

EFFECTO DE LA LUZ SOBRE LA ESTABILIDAD DE LAS ANTOCIANINAS EN EXTRACTO ACUOSO DE FLOR DE JAMAICA (*HIBISCUS SABDARIFFA* L.)

José Luis Rodríguez Sánchez^{1,2}, Ana Silvia Falco Manso¹, Lisandra Álvarez Romero¹, Sheila Alejandra Palacio Oliver¹, Margarita Núñez de Villavicencio Ferrer¹.*

¹*Instituto de Investigaciones para la Industria Alimenticia. Carretera al Guatao km 3½, C.P. 19200, La Habana, Cuba. E-mail: joseluis@iiaa.edu.cu*

²*Dpto. Alimentos. Instituto de Farmacia y Alimentos. Universidad de La Habana. Ave. 23 No. 21425, C.P. 13600, La Habana, Cuba.*

Recibido: 02-01-2024 / Revisado: 15-01-2024 / Aceptado: 21-01-2024 / Publicado: 30-04-2024

RESUMEN

El objetivo del presente trabajo fue determinar el efecto de la luz en la estabilidad de las antocianinas y el color del extracto acuoso de flor de Jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.). Los estudios de estabilidad ante la luz se desarrollaron con el empleo de una bombilla LED de 300 Lm de flujo luminoso a

una distancia entre 4 cm, 8 cm y 17 cm. Se determinó la variación de la concentración de antocianinas en el tiempo. Los resultados estadísticos evidenciaron que la degradación fotoquímica de antocianinas siguió una cinética de primer orden. Las pérdidas de antocianinas, expresada en por ciento respecto a la concentración inicial, después de estar expuestas a la luz durante diez días, fueron del 56,2 % (889 lx); 97,2 %

(1627 lx) y 98,3 % (2142 lx). Para evaluar la variación del color se utilizó el sistema CIEL*a*b*. Los resultados obtenidos demostraron que la exposición a la luz durante diez días produce cambios en el color total (ΔE^*) que son más pronunciados a mayor nivel de iluminación.

Palabras claves: *Hibiscus sabdariffa*, antocianinas, degradación fotoquímica, extracto acuoso

ABSTRACT

Effect of light on the stability of anthocyanins and color of aqueous extract of Jamaica flower (*Hibiscus sabdariffa* L.).

The aim of this research was to determine the effect of light on the stability of anthocyanins and color of aqueous extract of Jamaica flower (*Hibiscus sabdariffa* L.). Light stability studies were carried out with the use of a 300 Lm of luminous flux LED bulb at a distance between 4 cm, 8 cm and 17 cm. The variation of anthocyanins concentration over time was determined. The statistical results showed that photochemical degradation of anthocyanins followed first-order kinetics. The losses of anthocyanins, expressed as a percentage of the initial concentration, after being exposed to light for ten days, they were 56,2 % (889 lx), 97,2 % (1627 lx) and 98,3 % (2142 lx). To evaluate color variation, the CIEL*a*b* system was used. The results showed that exposure to light for ten days produces changes in color total that are more pronounced at higher lighting levels.

Keywords: *Hibiscus sabdariffa*, anthocyanins, photochemical degradation, aqueous extract

INTRODUCCIÓN

El color de los alimentos tiene múltiples efectos sobre el consumidor y sería erróneo considerarlo como un atributo puramente estético. El color es la primera sensación que se percibe de un alimento y suele ser considerado un factor psicológico de apreciación ya que en ocasiones influye subjetivamente en la percepción de otros atributos como el

sabor y también como criterio para elegir un producto alimenticio (1).

En general, el consumidor relaciona el color con la calidad del producto, con su frescura, incluso con su contenido en nutrientes (2). Los alimentos tienen su color característico, pero los métodos de fabricación ejercen una notable influencia en su coloración final, por tanto, los colorantes alimentarios son una vía eficaz para enmascarar sus características indeseables, restaurar la apariencia inicial o reforzar el color, y así lograr satisfacer las expectativas de los consumidores.

