

CONTENIDO DE FENOLES TOTALES DE UNA BEBIDA FERMENTADA DE FLORES DESHIDRATADAS DE JAMAICA (*Hibiscus Sabdariffa*)

TOTAL PHENOLS CONTENT IN A FERMENTED DRINK OF DRIED JAMAICAN FLOWERS (*Hibiscus Sabdariffa*)

Autores: María Monserrath Morales Padilla

<https://orcid.org/0000-0001-9048-1538>

Giovana Paulina Parra Gallardo

<https://orcid.org/0000-0002-8612-5992>

Eliana Granja Guerra

<https://orcid.org/0000-0002-7382-935X>

Institución: Universidad Técnica de Cotopaxi, Unidad Académica de Posgrado,
Ecuador

Correo electrónico: maria.morales1144@utc.edu.ec

giovana.parra@utc.edu.ec

eliana.granja@utc.edu.ec

RESUMEN

Actualmente los requerimientos alimenticios del consumidor son los productos que proporcionen un valor funcional y nutricional que permitan conservar en buen estado su salud. El consumo de compuestos bioactivos en bebidas tipo vino se ha visto influenciado por el aporte de compuestos fenólicos, flavonoides, taninos y otros ácidos orgánicos que resultan de un metabolismo secundario, las investigaciones realizadas en torno a estos compuestos han determinado que pueden actuar como un factor de protección ante enfermedades crónico degenerativas, por lo cual el presente estudio pretende establecer la concentración del contenido de fenoles totales en una bebida fermentada de flores deshidratadas de Jamaica obtenida bajo condiciones controladas en cuanto a su cultivo, proceso de secado y fermentación. La bebida alcohólica tipo vino fue obtenida con un procedimiento que permite conservar los componentes de interés; los parámetros físico-químicos obtenidos fueron: pH=2,8; 12,6 de °Bx y 5,37g ác. Trat/L, además de una identificación cualitativa moderada de azúcares reductores (+ +) y la presencia de fenoles y taninos en escala de valoración de abundante (+ + +). Finalmente se determinó un contenido de fenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu de 774,352 mg (GAE). L⁻¹, los cuales no solo podrían estar relacionados con el proceso de fermentación, sino que también se deberían considerar los procesos

preliminares como el índice de madurez de la flor durante la recolección y las condiciones de secado para conservar componentes de relevancia y que podrían aportar un beneficio por su efecto antioxidante, los cuales serán de interés para próximas investigaciones.

Palabras clave: Bebida alcohólica, Contenido fenólico, Características cuantitativas y cualitativas, Fermentación, Flores de Jamaica.

ABSTRACT

Currently one of the consumers' dietary requirements are products that provide functional and nutritional value to keep their health in good condition. The consumption of bioactive compounds in wine-type beverages has been influenced by the contribution of phenolic compounds, flavonoids, tannins and other organic acids that result from secondary metabolism. Research on these compounds has determined that they can act as a protective factor against chronic degenerative diseases; therefore, the present study aims to establish the concentration of total phenol content in a fermented beverage made from dehydrated Jamaican flowers obtained under controlled conditions in terms of their cultivation and drying process. The wine-type alcoholic beverage was obtained with a procedure that allows preserving the greatest amount of these components; the physicochemical parameters obtained were: pH=2.8; 12.6 °Bx and 5.37g ác. Trat/L, in addition to a moderate qualitative identification of reducing sugars (+ + +) and the presence of phenols and tannins in abundant valuation scale (+ + +). Finally, a total phenol content was determined by the Folin-Ciocalteu method of 774.352 mg (GAE). L-1, which could not only be related to the fermentation process, but also to preliminary processes such as the maturity index of the flower during harvesting and drying conditions should be considered in order to conserve relevant components that could provide a benefit for their antioxidant effect, which will be of interest for future research.

Keywords: Alcoholic beverage, Fermentation, Jamaican flowers, Phenolic content, Quantitative and qualitative characteristics.

