

DESARROLLO DE UN PRODUCTO COSMÉTICO UTILIZANDO UN PIGMENTO NATURAL EXTRAÍDO DE LA FRUTA *Syzygium cumini* (L) Skeels. (PESJUA)

MARÍA LEÓN¹, YURUBI SURUMAY¹, GERMANIA MARQUINA-CHIDSEY¹, DANIEL ARIAS²

¹ Universidad de Carabobo, Facultad de Ingeniería, Escuela de Química, Centro de Investigaciones Químicas,
e-mail: germaniamarquina@gmail.com

² Universidad de Carabobo, Facultad de Ciencias y Tecnología, Departamento de Química, Laboratorio de Servicios
Analíticos e Investigación, e-mail: dariast@yahoo.com

Recibido: junio 2014

Recibido en forma final revisado: diciembre 2014

RESUMEN

En el presente trabajo se expone la extracción y estabilización de las antocianinas, pigmento natural de la fruta *Syzygium cumini* (L) (pesjua), para ser utilizado en la elaboración de un champú, como sustituto de un colorante artificial. El pigmento se extrajo de la pesjua liofilizada con una mezcla de solventes: etanol 95%; ácido clorhídrico 0,1 N (85:15). Se logró extraer un 20% de pigmento, con una concentración de 1865 ppm y el valor total de antocianinas monoméricas resultó 43mg cy-3-gly/100g peso fresco. Luego, se evaluó la estabilidad acelerada tanto del colorante natural como del artificial, rojo No. 40. Las antocianinas resultaron más estables a pH= 3 y a 33 °C, y el rojo 40 resultó más estable a 50 °C. Posteriormente, se elaboró un champú empleando el pigmento extraído, demostrándose que este pigmento puede ser utilizado como sustituto de un colorante artificial. Finalmente se caracterizó el producto elaborado mediante pruebas fisicoquímicas, cumpliendo con la Norma COVENIN.

Palabras Clave: antocianinas, champú, colorantes, lixiviación, rojo 40, *Syzygium cumini* (L) Skeels.

DEVELOPMENT OF A COSMETIC PRODUCT USING A NATURAL DYE EXTRACTED FROM JAMBOLAN FRUIT (*Syzygium cumini* (L). Skeels)

ABSTRACT

In the present investigation, a process of extraction and stabilization of the anthocyanines, the natural dye in jambolan fruit (*Syzygium cumini* (L). Skeels) was developed to be used in the manufacture of a shampoo as a substitute for artificial colorants. Initially jambolan fruits were collected, frozen, lyophilized, and cold macerated using a solvent mixture: (95% ethanol:0.1 N hydrochloric acid 85:15). 20% of dye was extracted and its concentration was 1,865 ppm and its total monomeric anthocyanin was 43mg cy-3-gly/100 g fresh weight. Then, the accelerated stability of the extracts was evaluated at 33 °C and 50 °C and pH=3 and pH=4, of both the natural colorant and Red No. 40. The anthocyanin were more stable at pH=3 than at pH=4 and at 33 °C than at 50 °C and at the latter temperature red 40 is more stable. Subsequently, a shampoo with the addition of the extracted dye was developed, showing that it can be used as a substitute for artificial colorant. Finally, the finished product was characterized by physicochemical tests, according to COVENIN standards.

Keywords: anthocyanin, shampoo, colorants, lixiviation, red 40, *Syzygium cumini* (L.) Skeels