Las antocianinas representan el grupo más grande de pigmentos solubles en agua en las plantas. Son muy apreciadas en la industria alimentaria porque pueden dar a los alimentos diversas tonalidades entre rojo y violeta. La flor de Jamaica (*H. sabdariffa* L.) es una planta herbácea cuyos cálices contienen elevadas cantidades de antocianinas y a nivel industrial, los extractos de sus cálices son empleados como colorantes y saborizantes de alimentos (3). No obstante, la temperatura puede afectar la estabilidad de las antocianinas, por ejemplo, los tratamientos térmicos de pasteurización y esterilización pueden conducir a que polimericen, lo que resulta en cambios de color no deseables (4,5). En cuanto al efecto de la luz, no abundan las publicaciones relacionadas sobre la degradación de las antocianinas debido a reacciones fotoquímicas, por consiguiente, el objetivo de este estudio fue evaluar la influencia de la luz en la estabilidad de las antocianinas del extracto acuoso de flor de Jamaica.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los cálices secos de flor de Jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) variedad Anadelia fueron proporcionados por la finca de plantas medicinales del Centro de Investigaciones y Desarrollo de Medicamentos (CIDEM) en la localidad de Güira de Melena.

Los cálices secos fueron previamente triturados utilizando un molino de cuchilla de alta velocidad (3 500 min⁻¹, 20 s) y después se pasó por un tamiz de malla 0,5 mm, obteniéndose un polvo fino. Una vez triturado, se pesó una porción de 10,0 g en un vaso de precipitado de 250 mL de capacidad, al cual se le adicionó 100 mL de agua destilada como disolvente de extracción. A continuación, se realizó la extracción empleando un agitador magnético a 800 min⁻¹ durante veinte minutos. Concluida la extracción se procedió a filtrar el extracto a presión reducida.

El estudio de la degradación foto-inducida de las antocianinas se realizó tomando alícuotas de 10 mL del extracto de antocianinas distribuidas en tubos de ensayos de 15 mL de capacidad. Los tubos fueron irradiados en una cámara (Figura 1) durante diez días. Como fuente de luz se empleó una bombilla LED de 300 Lm de flujo luminoso. Variando la distancia *d* (plano de la luminaria – plano de los tubos de ensayos) entre 4 cm, 8 cm y 17 cm se alcanzaron valores de iluminancia de 2142 lx, 1617 lx y 889 lx respectivamente medidos con fotómetro Sekonic, intervalo que cubre las condiciones de iluminación de venta en mercados y supermercados (6).

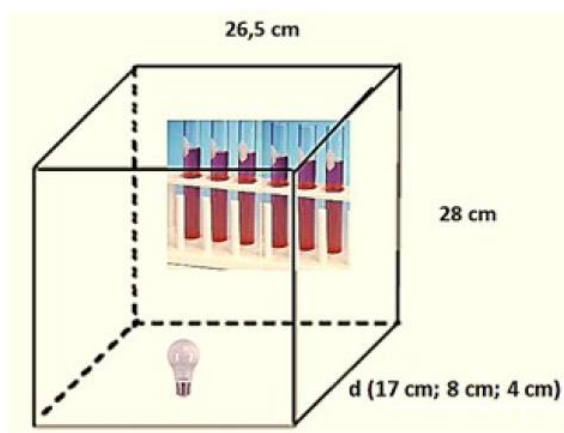


Fig. 1 Esquema de la cámara con las dimensiones y la distancia de la fuente luminosa a los tubos de ensayos

El contenido total de antocianinas monoméricas se determinó por el método diferencial de pH descrito en la AOAC (7), utilizando dos sistemas de búfer: búfer KCl (0,025 M) pH 1,0 y búfer de acetato de sodio (0,4 M) pH 4,5 y expresado en mg/L de cianidina-3-glucósido. Con los datos experimentales de la concentración total de antocianinas en el extracto acuoso a los distintos tiempos de exposición de luz, se realizó el análisis de regresión lineal para los modelos cinéticos: orden cero, primer orden y segundo orden (Tabla 1). El orden de la reacción de foto degradación se determinó con el modelo cinético de mejor ajuste de los datos experimentales, para lo cual se tuvo en consideración el coeficiente de determinación (R^2) y la prueba F de falta de ajuste (8).

