\$10.000	\$18.000	\$25.000	-
Pobre	\$12.000	\$20.000	\$25.000	-
Muy pobre	-	-	-	-

Nota. La tabla representa el valor del flete para el transporte del corozo por tonelada de referencia. Tomado de: “*Industrialización del proceso de extracción de pulpa y aceite de palma de corozo en las veredas del banco, Magdalena*” [En Línea]. Disponible en: <http://repository.udistrital.edu.co/bitstream/11349/7773/1/ArdilaRodr%C3%ADguezBlancaLiliana2017.pdf> [Acceso: nov.2020]

Determinando que el flete se realizaría desde la ciudad de Barranquilla hasta la ciudad de Bogotá en la tabla 18 se muestra el valor del flete por tonelada de materia prima, determinando la distancia a recorrer.

Tabla 18.

Costo transporte materia prima Barranquilla-Bogotá

Distancia (km)	Valor tonelada
979	\$350.000

Nota. En la tabla se representa el costo del transporte por tonelada de materia prima de la ciudad de Barranquilla hasta la ciudad de Bogotá.

5.2. Costo de operación de la extracción para el método seleccionado

-
- **Costo de solventes**

Para el caso de los solventes se tienen en cuenta aquellos que se utilizan en el método seleccionado para la extracción de antocianinas, para ello a partir de fuentes bibliográficas se obtuvo el costo del metanol [48], ácido fórmico [49] y acetato de etilo [50] y se presentan en la tabla 19.

Tabla 19.

Costos solventes utilizados en la extracción de antocianinas

Solvente	Cantidad (L)	Valor
Metanol	1	\$251.300
Ácido fórmico	1	\$527.800
Acetato de etilo	1	\$98.400
TOTAL		\$877.500

Nota. La tabla representa los precios por litro de los solventes a utilizar en la extracción de antocianinas.

- **Costo de equipos extracción, separación, cuantificación y caracterización**

Para el acondicionamiento de la materia prima se utiliza el equipo Molino A11, IKA®, [51] debido a que el método de extracción seleccionado es por solventes asistido por ultrasonido se utiliza el equipo MS73 microtip, Sonopuls UW 3100,[52] en el caso de la Centrifugación se hace uso del equipo Centrifugador Labofuge 200, Heraeus,[53] en la etapa de filtración se utiliza el equipo Membrana 0.45 µm pore size; Macherey-Nagel y para la separación y el análisis HPLC se utilizan los siguientes equipos: Columna HPLC Phenomenex Kinetex 5 µm C18 100A - 150 mm x 4.6 mm cEa [39], se hace una cotización a la empresa SpectraLab Scientific Incorporation para el equipo Agilent 1100 series HPLC System y el equipo Bruker MS Esquire 3000 espectrómetro de trampa iónica [54] el valor de adquisición de los equipos se presentan en la tabla 20.

Tabla 20.

Costo equipo para extracción, separación, cuantificación y caracterización de antocianinas.

Equipo	Función	Valor
Molino A11, IKA ®	Molienda	\$4'214.167
Agilent 1100 series HPLC System	Cuantificación y Análisis	\$53'857.150
Bruker MS Esquire 3000 espectrómetro de trampa iónica	Cuantificación y Análisis	\$8'548.750
Columna HPLC Phenomenex Kinetex 5 µm C18 100A - 150 mm x 4.6 mm cEa	Separación	\$2'729.100
Membrana 0.45 µm pore size; Macherey-Nagel	Filtración	\$560.537
Centrifugador Labofuge 200, Heraeus	Centrifugación	\$1'727.985
Ultrasonido MS73 microtip, Sonopuls UW 3100, Bandelin Electronics, Berlin, Germany	Extracción	\$9'582.036
TOTAL		\$81'219.725

Nota. En la tabla se observan los valores de adquisición de los equipos utilizados para la extracción y cuantificación de antocianinas a partir del fruto del corozo.

5.3. Costos totales del método seleccionado

En la tabla 21 se muestra el valor total del método de extracción con solventes, separación y cuantificación por el método HPLC y caracterización por el método UV-VIs los cuales fueron seleccionados como la mejor alternativa para obtener mayores rendimientos en la extracción de antocianinas del fruto del corozo (*Bactris guineensis*).