INTRODUCCIÓN

La Jamaica perteneciente a la familia de las *Malvaceae*, se caracteriza por crecer en las zonas tropicales y subtropicales; el proceso de cultivo y cosecha tiene un tiempo aproximado de cuatro a seis meses para la obtención de hojas y semillas comestibles, las flores secas se utilizan sobre todo para la elaboración de bebidas refrescantes o

infusiones, potenciadores de sabor y otros productos de la industria agroalimentaria, además de su uso en industrias como la farmacéutica y cosmética.

La Flor de Jamaica (*Hibiscus Sabdariffa*), por su composición química y compuestos bioactivos presentes en el cáliz de sus flores y por sus propiedades funcionales y antioxidantes, además de pigmentos, ácidos orgánicos y contenido de proteína proporcionan un beneficio para la salud (Pérez, Pita y González, 2021). Varias investigaciones indicaron que esta planta es fuente de ácido málico, antocianinas, ácido ascórbico y minerales como Ca y Fe, además de ser escasa en glucosa. (Patel, S., 2014)

En varias investigaciones se destaca la caracterización agronómica de la planta de Jamaica relacionando su cosecha con el rendimiento de cálices y por ende su influencia en sus características morfológicas y composición proximal, la relación entre la variedad y el estado de madurez al cosechar los cálices podrían afectar al contenido de compuestos fenólicos, por lo cual es importante determinar el tiempo exacto para su cosecha. De acuerdo con las referencias bibliográficas se indica que el tiempo de cosecha óptimo debe estimarse de 20 a 24 días después de la apertura de la flor. (Ramírez Cortés, *et al.*, 2011)

Otro parámetro a considerar es la severidad del método de deshidratación o secado de las flores de Jamaica ya que puede incidir considerablemente en la calidad nutricional ya que ciertos componentes pueden ser termosensibles como la vitamina C y podrían verse afectados por el proceso (Monasterios, 2022), por lo tanto, según estudios y antecedentes de la empresa Servifumiagro el método de deshidratación se realiza por secado por convección forzada a una temperatura de 60°C por 8 horas.

Los fenoles son un grupo de compuestos naturales que se derivan del metabolismo secundario presente en vegetales y frutas de los cuales su característica principal es el potencial antioxidante además de proporcionar sabor, color, aroma y valor nutritivo; factor de gran importancia en la calidad de vinos y bebidas fermentadas por los posibles beneficios a la salud incluida la protección contra enfermedades cardiovasculares y degenerativas; un ejemplo de ello son las propiedades de las uvas, los vinos y los subproductos de la uva contienen grandes cantidades de compuestos fenólicos, en su mayoría flavonoides, en altas concentraciones de 1000 a 1800 mg/L (Silva, V. *et al.*, 2018)

Por lo tanto, el objetivo de esta investigación es determinar el contenido de fenoles totales en una bebida fermentada tipo vino de flores deshidratadas de Jamaica.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materia Prima

Las flores de Jamaica fueron recolectadas según parámetros de calidad de la empresa Servifumiagro; fueron lavadas y desinfectadas con una solución de metabisulfito de sodio (Sigma-Aldrich referencia- 71932) en 150ppm, para posteriormente ser secadas por convección forzada de aire caliente en un secador de túnel de fabricación nacional, a una temperatura de 60°C durante 8 horas hasta alcanzar una humedad del 12 %, para ser empacadas en bolsas herméticas y almacenadas a temperatura ambiente.

