

CARACTERIZACIÓN DE LAS PROPIEDADES Y LA ESTABILIDAD DEL COLOR DE SOLUCIONES DE LOS ANTRANOIDES PRENILADOS FERRUGININA A Y γ -HIDROXIFERRUGININA A

CHARACTERIZATION OF COLOUR PROPERTIES AND STABILITY OF SOLUTIONS OF PRENYLATED ANTHRANOIDS FERRUGININ A AND γ -HYDROXYFERRUGININ A

CARATERIZAÇÃO DAS PROPRIEDADES E A ESTABILIDADE DA COR DAS SOLUÇÕES DOS ANTRANOIDES PRENILADOS FERRUGININA A E γ -HIDROXIFERRUGININA A

Orfa J. Jiménez, Erick A. Meneses, Carlos M. García¹, Diego L. Durango^{1,2}

Recibido: 06/03/07 – Aceptado: 23/08/07

RESUMEN

Se evaluaron las propiedades del color y la estabilidad a diferentes factores (temperatura y pH) de soluciones de los antranoides prenilados ferruginina A (FRA) y γ -hidroxiferruginina A (HFA), obtenidos a partir de las bayas de las especies *Vismia guianensis* y *V. baccifera* ssp. *ferruginea*. El estudio de la influencia de la temperatura sobre las características espectrales reveló que las soluciones en propilenglicol de la FRA y la HFA son relativamente estables al calor a las temperaturas de 50 y 80 °C, mientras que a 100 y 150 °C presentaron cambios ligeros en la intensidad (ϵ) y tonalidad ($\lambda_{\text{vis-max}}$, coordenadas colorimétricas CIE $L^* a^* b^*$). Adicionalmente, las variaciones del color ($\lambda_{\text{vis-max}}$, ϵ) para los antranoides en el rango de pH 1,0-11,0 durante 60 días de al-

macenamiento a 4 y 25 °C, demostraron una mayor estabilidad del color en condiciones de refrigeración y pH 6,0 y 8,0, la cual fue superior para las soluciones de HFA. Las buenas características de los compuestos los hacen potencialmente útiles como colorantes naturales en la industria de los cosméticos, textil y farmacológica.

Palabras clave: estabilidad del color, antranoides, CIE $L^* a^* b^*$, temperatura, pH, colorantes naturales.

ABSTRACT

Colour properties and stability to different factors (temperature and pH) of solutions of prenylated anthranoids ferruginin A (FRA) and γ -hydroxyferruginin A

1 Escuela de Química, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, sede Medellín, Medellín, Colombia.

2 Autor para la correspondencia: dldurango@unalmed.edu.co, dldurango@unal.edu.co

(HFA), obtained from berries of *Vismia guianensis* and *V. baccifera* ssp. *ferruginea*, were evaluated. Spectral characteristics influenced by different temperatures, revealed that the solutions in propylenglycol of the FRA and HFA were relatively stable to the heat to temperatures of the 50 and 80 °C, whereas to temperatures of 100 and 150 °C they displayed slight changes in the intensity (ϵ) and tonality ($\lambda_{\text{vis-max}}$, colorimetric co-ordinates in the CIE $L^* a^* b^*$ scale). Additionally, colour variation ($\lambda_{\text{vis-max}}$, ϵ) for both anthranoids in the pH range 1.0 – 11.0 during a period of 60 days storage at 4 and 25 °C, showed higher colour stability in refrigerated conditions and pH values of 6.0 and 8.0, being better for solutions of HFA. The good characteristics of compounds make them potentially useful like natural colourants in the textile, cosmetic and pharmacological industry.

Key words: colour stability, anthranoids, CIE $L^* a^* b^*$, temperature, pH, natural colourants.

RESUMO

Foram avaliadas as propriedades da cor e a estabilidade de fatores diferentes (temperatura e pH) de soluções dos antranoídes prenilados ferruginina A (FRA) e γ -hidroxiferruginina A (HFA), obtidos das bagas das espécies *Vismia guianensis* e *V. baccifera* ssp. *ferruginea*. O estudo da influência da temperatura nas características espectrais mostra que as soluções em etilenglicol da FRA e a HFA foram relativamente estáveis ao calor para as temperaturas de 50 e 80 °C, enquanto para temperaturas de 100 e 150 °C apresentaram mudanças leves na intensidade

(ϵ) e tonalidade ($\lambda_{\text{vis-max}}$, coordenadas CIE $L^* a^* b^*$). Além do mais, as variações da cor ($\lambda_{\text{vis-max}}$, ϵ) dos antranoídes no rango de pH 1,0-11,0 durante 60 dias de armazenamento a 4 e 25 °C mostraram uma estabilidade maior em condições refrigeração e em valores de pH de 6,0 e de 8,0, sendo melhor para soluções do HFA. As características boas dos compostos os fazem potencialmente úteis como corantes naturais nas indústrias das cosméticas, têxtil e farmacêutica.

Palavras-chave: estabilidade da cor, antranoídes, CIE $L^* a^* b^*$, temperatura, pH, corantes naturais.

INTRODUCCIÓN

Hay un considerable interés en el desarrollo de colorantes a partir de fuentes naturales que permitan sustituir los de origen sintético empleados en la industria textil, farmacéutica y de cosméticos (1-3). Esta demanda ha estado influenciada principalmente por el concepto desfavorable que se tiene de las sustancias de origen sintético y sus efectos deletéreos sobre el medio ambiente y la salud humana (4, 5). Sin embargo, varios factores restringen la posibilidad de sustituir los colorantes sintéticos por sus contrapartes naturales; estos últimos poseen una estabilidad limitada y su coloración es fácilmente afectada por diversos factores tales como el pH, la temperatura, el oxígeno, la luz, entre otros (6-8). Estos factores restringen seriamente la viabilidad potencial de un colorante al inducir cambios de coloración indeseables y afectar la estabilidad química de las sustancias.

