



Sinergia entre las propiedades antioxidantes de Hibiscus sabdariffa y Citrus aurantifolia en la elaboración de un extracto seco

Synergy between the antioxidant properties of Hibiscus sabdariffa and Citrus aurantifolia in the preparation of a dry extract

Sinergia entre as propriedades antioxidantes de Hibiscus sabdariffa e Citrus aurantifolia na preparação de extrato seco

Sting Brayan Luna-Fox ^I

sb.lunaf@uea.edu.ec

<https://orcid.org/0000-0001-6058-7024>

Andrea Yessenia Guaman-Cali ^{III}

ay.guamanc@uea.edu.ec

<https://orcid.org/0009-0008-1130-1526>

Katheryn Gabriela Arellano-Reinoso ^{II}

kg.arellanor@uea.edu.ec

<https://orcid.org/0009-0003-6162-4458>

Nancy Narcisca Rodríguez-Almeida ^{IV}

nn.rodriguez@uea.edu.ec

<https://orcid.org/0009-0000-8843-920X>

Correspondencia: sb.lunaf@uea.edu.ec

Ciencias de la Educación

Artículo de Investigación

* **Recibido:** 39 de diciembre de 2023 * **Aceptado:** 10 de enero de 2024 * **Publicado:** 21 de febrero de 2024

- I. Universidad Estatal Amazónica, Puyo, Pastaza, Ecuador.
- II. Universidad Estatal Amazónica, Puyo, Pastaza, Ecuador.
- III. Universidad Estatal Amazónica, Puyo, Pastaza, Ecuador.
- IV. Universidad Estatal Amazónica, Puyo, Pastaza, Ecuador.

Resumen

El objetivo del presente estudio fue elaborar un extracto seco a partir de las flores de Hibiscus sabdariffa y cáscara de Citrus aurantifolia. Los extractos acuosos se obtuvieron mediante la técnica de extracción asistida por ultrasonido. Se aplicó la metodología de superficie de respuesta para encontrar las condiciones óptimas de extracción. El contenido de polifenoles totales y actividad antioxidante se determinaron mediante las técnicas de Folin-Ciocalteu y FRAP respectivamente. Se planteó un diseño 23 tipo Box-Behnken mediante el software desing expert, para evaluar el impacto de la relación sólido/líquido, tiempo y temperatura de extracción sobre el contenido de polifenoles totales y actividad antioxidante. El extracto seco se obtuvo mediante liofilización. El contenido de humedad y cenizas totales se determinaron mediante la metodología de la AOAC. El pH, solubilidad en agua caliente y fría se determinaron según NTE INEN 1122:2013. Las condiciones óptimas de extracción identificadas por la metodología de superficie de respuesta fueron relación sólido/líquido de 14,98 (m/v), tiempo de extracción de 24,58 minutos y temperatura de 79,99°C logrando valores máximos de 0,82 g EAG/100 g para polifenoles totales y 1,37 g eq. Trolox/100 g para actividad antioxidante. El rendimiento del extracto seco obtenido por liofilización fue de 2,3%. El valor de pH situado en 3,70 no cumplió con los requisitos establecidos por NTE INEN 1122:2013, sin embargo; el contenido de humedad (2,8%), cenizas totales (7,98%), solubilidad en agua caliente (14s) y solubilidad en agua fría (1,06 min) cumplieron estrictamente con la normativa mencionada. El extracto seco, con su elevado contenido de polifenoles y actividad antioxidante, ofrece un valioso aporte, destacándose como un componente prometedor para el desarrollo de productos beneficiosos para la salud.

Palabras clave: Actividad antioxidante; Desing expert; Liofilización; Polifenoles.

Abstract

The objective of the present study was to prepare a dry extract from the flowers of Hibiscus sabdariffa and peel of Citrus aurantifolia. The aqueous extracts were obtained using the ultrasound-assisted extraction technique. The response surface methodology was applied to find the optimal extraction conditions. The content of total polyphenols and antioxidant activity were determined using the Folin-Ciocalteu and FRAP techniques respectively. A Box-Behnken type design 23 was proposed using the design expert software, to evaluate the impact of the solid/liquid ratio, extraction time and temperature on the content of total polyphenols and antioxidant activity. The

dry extract was obtained by lyophilization. The moisture content and total ash were determined using the AOAC methodology. The pH, solubility in hot and cold water were determined according to NTE INEN 1122:2013. The optimal extraction conditions identified by the response surface methodology were a solid/liquid ratio of 14.98 (m/v), extraction time of 24.58 minutes and temperature of 79.99°C, achieving maximum values of 0.82 g EAG/100 g for total polyphenols and 1.37 g eq. Trolox/100 g for antioxidant activity. The yield of the dry extract obtained by lyophilization was 2.3%. The pH value located at 3.70 did not meet the requirements established by NTE INEN 1122:2013, however; The moisture content (2.8%), total ash (7.98%), hot water solubility (14s) and cold water solubility (1.06 min) strictly complied with the aforementioned regulations. The dry extract, with its high content of polyphenols and antioxidant activity, offers a valuable contribution, standing out as a promising component for the development of products beneficial to health.

Keywords: Antioxidant activity; Design expert; Freeze drying; Polyphenols.

Resumo

O objetivo do presente estudo foi preparar um extrato seco a partir das flores de Hibiscus sabdariffa e da casca de Citrus aurantifolia. Os extratos aquosos foram obtidos pela técnica de extração assistida por ultrassom. A metodologia de superfície de resposta foi aplicada para encontrar as condições ótimas de extração. O teor de polifenóis totais e a atividade antioxidante foram determinados pelas técnicas de Folin-Ciocalteu e FRAP respectivamente. Um delineamento tipo Box-Behnken 23 foi proposto utilizando o software design expert, para avaliar o impacto da relação sólido/líquido, tempo de extração e temperatura no teor de polifenóis totais e na atividade antioxidante. O extrato seco foi obtido por liofilização. O teor de umidade e cinzas totais foram determinados pela metodologia AOAC. O pH, a solubilidade em água quente e fria foram determinados de acordo com a NTE INEN 1122:2013. As condições ótimas de extração identificadas pela metodologia de superfície de resposta foram relação sólido/líquido de 14,98 (m/v), tempo de extração de 24,58 minutos e temperatura de 79,99°C, atingindo valores máximos de 0,82 g EAG/100 g para polifenóis totais e 1,37 g eq. Trolox/100 g para atividade antioxidante. O rendimento do extrato seco obtido por liofilização foi de 2,3%. Porém o valor de pH localizado em 3,70 não atendeu aos requisitos estabelecidos pela NTE INEN 1122:2013; O teor de umidade (2,8%), cinzas totais (7,98%), solubilidade em água quente (14s) e solubilidade em água fria (1,06

min) atenderam rigorosamente às normas acima mencionadas. O extrato seco, com alto teor de polifenóis e atividade antioxidante, oferece uma valiosa contribuição, destacando-se como um componente promissor para o desenvolvimento de produtos benéficos à saúde.