Obtención de la bebida fermentada

Las flores de Jamaica son procedentes de la provincia de Loja de la empresa Servifumiagro, el sistema de fermentación y procesamiento se instaló en la planta agroindustrial de la Universidad Técnica de Cotopaxi. Las flores de Jamaica fueron pesadas e hidratadas con un tiempo de reposo de 12 h para ser trituradas y obtener un mosto con una relación 1:3 (flores de Jamaica:agua), se realizaron mediciones del contenido de sólidos solubles, pH y acidez del mosto; según su volumen se determinó la cantidad de levadura (*Saccharomyces cerevisiae*) (M7504 Sigma-Aldrich) y azúcar comercial a agregarse ajustando los parámetros a 23°Brix, un pH de 3,0 y una acidez de 8,15 g ác. Trat/L; la fermentación se llevó a cabo por 12 días bajo condiciones controladas, seguidamente se procedió al trasiego e inactivación de levaduras con metabisulfito de sodio (Sigma-Aldrich referencia- 71932) en 50ppm para proceder a la clarificación con bentonita de sodio (Sigma-Aldrich referencia - 285234) durante 14 días, para mejorar características de turbidez, tonalidad y color; finalmente el producto obtenido fue pasteurizado, envasado y almacenado.

Determinaciones Analíticas

Determinaciones físico-químicas

Según (Angioni, Pintore y Caboni 2012) se consideran los métodos estandarizados descritos por la Asociación Oficial de Química Analítica AOAC:

pH: metodología descrita por la Association of Official Analytical Chemists Official methods of analysis of the **AOAC 960.19**

La medición se realizó con un Potenciómetro calibrado (Metrohm 702 SM Titrino potentiometric titratorn), calibrado con solución buffer (pH 7,0 y 4,0), se procedió a

lavar el electrodo con agua destilada para posteriormente introducir el electrodo en la muestra a una temperatura de 20°C y registrar el valor de pH de la muestra.

Contenido de sólidos soluble: metodología descrita por la Association of Official Analytical Chemists Official methods of analysis of the **AOAC 932.12**

La medición del contenido de sólidos solubles se realizó utilizando un refractómetro portátil (Milwaukee MA871 de 0 – 45% Brix), a temperatura de 20°C y calibrando con agua destilada, se colocó una alícuota de la muestra para finalmente realizar la lectura y registrar el valor.

Acidez titulable: metodología descrita por la Association of Official Analytical Chemists Official methods of analysis of the **AOAC 962.12**

La valoración se lleva a cabo a través de la medición volumétrica por titulación con una solución alcalina de NaOH (Sigma-Aldrich referencia - S8045) y utilizando fenolftaleína (Sigma-Aldrich referencia- 258164) como indicador, la medición se realizó tomando 10mL de muestra en un matraz Erlenmeyer agregando 50mL de agua destilada con 3 gotas del indicador, para titular con NaOH 0.1N hasta que se observó un viraje de color, el resultado se expresa en g de ácido tartárico. L⁻¹.

Determinaciones Cualitativas

Azúcares reductores - Método de Fehling

El método utilizado para determinar azúcares reductores se basa en la estructura de algunos azúcares que tiene grupos aldehídos y cetonas libres que son capaces de oxidarse en soluciones alcalinas, el cual consistió en una reacción entre azúcares reductores con los iones cúpricos en solución de Fehling (Supelco Merck referencia- 36018), reduciéndolos a iones cuprosos bajo la acción del calor en un medio alcalino. Al reaccionar con los iones cúpricos, los azúcares se oxidan, mientras que el Cu²⁺ se reduce a Cu⁺ formando un precipitado rojo de óxido cuproso (Silva, V., et. al., 2018)

Identificación de fenoles y taninos - Método del Cloruro Férrico

Se empleó cloruro férrico como reactivo para la identificación de la presencia de compuestos fenólicos y taninos en la bebida fermentada de flores deshidratadas de Jamaica; el método se basa en el viraje de color, para lo cual se empleó una solución al 1 % de cloruro de hierro (III), además de que la muestra fue neutralizada con hidróxido sódico (NaOH), hasta que se formó el precipitado compuesto por óxido de hierro FeO(OH). La reacción es positiva al formarse un precipitado de color rojo, lo que indicó la presencia de compuestos fenólicos y taninos (Nazralla, J. et al., 2009)