Un material vegetal que ha sido considerado como promisorio en diferentes re-

giones en el ámbito nacional por sus características tintóreas, es el látex de color amarillo-naranja, exudado por algunas especies del género *Vismia* (9, 10). En trabajos previos nuestros (11) hemos encontrado que el extracto en acetato de etilo proveniente de las bayas de las especies *V. guianensis* y *V. baccifera* ssp. *ferruginea* posee una tonalidad vistosa que lo hace interesante para estudios encaminados a la búsqueda de nuevos colorantes naturales. A partir de este extracto, se aislaron y caracterizaron los metabolitos mayoritarios asociados con el color en correspondencia con los antranoides prenilados ferruginina A (FRA) y γ -hidroxiferruginina A (HFA) (Figura 1). En el presente estudio se evaluó la estabilidad del color de soluciones en propilenglicol de los componentes aislados con las variaciones en la temperatura, y de soluciones acuosas de ambos antranoides a dife-

rentes valores de pH y en condiciones de almacenamiento a 4 °C y 25 °C.

MATERIALES Y MÉTODOS

Características del color

Las características CIE L^* a^* b^* de las soluciones etanólicas de los antranoides se determinaron usando un colorímetro Spectraflash SF 600 PLUS Datacolor. Las soluciones de ambos compuestos se depositaron en celdas de vidrio con una longitud de la trayectoria óptica de 1 cm y se establecieron por duplicado los parámetros del color L^* (luminosidad), a^* y b^* bajo modo de transmisión total, usando el iluminante D65 y un ángulo del observador de 10°. El factor croma (C^*) y el ángulo de tono (h°) se calcularon con las fórmulas $C^* = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$ y $h^\circ = (\arctan b^*/a^*)$, respectivamente (12). Mientras el primero es un índice de la saturación de la solución, el último expresa la tonalidad en una rueda del color, de manera que los ángulos de 0 a 90° corresponden a tonos magenta-rojo, de 90 a 180° tonos amarillo, de 180 a 270° tonos verde-azul y de 270 a 360° tonos azul.

Efecto de la temperatura en la estabilidad del color

La estabilidad del color para los antranoides prenilados se determinó en el rango de temperaturas entre 50 y 150 °C. Una concentración conocida de cada componente se preparó con propilenglicol hasta obtener una concentración del antranoide final de 0,05 mg/ml y un volumen determinado de la solución se depositó en un balón de destilación. En el cuello de los balones se unió un condensador de vidrio

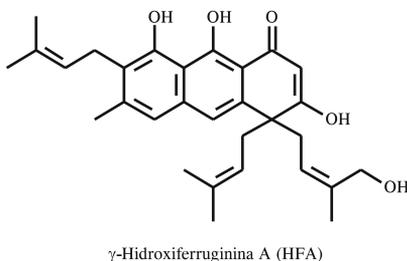
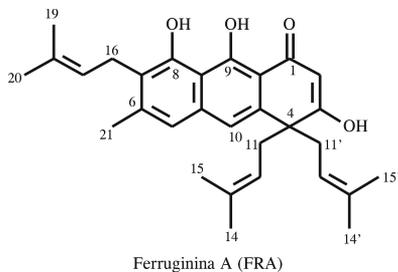


Figura 1. Estructura de los dos colorantes naturales mayoritarios aislados del látex de las bayas de las especies de *Vismia*.

para prevenir las pérdidas por evaporación y el contenido se calentó a reflujo durante 4 horas a cada temperatura. Las soluciones coloreadas se transvasaron posteriormente a viales de vidrio sellados herméticamente y el espacio de aire se eliminó por recirculación con nitrógeno. La absorbancia de cada solución se determinó en un espectrofotómetro Shimadzu UV-160A a la longitud de onda de máxima absorción en el visible ($\lambda_{\text{vis-max}}$) a tiempo cero y posteriormente a intervalos de una hora. Como referencia se utilizó propilenglicol. La estabilidad del color se expresó como el porcentaje remanente de la absorbancia (% absorbancia remanente), definido como la razón entre los valores de la densidad óptica antes y después del tratamiento. Todos los experimentos se realizaron por triplicado. Adicionalmente, para cada muestra se determinaron los parámetros CIE $L^* C^* h^\circ$.

Efecto del pH en la estabilidad del color

La estabilidad del color de cada compuesto se determinó a diferentes valores de pH y temperaturas de 4 °C (condiciones de

refrigeración) y 25 °C (temperatura ambiente). Se preparó una solución patrón de los antranoides empleando como solvente etanol y con una concentración de 0,25 mg/ml. Posteriormente, un volumen conocido de la solución de cada colorante se disolvió con soluciones reguladoras en el rango de valores de pH 1,0-11,0 para dar una concentración final del antranoides de 0,025 mg/ml. Las soluciones reguladoras con diferentes valores de pH se prepararon de acuerdo con la Tabla 1. Los valores de pH no cambiaron durante el almacenamiento y los datos exactos se determinaron con un pH-metro Hanna pH 210 equipado con un microprocesador. Las mediciones UV/Vis en el rango de longitud de onda desde 240 a 700 nm se llevaron a cabo 1 h después de la disolución (soluciones recién preparadas).

Efecto del pH en la estabilidad del color durante el almacenamiento

Las soluciones de los antranoides a cada valor de pH evaluado se dividieron en dos porciones de 10,0 ml que se almacenaron a 4 y 25 °C, en tubos de ensayo sellados con parafilm, en la oscuridad y bajo atmósfera

Tabla 1. Proporciones de las soluciones empleadas (v/v) en las soluciones amortiguadoras de los antranoides prenilados.

| pH | KCl 0,2 M | KHC ₈ O ₄ H ₄ 0,1 M | KH ₂ PO ₄ 0,1 M | Na ₂ HPO ₄ 0,05 M | Bórax 0,025 M | HCl 0,2 M | HCl 0,1 M | NaOH 0,1 M |
|------|--------------|---|--|--|------------------|--------------|--------------|---------------|
| 1,0 | 271,7 | | | | | 728,3 | | |
| 3,0 | | 691,6 | | | | | 308,4 | |
| 6,0 | | | 899,3 | | | | | 100,7 |
| 8,0 | | | | | 709,2 | | 290,8 | |
| 10,0 | | | | | 732,1 | | | 267,9 |
| 11,0 | | | | 904,2 | | | | 95,8 |

de aire. Las soluciones sin los antranoides se emplearon como celdas de referencia. Las mediciones UV/Vis se realizaron luego de 1, 2, 5, 8, 15, 30 y 60 días de almacenamiento. El impacto del oxígeno atmosférico y otros factores, como la composición de la solución reguladora, no se tomaron en cuenta en este estudio. Las intensidades del color se midieron como los valores de la absorbancia a $\lambda_{\text{vis-max}}$, para cada colorante individual a cada valor de pH y se expresaron como los coeficientes de absorptividad molar (ϵ , en $\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$). La estabilidad del color se expresó como el porcentaje remanente de la absorbancia a ciertos intervalos de tiempo con respecto a la absorbancia de las soluciones recién preparadas. Cada experimento se realizó por triplicado.