Palavras-chave: Atividade antioxidante; Especialista em design; Liofilização; Polifenóis.

Introducción

En el panorama actual de la investigación en salud y nutrición, la combinación estratégica de las propiedades antioxidantes provenientes de *Hibiscus sabdariffa* y *Citrus aurantifolia* ha emergido como un fascinante enfoque. Ambas plantas, reconocidas por sus contribuciones individuales a la salud, revelan un potencial aún más significativo cuando se exploran en conjunto (Izquierdo-Vega et al., 2020).

Hibiscus sabdariffa, comúnmente conocido como flor de Jamaica, ha sido objeto de numerosos estudios que destacan su abundancia en polifenoles y antocianinas (Ojulari et al., 2019). Estos compuestos han mostrado su capacidad para combatir el estrés oxidativo, ofreciendo posibles beneficios para la salud cardiovascular (Suriano et al., 2021). En paralelo, *Citrus aurantifolia*, se distingue por su contenido en vitamina C y flavonoides, dotándolo con propiedades antioxidantes que fortalecen el sistema inmunológico y protegen contra los radicales libres (Rahayu & Fauziah, 2019).

La combinación de estas dos plantas no solo amplifica sus propiedades antioxidantes individuales, sino que también desencadena una sinergia única, donde la interacción de compuestos específicos potencia de manera notoria su efecto antioxidante (Ajayi & Oyerinde, 2020). Esta sinergia se posiciona como un área de interés crítico, ya que podría ser clave en el desarrollo de extractos secos más potentes y beneficiosos para la salud humana.

En este contexto, la liofilización, también conocida como deshidratación por congelación, emerge como una técnica crucial en la obtención de extractos secos de calidad (Mosquera-Vivas et al., 2019). Este proceso implica la congelación del producto y la eliminación del agua a través de sublimación, preservando así sus propiedades originales de manera más efectiva que otros métodos de secado convencionales. La liofilización no solo conserva los compuestos antioxidantes, sino también las características organolépticas, como el color y el sabor, asegurando un producto final que mantiene su integridad biológica (Ramírez -Monsalve et al., 2021). Además, esta técnica garantiza una mayor estabilidad del producto, prolongando su vida útil sin comprometer su calidad.

En consecuencia, la combinación de la sinergia entre las propiedades antioxidantes de *Hibiscus sabdariffa* y *Citrus aurantifolia* con la tecnología de liofilización abre perspectivas fascinantes en el ámbito de la salud humana. Desde suplementos nutricionales hasta productos para el cuidado de la piel, el extracto seco resultante podría convertirse en un componente clave en la prevención de enfermedades relacionadas con el estrés oxidativo (Tan et al., 2018). Sin embargo, a pesar de los avances alentadores, existen desafíos que demandan atención, como la estandarización de procesos y la optimización de proporciones para alcanzar la sinergia deseada. Explorar los mecanismos bioquímicos detrás de esta sinergia y su impacto en la biodisponibilidad de los compuestos antioxidantes es crucial para avanzar en este campo apasionante y en constante evolución. Con estos antecedentes, el objetivo del presente estudio fue elaborar un extracto seco a partir de las flores de *Hibiscus sabdariffa* y cáscara de *Citrus aurantifolia*.

Metodología

Localización y materia prima

Los ensayos se llevaron a cabo en el Laboratorio de Bromatología, situado en el campus central de la Universidad Estatal Amazónica, específicamente en el kilómetro 2 ½ de la vía a Tena, en el cantón y provincia de Pastaza, a una altitud de 940 metros sobre el nivel del mar. Las coordenadas geográficas del lugar son 00° 59' -1" de latitud y 77° 49' 0" de longitud Oeste.

Las materias primas (Flores frescas de Jamaica y limón) fueron recolectadas en los predios del Centro Experimental de Investigación y Producción Amazónica (CEIPA), ubicado en las coordenadas X: 178879; Y: 9863155, zona 18. Este centro forma parte de la Universidad Estatal Amazónica, localizado en el cantón Arosemena Tola, provincia de Napo, Ecuador.

Extractos acuosos

Los extractos fueron obtenidos mediante la técnica de extracción asistida por ultrasonido, utilizando un equipo de baño ultrasónico de la marca Wisd.23, modelo WUC-DO6H. Para cada extracción, se procedió a pesar el 95% de flores de Jamaica y el 5% de cáscara de limón, los cuales se depositaron en un balón de vidrio al que se le adicionaron 100 mL de agua destilada. Posteriormente, los balones se introdujeron en el equipo de baño ultrasónico, y se ajustaron las condiciones de trabajo según el diseño experimental establecido. Luego de la extracción, cada extracto resultante se filtró mediante papel Whatman No 4, y los análisis subsiguientes se llevaron a cabo de manera inmediata.

Determinación espectrofotométrica de compuestos fenólicos

Se siguió el procedimiento descrito por Luna-Fox et al. (2023). Se tomó 0.5 mL del extracto acuoso en un matraz volumétrico de 10 mL. A esta muestra se le adicionaron 0.5 mL del reactivo Folin-Ciocalteu, diluido al 50% con agua destilada, después se dejó en reposo por 10 minutos. Seguidamente, se adicionaron 0.5 mL de carbonato de sodio al 20%, aforando el matraz con agua destilada. La disolución obtenida fue agitada y colocada en reposo durante 2 horas a temperatura ambiente. Finalmente, la absorbancia fue medida a 765 nm utilizando un espectrofotómetro UV-Vis.