Tabla 21.

Costo total del método de extracción, separación, cuantificación y caracterización de antocianinas

Método	Valor
Extracción, separación, cuantificación y caracterización	\$82'097.225

Nota. La tabla representa el valor total del método seleccionado sin incluir el valor de la materia prima.

6. CONCLUSIONES

Las condiciones apropiadas para la extracción de compuestos de antocianinas contenidos en el fruto del Corozo (*B. guineensis*) para determinar la mayor cantidad posible de las mismas, es que el fruto debe encontrarse en un estado de maduración óptimo y determinando su color violáceo oscuro, se permite identificar aproximadamente el nivel de polifenoles contenidos en el fruto. La temperatura y el pH del medio extractivo debe tenerse en cuenta ya que son consideradas variables que afectan este proceso en la estabilidad de la molécula de antocianina, siendo el pH con mayor afectación, debe mantenerse en un nivel de 2,3 a 3,3. Se recomienda mantener una temperatura que no exceda los 101°C para favorecer el proceso de extracción.

De acuerdo a lo reportado en bibliografía, el método que permite obtener un alto contenido de antocianinas es el que emplea metanol al 80% y ácido fórmico al 5%, la cantidad obtenida es de 154 mg por cada 100 gramos de muestra, además de esto, para la separación y cuantificación, se encontró que el método más adecuado es la asistencia por cromatografía líquida de alta presión (HPLC).

En cuanto al costo de la alternativa más conveniente, se estima un valor de \$90'510.650 que incluye la extracción, separación cuantificación y caracterización de antocianinas del fruto de *B. guineensis*.

BIBLIOGRAFÍA

- [1] A. Pacheco y G. González, *Estandarización del proceso de etiquetado de zumo de corozo (Bactris guineensis) en una empresa tipo PIME ubicada en el municipio de Pivijay (Magdalena) con la finalidad de que cumpla los criterios de calidad e inocuidad*, tesis pre. Escuela de Ciencias Básicas Tecnología e Ingeniería, Universidad Nacional Abierta y a Distancia, Barranquilla, Colombia, 2020
- [2] B. Rojano, I. C. Zapata y F. B. Cortes. "Estabilidad de antocianinas y valores de capacidad de absorbanza de radical oxígeno (ORAC) de extractos acuosos de corozo (Bactris guineensis)." *Revista Cubana De Plantas Medicinales. Rev cubana Plant Med*, vol. 17, no. 3, jul-sep. 2012. [En línea]. Disponible: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962012000300005.
- [3] M. Aguilera et al., "*Propiedades funcionales de las antocianinas.*", *Rev Biotecnia.*, vol. 13, no. 2, pp. 16-22, 2011. DOI: <https://doi.org/10.18633/bt.v13i2.81>
- [4] B. Salvador. (2006). *Química De Los Alimentos*. (4th ed.). [En línea]. Disponible: [https://repositorio.uteq.edu.ec/bitstream/43000/3608/1/Quimica de los alimentos.pdf](https://repositorio.uteq.edu.ec/bitstream/43000/3608/1/Quimica%20de%20los%20alimentos.pdf)
- [5] E. Manosalva, "Informe terminado uvita de lata", Valledupar, Colombia. [PDF]. Disponible: <https://es.calameo.com/books/0015262269afd4dbe0404>
- [6] E. Brieva-Oviedo, A. Campos y L. A. Núñez-Avellaneda. "Pollination of Bactris guineensis (Arecaceae), a potential economically exploitable fruit palm from the Colombian Caribbean." *Rev Flora*, vol. 269, ago 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.flora.2020.151628>.
- [7] D. Castro. I. Ortega. "Determinación de propiedades mecánicas de la corteza de la palma de lata por medio de ensayos de tracción y cortante." *Avances: Investigación En Ingeniería*, vol. 15, no. 1, pp. 59–76. DOI: <https://doi.org/10.18041/1794-4953/avances.1.4733>