INTRODUCCIÓN

Desde la antigüedad el hombre ha dado gran importancia al color, incluyéndolo en casi todas sus creaciones a lo largo de la historia y atribuyéndole desde un carácter místico y mágico, hasta la manera como se perciben las cosas. A medida que las civilizaciones han evolucionado, se han industrializado los procesos y sustituido todo tipo de fuentes naturales por productos sintéticos, entre estos, los pigmentos, de los cuales se han logrado sintetizar una gran

variedad. Sin embargo, se tienen reportes (Brouillard, 1982) sobre la seguridad y los efectos nocivos y tóxicos que tienen estos productos artificiales sobre la salud, incrementándose así el interés por productos colorantes de origen natural. Por ejemplo, la investigación científica de los pigmentos antocianínicos se ha incrementado en los últimos años y no sólo por su potencial como colorantes, sino también por sus beneficios a la salud, como la reducción de enfermedades (Brouillard, 1982). Las antocianinas representan el grupo más importante de pigmentos hidrosolubles detectables en

la región visible por el ojo humano y son responsables de la gama de colores que abarcan desde el rojo hasta el azul en muchos productos vegetales. (Garzón, 2008; Giusti et al., 2001; Igoe et al., 2001; y Chaudhary et al. 2013). Uno de estos productos es la pesjua (*Syzygium cumini*L.), una fruta exótica, perteneciente a la familia de las mirtáceas, que crece en diversos países incluyendo a Venezuela, y cuyo color rojizo-violeta debido a las antocianinas puede ser empleado como sustituto de colorantes artificiales como el rojo No. 40, tanto en productos alimenticios como en medicinas y cosméticos (Delgado-Vargas et al., 2000, FDA Agency U.S., 2011. Li et al., 2009). Por ello, el presente estudio tiene como objetivo desarrollar un proceso de extracción y estabilización del pigmento natural presente en la fruta *S. cumini* L. (pesjua).

TÉCNICAS EXPERIMENTALES

Materia prima: Una muestra de árbol de pesjua con hojas y tallo se llevó al herbario de la Universidad Central de Venezuela para realizar el estudio taxonómico, siendo identificado como pesjua (*Syzygium cumini*L.). Por medio de la técnica de vareo se recolectaron 400 g de fruta en el mes de febrero del año 2011 del árbol de pesjua identificado, ubicado en la Universidad de Carabobo, latitud norte 10°, 16,684', y longitud oeste 68°, 0,920', a una altura de 465 msnm. El fruto colectado se lavó, se extrajo la semilla y la pulpa resultante (200 g) se congeló

Extracción del pigmento: Siguiendo el procedimiento de Fuleki. et al., 1968, se liofilizaron 100 g de pulpa de pesjua en el Instituto Biomol de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad de Carabobo. Esta se maceró en frío empleando 100 mL de disolvente extractor (etanol 95%, ácido clorhídrico 0,1 N en proporción 85:15), durante 24 h a 4 °C y se filtró el extracto con volúmenes de aproximadamente 50 mL de disolvente extractor, empleando papel Whatman No. 1 en un embudo Büchner al vacío.

Cuantificación del pigmento: por medio del método diferencial de pH, según la AOAC (2005), se determinó la cantidad y concentración de antocianinas expresadas como cianidina-3-glucósido (cy-3-gly), empleando un equipo UV-Vis Perkin Elmer Lambda 25.

Estudio de estabilidad: siguiendo el procedimiento de Lee. et al., 2005, se prepararon soluciones a pH=3 y a pH=4 del colorante natural extraído y soluciones de rojo No. 40 a esos mismos valores de pH, empleando soluciones amortiguadoras de ftalato ácido de potasio-ácido clorhídrico y se estudió la estabilidad de estas a 33

°C y 50 °C, a través de UV-Visible a la longitud de onda de máxima absorbancia, durante dos semanas. Para la evaluación de estabilidad de las antocianinas y del rojo No. 40, se empleó el programa estadístico ANOVA de libre descarga, con un diseño factorial 2² por bloques, con dos factores temperatura y pH, bajo y alto, T1=33°C y T2=50°C y pH1= 3 y pH2=4, respectivamente, durante un período de tiempo, que por considerarlo aleatorio no se considera como variable.