Tabla 1. Modelos cinéticos

	Ecuaciones lineales
Orden cero	$C = C_0 - kt$
Primer orden	$\ln C = \ln C_0 - kt$
Segundo orden	$1/C = 1/C_0 - kt$

C_0 concentración inicial; C concentración al tiempo t ; k constante de velocidad

La evaluación del cambio de color del extracto al inicio y después de la exposición luminosa se realizó midiendo los espectros de absorción en la región de 380 a 780 nm en cubetas de cuarzo de 1 cm de paso óptico en un espectrofotómetro UV-visible Shimadzu modelo 2600. Las características cromáticas en coordenadas CIE $L^*a^*b^*$ fueron determinadas mediante el software UV UVPC Optional Color Analysis seleccionando el iluminante D_{65} y 10° ángulo del observador (9). La cuantificación de la diferencia total de color (ΔE^*) fue calculada por medio de las ecuaciones (10).

$$\Delta L^* = L_1^* - L_2^*; \Delta a^* = a_1^* - a_2^*; \Delta b^* = b_1^* - b_2^*$$

L*, luminosidad, valor entre 0 (negro) y 100 (blanco); a* coordenada del eje rojo – verde; (+) rojo y (-) verde; b* coordenada del eje amarillo – azul; (+) amarillo y (-) azul.

$$\text{Diferencia de color: } \Delta E^* = [\Delta L^{*2} + \Delta a^{*2} + \Delta b^{*2}]$$

Los subíndices 1 y 2 corresponde a extracto acuoso al inicio (tiempo cero) y extracto acuoso expuesto a la luz 240 horas, respectivamente.

Todos los cálculos estadísticos se realizaron utilizando el programa Statistica versión 8 (StatSoft, Inc).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Por la exposición a la luz, disminuye la concentración de antocianinas monoméricas en los extractos acuosos de flor de Jamaica, como consecuencia de reacciones de degradación y de polimerización foto-inducidas, como se aprecia en la Tabla 2. Se observa que la disminución fue mayor al exponer los extractos a niveles de iluminación más intensos.

Tabla 2. Variación del contenido de antocianinas^a en el tiempo por efecto de la luz

Tiempo (h)	Nivel de iluminación		
	889 lx	1627 lx	2142 lx
0	143,6 (5,2)	148,5 (4,9)	144,8 (5,0)
40	123,7 (4,1)	85,9 (4,1)	77,3 (3,8)
67,5	109,8 (4,0)	60,4 (2,9)	51,4 (2,8)
115	94,4 (3,8)	29,6 (2,4)	21,8 (2,3)
140	91,5 (2,9)	19,7 (1,7)	17,1 (1,4)
240	62,8 (2,8)	4,1 (0,3)	2,1 (0,2)

^aexpresado en mg/L de cianidina-3-glucósido. Los valores informados corresponden a la media y entre paréntesis la desviación estándar (n = 3).

Las pérdidas de antocianinas monoméricas, expresada en por ciento respecto a la concentración inicial después de estar expuestas a la luz durante diez días, fueron del 56,2 % (889 lx); 97,2 % (1627 lx) y 98,3 % (2142 lx).