- [8] R. Bernal y G. Galeano, "Cosechar Sin Destruir", Bogotá D.C., Colombia, 2013 [PDF]. Disponible: https://www.researchgate.net/profile/Ingrid-Olivares-2/publication/267393108_Palma_de_vino_Attalea_butyracea_En_R_Bernal_G_Galeano_Eds_Cosechar_sin_destruir_Aprovechamiento_sostenible_de_palmas_colombianas/links/544e86540cf2bca5ce90b775/Palma-de-vino-Attalea-butyracea-En-R-Bernal-G-Galeano-Eds-Cosechar-sin-destruir-Aprovechamiento-sostenible-de-palmas-colombianas.pdf
- [9] B. L. Rodríguez, y G. J. Ardila, *Industrialización del proceso de extracción de pulpa y aceite de palma de corozo en las veredas del banco, magdalena*, tesis pre, Universidad Distrital Francisco José de Caldas, Bogotá, Colombia, 2017.
- [10] M. Quiñones, M. Miguel y A. Aleixandre, "The polyphenols, naturally occurring compounds with beneficial effects on cardiovascular disease.", *Nutrición Hospitalaria: Organo Oficial De La Sociedad Española De Nutrición Parenteral Y Enteral*, vol. 27, no. 1, pp. 76-89, ene-feb, 2012 DOI: [10.1590/S0212-16112012000100009](https://doi.org/10.1590/S0212-16112012000100009)
- [11] I. Martínez- Valverde., M. J. Periago y G. Ros, "Significado nutricional de los compuestos fenólicos de la dieta." *Archivos Latinoamericanos De Nutrición*, vol. 50, no. 1, pp. 5-18, mar, 2000. [En línea]. Disponible: http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0004-06222000000100001&lng=es&nrm=iso&tlng=es.
- [12] M. Quesada, *Determinación de la actividad antioxidante y el efecto citotóxico sobre líneas celulares tumorales de un extracto rico en polifenoles del fruto del bactris guineensis*, tesis pos. Universidad de Costa Rica, San Jose, Costa Rica, 2020.
- [13] C. Cortes, *Determinación Del Efecto Del Procesamiento Sobre El Contenido De Compuestos Bioactivos, Capacidad Antioxidante (Orac) Y El Perfil De Compuestos Polifenólicos Del Jugo De Huiscoyol (Bactris Guineensis)*, tesis pos. Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica, 2019.
- [14] C. Osorio. *et al*, "Microencapsulation by spray-drying of anthocyanin pigments from corozo (Bactris guineensis) fruit.", *J. Agric. Food Chem.*, vol. 58, no. 11, pp.

6977- 6985, may, 2010. [En línea]. Disponible:

<https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/xf100536g>

- [15] H. M. Coronado. *et al*, "Antioxidantes: perspectiva actual para la salud humana." *Revista Chilena De Nutrición*. Vol. 42, no. 2. [En línea]. Disponible: <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-75182015000200014>
- [16] G. Garzón, "Las antocianinas como colorantes naturales y compuestos bioactivos: revisión." *Acta Biológica Colombiana*, vol.13, no.3, pp. 27-36, may, 2008. [En línea]. Disponible: <https://revistas.unal.edu.co/index.php/actabiol/article/view/11337/12000>
- [17] G. Arrazola., I. Herazo y A. Alvis, "Obtención y Evaluación de la Estabilidad de Antocianinas de Berenjena (*Solanum melongena* L.) en Bebidas." *Información Tecnológica*, vol. 25, no. 3, pp. 43-52, 2014, DOI: <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-07642014000300007>.
- [18] E. Flores- Aguilar, *et al*, "Estabilidad de antocianinas, fenoles totales y capacidad antioxidante de bebidas de maíz morado (*zea mays* l.) y uña de gato (*uncaria tomentosa* sp).", *Información Tecnológica*, vol. 29, no.2, mar, 2018, DOI: <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-07642018000200175>
- [19] A. M. Moreno *Extracción química de antocianinas del fruto Açai colombiano (Euterpe oleracea mart.)*. [En línea]. Disponible en: <http://hdl.handle.net/20.500.12010/2685>
- [20] J. Naranjo, *Evaluación de dos métodos para la obtención de extractos con actividad antioxidante a partir de gulupa (passiflora edulis sims.) con aplicación en productos minimamente procesados*, tesis pre. Facultad de ingenierías, Universidad De La Salle, Bogotá, Colombia, 2016.
- [21] P. Ongkowijoyo, D. A. Luna-Vital y E. G. de Mejia, "Extraction techniques and analysis of anthocyanins from food sources by mass spectrometry: An update." *Food Chem*, vol. 250, no. 1, pp. 113-126, jun, 2018, DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.01.055>