Contenido de Fenoles Totales: método de Folin-Ciocalteu

El contenido de fenoles totales se determinó por Folin-Ciocalteu, método espectrofotométrico el cual es la medición de la absorbancia del complejo azul formada a una longitud de onda de 765nm; obteniendo así el contenido de fenoles totales expresado en mg ácido gálico.mL⁻¹. (Singleton, Orthofer y Lamuela, 1999), para lo cual se preparó una solución madre de ácido gálico de 100mg/L de (Sigma Aldrich, Alemania) con diluciones seriadas a concentraciones crecientes para obtener la curva estándar. Se procedió a tomar 200µL de la muestra o de estándar, después se adicionan 1,5mL de agua destilada, para posteriormente agregar 100µL del reactivo Folin-Ciocalteu (Merck, Alemania) y se dejó reposar por 5 minutos. A la solución resultante se le agregaron 200µL de carbonato de sodio al 20 %, dejando reposar por 1 hora a temperatura ambiente y en la oscuridad; finalmente se tomó la lectura de la absorbancia en un espectrofotómetro UV-vis (SpectroDirect Lovinbond, Alemania) a 765 nm (Zhen, J. *et al.*, 2016), el contenido fenólico total se calcula de acuerdo a la curva de calibración expresado el equivalentes de miligramos de ácido gálico (mg GAE).L⁻¹.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Determinaciones fisico-químicas

En la tabla 1. se indican los valores de las determinaciones físico – químicas (contenido de sólidos solubles, pH y acidez) tanto del mosto inicial como de la bebida fermentada Al finalizar el proceso fermentativo se observó un descenso del contenido de sólidos solubles (°Bx) de 23 a 12.6 a los 12 días de iniciado el proceso, la medición del pH fluctuó entre 2.8 y 3.0 lo cual puede estar relacionado con el proceso metabólico de las levaduras. La acidez de la bebida paso de 8.15 a 5.37 g ác. Trat/L variación que está relacionada con la formación de otros ácidos orgánicos que se producen por la fermentación alcohólica; sin embargo, se considera que los parámetros analizados se encuentran en concordancia con valores de referencia en vinos elaborados con los más altos estándares de calidad (Varela, A. *et. al.*, 2022).

Tabla 1. Determinaciones fisico-químicas de la bebida fermentada de flores de jamaica

Bebida de flores de jamaica deshidratadas	(°Bx)	pH	Ácido tituable. (g ác. Trat/L)
Mosto inicial	23±0.251	3.0±0.141	8.15±0.07
Bebida fermentada	12.6±0.305	2.8±0.424	5.37±0.02

Fuente: Laboratorio de control de alimentos - UTC

Determinaciones cualitativas

Se identificó la presencia de azúcares reductores a través del precipitado de color rojo – ladrillo obtenido por la reacción de la muestra analizada y el reactivo de Fehling, evidenciado por la presencia de glucosa y fructosa además de otros compuestos orgánicos que en su estructura contienen carbono, hidrógeno y oxígeno formando grupos de aldehídos y cetonas que provocan la reacción. También se identificó la presencia de fenoles y taninos a través de la reacción con cloruro férrico en la cual se evidencia por la formación del precipitado y cambio de color de la muestra analizada a azul-verdoso, resultados según la referencia presentada en la tabla 2.

Tabla 2. Determinaciones cualitativas de la bebida fermentada de flores de jamaica

Ensayo	Valoración	Coloración del precipitado
Método de Fehling	+ + (moderado)	Rojo – ladrillo
Método del Cloruro Férrico	+ + + (abundante)	Azul - verdoso

Fuente: Laboratorio de control de alimentos - UTC

Contenido de Fenoles Totales

A partir de los valores obtenidos de absorbancia para cada concentración de ácido gálico se define la curva estandarizada de calibración (figura 1).