Respecto a la estabilidad fotoquímica de las antocianinas, hay pocos trabajos publicados con el inconveniente adicional que algunos solo refieren que la muestras fueron expuestas a la luz, pero sin ofrecer detalles del grado de iluminación, lo cual dificulta la comparación de los resultados de esta investigación con lo informados por otros investigadores. Así pues, Baublis y col (11), expusieron a la luz fluorescente extractos de antocianinas obtenidas de col roja

(*Brassicaoleracea* L.) y uva (*Vitis vinifera*L.) variedad Concorde, durante quince días informando porcentajes de degradación de 97 y 99 % respectivamente, valores similares a los obtenidos en esta investigación para niveles de iluminación superiores a 1500 lx.

Otra investigación más reciente, informaron que la luz afecta la estabilidad de las antocianinas provenientes de cuatro especies del género *Berberis*, planta que abunda en las zonas templadas, cuyo fruto tipo baya es comestible (12). La exposición a la luz durante dos semanas de los extractos obtenidos de los frutos redujo los contenidos de antocianinas entre 79,0 hasta 96,6 % a temperatura ambiente (25 °C),

aunque no brindan información sobre la fuente luminosa ni tampoco las condiciones de la iluminación.

Los resultados del análisis de regresión lineal por el método de mínimos cuadrados de los distintos modelos cinéticos ensayados se presentan en la Tabla 3. Como se observa, el modelo cinético de primer orden es el que mejor ajusta los

resultados experimentales de la foto-degradación de las antocianinas, pues en todos los niveles de iluminación ensayados el coeficiente de determinación fue el más elevado (>0,99), lo que no ocurrió con los restantes ordenes, que fueron inferiores a 0,9 en las condiciones de iluminación de 1627 lx y 2142 lx.

Tabla 3. Estadísticas de regresión lineal simple de la degradación inducida por la luz de las antocianinas del extracto de flor de Jamaica a diferentes niveles de iluminación

Orden de reacción	Nivel de iluminación					
	889 lx		1627 lx		2142 lx	
	R ²	Falta ajuste	R ²	Falta ajuste	R ²	Falta ajuste
Cero	0,971	N.S.	0,807	**	0,767	**
Primer	0,993	N.S.	0,996	N.S.	0,991	N.S.
Segundo	0,977	N.S.	0,797	**	0,758	**

R² coeficiente de determinación; N.S. no significativo (p>0,05); ** significativo (p<0,05)

Además, la prueba F de falta de ajuste resultó significativa tanto para el orden cero como el segundo orden indicando que estos modelos no ajustan debidamente los resultados experimentales. Por tanto, la cinética de primer orden explica satisfactoriamente la degradación de las antocianinas por acción de la luz. Respecto a este resultado, coincide con lo planteado en la literatura científica de que la cinética de primer orden se considera como la que mejor describe los cambios de la concentración de componentes en los productos alimenticios en función del tiempo (13,14,15).

La Figura 2 muestra la velocidad de degradación de las antocianinas en presencia de la luz de acuerdo con el modelo cinético de primer orden, donde se observa que los datos experimentales se ajustan satisfactoriamente a la transformación lineal del modelo cinético exponencial de primer orden.

Teniendo en consideración que la pendiente de la línea recta corresponde a la constante cinética de la foto-degradación para un nivel de iluminación dado, se procedió a determinar este parámetro mediante el método de mínimos cuadrados.

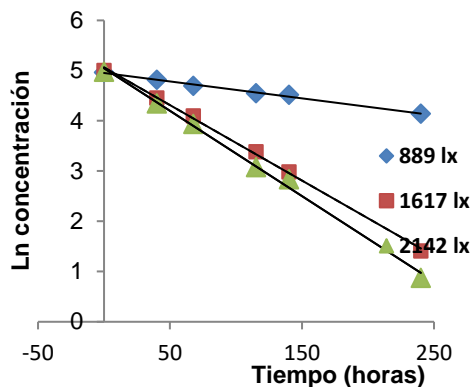


Fig. 2. Velocidad de la foto-degradación de las antocianinas del extracto de flor de Jamaica a diferentes niveles de iluminación.