- [22] J. Viganó, J. Martínez, "Trends for the application of passion fruit industrial by-products: a review on the chemical composition and extraction techniques of phytochemicals.", *Food and Public Health*, vol. 5 No. 5, 2015, pp. 164-173. doi: 10.5923/j.fph.20150505.03.
- [23] M. Campos-Mondragón. "SOXHLET, del inventor al método". Sabermás. [En línea]. <https://www.sabermas.umich.mx/archivo/articulos/244-numero-29/450-soxhlet-del-inventor-al-metodo.html#:~:text=Soxhlet%20fue%20el%20hombre%20que,llamada%20era%20de%20la%20virtualidad>.
- [24] X. Herrera y K. S. Rodríguez Castillo, *Evaluación del extracto de flavonoles y antocianinas contenidos en el agraz (vaccinium meridionale swartz) obtenidos a nivel laboratorio por medio de los métodos de extracción por solventes y extracción asistida por microondas*, tesis pre. Facultad de Ingenierías, Fundación Universidad de América, Bogotá, Colombia, 2016.
- [25] Fernarolí's, "Revision Bibliografica.", 1975. [En línea]. Disponible: https://www.google.com/url?sa=t&source=web&rct=j&url=http://catarina.udlap.mx/_dl_a/tales/documentos/pro/lopez_a_e/capitulo1.pdf&ved=2ahUKEwjv--D6t4_wAhU5QzABHaCHBfMQFjAUegQIDBAC&usq=AOvVaw0SflsPDtaSNIsgW94Nmtom
- [26] Nyi Mekar Saptarini, Irma Erika Herawati, "Extraction methods and varieties affect total anthocyanins content in acidified extract of papery skin of onion (*Allium cepa* L.)", *Drug Invention Today*, vol. 10, no. 4, pp. 471-474, 2018. [En línea]. Disponible: <https://jprsolutions.info/files/ms-file-5b04e251d36406.96621690.pdf>
- [27] Veggi,P., D. Santos and M. A. Meireles, (December 31,2011)."Anthocyanin extraction from Jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*) skins by different techniques: Economic evaluation.", *Procedia Food Science*, vol. 1, pp. 1725-1731, 2011, DOI: <https://doi.org/10.1016/j.profoo.2011.09.254>
- [28] F. Delgado-Vargas., A. R. Jiménez y O. Paredes-López, "Natural pigments: carotenoids, anthocyanins, and betalains--characteristics, biosynthesis,

processing, and stability." *Crit Rev Food Sci Nutr*, vol. 40, no. 3, pp. 173–289, jun, 2000, DOI: 10.1080/10408690091189257.

[29] D. STRACK. y V. WRAY, "9 - Anthocyanins.", *Methods in Plant Biochemistry*, vol. 1, pp. 325-356, 1989, DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-461011-8.50015-9>.

[30] M. Bermudez, C. Diaz y C. Fuenmayor, "Evaluation of antioxidant components of ethanol extracts of the corozo exocarp (*Bactris guineensis* L.)." *Agronomía Colombiana*. Vol. 32, no. 1, pp. 474-478, sep, 2016 DOI: [10.15446/agron.colomb.v34n1supl.59928](https://doi.org/10.15446/agron.colomb.v34n1supl.59928)

[31] R. J. Velasco, H. S. Villada y J. E. Carrera, "Aplicaciones de los Fluidos Supercríticos en la Agroindustria", *Información Tecnológica*, vol. 18, no. 1, pp. 53- 65, 2007, DOI: <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-07642007000100009>