Modelación molecular

Se realizaron algunos cálculos mecano-cuánticos semiempíricos (AM1) (13) y mecánico-moleculares en vacío (MM^+) (14) empleando el programa PC Spartan Pro® (15), para sustentar una posible explicación de las diferencias en la estabilidad del color de los antranoides con la variación del pH.

Análisis estadístico

Los datos de porcentaje de absorbancia remanente de los colorantes representan la media de tres réplicas. Las barras indican la desviación estándar, \pm D. E.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Características cromáticas de soluciones etanólicas de los antranoides

Las características cromáticas de las soluciones etanólicas de ambos antranoides

son muy similares. Las características del color CIE $L^* a^* b^*$ para la solución etanólica de la FRA con absorbancia de 0,538 a 413,5 nm son $L^* = 94,5$, $a^* = -9,55$ y $b^* = +35,6$; el croma y el ángulo de tono son 36,9 y 105,1, respectivamente. Por su parte, las características del color para la solución etanólica de la HFA con absorbancia de 0,462 a 413,5 nm son $L^* = 94,3$, $a^* = -11,10$ y $b^* = +42,1$; el croma y el ángulo de tono son de 43,5 y 104,7, respectivamente. De acuerdo con las características cromáticas encontradas, las soluciones etanólicas para ambos antranoides poseen un atractivo tono amarillo-verdoso.

Efecto de la temperatura en la estabilidad del color

La temperatura es un factor importante para la estabilidad del color de los antranoides prenilados FRA y HFA (Figura 2). Ambos compuestos presentaron una estabilidad térmica casi similar. Los incrementos en el tiempo y la temperatura de calentamiento se manifestaron en cambios en la intensidad y el tono de las soluciones. A temperaturas inferiores a los 80 °C, las características espectrales para ambos antranoides permanecieron casi invariables durante las 4 h de tratamiento; en los tratamientos con las temperaturas más elevadas, sin embargo, se apreciaron cambios en la $\lambda_{\text{vis-max}}$ (un desplazamiento hipsocrómico) y en la intensidad (fueron mayores durante la primera hora de tratamiento) (Tablas 2 y 3).

Adicionalmente, cuando las soluciones se trataron durante 4 h a 100 y 150 °C, el color de las soluciones se hizo más profundo. La siguiente tendencia es la misma para ambos compuestos: una de-

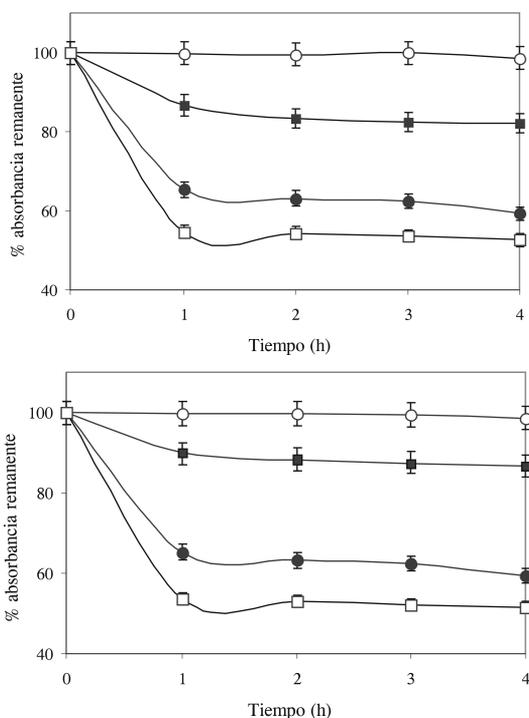


Figura 2. Efecto de la temperatura en la estabilidad del color para los colorantes naturales FRA (arriba) y HFA (abajo); 50 μ mg/ml. (○), 50°C; (■), 80°C; (●), 100°C; (□), 150°C. Los datos se expresan como medias \pm D. E. para $n = 3$ muestras.

coloración durante la primera hora de tratamiento, causada por una ligera pérdida de la saturación, C^* , y un incremento en la luminosidad, L^* . Luego de lo cual las soluciones se tornaron más oscuras (disminución en L^*). A partir de su posición inicial en la rueda del color, los ángulos de tono se movieron primero en sentido contrario al de las manecillas del reloj (h° cambió a valores superiores) durante las primeras 2 h (desplazamiento hacia tonos verdes), y posteriormente un aumento en el tiempo de tratamiento ocasionó un desplazamiento de h° en el sentido horario (hacia tonalidades rojizas).

Las variaciones en las características espectrales con el tiempo y la temperatura

de calentamiento posiblemente pueden asociarse con reordenamientos térmicos similares a los que han sido reportados previamente para los antranoides prenilados, sin mezclar bajo vacío (0,04 mm Hg) a 150 °C durante 1 h (16) y en solución con CH_2Cl_2 en reflujo durante 90 h (17), y que conducen a la formación de antronas.

Efecto del pH en la estabilidad del color

Los parámetros empleados para describir las variaciones del color son principalmente los desplazamientos de $\lambda_{\text{vis-max}}$ (variaciones del tono) y los cambios en ϵ (variaciones de la intensidad del color).