La Tabla 4 presenta los parámetros derivados de considerar la cinética de primer orden para cada nivel de iluminación. En la literatura consultada no se encontraron datos para poder comparar el grado de sensibilidad hacia la exposición de la luz que tienen las antocianinas de la flor de Jamaica. No obstante, considerando que los niveles de iluminación recomendados para las tiendas de comestibles y supermercados se plantean entre 500 y 1500 lx (6) y los tiempos de vida media determinados en este estudio, se puede afirmar que puede ocurrir un cambio de color en la apariencia del producto durante su exhibición en anaqueles donde se emplee el extracto de flor de Jamaica como ingrediente.

Tabla 4. Influencia del nivel de iluminación en las constantes cinéticas de degradación (k) y el tiempo de vida media ($t_{1/2}$)

Nivel de iluminación	k (h^{-1})	$t_{1/2}$ (h)
889 lx	0,0033	210
1617 lx	0,0151	46
2142 lx	0,0169	41

Para la explicación de los cambios en el color que experimentan las antocianinas como consecuencia de reacciones químicas, algunos investigadores han utilizado informar la variación de la absorbancia a la longitud de onda de la máxima absorción en el rango visible del espectro electromagnético, pero esta información es insuficiente para su descripción de cómo lo percibe el ojo humano. Por esta razón, se ha empleado con éxito el modelo cromático CIEL*a*b* que tiene la particularidad de ser un espacio de color “perceptiblemente lineal”, lo cual significa que un cambio de la misma cantidad en un valor de la coordenada de color debe producir un cambio casi de la misma importancia visual (16).

La variación de color del extracto por efecto de la luz a distintos niveles de iluminación se puede observar en la Figura 3, que representa la visualización aproximada de tales cambios. La exposición a la luz durante diez días produce cambios en el color total (ΔE^*) que son más pronunciados a mayor nivel de iluminación, debido a la disminución notable del color rojo brillante para dar colores rojos con tonalidades pardas. En efecto, la luz induce reacciones químicas en las antocianinas en medio acuoso, dando lugar a la disminución de su concentración por ruptura de la estructura molecular y la consiguiente pérdida del grupo cromóforo, así como la posibilidad de formación de compuestos pardos con los productos de la descomposición de las antocianinas y también la posible polimerización de las antocianinas monoméricas (17).

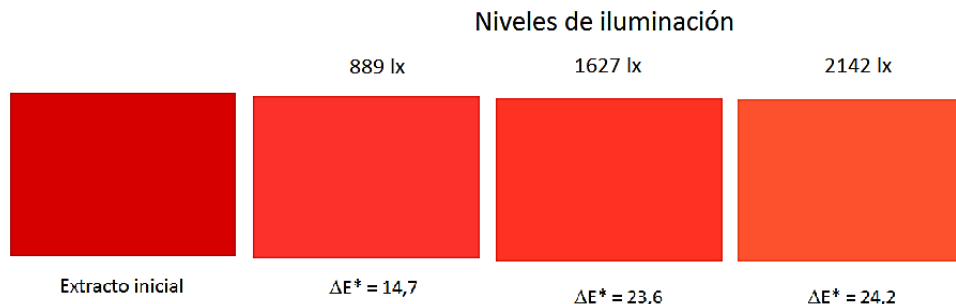


Fig. 3. Cambio de la coloración del extracto de flor de Jamaica por efecto de la exposición durante diez días a distintos niveles de iluminación.

Tal decoloración puede ocurrir con los productos alimenticios elaborados con extractos de flor de Jamaica expuestos a una iluminación prolongada y tendría un efecto antiestético en los consumidores, por lo que esta sensibilidad hacia la luz debe conducir a tomar medidas de precaución con la finalidad de disminuir las pérdidas de antocianinas y, por ende, afectaciones en el color del producto alimenticio.