Elaboración del producto cosmético: se elaboró un champú con la composición mostrada en la tabla 1, con el colorante natural extraído y otro de igual composición con colorante artificial rojo 40, con fines comparativos, de acuerdo a COVENIN 2008:1997.

Tabla 1. Ingredientes del champú elaborado.

Ingredientes	Porcentaje empleado (%)	Observación
Agua	72	Solvente vehículo
Lauril éter sulfato de sodio	20	Surfactante aniónico.
Cocoamido-propilbetaína	6	Surfactante anfotérico
Cocodietanol-amida	2	Surfactante no-ionico
Cloruro de sodio	2	Agente viscosante
Ácido cítrico	0,3	Dador de acidez
Perfume	0,45	Fragancia floral
Preservantes	0,2	Para evitar contaminación microbiológica
Colorante	0,48	

Caracterización del champú mediante pruebas fisicoquímicas: Al champú con colorante natural se le midieron: pH (con un pH metro), densidad (con picnómetro), viscosidad (con un equipo Brookfield, con una aguja N° 3 a 10 rpm), agente tensoactivo aniónico (COVENIN 1426:1995), acidez libre (COVENIN 1623:1995). Para ambos champús se midieron: aerobios mesófilos, mohos y levaduras (USP. 2011).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Con el proceso de liofilización se logró retirar el 78% de humedad de la pulpa de pesjua, obteniéndose 21,5631 g de pulpa liofilizada. Posteriormente se determinó el porcentaje de antocianinas extraído el cual fue de 20%. En el estudio de

cuantificación de las antocianinas, la diferencia de color y por lo tanto la diferencia de absorbancia entre las muestras, se debe a que los pigmentos antociánicos pueden describirse como indicadores de pH, es decir, su matiz e intensidad de color cambian con el pH. Como puede observarse en la figura 1, a pH=1,0, la forma predominante es el ion flavilio, que da el color rojo, mientras que a pH=4,5 la muestra es incolora ya que se produce la pseudobase carbinol debido al ataque nucleofílico del ion flavilio por parte del agua. A este valor de pH, las antocianinas monoméricas no poseen absorbancia o presentan un valor muy pequeño que se debe a que una reducida porción de antocianinas poliméricas o degradadas absorben a este pH. Asimismo, una pequeña parte de las antocianinas de acuerdo a Lee. et al. 2005, se encuentra en su forma quinoidal o de ion flavilio, lo que contribuye al valor de absorbancia a dicho pH.

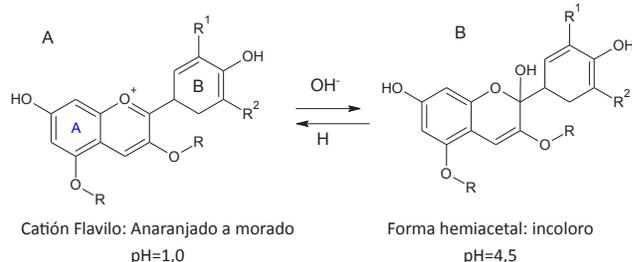


Figura 1. Estructuras del catión flavilio (A) y la forma hemiacetal (B). R=H o sustituyente glicosídico.

El método diferencial de pH es aplicable para la determinación de antocianinas monoméricas dentro de un rango de 20-3000 ppm de cy-3-gly. La concentración de antocianinas en la fruta es de (1865 ± 1) ppm, encontrándose dentro del rango estipulado según AOAC (2005). El valor total de antocianinas monoméricas es de 43 ± 2 mg cy-3-gly/22 g peso seco y como los 22 g de fruta seca fueron el resultado de liofilizar 100 g de pulpa fresca de pesjua, el valor total de antocianinas monoméricas equivale a 43 mg cy-3-gly/100 g peso fresco. La cantidad de antocianinas en frutas y vegetales comunes varía entre 2-600 mg/g peso fresco, rango dentro del cual se encuentra el valor obtenido en la muestra en estudio.