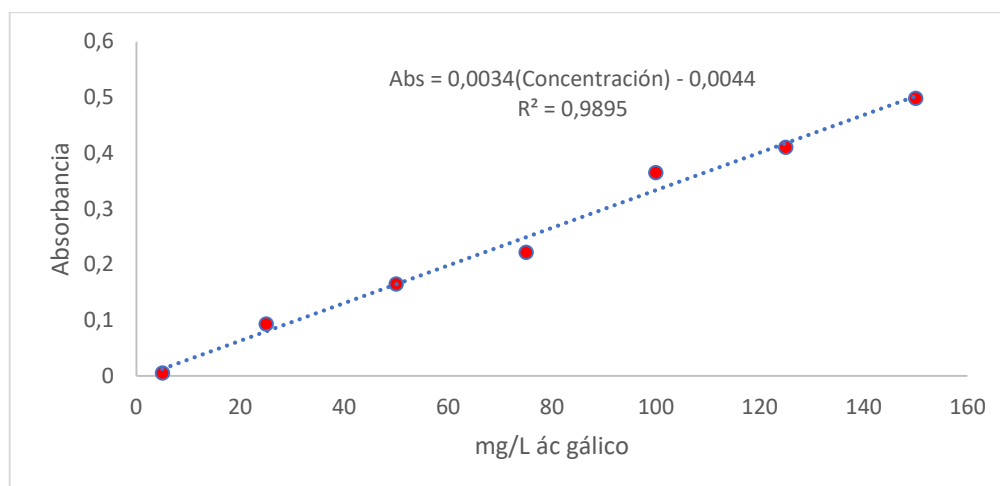


Figura 1. Curva estandarizada de ácido gálico

Con la ecuación $Abs = 0.0034(Concentración) - 0.0044$ obtenida con la curva estandarizada de ácido gálico ($R^2 = 0.9895$) se determinó la concentración de fenoles totales en la muestra de la bebida fermentada de flores deshidratadas de Jamaica con la lectura del valor de absorbancia se determinó un contenido de fenoles totales de 774,352 mg (GAE). L⁻¹ el cual se considera un valor aceptable en comparación con valores de vinos de referencia (1000 a 1800 mg/L según Silva, V. *et al.*, 2018) y (Mori-Mestanza, D. *et al.* 2022), además de identificar que podría existir una relación entre

el estado de madurez de la flor de jamaica y el contenido fenólico (Varela, A. *et al.*, 2022).

CONCLUSIONES

En este estudio se determinó el contenido de fenoles totales en una bebida fermentada de flores deshidratadas de Jamaica, para lo cual se obtuvo una bebida alcohólica tipo vino con parámetros físico-químicos de pH=2,8; con 12,6 de °Bx y 5,37 g ác. Trat/L de acidez además de la identificación (moderada) de azúcares reductores y la presencia (abundante) de fenoles y taninos por métodos cualitativos, identificación que permite evidenciar la presencia de ácidos orgánicos provenientes del metabolismo de las levaduras durante la fermentación y que otorgan características sensoriales únicas al producto. Finalmente se determinó el contenido de fenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu obteniéndose una concentración de 774,352mg(GAE). L⁻¹ valores que se encuentran entre los promedios encontrados en vinos de referencia; su alta concentración no solo podría estar relacionada con el proceso de fermentación, sino que también considerar los procesos preliminares como el índice de madurez de la flor durante la recolección y las condiciones de secado para conservar componentes de relevancia y que podrían aportar un beneficio para la salud debido a su efecto antioxidante, dichos factores se comprobarán en la segunda parte de esta investigación.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANGIONI, Alberto, PINTORE, Giorgio y CABONI, Pierluigi. Determination of wine aroma compounds by dehydration followed by GC/MS. *Journal of AOAC International*, Vol. 95, No 3, pp. 813-819. Disponible en: <https://doi.org/10.5740/jaoacint.11-313> Visitado: 25 de octubre de 2022.
- AOAC Método Oficial (2012). 932.12 – Sólidos Solubles. Gaithersburg: Association of Analytical Communities INTERNATIONAL.
- AOAC Método Oficial (2012). 962.12 – Acidez Titulable. Gaithersburg: Association of Analytical Communities INTERNATIONAL.
- AOAC Official Methods of Analysis (2012). 960.19: pH of wine. En: Quantitative Chemistry. American Society of Enologists-AOAC.
- NAZRALA, Jorge ...[et al.] (2009). Manual de técnicas analíticas para mostos y vinos. Mendoza - Argentina, Ediciones INTA. Disponible en: <http://hdl.handle.net/20.500.12123/6664> Visitado: 25 de octubre de 2022.