Tabla 2. Características cromáticas de las soluciones de FRA en función del tiempo y la temperatura de calentamiento.

| Temperatura (°C) | | Tiempo (h) | | | | |
|------------------|----------------------------|------------|-------|-------|-------|-------|
| | | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 50 | $\lambda_{\text{vis-max}}$ | 413,5 | 413,5 | 413,5 | 413,5 | 413,5 |
| | L^* | 94,5 | 94,0 | 93,9 | 94,5 | 94,0 |
| | C^* | 36,9 | 32,9 | 31,5 | 26,9 | 25,9 |
| | h° | 105,0 | 100,1 | 101,3 | 102,4 | 103,7 |
| 80 | $\lambda_{\text{vis-max}}$ | 413,5 | 413,5 | 413,5 | 413,5 | 412,0 |
| | L^* | 94,5 | 95,8 | 92,0 | 93,3 | 92,0 |
| | C^* | 36,9 | 31,7 | 28,8 | 25,1 | 24,1 |
| | h° | 105,0 | 98,6 | 103,1 | 104,1 | 104,4 |
| 100 | $\lambda_{\text{vis-max}}$ | 413,5 | 410,0 | 400,5 | 396,0 | 395,0 |
| | L^* | 94,5 | 95,3 | 97,2 | 87,0 | 80,1 |
| | C^* | 36,9 | 31,2 | 29,0 | 27,5 | 26,6 |
| | h° | 105,0 | 110,8 | 102,0 | 96,4 | 82,6 |
| 150 | $\lambda_{\text{vis-max}}$ | 413,5 | 390,0 | 387,0 | 386,0 | 384,5 |
| | L^* | 94,5 | 96,1 | 98,3 | 83,4 | 76,8 |
| | C^* | 36,9 | 28,0 | 27,7 | 30,7 | 34,0 |
| | h° | 105,0 | 115,7 | 102,8 | 78,5 | 76,2 |

Tabla 3. Características cromáticas de las soluciones de HFA en función del tiempo y la temperatura de calentamiento.

| Temperatura (°C) | | Tiempo (h) | | | | |
|------------------|----------------------------|------------|-------|-------|-------|-------|
| | | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 50 | $\lambda_{\text{vis-max}}$ | 413,5 | 413,5 | 413,5 | 413,5 | 413,5 |
| | L^* | 97,0 | 96,5 | 97,0 | 97,5 | 97,5 |
| | C^* | 35,4 | 33,4 | 32,3 | 32,9 | 33,5 |
| | h° | 98,5 | 98,4 | 99,1 | 100,5 | 97,2 |
| 80 | $\lambda_{\text{vis-max}}$ | 413,5 | 413,5 | 413,5 | 413,5 | 412,0 |
| | L^* | 97,0 | 97,0 | 96,5 | 96,5 | 97,5 |
| | C^* | 35,4 | 31,6 | 31,0 | 30,0 | 30,2 |
| | h° | 98,5 | 99,0 | 101,0 | 100,5 | 103,9 |
| 100 | $\lambda_{\text{vis-max}}$ | 413,5 | 411,0 | 403,0 | 399,5 | 397,0 |
| | L^* | 97,0 | 98,5 | 96,2 | 90,8 | 82,6 |
| | C^* | 35,4 | 32,3 | 31,7 | 34,6 | 34,3 |
| | h° | 98,5 | 110,4 | 112,5 | 104,5 | 94,5 |
| 150 | $\lambda_{\text{vis-max}}$ | 413,5 | 394,0 | 390,5 | 387,0 | 385,5 |
| | L^* | 97,0 | 99,3 | 99,2 | 89,1 | 80,2 |
| | C^* | 35,4 | 32,7 | 30,5 | 29,0 | 33,3 |
| | h° | 98,5 | 112,0 | 101,8 | 83,6 | 80,9 |

Variación del color de las soluciones a valores de pH entre 1,0 y 11,0

Graficando los valores de la longitud de onda de máxima absorción en el visible, $\lambda_{\text{vis-max}}$, obtenidos para los dos antranoides preñilados 1 h después de la disolución en las soluciones acuosas de diferente pH (soluciones recién preparadas), se observó un patrón análogo para ambos colorantes (Figura 3). Los antranoides describieron curvas paralelas que muestran valores de $\lambda_{\text{vis-max}}$ casi idénticos en todos los valores de pH evaluados. Adicionalmente, el máximo de absorción visible para la FRA y la HFA sufrió un ligero desplazamiento hipsocrómico a valores de pH entre 3,0 y 6,0 (la $\lambda_{\text{vis-max}}$ se desplazó desde 413 hasta 406 nm aproximadamente). Por su parte, entre los valores de pH 6,0 y 11,0, ambos colorantes presentaron cambios muy pequeños en la $\lambda_{\text{vis-max}}$. La similitud entre las

curvas, a través de todo el rango de valores de pH, indica que ambos colorantes tienen la misma distribución de las formas coloradas en el tautomerismo ceto-enol (18).

Intensidad del color de las soluciones a valores de pH entre 1,0-11,0

La variación del pH también afecta la intensidad del color describiendo curvas paralelas para ambos compuestos (Figura 4). El incremento del pH entre 1,0 y 11,0 ocasionó un aumento en la intensidad del color de los antranoides hasta alcanzar un máximo a pH 10,0. Este incremento en la intensidad del color en medios alcalinos puede ser el resultado de reacciones de transferencia de protones de los grupos hidroxilo fenólicos sobre el núcleo antraoide, que modifican al grupo cromofórico.

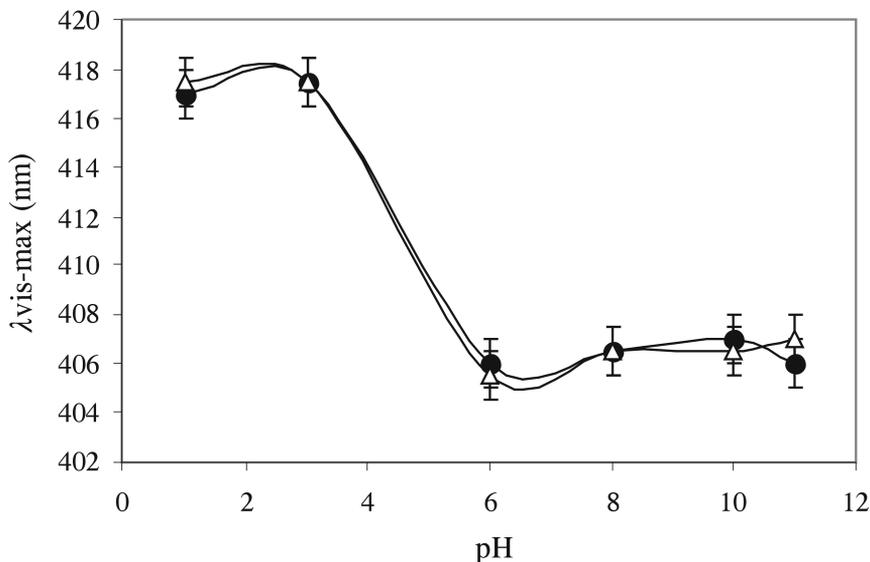


Figura 3. Máximo de absorción visible ($\lambda_{\text{vis-max}}$, nm) a diferentes valores de pH, para (a) la FRA a una concentración de $1,0 \times 10^{-4}$ M (●) y (b) la HFA a una concentración de $1,0 \times 10^{-4}$ M (△) determinado 1 h después de la disolución en las soluciones reguladoras a temperatura ambiente. Los datos se expresan como medias \pm D. E. para $n = 3$ muestras.