Los resultados del diseño experimental considerando la interacción de las variables seleccionadas, se presentan en las figuras 2 y 3. Indicando como P las muestras de extracto de pesjua y como R las muestras de Rojo 40. En la figura 2, se puede observar que la muestra de extracto de pesjua al pH2 y a T1, mantuvo su absorbancia constante durante todo el tiempo de análisis, lo cual no ocurre con esta muestra al pH1, aunque a este valor de pH es más intenso el color. Los valores de absorbancia de la muestra con el colorante

artificial a esa misma temperatura aumentaron, pero estos cambios no fueron significativos.

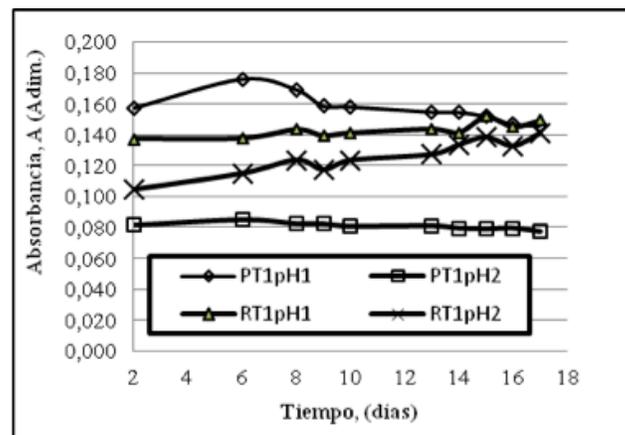


Figura 2. Estudio de Estabilidad. Absorbancia 527 nm, 33°C durante dos semanas

La figura 3 permite observar que el comportamiento de las muestras fue diferente con respecto a T1, observado en la figura 2. La absorbancia aumenta para ambas muestras del colorante artificial con el transcurso de los días, mientras que para las muestras del pigmento natural esta disminuye, del día 2 al 6, además después del sexto día, las muestras con antocianinas presentaron características y un comportamiento diferente al que presentaron al inicio del estudio, con una decoloración hasta hacerse casi incoloras, para luego tornarse amarillo-marrón, aumentando la absorbancia a medida que se intensificaba dicho color (Laleh. et al. 2006).

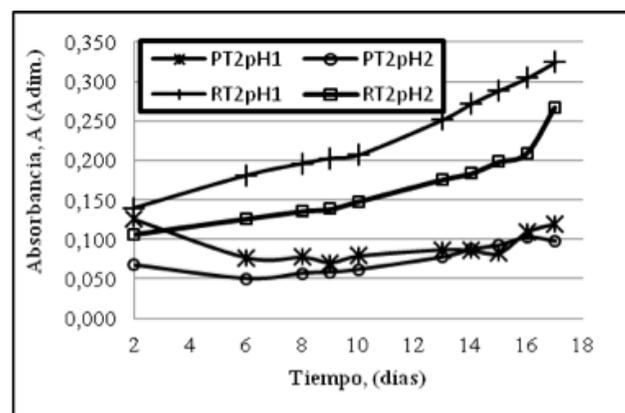


Figura 3. Estudio de Estabilidad. Absorbancia 527 nm, 50°C durante dos semanas

Esto se debe a la oxidación de las muestras, ya que la reacción de las antocianinas con oxígeno generalmente produce un color amarillo-marrón oxidado. Los efectos dañinos del oxígeno en los pigmentos antociánicos pueden

tomar lugar a través de un mecanismo oxidativo directo y/o a través de una oxidación indirecta, donde los componentes oxidados del medio reaccionan con las antocianinas, dando lugar a productos incoloros o amarillo-marrones (Mallea et al., 2004). El mecanismo de degradación de antocianinas es dependiente de la temperatura y estas son rápidamente destruidas por el calor durante su procesamiento y almacenamiento, posiblemente a través de la ruptura del anillo heterocíclico de la pseudobase con formación de chalconas (Correia, 2008). Por otra parte, Igoe (2001) afirma que el colorante rojo No. 40 tiene una buena estabilidad frente a cambios de pH entre 3-8, sin mostrar cambios apreciables, de igual modo tiene una moderada a buena estabilidad al calor pero poca estabilidad a la oxidación. Puede adjudicarse el aumento en la absorbancia del rojo 40 a un proceso de oxidación a ambos valores de pH y de T2.