El contenido de polifenoles totales se llevó a cabo mediante la elaboración de una curva de calibrado, usando ácido gálico como patrón, y los resultados fueron expresado en gramos equivalentes de ácido gálico por cada 100 gramos de materia fresca (g EAG/100 g ms). Este cálculo se realizó a través de la ecuación (1).

$$A=0.0734C-0.0028 \quad (1)$$

Donde:

A: absorbancia leída en las muestras

C: concentración de las muestras (mg L^{-1})

Determinación de la actividad antioxidante

La determinación mediante el ensayo FRAP se realizó de acuerdo a la metodología desarrollada por Benzie & Strain (1996)

Para la preparación del reactivo FRAP siguió el siguiente procedimiento: En primer lugar, se preparó un tampón acetato de 0,3 mM ajustando el pH a 3.6, utilizando 6.1 mg de acetato de sodio trihidratado disuelto en 200 mL de agua con una dilución de ácido clorhídrico 40 mM. Luego, se ajustó el pH y se completó el volumen hasta 250 mL con agua destilada. La solución de 2,4,6-tripiridil-s-triazina (TPTZ) se preparó pesando con precisión 31.2 mg, disolviéndose en ácido clorhídrico 40 mM hasta alcanzar un volumen de 10 mL. Seguidamente, se formuló una solución de cloruro de hierro III con una concentración de 20 mM, utilizando la sal hexahidratada. Se pesaron 135.2 mg y se disolvieron en agua desmineralizada hasta llegar a 25 mL. Finalmente, las soluciones se combinaron en una proporción de 1:1:10 de cloruro de hierro III, TPTZ y buffer de acetato, completando así la formulación del reactivo FRAP.

Para el análisis de las muestras, estas fueron diluidas en una proporción 1:10 v/v con metanol y se sometieron a análisis de inmediato. Se tomaron 0.5 mL de la disolución de muestra y se agregaron

a un matraz de 10 mL, al cual se le añadieron 5 mL de la disolución de FRAP. Posteriormente, el volumen se completó con agua destilada. El conjunto se dejó reposar en una estufa a 37°C durante 30 minutos, y se registraron las absorbancias a 593 nm.

Los resultados se expresaron en gramos equivalentes a Trolox por cada 100 gramos de materia fresca (g eq. Trolox/100g), utilizando la ecuación (2).

$$C = \frac{A}{0,1879} \quad (2)$$

donde:

A: absorbancia leída en las muestras.

C: concentración de las muestras (mgL⁻¹)

Obtención del extracto seco

Diseño experimental

Se planteó un diseño 2³ tipo Box-Behnken (Tabla 1) mediante el software design expert. Las condiciones de extracción óptimas se encontraron mediante la metodología de superficie de respuesta. Se estudió el efecto de la relación sólido/líquido, tiempo y temperatura de extracción sobre el contenido de polifenoles y actividad antioxidante.

Tabla 1. Niveles de las variables independientes

Factores	Niveles			
	Símbolo	Bajo	Central	Alto
		-1	0	1
Sólido/líquido (m/v)	A	5	10	15
Tiempo (min)	B	10	20	30
Temperatura (°C)	C	40	60	80

Obtención del extracto acuoso

El extracto seco se obtuvo mediante la técnica de liofilización, para ello se utilizó un equipo de marca SCANVAC COOLSAFE. Las condiciones de trabajo fueron: temperatura del condensador -110°C, presión 0,105 Torr y tiempo 5 días.

Determinación de Humedad y Cenizas

El contenido de humedad y cenizas se determinó según la metodología de la AOAC (2023).

Determinación de pH y solubilidad en agua caliente y fría

Se determinó según la metodología de Luna Fox et al., (2023).

Para la solubilidad en agua caliente, se pesó 1 g del extracto seco en un vaso de precipitación de 500 mL y se disolvió en 250 mL de agua destilada acabada de hervir. Se agitó moderadamente y se registró el tiempo hasta la disolución total.

En el análisis de la solubilidad en agua caliente, se procedió a pesar 1 gramo del extracto seco, depositándolo en un vaso de precipitación de 500 mL. Este se disolvió posteriormente en 250 mL de agua destilada recién hervida. La mezcla fue agitada de manera moderada, y se registró el tiempo necesario para alcanzar la completa disolución.

La solubilidad en agua fría se realizó de la misma manera que en agua caliente, pero utilizando agua destilada a $16 \text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2 \text{ }^{\circ}\text{C}$.

La evaluación de la solubilidad en agua fría se llevó a cabo de manera análoga a la realizada en agua caliente, pero utilizando agua destilada a una temperatura de $16 \text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2 \text{ }^{\circ}\text{C}$.

Resultados

El análisis de varianza detallado en la Tabla 2 revela la significancia estadística ($p < 0,05$) de los factores estudiados en relación con el contenido de polifenoles totales y la actividad antioxidante. Los valores F obtenidos, 61,25 para polifenoles y 112,70 para actividad antioxidante, indican la relevancia del modelo propuesto en esta investigación.

En contraste, los valores de p para la falta de ajuste en polifenoles y actividad antioxidante, superiores a 0,05, sugieren que dicha falta de ajuste no es estadísticamente significativa. Este resultado es positivo, ya que se busca que el modelo se ajuste adecuadamente a los valores experimentales.

Según Anderson and Whitcomb (2016) para que el modelo de una investigación sea adecuado, la diferencia entre R^2 -Ajustado y el R^2 -Predicho debe ser inferior a 0,2. En esta investigación los valores obtenidos para polifenoles totales de R^2 -Ajustado (0,9731) y R^2 -Predicho (0,8288) y para actividad antioxidante R^2 -Ajustado (0,9853) y R^2 -Predicho (0,9062) concuerdan razonablemente con una diferencia menor a 0,2.

