

Análisis comparativo de compuestos fenólicos totales y actividad antioxidante de cuatro marcas de tisanas de *Hibiscus sabdariffa* (Malvaceae) comercializadas en Costa Rica

Comparison of total phenolic compounds and antioxidant activity of four brands of infusions of Hibiscus sabdariffa (Malvaceae) marketed in Costa Rica.

Melissa Agüero

meldarit5555@gmail.com

Cindy Segura

cindys29g@gmail.com

Jonathan Parra

jonathan.parra@ucr.ac.cr

Laboratorio de Farmacognosia,

Facultad de Farmacia, Universidad de Costa Rica.

Fecha de recepción del artículo: 21 de junio de 2013.

Fecha de aprobación del artículo: 6 de setiembre de 2013.

Resumen

Las tisanas de rosa de Jamaica (*Hibiscus sabdariffa*) son consumidas en Costa Rica por su conocido efecto cardioprotector asociado a la presencia de compuestos fenólicos, principalmente antocianinas. Este trabajo estableció diferencias en el perfil de compuestos fenólicos y su actividad anti-radical entre diferentes comercializadores de tisanas de *Hibiscus sabdariffa* en Costa Rica. Se identificaron cualitativamente taninos, flavonoides y antocianinas. Se cuantificó la cantidad total de compuestos fenólicos por el método de Folin-Ciocalteu y se cuantificó la actividad antioxidante con el método de DPPH. Todas las marcas comerciales demostraron presencia de compuestos fenólicos, incluyendo antocianinas; sin embargo, se encontraron diferencias significativas en el contenido de compuestos fenólicos y actividad anti-radical, entre los diferentes productores de tisanas. Por ello, se concluye que en el mercado costarricense, el perfil en compuestos fenólicos de las tisanas en estudio varía de acuerdo con el productor.

Palabras claves: *Hibiscus sabdariffa*; rosa de Jamaica; tisanas, antocianinas; compuestos fenólicos; antioxidante.

Abstract

Consumption of Roselle (*Hibiscus sabdariffa*) infusion is widespread in Costa Rica due to its known cardioprotective effects associated with the presence of phenolic compounds, mainly consisting of anthocyanins. This paper established the differences in the phenolic compounds profile and their corresponding antiradical activity amongst different distributors of *Hibiscus sabdariffa* infusion in Costa Rica. Tannins, flavonoids and anthocyanins were identified qualitatively. The total quantity of phenolic compounds was

calculated using the Folin-Ciocalteu methodology and the antioxidant activity was quantified using the DPPH method. Results show all samples contained phenolic compounds, including anthocyanins. However, there are significant differences in the content of phenolic compounds and their corresponding antiradical activity amongst the different manufacturers of infusions. Therefore, we can conclude that the phenolic compound profile of infusions in this study varies according to each manufacturer.

Keywords: *Hibiscus sabdariffa*; Roselle, tisanes; anthocyanins; phenolic compounds; antioxidant.

La *Hibiscus sabdariffa* posee acciones farmacológicas importantes, que han sido identificadas en flores, pétalos y semillas, principalmente anti-arterioscleróticas y cardioprotectoras (Chen, Hsu y Wang, 2003). Es conocida su capacidad de disminuir el perfil de lípidos séricos, a lo se le atribuye parte de su actividad anti-arteriosclerótica (Tzu-Li *et al.*, 2007; Carvajal-Zarrabal *et al.*, 2005). Además, se conoce del efecto beneficioso del consumo de tisanas *Hibiscus sabdariffa* en enfermedades cardiovasculares crónicas como la hipertensión (Mckay, Chen, Saltzman y Blumberg, , 2010).

Diferentes estudios demuestran la presencia de polifenoles en los extractos de los cálices de *Hibiscus sabdariffa* como flavonoides y antocianinas (Marquez, De la Rosa, Agosto y Medina, 2007). Este grupo de compuestos reportan múltiples efectos biológicos, tales como: actividad antioxidante, antiinflamatoria, inhibición de la agregación plaquetaria y de la actividad antimicrobiana (Gradinaru, Biliaderis, Kallithraka, Kefalas y Garcia-Viguera, 2003).