Se analizaron los resultados por medio del programa estadístico ANOVA, empleando un diseño factorial por bloques. En los diagramas de interacción las líneas no son paralelas, esto indica que la acción conjunta de ambos factores (pH y temperatura) es influyente en el estudio de estabilidad, tanto para el colorante natural como para el rojo 40.

Se preparó un champú con el colorante natural de pesjua y otro con el rojo 40. La muestra preparada con pesjua proporciona una coloración roja un poco diferente al champú, ya que el color de las antocianinas presentes en la pesjua es rojo-violeta y el color del rojo 40 es rojo-amarillento, aunque el aspecto físico del champú elaborado con colorante natural es semejante al champú comercial. A este se le sometió a una prueba de envejecimiento acelerado, encontrando que la duración del mismo sería de 2 meses.

En la tabla 2, se presentan los resultados de las pruebas fisicoquímicas del champú elaborado con colorante de pesjua, el pH de 3,75, lo cual ayuda a mejorar la estabilidad del colorante natural en el producto. Además tiene una densidad de 0,96 g/mL, y posee una viscosidad de 8100±100 Cp, En nuestro país no hay una norma que regule estas propiedades, sin embargo, nuestros valores coinciden con el reportado con una patente de champú, que obtuvo esta viscosidad (Bushman, 1982). También el champú elaborado con colorante natural contiene una concentración de agente tensoactivo aniónico libre en porcentaje de lauril sulfato de sodio de 2,84%, además posee un porcentaje de acidez libre expresada en HCl de 0,14%. Las pruebas microbiológicas realizadas en el champú elaborado tanto con colorante natural como con colorante sintético resultaron negativas, es decir, no hubo presencia de microorganismos aerobios

mésofilos, ni hongos y levaduras (USP, 2011), cumpliendo con lo establecido en la COVENIN 2008:1997 a excepción del porcentaje de acidez libre, que debería ser máximo 0,03% y se obtuvo 0,14%, esto podría ser debido a la pequeña cantidad de muestra utilizada, y a la cantidad de ácidos adicionales al ácido cítrico que se formaron en el momento de la elaboración del champú.

Tabla 2. Características fisicoquímicas del champú elaborado con colorante de pesjua.

Característica	Especificación	
	COVENIN 2008:1997	Resultado
pH	3,4-8,0	3,75
Densidad ($\rho \pm 0,00002$) g/mL	-	0,96220
Viscosidad absoluta ($Vis_{abs} \pm 100$) Cp	-	8100
%p/p de la acidez libre expresada en HCl (%p/p _{AL} $\pm 0,00004$)%	0,00-0,03	0,14260
%p/p del agente tensoactivo aniónico libre (%p/p _(A.Tenso) $\pm 0,002$)%	6,0	2,840

CONCLUSIONES

Se extrajo el pigmento de la *S. cumini L.* y se determinó su contenido de antocianinas. Se estudió la estabilidad del colorante natural y se comparó con la del sintético, a través de un diseño factorial 2², encontrándose que el pH, la temperatura y la interacción de ambos factores son las variables que influyen en la estabilidad de ambos, siendo el efecto de la temperatura mayor que el efecto del pH.

El colorante extraído de la fruta *S. cumini L.* puede ser empleado como sustituto de un colorante artificial. El champú elaborado con colorante natural cumple con lo establecido en la norma COVENIN 2008:1997, a excepción de la acidez libre, y de acuerdo a esta norma, puede ser utilizado por niños y adultos.