[32] M. Ponce. *et al*, "High-pressure Fractionation of Tropical Fruits with Potential Antibacterial Activity: *Mangifera Indica* L. and *Bactris Guineensis*." *Chemical Engineering Transactions*, vol. 75, no. 1, pp. 55-60, jun, 2019, DOI: [10.3303/CET1975010](https://doi.org/10.3303/CET1975010)

[33] L. Aguirre Huayhua, *Evaluación De Presión, Temperatura Y Cosolvente En El Rendimiento Y Actividad Antioxidante De Antocianinas Extraídas De Mashua Negra Por Fluidos Supercríticos*, tesis ms. Escuela de Posgrados, Universidad Nacional Del Centro Del Perú, Huancayo, Perú, 2019.

[34] G. Díaz, F. Osorio y S. Ochoa, "Efecto De La Extracción Asistida Con Ultrasonido En La Concentración Y Rendimiento De Antocianinas a Partir De Ñame Morado." Universidad Nacional de Colombia. [En línea]. Disponible: <https://www.colmayor.edu.co/wp-content/uploads/2019/11/3.1.-Efecto-de-la-extracción-asistida-con-ultrasonido-en-la-concentración-y-rendimiento-de-antocianinas-a-partir-de-ñame-morado.pdf>

- [35] E. Flores, "Extracción de Antioxidantes de las Bayas del Sauco (*Sambucus nigra* L. subsp. peruviana) con Ultrasonido, Microondas, Enzimas y Maceración para la obtención de Zumos Funcionales." *Información tecnológica*, vol. 28, no.1, 2017, DOI: <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-07642017000100012>
- [36] N. De la Cruz, *Extracción asistida por ultrasonido de compuestos fenólicos de la pulpa de café (coffea arabica l.) variedad castillo*, tesis ms. Facultad de Ingenierías, Corporación Universitaria Lasallista, Caldas, Antioquia, 2015.
- [37] Hielscher Ultrasound Technology. "Extracción ultrasónica de la cafeína". [En línea]. <https://www.hielscher.com/es/ultrasonic-extraction-of-caffeine-and-other-active-compounds.htm#:~:text=El%20uso%20de%20ultrasonidos%20es,reduciendo%20e%20tiempo%20de%20procesamiento.>
- [38] J. Cardona-Ponce, *Extracción enzimática y análisis cualitativo del jugo de açai (euterpe oleracea mart.)*, tesis pre. Licenciatura, Zamorano, Honduras, 2005.
- [39] J. A. Garcia-Nuñez, J. Paré y J. Belanger, "El Proceso Asistido por Microondas (MAP™)1 aplicaciones para la extracción de aceite de palma." *Palmas.*, vol. 21, no. 2, 2000. [En línea]. Disponible: <https://publicaciones.fedepalma.org/index.php/palmas/article/view/854>.
- [40] M. J. Aliaño-González, *Desarrollo de técnicas de extracción y análisis de polifenoles y antocianos en açai (euterpe olearecea)*, tesis pre. Facultad de cienciasDepartamento de química analítica, Universidad de Cadiz, España, 2014.
- [41] Rodriguez-Werner. (2016). *Anthocyanins and Copigments From Fruits, Vegetables and Flowers: Characterization, Separation and Isolation by Membrane and Countercurrent Chromatography*. [En línea]. Disponible: <https://web-b-ebSCOhost-com.ezproxy.uamerica.edu.co/ehost/ebookviewer/ebook/ZTAwMHh3d19fMjEzMTExOV9fQU41?sid=03da3d6d-7993-44ea-b644-9a8534cbfd97@pdc-v-sessmgr01&vid=2&format=EB&rid=1>
- [42] A. Degenhardt, "Separation and Purification of Anthocyanins by High-Speed Countercurrent Chromatography and Screening for Antioxidant Activity." *Journal of*

Agricultural and Food Chemistry., vol. 48, no. 2, pp. 338-343, 2000, DOI: <https://doi.org/10.1021/jf990876t>

