



IX  
CONGRESO NACIONAL  
DEL COLOR  
ALICANTE 2010

ALICANTE, 29 Y 30 DE JUNIO,  
1 Y 2 DE JULIO DE 2010  
UNIVERSIDAD DE ALICANTE



Universitat d'Alacant  
Universidad de Alicante



**SEDOPTICA**  
SOCIEDAD ESPAÑOLA DE ÓPTICA  
COMITÉ ESPAÑOL DE COLOR

PUBLICACIONES  
UNIVERSIDAD DE ALICANTE

Este libro ha sido debidamente examinado y valorado por evaluadores ajenos a la Universidad de Alicante,  
con el fin de garantizar la calidad científica del mismo.

Publicaciones de la Universidad de Alicante  
Campus de San Vicente s/n  
03690 San Vicente del Raspeig  
Publicaciones@ua.es  
<http://publicaciones.ua.es>  
Teléfono: 965903480  
Fax: 965909445

© Varios autores, 2010  
© de la presente edición: Universidad de Alicante

ISBN: 978-84-9717-144-1

Diseño de portada: candelaInk

Reservados todos los derechos. Cualquier forma de reproducción, distribución, comunicación pública o transformación de esta obra sólo puede ser realizada con la autorización de sus titulares, salvo excepción prevista por la ley. Diríjase a CEDRO (Centro Español de Derechos Reprográficos, [www.cedro.org](http://www.cedro.org)) si necesita fotocopiar o escanear algún fragmento de esta obra.

El IX Congreso Nacional de Color cuenta con el apoyo de las siguientes entidades:



**IX CONGRESO NACIONAL DE COLOR  
ALICANTE,  
29 Y 30 DE JUNIO, 1 Y 2 DE JULIO  
UNIVERSIDAD DE ALICANTE**

Departamento de Óptica, Farmacología y Anatomía  
Facultad de Ciencias

Instituto Universitario de Física Aplicada a las Ciencias y las Tecnologías (IUFACyT)  
Universidad de Alicante

## COMITÉ ORGANIZADOR

Presidente	<b>Francisco M. Martínez Verdú</b>	<i>Universidad de Alicante</i>
Vicepresidente I	<b>Eduardo Gilabert Pérez</b>	<i>Universidad Politécnica de Valencia</i>
Vicepresidente II	<b>Joaquín Campos Acosta</b>	<i>IFA-CSIC</i>
Secretaria Científica	<b>Esther Perales Romero</b>	<i>Universidad de Alicante</i>
Secretaria Administrativa	<b>Olimpia Mas Martínez</b>	<i>Universidad de Alicante</i>
Secretaria Técnica	<b>Sabrina Dal Pont</b>	<i>Universidad de Alicante</i>
Tesorero	<b>Valentín Viqueira Pérez</b>	<i>Universidad de Alicante</i>
Vocal	<b>Elísabet Chorro Calderón</b>	<i>Universidad de Alicante</i>
Vocal	<b>Verónica Marchante</b>	<i>Universidad de Alicante</i>
Vocal	<b>Bárbara Micó Vicent</b>	<i>Universidad de Alicante</i>
Vocal	<b>Elena Marchante</b>	<i>Universidad de Alicante</i>
Vocal	<b>Ernesto R. Baena Murillo</b>	<i>Universidad de Alicante</i>