AGRADECIMIENTOS

A la empresa Colgate-Palmolive de Venezuela por la donación de los materiales y reactivos empleados y permitir el uso de sus instalaciones. A los profesores y técnicos de

FACYT y del Instituto Biomol, a los Licenciados Víctor Pérez, Josué Guevara, Fernando Cedeño, Henry Peña y a Jeremy Nagle de la Biblioteca Británica de Londres

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AOAC (ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS) OFFICIAL METHOD (2005). Total Monomeric Anthocyanin Pigment Content of Fruit Juices, Beverages, Natural Colorants, and Wines pH Differential Method, First Action 02

BAGCHI, D., ROY, S., PATEL, V. (2006). Safety and whole-body antioxidant potential of a novel anthocyanin-rich formulation of edible berries. *Molecular and Cellular Biochemistry* 281, 197–209.

BAKOWSKA-BARCZAK, A. (2005). Acylated anthocyanins as stable, natural food colorants – a review. *Pol. J. Food Nutr. Sci.* 14/55(2), 107–116.

BUSHMAN, D. (1982). Shampoo composition. Patente de Estados Unidos N° 4,321,156, pp. 3.

BROUILLARD, R. (1982). Chemical structure of anthocyanins. In: *Anthocyanins as food colors*. P. Markakis (Ed.). Academic Press. New York.

CEVALLOS-CASAL, B. A. & CISNEROS-ZEVALLOS, L. (2004). Stability of anthocyanin-based aqueous extracts of Andean purple corn and red-fleshed sweet potato compared to synthetic and natural colorants. *Food Chemistry*, 86, 69–77.

CHAUDHARY B., MUKHOPADHYAY K. (2013) Solvent optimization for anthocyanin extraction from *Syzygium cumini* L. Skeels using response surface methodology. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*. 64 (3): 363-371.

CORREIA, A. P. (2008). Potencial antioxidante e aspectos químicos e físicos das frações comestíveis (polpa e cascas) e sementes de *Jamelão* (*Syzygium cumini*, L. Skeels). (Tesis de Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos). Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

COVENIN (Comisión Venezolana de Normas Industriales) 2008 (1997). Champú para uso cosmético (2da Revisión)

COVENIN (Comisión Venezolana de Normas Industriales) 1426 (1995). Detergentes sintéticos para uso doméstico.

Determinación del tensoactivo aniónico (1era Revisión)

COVENIN (Comisión Venezolana de Normas Industriales) 1623 (1995). Jabones. Determinación de ácido o álcali libre. (1era Revisión)

DELGADO-VARGAS, F., JIMÉNEZ, A., PAREDES-LÓPEZ, O. (2000). Natural pigments: carotenoids, anthocyanins, and betalains-characteristics, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 40(3), 173-289.

FDA. (FOOD AND DRUG ADMINISTRATION). AGENCY U.S. (2011). *Investigations Operations Manual*. Recuperado de: <http://www.fda.gov/ICECI/Inspections/IOM/ucm122525.htm#4.3.2.1>

FULEKI, T., FRANCIS, F.J. (1968). Quantitative methods for anthocyanins. 1. Extraction and determination of total anthocyanin in cranberries. *J. Food Sci.* 33, 72-78.

GARZÓN, G. A. (2008). Las antocianinas como colorantes naturales y compuestos bioactivos: Revisión. *Acta biol. Colomb.*, 13(3), 27-36.

GIUSTI, M., WROLSTAD, R. (2001). Characterization and Measurement of Anthocyanins by UV-Visible Spectroscopy. *Current Protocols in Food Analytical Chemistr*, F1.2.1-F1.2.13

IGOE, R., HUI, Y. H. (2001). *Dictionary of food ingredients*. (4a ed.). EEUU: Aspen Publishers.