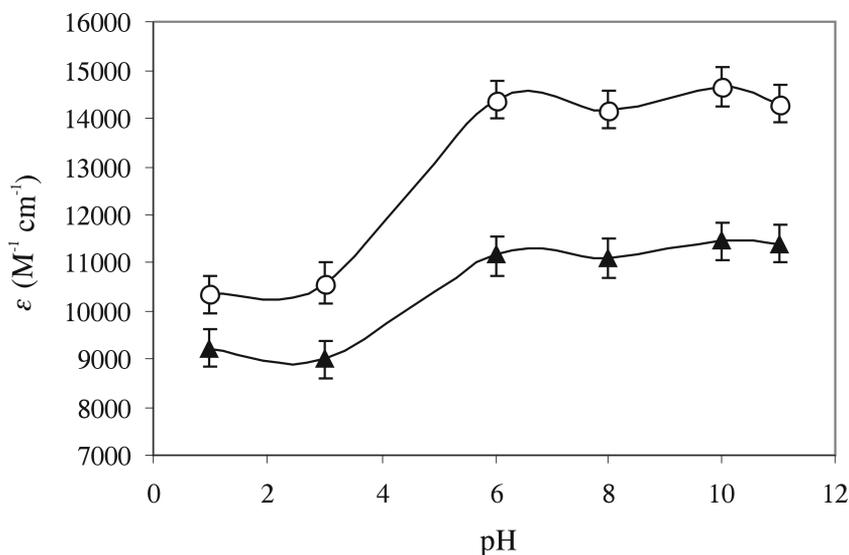


Figura 4. Absorptividad molar absoluta como una función del pH para las soluciones de FRA (○) y HFA (▲) de concentración $1,0 \times 10^{-4}$ M. Los datos se expresan como medias \pm D. E. (desviación estándar) para $n = 3$ muestras.

Adicionalmente, los antranoides mostraron un notable efecto hipercrómico en el rango de valores de pH 3,0 a 6,0 y la absorptividad cambió desde aproximadamente 10.580 hasta 14.389 y desde 8.986 hasta 11.157 para la FRA y la HFA, respectivamente. Un aumento posterior en el pH ocasionó variaciones ligeras en la intensidad del color. La intensidad del color de las soluciones de FRA es consistentemente mayor que la de la HFA, a través de todo el rango de valores de pH evaluados (1.500 unidades entre pH 1,0 y 3,0 y casi 3.000 unidades a pH alcalinos).

Estabilidad del color en almacenamiento a 4 y 25 °C y valores de pH entre 1,0 y 11,0

Como era de esperarse, la temperatura de almacenamiento tuvo un claro efecto en la degradación de ambos compuestos. A me-

didada que la temperatura disminuyó (manteniendo constante el pH), la estabilidad de color incrementó. El almacenamiento a 25 °C produjo una degradación mucho más rápida del color de los antranoides que en refrigeración, bajo los mismos valores de pH; específicamente, a 4 °C, la absorbancia de las soluciones de FRA disminuyó entre 1 y 13% a pH 6,0 y 8,0, respectivamente, mientras que a 25 °C la absorbancia decreció entre 97 y 100%.

Estabilidad en almacenamiento a 25 °C

Sorprendentemente, la HFA mostró una mayor estabilidad del color que la FRA a todos los valores de pH evaluados. La absorbancia a $\lambda_{\text{vis-max}}$ decreció más lentamente en este antranuido y al menos 40% del color permaneció intacto después de 60 días de almacenamiento a todos los va-

lores de pH evaluados. La mayor estabilidad para ambos compuestos se alcanzó en los valores de pH intermedios (Figura 6); la FRA mostró una estabilidad superior al 80% después de 15 días de almacenamiento, la cual luego decreció rápidamente hasta que el color de la solución se perdió por completo entre los días 30 y 60. En contraste, la estabilidad del color de la HFA a estos mismos valores de pH es muy superior, y la absorbancia a $\lambda_{\text{vis-max}}$ permaneció casi igual durante los 60 días de almacenamiento. Por otra parte, la menor estabilidad del color se presentó en las soluciones reguladoras de mayor alcalinidad y acidez. Por ejemplo, a valores de pH de 1,0 y 3,0 se encontró que la estabilidad del color de la FRA decreció más rápidamente que en las soluciones de HFA y el color desapareció totalmente después de 15 días (Figuras 5 y 7); esto demuestra una estabilidad del color adicional para la HFA.

Estabilidad en almacenamiento a 4 °C

Durante el almacenamiento a 4 °C y en el rango de valores de pH entre 6,0 y 11,0, la estabilidad del color de ambos antranoides permaneció casi igual después de los 60 días; incluso a valores de pH elevados, la FRA y la HFA presentaron valores de absorción visible ligeramente superiores al 100% con el aumento en el tiempo de almacenamiento. Esto claramente corrobora el hecho de que la intensidad del color de ambos colorantes aumenta en la región alcalina para las dos temperaturas de almacenamiento evaluadas.

Solo en condiciones fuertemente ácidas se aprecian diferencias sustanciales en la estabilidad del color de los dos antranoides en condiciones de refrigeración. A valores de pH 1,0 y 3,0, la estabilidad para la FRA es mucho menor que la de la HFA. Para el pH 1,0, el color de la solución de FRA se pierde completamente al cabo de 15 días, cuando aún el por-