## COMITÉ CIENTÍFICO

<b>Natividad Alcón Gargallo</b>	<i>Instituto de Óptica, Color e Imagen, AIDO</i>
<b>Joaquín Campos Acosta</b>	<i>Instituto de Física Aplicada CSIC</i>
<b>Pascual Capilla Perea</b>	<i>Universidad de Valencia</i>
<b>Ángela García Codoner</b>	<i>Universidad Politécnica de Valencia</i>
<b>Eduardo Gilabert Pérez</b>	<i>Universidad Politécnica de Valencia</i>
<b>José M<sup>a</sup> González Cuasante</b>	<i>Universidad Complutense de Madrid</i>
<b>Francisco José Heredia Mira</b>	<i>Universidad de Sevilla</i>
<b>Enrique Hita Villaverde</b>	<i>Universidad de Granada</i>
<b>Luis Jiménez del Barco Jaldo</b>	<i>Universidad de Granada</i>
<b>Julio Antonio Lillo Jover</b>	<i>Universidad Complutense de Madrid</i>
<b>Francisco M. Martínez Verdú</b>	<i>Universidad de Alicante</i>
<b>Manuel Melgosa Latorre</b>	<i>Universidad de Granada</i>
<b>Ángel Ignacio Negueruela</b>	<i>Universidad de Zaragoza</i>
<b>Susana Otero Belmar</b>	<i>Instituto de Óptica, Color e Imagen, AIDO</i>
<b>Jaume Pujol Ramo</b>	<i>Universidad Politécnica de Cataluña</i>
<b>Javier Romero Mora</b>	<i>Universidad de Granada</i>
<b>M<sup>a</sup> Isabel Suero López</b>	<i>Universidad de Extremadura</i>
<b>Meritxell Vilaseca Ricart</b>	<i>Universidad Politécnica de Cataluña</i>

## UTILIZACIÓN DE BILIPROTEÍNAS COMO COLORANTES NATURALES EN ALIMENTACIÓN

Ruperto Bermejo<sup>1</sup>, Amparo Ramos<sup>1</sup>, José M. Fernández<sup>2</sup>, Cynthia González<sup>2</sup> y F. Gabriel Acién<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Dpto. de Química Física y Analítica, EPS de Linares, Universidad de Jaén, Linares.

<sup>2</sup> Dpto. de Ingeniería Química, Universidad de Almería, Almería

<http://www4.ujaen.es/~rbermejo>; [rbermejo@ujaen.es](mailto:rbermejo@ujaen.es)

### Resumen:

En la actualidad, la mayor parte de los colorantes que se utilizan son de origen sintético y muchos de ellos pueden provocar reacciones tóxicas en individuos susceptibles. Así, existe un interés creciente en la búsqueda de nuevas moléculas con capacidad colorante, que puedan contribuir a ampliar el catálogo de los colorantes naturales existentes en el mercado. Nuestro grupo de investigación, ha desarrollado una nueva metodología para la obtención de biliproteínas procedentes de microalgas y ha ensayado su capacidad colorante en diversos alimentos.

**Palabras clave:** Biliproteínas, colorantes naturales, colorantes alimentarios, microalgas.

### INTRODUCCIÓN

En la actualidad existe una demanda creciente por parte de los consumidores, de reemplazar los colorantes sintéticos por compuestos de origen natural, a la que los sectores industriales implicados deben dar respuesta. Esto es debido a la existencia de numerosos estudios, que indican que los colorantes sintéticos son potencialmente tóxicos e incluso cancerígenos, generando reacciones alérgicas en individuos susceptibles [1]. Sin embargo, estos problemas no aparecen cuando se utilizan compuestos naturales obtenidos a partir de organismos vivos, denominados biocolorantes. No obstante, el número de colorantes naturales y su gama de colores, son escasos en relación a las necesidades reales existentes, por lo que la utilización de compuestos sintéticos sigue siendo predominante.

Por otro lado, las biliproteínas son macromoléculas encargadas de la captación de luz en organismos tales como las microalgas. Estas proteínas son fluorescentes e hidrosolubles y se utilizan en diversas aplicaciones biotecnológicas [2]. Además, poseen colores muy intensos y atractivos, que hacen que estas macromoléculas posean un elevado potencial de utilización como colorantes naturales. Las biliproteínas más abundantes en la naturaleza son las ficoeritrinas (rosas, rojas y anaranjadas) y las ficocianinas (azules y moradas). Por tanto, la gama y la intensidad de colores disponibles, así como la abundancia relativa de estas proteínas en los organismos de procedencia, hacen de estas macromoléculas, excelentes candidatos para su empleo como colorantes, constituyendo una alternativa real para el incremento y diversificación de la oferta de colorantes naturales existentes en el mercado.