JURD, L., ASEN, S. (1966). The formation of metal and “co-pigment” complexes of cyanidin 3-glycoside. *Phytochemistry* 5(6), 1263-1271.

LAGO, E. S., GOMES, E., DA SILVA, R. (2006). Producción de jalea de pesjua (*cumini* *lamarck*): procesamiento, parámetros físico – químicos y evaluación sensorial. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, Campinas, 26(4), 847-852.

LALEH G.H., FRYDOONFAR H, HEIDARY R, JAMEEI R, ZARE S. (2006). The effect of light, temperature, pH and species on stability of anthocyanin pigments in four *Berberis* species. *Pak J Nutr* 5(1), 90-2.

LEE, J. ET AL. (2005). Determination of Total Monomeric Anthocyanin Pigment Content of Fruit Juices, Beverages, Natural Colorants, and Wines by the pH Differential Method: Collaborative Study. *Journal of AOAC International*, 88 (5), 1269-1278.

- LEE, J., WROLSTAD, R., RENNAKER, C. (2008). Correlation of two anthocyanin quantification methods: HPLC and spectrophotometric methods. *Food Chemistry*, 110, 782–786.
- LI, L., ADAMS, L., CHEN, S., KILLIAN, C., AHMED, A., SEERAM, N. (2009). *Eugenia jambolana* Lam. Berry Extract Inhibits Growth and Induces Apoptosis of Human Breast Cancer but Not Non-Tumorigenic Breast Cells. *J. Agric. Food Chem.*, 57 (3), 826–831.
- MALLEA, A., ZALAZAR, F., BURGOS, F., MORALES, A. (2004). Estudio de la Estabilidad de Extractos Vegetales empleados en Bases Cosméticas mediante análisis Espectrofotométrico. *BIOFARBO XII*, 47-54.
- MAZZA, G., MINIATI, E. (1993). *Anthocyanins in Fruits, Vegetables and Grain*. (1a ed.). Florida, EEUU: CRC Press.
- SARI, P., WIJAYA, C., SAJUTHI, D., SUPRATMAN, U. (2009). Identifikasi Antosianin Buah Duwet (*Syzygium cumini*) Menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi - Diode Array Detection. *Jurnal Teknologi Dan Industri Pangan*, 20(2). 102-108.
- SARNI-MANCHADO, P., FULCRAND, H., SOUQUET, J. M.. (1996). Stability and color of unreported wine anthocyanin derived pigments. *J. Food Sci.*, 61, 938-941.
- SOUSA, E., PESSANHA, M. C., ELESBÃO A., R., CARKEET, C., CLEVIDENCE, B. A., NOVOTNY, J. A. (2007). Anthocyanins Present in Selected Tropical Fruits: Acerola, Jambolão, Jussara, and Guajiru. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 9389-9394.
- USP, (U.S. PHARMACOPEIAL CONVENTION) (2011). Standard of Quality. USP-34 NF-29. § 01
- VEIGAS, J. M., NARAYAN, M. S., LAXMAN, P. M., NEELWARNE, B. (2007). Chemical nature, stability and bioefficacies of anthocyanins from fruit peel of *Syzygium cumini* Skeels. *Food Chemistry*, 105, 619–627.
- WAGNER, G. J. (1982). Cellular and Subcellular Location in Plant Metabolism. In: CREASY L, HRAZDINA G. editors. *Recent advances in Phytochemistry*. New York: Plenum Press, 1-45.
- WROLSTAD, R. (1993). *Color and Pigment Analyses in Fruits Products*. Agricultural Experiment Station. Oregon University, 624, 1-17.
- WU, X., BEECHER, G., HOLDEN, J., HAYTOWITZ, D., GEBHARDT, S. E., PRIOR, R. L. (2006). Concentrations of Anthocyanins in Common Foods in the United States and Estimation of Normal Consumption. *J. Agric. Food Chem*, 54, 4069-4075.