Tabla 2. ANOVA para polifenoles totales (PT) y actividad antioxidante (AA)

PT	Suma de cuadrados	gl	Cuadrados medios	F-valor	p-valor
Modelo	0,2241	9	0,0249	61,25	< 0.0001 significativo
A-S/L	0,0751	1	0,0751	184,70	< 0.0001

B-Tiempo	0,0268	1	0,0268	65,82	0,0002	
C-Temperatura	0,0749	1	0,0749	184,22	< 0.0001	
AB	0,0003	1	0,0003	0,7784	0,4116	
AC	0,0006	1	0,0006	1,59	0,2537	
BC	0,0036	1	0,0036	8,81	0,0250	
Residual	0,0024	6	0,0004			
Falta de ajuste	0,0024	3	0,0008	138,64	0,0910	no significativo
R ²	0,9892					
R ² -Ajustado	0,9731					
R ² -Predicho	0,8288					
AA	Suma de cuadrados	gl	Cuadrados medios	F-valor	p-valor	
Modelo	1,80	9	0,1998	112,70	< 0.0001	significativo
A-S/L	0,1102	1	0,1102	62,19	0,0002	
B-Tiempo	0,3540	1	0,3540	199,73	< 0.0001	
C-Temperatura	0,7709	1	0,7709	434,93	< 0.0001	
AB	0,0333	1	0,0333	18,79	0,0049	
AC	0,0816	1	0,0816	46,06	0,0005	
BC	0,0490	1	0,0490	27,63	0,0019	
Residual	0,0106	6	0,0018			
Falta de ajuste	0,0106	3	0,0035	285,15	1,204	no significativo
R ²	0,9941					
R ² -Ajustado	0,9853					
R ² -Predicho	0,9062					

La Figura 2 ilustra de manera elocuente el impacto de los factores examinados en el contenido de PT y AA. En este contexto, se observa un efecto positivo significativo, evidenciando un aumento progresivo en las variables de respuesta a medida que se incrementan los niveles de cada factor.

Este patrón positivo refleja de manera consistente la influencia de dichos factores en los niveles de PT y AA, subrayando la robustez de la relación entre los elementos estudiados.

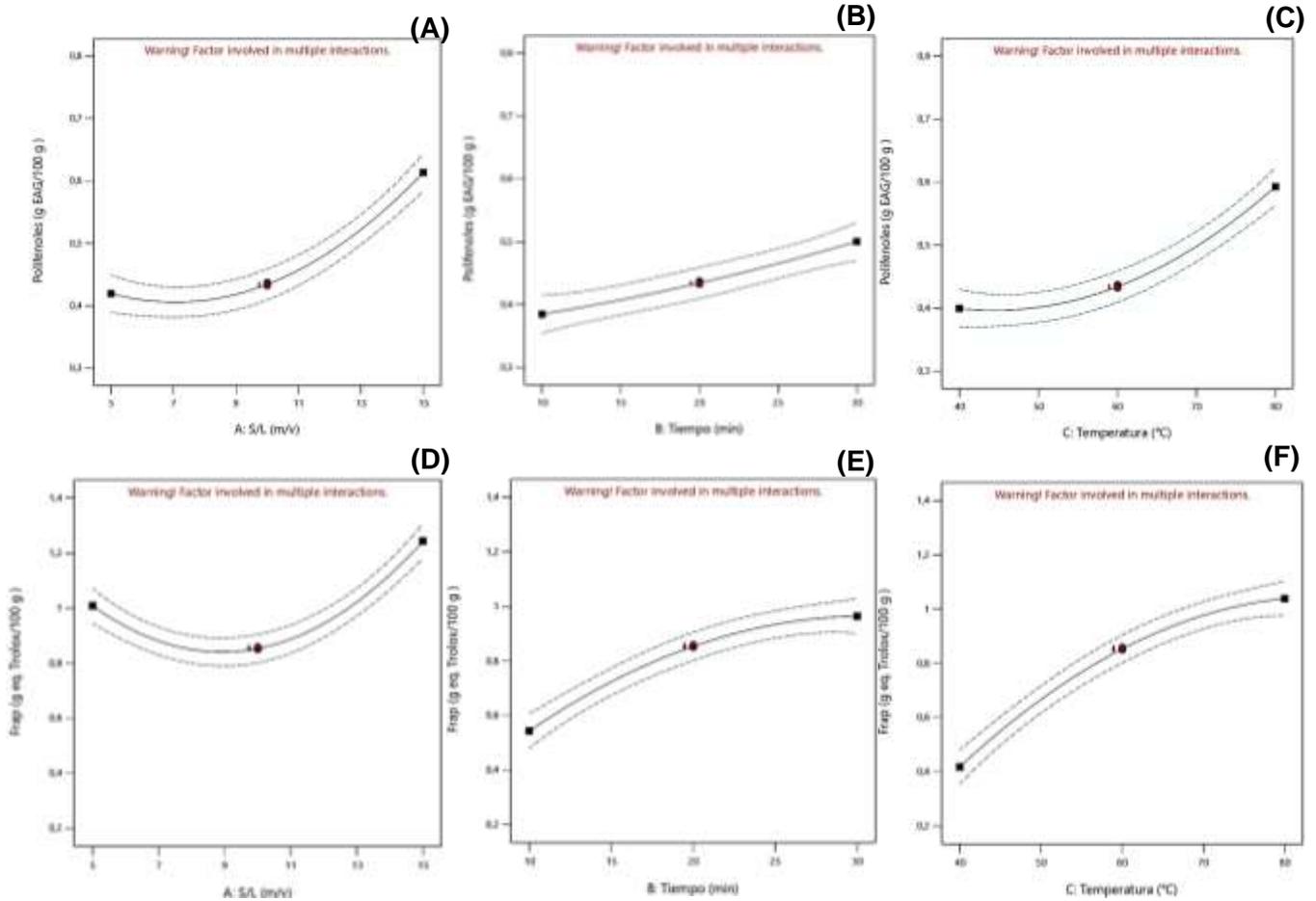


Figura 2. Influencia de los factores de estudio sobre el contenido de PT (A, B y C) y AA (D, E y F)

Análisis de la metodología de superficie de respuesta (MSR)

El objetivo de la optimización mediante la técnica de extracción asistida por ultrasonido fue encontrar las condiciones que maximizaron la concentración de PT y AA en las muestras analizadas. Se compararon cuatro modelos matemáticos (Tabla 3) generados por el software desing expert, donde las ecuaciones de segundo grado para ambas variables de respuesta dieron los mejores resultados.