El presente trabajo muestra la capacidad colorante de diferentes extractos de biliproteínas, obtenidos por nuestro grupo de investigación a partir de una novedosa metodología de purificación, que permite la obtención de las mismas en la media y gran escala de producción [3].

### MATERIALES Y MÉTODOS

Los diferentes extractos de biliproteínas ensayados como colorantes, se han obtenido a partir de diferentes microalgas siguiendo la metodología desarrollada previamente [4-6].

Las medidas de color se llevaron a cabo utilizando un espectrocolorímetro Konica Minolta CM-3500d conectado a un ordenador dotado del software SpectraMagic 3.6.1. El equipo proporciona medidas en el espacio de color CIELAB. Tras la correspondiente calibración del instrumento se procedió a medir los parámetros de color para las muestras. Así, se colocaron 12 mL de muestra en una cubeta transparente de cuarzo con unas dimensiones de 4.2 x 3.2 x 1.0 cm. De esta forma, se obtuvieron los parámetros  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ,  $C^*_{ab}$  y  $h_{ab}$  correspondientes a la muestra, además de la diferencia de color de dicha muestra con respecto al estándar empleado ( $\Delta L^*$ ,  $\Delta a^*$ ,  $\Delta b^*$ ,  $\Delta C^*_{ab}$ ,  $\Delta h_{ab}$  y  $\Delta E^*_{ab}$ ).

Se han utilizado distintos tipos de matrices con el objetivo de reproducir el color de diferentes productos alimenticios comerciales, observando la coloración de cada muestra a través de la adición de cantidades crecientes de los extractos de biliproteínas obtenidos a partir de biomasa de la microalga roja *Porphyridium* y de las cianobacterias verde-azuladas *Spirulina*, *Anabaena* y *Synechocystis*. Como estándar en cada caso, se utilizó uno de los productos comerciales coloreados, siendo la matriz un producto con los mismos componentes que los comerciales coloreados pero sin la presencia de colorantes. Los productos comerciales utilizados fueron: batidos, yogures, yogures líquidos, helados, bebidas isotónicas, bebidas gaseosas, mostos y licores de diferentes casas comerciales. En cuanto a la preparación de las muestras líquidas, se pipetearon 11.9 mL de matriz y se le fue añadiendo el extracto de biliproteínas progresivamente. En el caso de las muestras semisólidas (helado y yogurt), se pesaron 15g de matriz y, de igual modo, se les fue adicionando volúmenes crecientes del extracto de colorante natural. En todos los casos fue necesaria la correcta homogeneización de las muestras tras las adiciones del extracto.

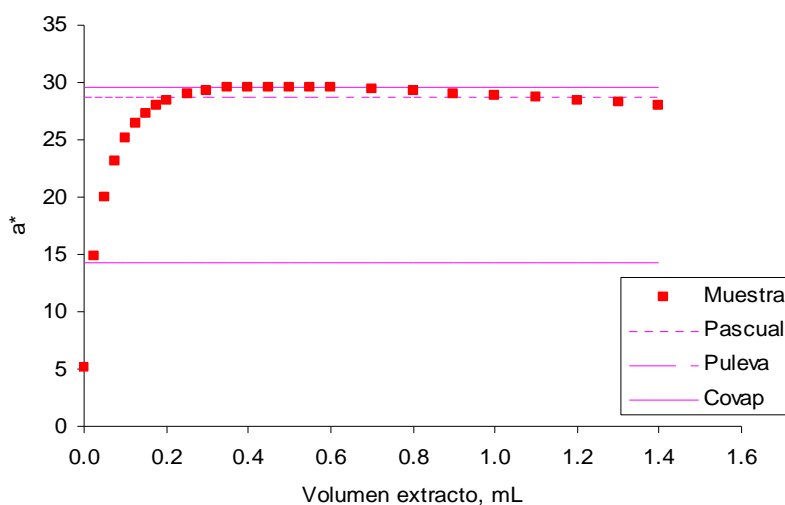
## RESULTADOS

El extracto biocolorante obtenido a partir de biomasa de *Porphyridium* muestra un color rosa transparente, mientras que los extractos obtenidos a partir de las diferentes cianobacterias utilizadas (*Anabaena*, *Spirulina* y *Synechocystis*), muestran un color azul transparente. La Tabla 1 muestra las propiedades de los diferentes extractos proteicos ensayados como colorantes naturales.