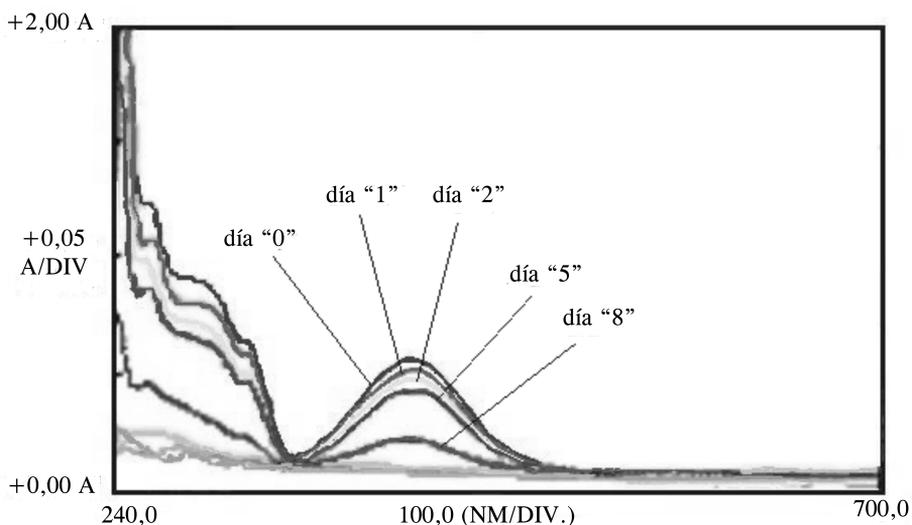


Figura 5. Espectro de absorción UV-visible de las soluciones de FRA en la solución amortiguadora a pH 1,0 almacenada a 25 °C durante diferentes intervalos de tiempo.

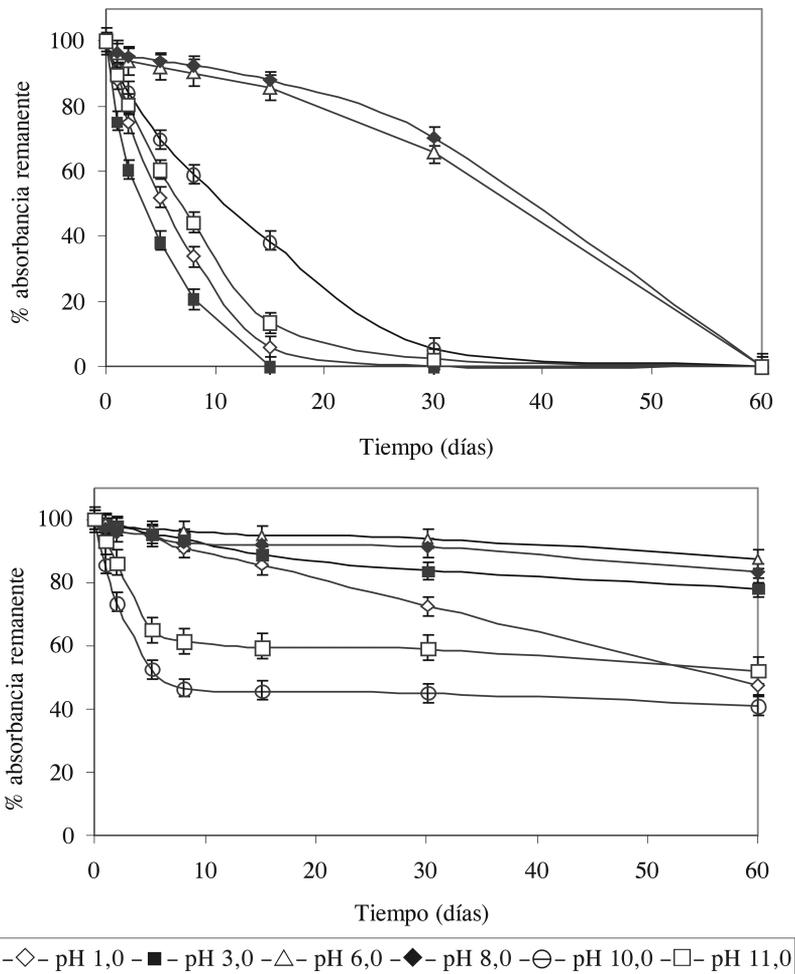


Figura 6. Porcentajes de absorbancia remanente (determinada a $\lambda_{\text{vis-max}}$) durante 60 días de almacenamiento a 25 °C en soluciones acuosas reguladoras de diferentes valores de pH y de concentración $1,0 \times 10^{-4}$ M, para la FRA (arriba) y la HFA (abajo), en la oscuridad y con atmósfera de aire. Los datos se expresan como medias \pm D. E. para $n = 3$ muestras.

centaje de absorbancia remanente para la HFA supera el 80%. De esta manera se confirma que, incluso a la temperatura de refrigeración, la HFA posee una estabilidad del color adicional a la presentada por la FRA.

A pesar de que la FRA y la HFA contienen la misma estructura cromofórica,

pueden dar lugar a diferente estabilidad en el color de sus soluciones, dependiendo de diversos factores físicos y químicos, tales como el pH y la temperatura. Esta clase de comportamiento se ha conocido desde hace mucho tiempo para las antocianinas (19-22), pero no hay ninguna información sobre esta conducta en los antranoídes prenilados. La FRA y la

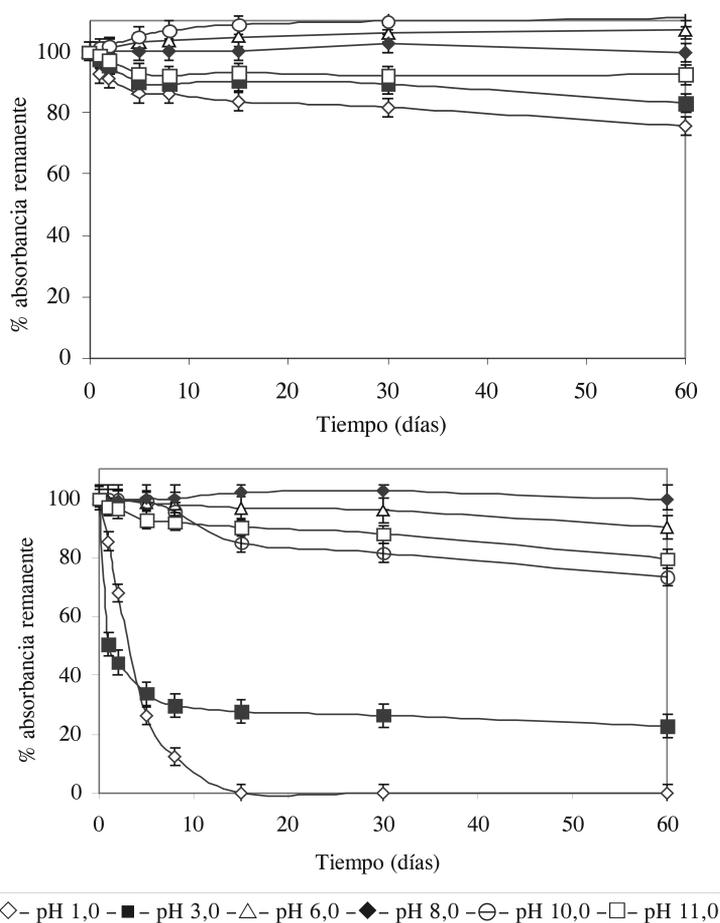


Figura 7. Porcentajes de absorbancia remanente (determinada a $\lambda_{vis-max}$) durante 60 días de almacenamiento a 4 °C en soluciones acuosas reguladoras de diferentes valores de pH y de concentración $1,0 \times 10^{-4}$ M, para la FRA (arriba) y la HFA (abajo), en la oscuridad y en atmósfera de aire. Los datos se expresan como medias \pm D. E. para $n = 3$ muestras.