Tabla 3. Resumen de los modelos de optimización de PT y AA

PT	Secuencial p-valor	Falta de ajuste p-valor	R ² -ajustado	R ² -predicho
----	--------------------	-------------------------	--------------------------	--------------------------

Lineal	0,0003	< 0.0001	0,7252	0,6356	
2FI	0,8237	< 0.0001	0,6671	0,3771	
Cuadrático	0,0003	0,0010	0,9731	0,8288	Sugerido
Cúbico	0,0010		0,9996		
AA	Secuencial p-valor Falta de ajuste p-valor R ² -ajustado R ² -predicho				
Lineal	0,0025	< 0.0001	0,6037	0,3306	
2FI	0,3636	< 0.0001	0,6227	-0,1772	
Cuadrático	< 0.0001	0,0004	0,9853	0,9062	Sugerido
Cúbico	0,0004		0,9999		

Los resultados de laboratorio y los predichos por los modelos matemáticos fueron comparados y se muestran respectivamente en la Figura 3 y Tabla 4. Las ecuaciones cuadráticas en términos de factores reales se pueden escribir de la siguiente manera:

$$PT=0,976063-0,050569A-0,004706B-0,018058C-0,000178AB+0,000127AC+0,00015BC+0,003293A^2+0,000082B^2+0,000155C^2 \quad (3)$$

$$AA=1,72236-0,072235A+0,045966B+0,056124C-0,001825AB-0,001429AC+0,000553BC+0,010897A^2-0,000997B^2-0,000312C^2 \quad (4)$$

Donde A, B y C representan respectivamente, la relación sólido líquido, tiempo y temperatura. Las ecuaciones proporcionadas son herramientas valiosas para realizar predicciones sobre la respuesta en función de niveles específicos de cada factor. Es crucial destacar que, al utilizar estas ecuaciones, los niveles deben ser especificados en las unidades originales correspondientes. Es importante tener en cuenta que estas ecuaciones no deben emplearse para evaluar el impacto relativo de cada factor, ya que los coeficientes están escalados para ajustarse a las unidades originales y la intersección no se encuentra en el centro del espacio de diseño. En consecuencia, se recomienda utilizar las ecuaciones con prudencia y limitar su aplicación a la predicción de respuestas dentro de los rangos específicos de los niveles de los factores, evitando inferencias sobre la comparación relativa de los efectos de los distintos factores en ausencia de un análisis específico para tal propósito.

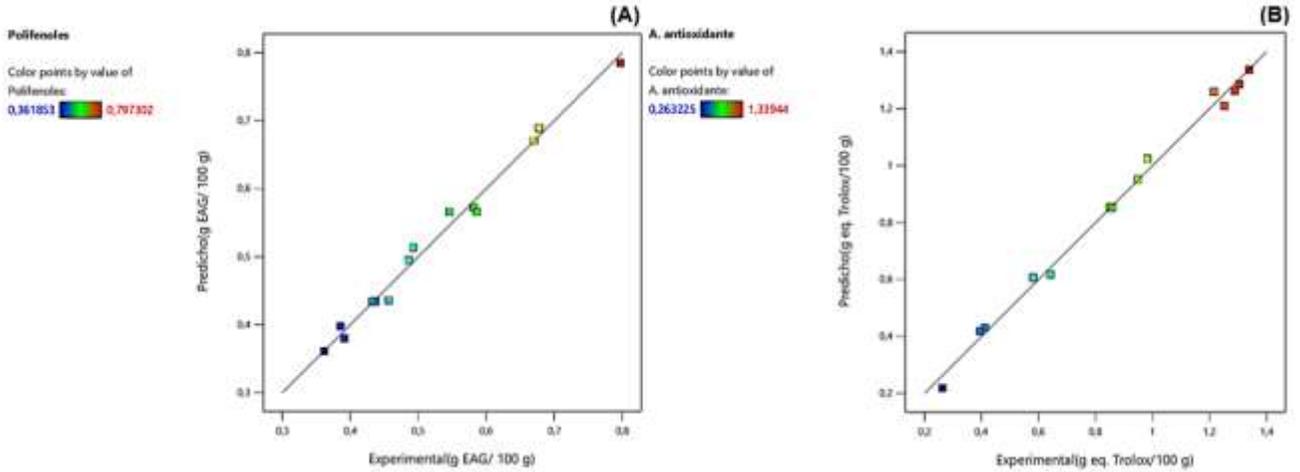


Figura 3. Valores experimentales y predicho de PT (A) y AA (B)

Tabla 4. Diseño Box-Behnken (metodología de superficie de respuesta)

Experimental		Predicho	
PT	PT	AA	AA
g EAG/100 g	g EAG/100 g	g eq.Trolox/100g	g eq.Trolox/100g
0,3619	0,3612	0,5811	0,6070
0,4927	0,5136	0,6417	0,6183
0,5862	0,5659	1,34	1,34
0,4349	0,4343	0,8511	0,8532
0,4324	0,4343	0,8508	0,8532
0,6700	0,6706	1,29	1,26
0,4567	0,4357	0,3948	0,4182
0,6775	0,6891	1,22	1,26
0,4860	0,4947	1,25	1,21
0,3916	0,3799	0,2632	0,2188
0,7973	0,7851	1,30	1,29
0,4374	0,4343	0,8527	0,8532
0,5815	0,5728	0,9823	1,02

0,5458	0,5661	0,9484	0,9509
0,3856	0,3978	0,4118	0,4304
0,4324	0,4343	0,8583	0,8532

Optimización de la extracción asistida por ultrasonido de PT y AA

La figura 4 muestra las condiciones óptimas de extracción para PT y AA. En este sentido, la elección de una proporción sólido/líquido precisa fue fundamental en la obtención de resultados óptimos, y en este caso, la relación de 14,98 (m/v) ha demostrado ser especialmente efectiva. Asimismo, el tiempo de extracción de 24,58 minutos y la temperatura de 79,99°C han mostrado ser factores cruciales para maximizar el rendimiento en la extracción de PT y AA. Bajo estas condiciones específicas, los resultados de la extracción revelaron valores máximos, con 0,82 g EAG/100 g para PT y 1,37 g eq. Trolox/100 g para AA. Estos resultados no solo indican la eficacia de las condiciones óptimas establecidas, sino que también resaltan la relevancia de ajustar cuidadosamente los parámetros de extracción para obtener los máximos beneficios de los compuestos de interés.