**Tabla 1.** Denominación, coordenadas cromáticas y propiedades físico-químicas de los biocolorantes obtenidos, procedentes de diferentes microalgas.

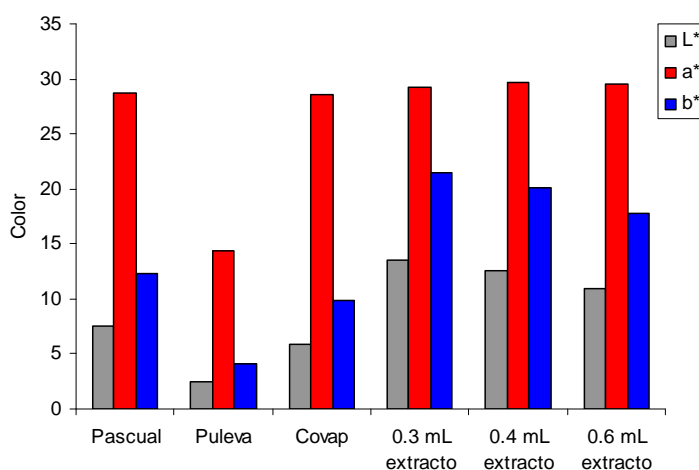
Biocolorante (extracto proteico enriquecido)	Microalga de Procedencia	Color natural	Concentración Proteína [mg/ml]	$L^*$	$a^*$	$b^*$
Ficocianina I	<i>Spirulina platensis</i>	Azul	6.29	4.66	2.08	-26.33
Ficocianina II	<i>Anabaena marina</i>	Azul	11.0	16.12	8.57	-43.24
Ficocianina III	<i>Synechocystis aquatilis</i>	Azul	7.43	16.76	13.41	-49.36
Ficoeritrina	<i>Porphyridium cruentum</i>	Rosa	0.23	37.42	72.57	-8.25

Se han determinado las curvas de saturación de color del extracto añadido sobre cada matriz comercial ensayada, y se ha determinado el volumen de extracto necesario para reproducir el color de los diferentes productos comerciales utilizados. Como el color no está compuesto por una única coordenada cromática, sino por el conjunto de parámetros ( $L^*a^*b^*$ ), para cuantificar la desviación del color obtenido respecto al de los productos comerciales, se ha utilizado además el parámetro  $\Delta E^*_{ab}$ . De esta forma, se ha analizado tras cada adición de extracto colorante, el espectro de transmitancia dejando de añadir, cuando dicho espectro solapa aproximadamente con el correspondiente al del producto comercial de referencia. Es decir, se toma como volumen final de extracto necesario para lograr reproducir el producto comercial, aquel que genera una muestra con parámetros cromáticos muy similares a los de la muestra de referencia.



**Figura 1.** Variación de la coordenada cromática  $a^*$  con el volumen de biocolorante "ficoeritrina", añadido sobre leche semidesnatada. Como referencia, aparecen los valores de  $a^*$  para diferentes batidos de fresa.

Como ejemplo, la Figuras 1 y 2 muestran la variación de las coordenadas cromáticas en las experiencias de aplicación del biocolorante "ficoeritrina" sobre la matriz de referencia (leche semidesnatada) para tratar de reproducir diferentes batidos comerciales de fresa. Los resultados muestran como los productos comerciales difieren mucho entre sí, con valores de  $a^*$  entre 14 y 30. En el caso del producto con menor valor de  $a^*$  (batido Puleva), son solo necesarios 0.03 mL de extracto para alcanzar el valor de  $a^*$  de referencia, mientras que en los otros se requieren 0.25 mL para alcanzar dicho valor (Figura 1).