HFA poseen residuos alifáticos unidos a la unidad antranoide que pueden posiblemente ser responsables de esta observación. Es posible que la estabilidad del color pueda ser causada por un fenómeno de copigmentación intramolecular de la porción de la cadena γ -hidroximetil- γ' -metilalil, la cual quizá se pliega sobre sí misma e interactúa con el sistema del sistema π planar antranoide. Esta hipótesis está

soportada por la realización de cálculos moleculares con el programa para computador PC Spartan Pro® (15). Los datos colectados de esta manera sugieren una conformación de baja energía tipo “sandwich” para la estructura de estos antranoideos, con las dos cadenas gem-di-C-prenilos plegadas por encima y por debajo del cromóforo. Los cálculos de orbitales moleculares AM1, aunque son reali-

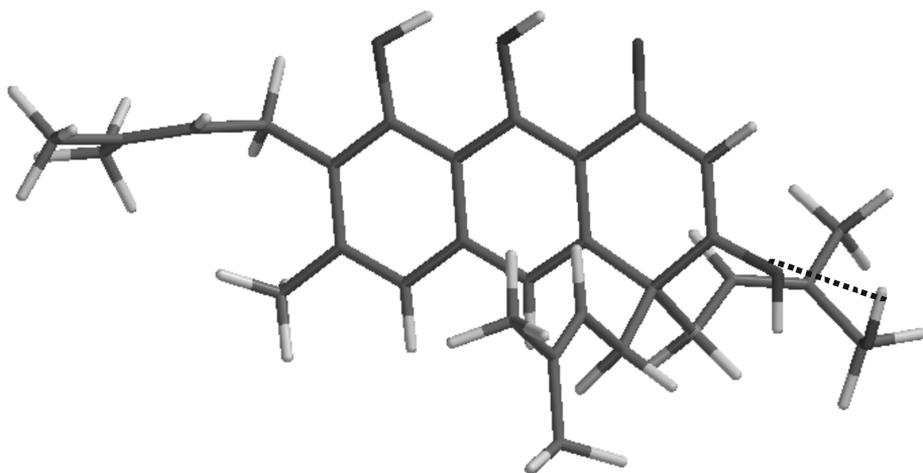


Figura 8. Estructura de la HFA optimizada por MM^+ ; muestra el enlace de hidrógeno entre el grupo OH alílico y el grupo OH enólico (•••). Los grupos metilo de las dos cadenas gem-di-C-prenílicas impiden el ataque nucleofílico de las moléculas de agua al grupo carbonilo.

zados *in vacuo*, lo cual no es directamente comparable con el comportamiento molecular en solución acuosa, predicen una conformación plegada favorecida termodinámicamente con respecto a una más extendida.

Adicionalmente, la HFA tiene un arreglo estructural especial que permite la formación de un puente de hidrógeno intramolecular entre el grupo hidroxilo alílico de la cadena γ -hidroximetil- γ' -metilalil y el grupo hidroxilo enólico (Figura 8), así como también con el grupo carbonilo en C1 a través de una molécula de agua (Figura 9). La formación de estos puentes de hidrógeno intramoleculares puede posiblemente proteger las formas coloreadas contra el ataque nucleofílico de la molécula de agua sobre el cromóforo e incrementar la capacidad para producir colores más estables cuando permanece en soluciones acuosas ácidas. Los valores obteni-

dos de distancia interatómica soportan la hipótesis anterior, puesto que la distancia de un enlace de hidrógeno típico comprende el rango desde 2,5 hasta 3,3 Å (23, 24) y es consistente con el hecho de que la dis-

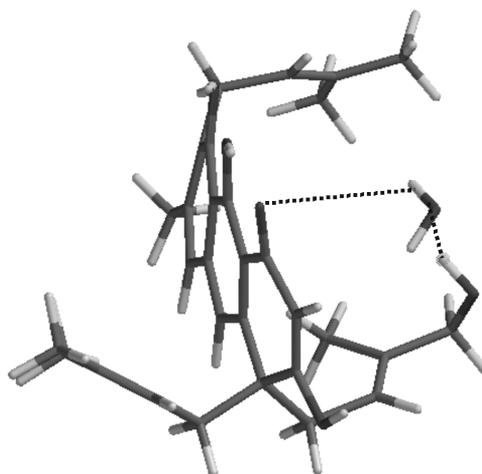


Figura 9. Estructura de la HFA optimizada por MM^+ ; muestra el impedimento del ataque de nucleófilos al grupo carbonilo debido a los enlaces de H entre el grupo OH alílico, la molécula de agua y el grupo carbonilo (••••).

tancia para el puente de hidrógeno de la Figura 8 es de 1.955 Å. Estos enlaces de hidrógeno intramoleculares generan conformaciones que bloquean al grupo carbonilo y, en general, al anillo C del antranoide, y permite una protección más eficiente contra la hidratación en la HFA. El puente de hidrógeno se computó a través del uso del campo de fuerza MM⁺.