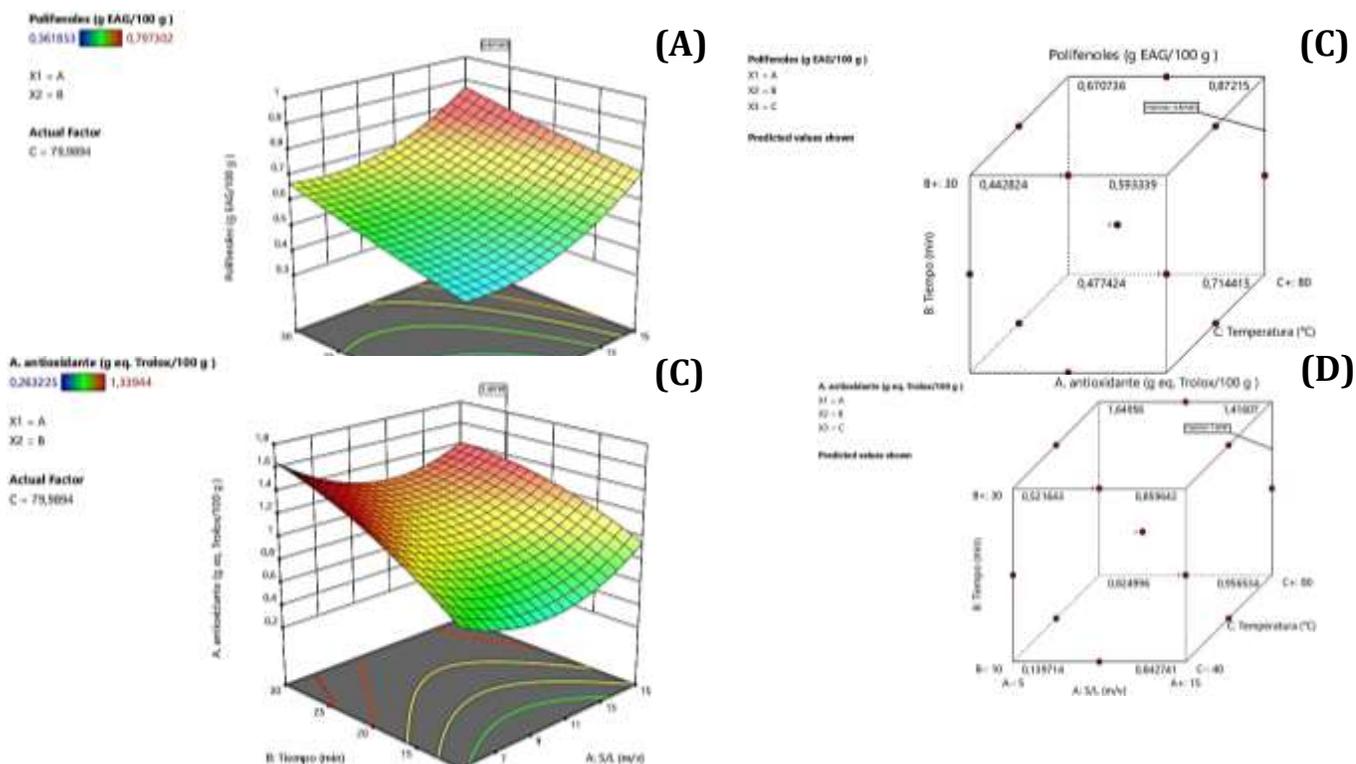


Figura 4. Condiciones óptimas de extracción para PT (A y B) y AA (C y D)

Obtención y análisis del extracto seco basados en la NTE INEN 1122:2013

El rendimiento del extracto seco, obtenido mediante liofilización, fue del 2,3%. Los parámetros fisicoquímicos (Tabla 5) evaluados se compararon con la norma NTE INEN 1122:2013, la cual corresponde al café liofilizado y se considera el producto más similar al objeto de esta investigación, tanto a nivel nacional como internacional.

El contenido de pH fue de 3,70, indicando que no cumple con el requisito establecido por la normativa. En contraste, el contenido de humedad (2,8%), cenizas totales (7,98%), solubilidad en agua caliente (14 s), y solubilidad en frío (1,06 minutos) cumplieron satisfactoriamente con los rangos establecidos por la normativa vigente.

Tabla 5. Comparación de parámetros fisicoquímicos del extracto seco de Jamaica con el café liofilizado

Parámetro	Jamaica liofilizada	Café liofilizado	
		Mínimo	Máximo
pH	3,70	4,7	5,5
Humedad (%)	2,8	-	3,5
Cenizas totales (%)	7,98	-	14
Solubilidad en agua caliente (s)	14	-	30
Solubilidad en agua fría (min)	1,06	-	3

Discusión

La comparación de los resultados obtenidos en este estudio con investigaciones previas, como las de Pacheco (2019) y Pacheco-Coello et al. (2019), revela interesantes variaciones en los niveles de polifenoles y actividad antioxidante. En este estudio, los valores de PT y AA fueron de 0,82 g EAG/100 g y 1,37 g eq. Trolox/100 g, respectivamente. Estos resultados son superiores a los hallazgos de Pacheco (2019), quien reportó 0,24 g EAG/100 g para PT y 0,23 g eq. Trolox/100 g AA.

Es crucial destacar que las diferencias observadas podrían atribuirse a diversas variables, como las condiciones de extracción (López et al., 2021), las características específicas de la muestra y las técnicas analíticas empleadas (Otálora-Rodríguez et al., 2021). En este estudio, la cuidadosa

optimización de la relación sólido/líquido, el tiempo de extracción y la temperatura ha demostrado ser efectiva para maximizar la obtención de PT y AA.

Por otro lado, los valores superiores informados por Pacheco-Coello et al. (2019) con 1,03 g EAG/100 g para PT y 1,42 g eq. Trolox/100 g en AA podrían atribuirse a diferentes métodos de extracción o a variaciones en las fuentes de los compuestos estudiados. Estas discrepancias resaltan la importancia de la estandarización de los métodos analíticos y la necesidad de considerar las particularidades de cada estudio para realizar comparaciones significativas.