- [43] R. Sejzer. (14, oct, 2016). "Calidad Total: La Matriz de Pugh para la toma de decisiones". *Calidad total*. [En línea]. <http://ctcalidad.blogspot.com/2016/10/la-matriz-de-pugh-para-la-toma-de.html#:~:text=La%20Matriz%20de%20Pugh%20es,una%20actualizaci%20de%20uno%20existente>.
- [44] E. Flores, "Extracción de Antioxidantes de las Bayas del Sauco (*Sambucus nigra* L. subsp. *peruviana*) con Ultrasonido, Microondas, Enzimas y Maceración para la obtención de Zumos Funcionales." *Información Tecnológica.*, vol. 28, no. 1, 2017, DOI: <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-07642017000100012>
- [45] S, Ersan. *et al*, "Phytochemical and mineral composition of fruits and seeds of wild-growing *Bactris guineensis* (L.) H.E. Moore palms from Costa Rica." *Journal of Food Composition and Analysis.*, vol. 94, dic, 2020, DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2020.103611>
- [46] S. Erşan. *et al*, "Determination of pistachio (*Pistacia vera* L.) hull (exo-and mesocarp) phenolics by HPLC-DAD-ESI/MSn and UHPLC-DAD-ELSD after ultrasound-assisted extraction." *Journal of Food Composition and Analysis.*, vol. 62, pp. 103-114, sep, 2017, DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2017.04.013>
- [47] C. Fontanilla-Díaz., D. I. Nieto Mogollón y J. C. Urueta 114, "Consideraciones sobre el transporte de fruto de palma de aceite en la Zona Norte de Colombia*." *Palmas.*, vol. 36, no. 1, pp. 41-53, 2015. [En línea]. Disponible: <https://publicaciones.fedepalma.org/index.php/palmas/article/view/11062>
- [48] BeScience. (s.f.). "Metanol HPLC". [En línea]. <https://www.bescience.com/products/metanol-hplc-1>.
- [49] Fisher Scientific. (s.f.). "Thermo Scientific™ Ácido fórmico Pierce™ - Análisis y cromatografía Productos químicos". [En línea]. Disponible: <https://www.fishersci.es/shop/products/pierce-formic-acid/p-6014003>

- [50] Marbe. (s.f.). "ETILO ACETATO H.P.L.C. 1 Lt," [En línea]. Disponible: <https://www.marbequimica.com.ar/catalogo/productos-quimicos/organicos/etilo-acetato-h-p-l-c-1-lt/>.
- [51] Ika. (s.f.). "Descripción - A 11 basic Molino de análisis". [En línea]. Disponible: <https://www.ika.com/es/Productos-Lab-Eq/Molinos-csp-194/A-11-basic-Molino-de-analisis-cpdt-2900000/>.
- [52] Monmout Scientific, "SONOPULS Ultrasonic Homogenizers PRICE LIST.", ene, 2008, [PDF] Disponible: <http://pdfs.findtheneedle.co.uk/106355-2339.pdf>
- [53] Bimedis, "HERAEUS Labofuge 200 - Bimedis.com". [En línea]. Disponible: <https://bimedis.com/heraeus-labofuge-200-m353575>.
- [54] ebay, "Bruker MS Esquire 3000 espectrómetro de trampa iónica". [En línea]. Disponible: https://www.ebay.com/itm/Bruker-MS-Esquire-3000-Ion-Trap-Spectrometer-/274515610911?_ul=CO.

ANEXO 1

RECOMENDACIONES

Se recomienda la extracción con otras alternativas tales como extracción con microondas, tratamiento enzimático, que han sido desarrolladas en otros frutos similares al Corozo (*B. guineensis*), en donde se han obtenido cantidades significativas de compuestos fenólicos y antocianinas, además de experimentar distintas condiciones operativas intentando aumentar la cantidad de estos compuestos. Dependiendo del objetivo que se desee llevar a cabo ya sea por la influencia de variables como costos de proceso e infraestructura, rendimiento, tiempo de extracción, propiedades de solvente, siendo la primera un factor importante para la implementación de los fluidos supercríticos.

Lo que permite extender y difundir el conocimiento aportado por la experimentación y presentar la oportunidad a distintos sectores como la industria alimentaria, farmacéutica, pinturas y demás con el objetivo de aprovechar las cualidades y capacidades antioxidantes de frutos silvestres cultivados en Colombia.