CONCLUSIONES

Los antranoides prenilados ferruginina A (FRA) y γ -hidroxiferruginina A (HFA) procedentes de las bayas de algunas especies de *Vismia* mostraron una relativa buena estabilidad del color a diferentes condiciones de temperatura y pH. El color de las soluciones de los antranoides permaneció constante a las temperaturas de 50 y 80 °C, y solo se presentaron cambios en las características espectrales y la tonalidad a 100 y 150 °C pasadas tres horas de tratamiento. Por su parte, el estudio de la estabilidad del color con las variaciones del pH demuestra cambios en el tono y la intensidad de las soluciones (especialmente entre pH 3,0 y 6,0). La mayor intensidad del color para ambos compuestos se presentó en medios alcalinos. Por su parte, los estudios de estabilidad del color durante el almacenamiento a los diferentes pH evaluados revelan un mayor porcentaje de absorbancia remanente en condiciones de refrigeración y a pH 6,0 y 8,0, para ambos antranoides. A 25 °C, la HFA muestra una mayor estabilidad que la FRA en todos los valores de pH. Los datos generados a través de este trabajo pueden usarse como una base para estudiar la viabilidad potencial de usar los antranoides prenilados como colorantes naturales en diferentes industrias.

AGRADECIMIENTO

Este trabajo se financió por la Dirección de Investigaciones de la Universidad Nacional de Colombia, sede Medellín (DIME) – código DIME No. 30802946. Los autores agradecen al Laboratorio de Venenos Naturales de la Universidad Nacional de Colombia, sede Medellín, por su especial colaboración.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Eom, S.; Shin, D.; Yoon, K. Improving the dyeability of natural colourants on cotton by cationization. *Ind. J. Fibre Text. Res.* 2001. **26** (4): 425-431.
2. Paik, Y. S.; Lee, Ch. M.; Cho, M. H.; Hahn, T. R. Physical stability of the blue pigments formed from geniposide of Gardenia fruits: Effects of pH, temperature, and light. *J. Agric. Food Chem.* 2001. **49**: 430-432.
3. Castellar, R.; Obón, J. M.; Alacid, M.; Fernández-López, J. A. Color properties and stability of betacyanins from *Opuntia* fruits. *J. Agric. Food Chem.* 2003. **51**: 2772-2776.
4. Zhang, H.; Zhan, J.; Su, K.; Zhang, Y. A kind of potential food additive produced by *Streptomyces coelicolor*: Characteristics of blue pigment and identification of a novel compound, γ -actinorhodin. *Food Chemistry.* 2006. **95**: 186-192.
5. Bhuyan, R.; Saikia, C. N. Isolation of colour components from native dye-bearing plants in northeastern India. *Bioresource Technology.* 2005. **96**: 363-372.

6. Cevallos-Casals, B. A.; Cisneros-Zevallos, L. Stability of anthocyanin-based aqueous extracts of Andean purple corn and red-fleshed sweet potato compared to synthetic and natural colorants. *Food Chemistry*. 2004. **86**: 69-77.
7. Inami, O.; Tamura, I.; Kikuzaki, H.; Nakatani, N. Stability of anthocyanins of *Sambucus canadensis* and *Sambucus nigra*. *J. Agric. Food Chem.* 1996, **44**: 3090-3096.
8. Francis, F. J. Anthocyanins. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 1989. **28**: 273-314.
9. Cárdenas, D.; López, R. Plantas útiles de la Amazonia colombiana, Departamento del Amazonas: perspectivas de los productos forestales no maderables. Instituto Amazónico de Investigaciones Científicas Sinchi. Ministerio del Medio Ambiente. Colombia. 2000. 133 pp.
10. Schmidt, M. J. Farming and patterns of agrobiodiversity on the Amazon floodplain in the vicinity of Mami-ruá, Amazonas, Brazil. M. Sc. Thesis. Universidad de la Florida. 2003. 210 pp.
11. Jiménez, O. J. Estudio etnobotánico y caracterización química de colorantes vegetales como productos secundarios del bosque en el Parque Regional Arví (Antioquia, Colombia). Tesis de M. Sc. Universidad Nacional de Colombia. 2006. 91 pp.
12. Commission Internationale de l'Eclairage. *Colorimetry*. Publication CIE No. 15.2, Vienna. 1986.
13. Dewar, M. J. S.; Zoebisch, E. G.; Healy, E. F.; Stewart, J. J. P. AM1: A new general purpose quantum mechanical molecular model. *J. Am. Chem. Soc.* 1985. **107**: 3902.
14. Allinger, N. L. Conformational Analysis 130. MM2. A hydrocarbon force field utilizing V1 and V2 torsional terms. *J. Am. Chem. Soc.* 1977. **99**: 8127-8134.
15. Wavefunction (2000). PC Spartan PRO program. California, USA: Wavefunction Inc.
16. delle Monache, F.; Torres, F. F.; Marini-Bettolo, G. B.; Alves de Lima, R. A. Chemistry of *Vismia* genus. Note V: -hydroxy and , '-dihydroxy-feruginin A. *J. Nat. Products*. 1980. **43**: 487-494.
17. Kouam, S. F.; Ngadjui, B. T.; Krohn, K.; Choudhary, M. I. Thermal rearrangement of harunganin and allylations of some compounds from *Harungana madagascariensis*. *ARKIVOC*. 2007 (ix): 64-70.
18. Nicoletti, M.; Marini Bettolo, G. B.; delle Monache, F.; delle Monache, G. Keto-enolic tautomerism and spectral data of prenylated anthra-noids from *Vismia* genus. *Tetrahedron*. 1982. **38** (24): 3679-3686.
19. Mazza, G.; Brouillard, R. The mechanism of co-pigmentation of anthocyanins in aqueous solutions. *Phytochemistry*. 1990. **29**: 1097-1102.
20. Figueiredo, P.; Elhabiri, M.; Toki, K.; Saito, N.; Dangles, O.; Brouillard, R. New aspects of anthocyanin complexation. Intramolecular copig-

- mentation as a means for colour loss? *Phytochemistry*. 1996. **41** (1): 301-308.
21. Figueiredo, P.; George, F.; Tatsuzawa, F.; Toki, K.; Saito, N.; Brouillard, R. New features of intramolecular copigmentation by acylated anthocyanins. *Phytochemistry*. 1999. **51**: 125-132.
22. Brouillard, R. In: Anthocyanins as food colors. P. Markakis (ed.), New York, London. 1982. pp. 1-38.
23. Rice, S. A. *Topics in Current Chemistry, Structure of Liquids* (vol. 60). Springer-Verlag, Berlin. 1975. pp. 109-200.
24. Chin, D. N.; Palmore, G. T.; Whitesides, G. M. Predicting crystalline packing arrangements of molecules that form hydrogen-bonded tapes. *J. Am. Chem. Soc.* 1999. **121**: 2115-2122.