Estos resultados subrayan la complejidad de la variabilidad en los contenidos de PT y AA en diferentes estudios. Este tipo de análisis comparativo contribuye a la comprensión más profunda de los factores que influyen en los resultados y destaca la importancia de la replicación de experimentos y la aplicación de metodologías consistentes para lograr conclusiones más sólidas en el ámbito de la investigación antioxidante y de polifenoles.

Por otro lado, el rendimiento de liofilización obtenido en esta investigación fue bajo con un valor de 2,3%. De acuerdo con la perspectiva de Nowak & Jakubczyk (2020) el rendimiento en la liofilización está directamente influenciado por el contenido de sólidos en el extracto líquido a ser liofilizado. Este planteamiento se encuentra respaldado por Assegehegn et al. (2019) quien coincide con Nowak & Jakubczyk (2020) al afirmar que el rendimiento de los productos liofilizados guarda una relación proporcional con el contenido de sólidos presentes en el extracto líquido.

Es relevante señalar que hasta el momento no se dispone de información específica sobre productos liofilizados derivados de la Flor de Jamaica. Sin embargo, al comparar los resultados obtenidos en este estudio con otros trabajos, como el de Luna-Fox et al. (2023), se evidencian diferencias significativas. Luna-Fox et al. (2023) logró un rendimiento del 7,99% al obtener un extracto seco de *Ilex guayusa* Loes mediante la técnica de *spray drying*.

La variabilidad de estos rendimientos podría atribuirse a varias razones, entre ellas, las diferencias en las propiedades intrínsecas de las materias primas utilizadas (Oyinloye & Yoon, 2020), las metodologías de procesamiento y las condiciones específicas de liofilización y *spray drying* (Pellicer et al., 2019). Además, la variabilidad puede estar influenciada por las características inherentes de cada planta y la composición química única de sus extractos (Papoutsis et al., 2018). Esta comparación subraya la importancia de considerar factores específicos de cada técnica de secado, así como las propiedades intrínsecas de las plantas utilizadas, para interpretar de manera

adecuada los rendimientos obtenidos. Además, destaca la necesidad de futuras investigaciones que exploren a fondo los procesos de liofilización aplicados a la Flor de Jamaica, con el objetivo de mejorar la eficiencia y la calidad de los productos derivados.

Respecto a los parámetros fisicoquímicos, el pH del extracto seco de flor de Jamaica, registrado en 3,70 y se encontró fuera del rango aceptado por la normativa (mínimo de 4,7 y máximo de 5,5). Este resultado puede deberse a la adición estratégica de cáscara de limón durante la extracción con ultrasonido, con el fin de potenciar la actividad antioxidante. Mientras que la presencia de compuestos ácidos en la cáscara de limón puede explicar la disminución del pH, este hallazgo destaca la complejidad de equilibrar objetivos como la mejora de propiedades antioxidantes sin comprometer otros parámetros esenciales, como el pH. Esta situación resalta la necesidad de ajustes precisos en la formulación y procesamiento para garantizar la calidad del producto.

Por el contrario, la humedad, las cenizas totales, y la solubilidad en agua caliente y fría se encontraron dentro de los límites propuestos por la normativa NTE INEN 1122:2013, indicando que, a pesar de la variabilidad en el pH, el producto satisface otros estándares de calidad. Estos resultados subrayan la complejidad de formular productos enriquecidos con ingredientes específicos, como la cáscara de limón para potenciar la actividad antioxidante, resaltando la necesidad de un equilibrio cuidadoso entre la optimización de propiedades deseables y la conformidad con los estándares reglamentarios. Esta dualidad en los resultados enfatiza la importancia de un enfoque holístico y equilibrado en la formulación de productos para garantizar la calidad global y la aceptación del consumidor.

Conclusiones

-La aplicación de la metodología de superficie de respuesta permitió establecer condiciones óptimas para maximizar los contenidos de polifenoles totales y actividad antioxidante en el extracto acuoso de flores de Jamaica. Los parámetros ideales fueron una relación sólido/líquido de 14,98 (m/v), un tiempo de extracción de 24,58 minutos y una temperatura de 79,99°C, logrando valores máximos de 0,82 g EAG/100 g para polifenoles totales y 1,37 g eq. Trolox/100 g para actividad antioxidante.

- Se obtuvo un extracto seco mediante liofilización, a partir del extracto acuoso de flores de Jamaica optimizado mediante la metodología de superficie de respuesta. La evaluación de los parámetros fisicoquímicos reveló que el contenido de humedad, cenizas totales, solubilidad en agua caliente y

fría cumplieron satisfactoriamente con los requisitos establecidos por la normativa NTE INEN 1122:2013. Sin embargo, se observó que el pH no cumplió con dicha normativa, señalando un área potencial de mejora en futuras investigaciones y procesos de producción.

Referencias

- Ajayi, O., and Oyerinde, M. (2020). Evaluation of Nutritional composition of Roselle (Hibiscus sabdariffa) herbal Tea infused with Ginger (Zingiber officinale) and Lemon (Citrus limon) Peel. *Australian Journal of Science and Technology*, 4(1), 216–221. www.aujst.com
- Anderson, M. J., and Whitcomb, P. J. (2016). Rsm simplified: Optimizing processes using response surface methods for design of experiments. *RSM Simplified: Optimizing Processes Using Response Surface Methods for Design of Experiments*, Second Edition, 1–295. <https://doi.org/10.1201/9781315382326/RSM-SIMPLIFIED-mark-anderson-patrick-whitcomb>
- AOAC. (2023). Annual Meeting & Exposition - AOAC International. <https://www.aoac.org/2023-annual-meeting-exposition/>
- Assegehegn, G., Brito-de la Fuente, E., Franco, J., and Gallegos, C. (2019). The Importance of Understanding the Freezing Step and Its Impact on Freeze-Drying Process Performance. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 108(4), 1378–1395. <https://doi.org/10.1016/j.xphs.2018.11.039>
- Benzie, I., and Strain, J. (1996). The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of “Antioxidant Power”: The FRAP Assay. *Analytical Biochemistry*, 239(1), 70–76. <https://doi.org/10.1006/ABIO.1996.0292>
- Izquierdo-Vega, J., Arteaga-Badillo, D., Sánchez-Gutiérrez, M., Morales-González, J. A., Vargas-Mendoza, N., Gómez-Aldapa, C., Castro-Rosas, J., Delgado-Olivares, L., Madrigal-Bujaidar, E., and Madrigal-Santillán, E. (2020). Organic acids from Roselle (Hibiscus sabdariffa L.)-A brief review of its pharmacological effects. *Biomedicines*, 8(5), 1–16. <https://doi.org/10.3390/BIOMEDICINES8050100>
- López, O., Fernández, D., Hernández, Y., Esquijarrosa, J., and Laguna, A. (2021). Estudio de extracción de polifenoles de thalassia testudinum. *Alimentos, Ciencia e Ingeniería*, 28(1), 49–57. [file:///C:/Users/UEA/Downloads/cdfranco,+Revista_Vol28-1-2021+\(1\)-4.pdf](file:///C:/Users/UEA/Downloads/cdfranco,+Revista_Vol28-1-2021+(1)-4.pdf)