**Figura 2.** Coordenadas de color de los productos comerciales y de leche semidesnatada adicionada con diferentes volúmenes del biocolorante "ficoeritrina" procedente de la microalga *Porphyridium cruentum*.

Además, los resultados muestran como la desviación de color ( $\Delta E^*_{ab}$ ) disminuye cuanto mayor es el volumen de extracto añadido. Los parámetros de color y la simple apreciación visual de las muestras mostró una elevada similitud con los productos comerciales (Figura 2). Este hecho pone de manifiesto las buenas cualidades, como colorante natural, del extracto utilizado. Se han realizado experimentos análogos utilizando otras matrices adicionadas de "ficoeritrina" habiéndose obtenido resultados más o menos satisfactorios dependiendo de la matriz y su composición.



Resultados análogos se han obtenido utilizando los extractos de biocolorantes azules (ficocianinas I, II y III). En este caso, dada la dificultad de encontrar productos comerciales de color azul, se han ensayado un menor número de matrices (helados, bebidas isotónicas y licores).

## CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos demuestran que los extractos concentrados de biliproteínas, pueden ser utilizados como colorantes en alimentos de diferente naturaleza. La solubilidad de las biliproteínas en los medios ensayados es buena, modificándose el color de las diversas matrices con pequeños volúmenes de extractos proteicos. Así, los factores de tinción, calculados como cantidad de extracto biocolorante necesario (por unidad de volumen o masa de matriz) para reproducir el producto comercial ensayado, son bastante bajos, lo que indica el importante poder colorante de estas macromoléculas.

La cantidad de extracto biocolorante a añadir depende en primer lugar del color del producto comercial que se quiere alcanzar, ya que como se ha demostrado, productos de similares características presentan colores muy diferentes. Por otro lado, depende de la naturaleza y concentración del extracto, pero sobre todo, es función de la propia matriz. Los resultados obtenidos demuestran que para un mismo extracto, el valor de color alcanzado varía enormemente en función de la matriz utilizada. Así, cuanto más acuosa es la matriz, más cantidad de biocolorante es necesario añadir para alcanzar el mismo valor de color. Estos resultados ponen de manifiesto la posibilidad de utilizar extractos de biliproteínas de origen microalgal, como colorantes naturales en alimentación.

## AGRADECIMIENTOS

A la Junta de Andalucía, por la concesión del Proyecto de Excelencia P06-TEP-01362 y por la beca pre-doctoral concedida a Amparo Ramos para el desarrollo de su labor investigadora.

## REFERENCIAS

- [1] S. Arad, A. Yaron, "Natural pigments from red microalgae for use in foods and cosmetic", Trends Food Sci. Technol., 3, 92-91 (1992).
- [2] A.N. Glazer, in: Z. Cohen (Ed.), "Chemicals from Microalgae", Chapter 11, UK: Taylor and Francis Ltd., 261-280 (1999).
- [3] H.A. Chase, "Purification of proteins by EBA chromatography", Trends Biotechnol. 12, 296-303 (1994).
- [4] R. Bermejo, M.A. Felipe, E.M. Talavera, J.M. Alvarez, "EBA chromatography for recovery of phycocyanins from the microalga *Spirulina platensis*", Chromatographia 63, 59-66 (2006).
- [5] R. Bermejo, E. Ruiz, F.G. Ación, "Recovery of B-phycoerythrin using EBA chromatography: scale-up of the process", Enzyme and Microbial Technology, 40, 927-933 (2007).
- [6] A. Ramos, F.G. Ación, J.M. Fernández, C. González, R. Bermejo, "Large-scale isolation and purification of C-phycoyanin from the cyanobacteria *Anabaena marina* using EBA chromatography", Journal Chemical Technology and Biotechnology, in press (2010).