- MONASTERIOS YAPU, S. P.(2022). Evaluación del proceso de deshidratado de flor de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) mediante dos métodos de deshidratado- Huarina- La Paz. *CIBUM SCIENTIA*, Bolivia, Vol. 1, No. 2, pp. 20-38. Disponible en: <https://cibumscientia.umsa.bo/index.php/1/article/view/23/23> Visitado: 25 de octubre de 2022.
- MORI-MESTANZA, Diner ...[et al.]. (2022). Determination of the phenolic content, antioxidant activity and total anthocyanins of a beverage based on aloe vera and Jamaican sorrel (*Hibiscus sabdariffa*). Disponible en: <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-1287358/v1>. Visitado: 21 de diciembre de 2022.
- PATEL, Seema. (2014). *Hibiscus sabdariffa*: An ideal yet under-exploited candidate for nutraceutical applications. *Biomedicine & Preventive Nutrition*, Vol. 4, No. 1, pp. 23-27. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.bionut.2013.10.004> Visitado: 21 de diciembre de 2022.
- PÉREZ-LEÓN, Noraida de Jesús, PITA PÉREZ, Katherin y GONZÁLEZ CEPERO, María Caridad (2021). Validación de cultivares cubanos de Flor de Jamaica. Los Palacios - Cuba. *Cultivos Tropicales*, Vol. 42, No. 4. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0258-59362021000400012 Visitado: 22 de febrero de 2023.
- RAMÍREZ-CORTÉS, Benjamín ...[et al.] (2011). Cambios en tamaño y características químicas de cálices de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) durante su maduración. *Revista Chapingo. Serie horticultura*, Vol. 17, No. spe2, pp. 19-31. Disponible en: https://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S1027-152X2011000500003&script=sci_abstract&tlng=pt Visitado: 25 de octubre de 2022.
- SILVA, Vanessa ...[et al.] (2018). Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activity of phenolic compounds extracted from wine industry by-products. *Food control*, No. 92, pp. 516-522. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2018.05.031> Visitado: 25 de noviembre de 2022.
- SINGLETON, Vernon, ORTHOFER, Rudolf y LAMUELA RAVENTOS, Rosa. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *Methods in enzymology*. Academic press, 1999. p. 152-178. Disponible en: [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(99\)99017-1](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99017-1) Visitado: 25 de septiembre de 2022.

VARELA, Ayelén ...[et al.] (2022). Caracterización química de vinos Malbec y Cabernet franc provenientes de dos localidades de La Pampa (Argentina), en relación al grado de madurez de las uvas. Facultad de Ciencias Aplicadas a la Industria, Universidad Nacional de Cuyo. Disponible en: <https://revistas.uncu.edu.ar/ojs3/index.php/revicap/article/view/5995>. Visitado: 25 de mayo de 2022.

ZHEN, Jing ...[et al.] (2016). Phytochemistry, antioxidant capacity, total phenolic content and anti-inflammatory activity of Hibiscus sabdariffa leaves. *Food chemistry*, No. 190, pp. 673-680. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.06.006> Visitado: 25 de abril de 2022.