- Luna-Fox, S. B., Rodríguez-Almeida, N. N., Dahua-Gualinga, R. D., y Sancho-Aguilera, D. (2023). Compuestos polifenólicos, contenido mineral y tamizaje fitoquímico de extractos acuosos de *Simira cordifolia* obtenidos mediante ultrasonidos. *Polo Del Conocimiento*, 8(11), 418–437. <https://doi.org/10.23857/pc.v8i11.6216>
- Luna Fox, S. B., Álvarez Castro, R. R., Peñafiel-Bonilla, N. J., Radice, M., Scalvenzi, L., Arteaga Crespo, Y., López Hernández, O. D., y Bravo Sánchez, L. R. (2023). Elaboración de un preparado hidrosoluble en forma de sólido pulverulento a partir de *Ilex guayusa* Loes. *La Técnica Revista de Las Agrociencias* ISSN 2477-8982, 13(1), 47–56. <https://doi.org/10.33936/latecnica.v13i1.5725>
- Mosquera-Vivas, E., Ayala-Aponte, A., and Serna-Cock, L. (2019). Ultrasound and Osmotic Dehydration as Pre-treatments to Melon (*Cucumis melo* L.) Drying by Freeze-drying. *Informacion Tecnologica*, 30(3), 179–188. <https://doi.org/10.4067/S0718-07642019000300179>
- Nowak, D., and Jakubczyk, E. (2020). The Freeze-Drying of Foods — The Characteristic of the Process Course and the Effect of Its Parameters on. *Foods*, 9(1488), 1–27. <https://www.mdpi.com/2304-8158/9/10/1488>
- Ojulari, O., Lee, S., and Nam, J. (2019). Beneficial Effects of Natural Bioactive Compounds from *Hibiscus sabdariffa* L. On obesity. *Molecules*, 24(1), 1–14. <https://doi.org/10.3390/molecules24010210>
- Otálora-Rodríguez, M., Wilches-Torres, A., y Cárdenas-González, O. (2021). Extracción de polifenoles de *Cynara scolymus* L., usando técnicas tradicionales y modernas. Una breve revisión. *I3+*, 4(1), 29–38. <https://doi.org/10.24267/23462329.789>
- Oyinloye, T., and Yoon, W. (2020). Effect of freeze-drying on quality and grinding process of food produce: A review. *Processes*, 8(3), 1–23. <https://doi.org/10.3390/PR8030354>
- Pacheco-Coello, F., Ramírez-Azuaje, D., Pinto-Catari, I., Peraza-Marrero, M., y Orosco-Vargas, C. (2019). Comparación de compuestos fenólicos totales en *Hibiscus sabdariffa* L. Venezuela. *Revista Colombiana de Ciencias Químico-Farmacéuticas*, 48(3), 521–527. <https://doi.org/10.15446/rcciquifa.v48n3.84956>
- Pacheco, F. (2019). Polifenoles y actividad antioxidante de extractos acuosos de cálices de *Hibiscus sabdariffa* L. *Ab Intus*, 4(2), 14–20. https://www.researchgate.net/profile/Franklin-Coello/publication/341343483_Polifenoles_y_actividad_antioxidante_de_extractos_acuos

os_de_calices_de_Hibiscus_sabdariffa_L/links/5ebba422458515626ca57138/Polifenoles-y-actividad-antioxidante-de-extractos-acuos

- Papoutsis, K., Golding, J., Vuong, Q., Pristijono, P., Stathopoulos, C. E., Scarlett, C. J., and Bowyer, M. (2018). Encapsulation of citrus by-product extracts by spray-drying and freeze-drying using combinations of maltodextrin with soybean protein and ι-carrageenan. *Foods*, 7(7), 1–12. <https://doi.org/10.3390/foods7070115>
- Pellicer, J., Fortea, M., Trabal, J., Rodríguez-López, M., Gabaldón, J., and Núñez-Delicado. (2019). Stability of microencapsulated strawberry flavour by spray drying, freeze drying and fluid bed. *Powder Technology*, 347, 179–185. <https://doi.org/10.1016/j.powtec.2019.03.010>
- Rahayu, S., and Fauziah, T. (2019). Lime (*Citrus aurantifolia*) Peel Effect on Peroxide Value of Cooking Oil. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 391(1). <https://doi.org/10.1088/1755-1315/391/1/012045>
- Ramírez -Monsalve, J., Jaramillo-Gaviria, L., and Arango-Correa, A. (2021). Use of freeze-dried aromatic herbs with quality organoleptic characteristics in gastronomic products. *International Journal of Gastronomy and Food Science*, 24. <https://doi.org/10.1016/j.ijgfs.2021.100341>
- Suriano, S., Balconi, C., Valoti, P., and Redaelli, R. (2021). Comparison of total polyphenols, profile anthocyanins, color analysis, carotenoids and tocopherols in pigmented maize. *Lwt*, 144(March). <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111257>
- Tan, B., Norhaizan, M., Liew, W., and Rahman, H. (2018). Antioxidant and oxidative stress: A mutual interplay in age-related diseases. *Frontiers in Pharmacology*, 9, 1–28. <https://doi.org/10.3389/fphar.2018.01162>

© 2024 por los autores. Este artículo es de acceso abierto y distribuido según los términos y condiciones de la licencia Creative Commons Atribución-NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional (CC BY-NC-SA 4.0) (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>).