CONCLUSIONES

Este estudio permitió evaluar los parámetros cinéticos de la degradación de las antocianinas presentes en el extracto acuoso de la flor de Jamaica por efecto de la luz. La degradación fotoquímica siguió una cinética de primer orden y con la tendencia a ser más sensible con el aumento del nivel de iluminación. Se comprobó que la exposición a la luz visible provoca cambios de color que pueden afectar la aceptación de los consumidores en los productos donde se emplee los extractos de flor de Jamaica como ingrediente alimentario.

REFERENCIAS

- Cardello AV. Consumer expectations and their role in food acceptance. En: MacFie H.J.H y Thomson D.M.H (eds), Measurement of Food Preferences. Blackie Academic & Professional, London; 1994, pp. 253–97.
- Hutchings J. The perception and sensory assessment of colour. En: MacDougall D.B. (ed.), Colour in food. Improving quality. CRC Press LLC; Boca Raton FL; 2002, pp. 20–43.
- Juliani HR, Welch CR, Wu Q, Diouf B, Malainy D, Simon JE. Chemistry and quality of hibiscus (*Hibiscus sabdariffa*) for developing the Natural-Product Industry in Senegal. J Food Sci 2009; 74: S113–S21.
- Kirca A, Cemeroglu B. Degradation kinetics of anthocyanins in blood orange juice and concentrate. Food Chem 2003; 81:583 – 87.
- Kirca A, Cemeroglu B. Effects of temperature, solid content and pH on the stability of black carrot anthocyanins. Food Chem 2007; 56:8541– 48.
- NOAO (National Optical Astronomy Observatory) (2018). Niveles de iluminación recomendados (iluminancia) para interiores y exteriores. http://www.noao.edu/education/QLTkit/es/Safety_Activity_Poster/LightLevels_outdoor+indoor_es.pdf.
- AOAC. Official Method 2005.02: Total monomeric anthocyanin pigment content of fruit juices, beverages, natural colorants, and wines by the pH differential method. Official Methods of Analysis of AOAC International. 18th edition (H. Horowitz, ed.). AOAC, Washington, DC 2005.
- Van Boekel, MAJS. Kinetic Modeling of Food Quality: A Critical Review. Comprehensive Rev Food Science and Food Safety 2008; 7:144–58.

9. ISO/CIE 11664-2. Colorimetry – Part 2: CIE Standard Illuminants. International Commission on Illumination, Vienna, Austria; 2022.
10. ISO/CIE 11664-6:2022. Colorimetry – Part 6: CIEDE2000 Colour Difference Formula. International Commission on Illumination, Vienna, Austria.
11. Baublis A, Spomer A, Berber-Jiménez MD. Anthocyanin pigments: comparison of extract stability. *J. Food Sci* 1994; 59:1219–25.
12. Laleh GH, Frydoonfar H, Heidary R, Jameei R, Zare S. The Effect of Light, Temperature, pH and Species on Stability of Anthocyanin Pigments in Four Berberis Species. *Pakistan J of Nutr* 2006; 5:90–2.
13. Labuza TP. Application of Chemical Kinetics to deterioration of foods. *JChem Educ*1984; 61:348–58.
14. Lund, D. Predicting the impact of food processing on food constituents. *J Food Eng* 2003; 56:113 – 17.
15. Villota R, Hawkes JG. Reaction kinetics in food systems. En: D. R. Heldman & D. B. Lund (eds.), *Handbook of food engineering* (2nd ed.), Boca Raton, FL: CRC Press, Taylor & Francis Group; 2007, pp. 125–286.
16. Negueruela M. Is the Color Measured in Food the Color That We See? En: Caivano JL y Buera MP (eds.), *Color in foods. Technological and Psychophysical Aspects*, CRC Press, Taylor & Francis Group, Boca Raton, FL 2012; pp. 81–2
17. Sinela A, Rawat N, Mertz C, Achir N, Fulcrand H, Dornier M. Anthocyanins degradation during storage of *Hibiscus sabdariffa* extract and evolution of its degradation products. *Food Chem* 2017; 214: 234 – 41.