Las tisanas son, probablemente, la forma de administración más simple y popular para preparaciones herbales (López, 2002). Por todo lo anterior, las tisanas de *Hibiscus sabdariffa* son un producto de importancia económica y medicinal; sin embargo, este producto es comercializado en Costa Rica por varias empresas, las cuales promueven el consumo específico de su producto, sin hacer referencia a su calidad como producto medicinal.

Este trabajo estableció diferencias en el perfil de compuestos fenólicos y su actividad anti-radical entre diferentes comercializadores de tisanas de rosa de Jamaica (*Hibiscus sabdariffa*) en Costa Rica.

Métodos

Material vegetal: Se analizaron cuatro marcas comerciales de tisanas de *Hibiscus sabdariffa* adquiridas en comercios dentro del área metropolitana de San José, Costa Rica; estas representan la totalidad de productos de tisanas de rosa de Jamaica registrados por el Ministerio de Salud y comercializadas en supermercados locales al momento de la recolección. Todos los productos mostraban registro sanitario vigente. El material vegetal consistió en flores secas trituradas.

Extracción: Se extrajeron 30 g de material vegetal con 160 mL de agua a 90°C durante 10 minutos con agitación constante. Los extractos se filtraron, se secaron por liofilización y se redisolieron a una disolución madre estandarizada de 1 mg/mL con base en su peso seco.

El método de extracción en agua caliente repite, de manera controlada, el método de preparación tradicional costarricense de las tisanas de *Hibiscus sabdariffa*; por ello, la caracterización del perfil en compuestos fenólicos de estos extractos representa una forma rápida y económica de garantizar la calidad de las tisanas en función del propósito medicinal de estas.

Detección de compuestos fenólicos: Se realizaron pruebas de precipitación y coloración. Para detección de flavonoides se realizaron los ensayos de Shinoda (limadura de Mg y HCl concentrado), cloruro férrico (FeCl_3 en H_2O) y Wilson (H_3BO_3 y ácido cítrico en acetona) (Lock, 1994; Herrera *et al.*, 2011; Wilson, 1939). Para detección de taninos se realizaron los ensayos de molibdato de sodio (Na_2MoO_4 en H_2O), ferrocianuro-amoniaco ($\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]3\text{H}_2\text{O}$ en agua alcalinizada con NH_3) y precipitación de proteínas (Albúmina en H_2O) (Naczka & Shahidi, 2003; Price & Butler, 1977).

Detección de antocianinas: La presencia de antocianinas se determinó por el método de pH diferencial, según Christian y Jackson (2009). Cada muestra fue diluida a una concentración de 0.01 mg/mL, con valores de pH de 1 y 4.5. El espectro de absorción en UV-visible se realizó con un espectrofotómetro Shimadzu UV-160A, a temperatura ambiente, con una velocidad de barrido de 370 nm/minuto y con una ventana de barrido de 200 a 800 nm. (Christian & Jackson, 2009).

Cuantificación de compuestos fenólicos totales: Se utilizó el método de Folin-Ciocalteu, el cual es recomendado como el reactivo más conveniente para la cuantificación espectrofotométrica de compuestos fenólicos totales (Escarpa & Gonzalez, 2001).

Se realizó una curva patrón de ácido gálico a una lectura de 750 nm; en un rango de concentración de 1-150 $\mu\text{g/mL}$. Las muestras se midieron a una concentración de 1000 $\mu\text{g/mL}$ con base al residuo seco. (Restrepo-Sánchez, D., Narváez-Cuenca, Restrepo-Sánchez, L. 2009; Rebolo, 2007). Las lecturas se realizaron en placas de 96 pozos con un lector Biotek Synergy HT. El ensayo se hizo por triplicado.

Actividad anti-radical: Se determinó mediante el método de 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH), según el método de Mohd-Esary y colaboradores (2010). Las muestras se disolvieron en metanol a concentraciones de 500 $\mu\text{g/mL}$ con base en el residuo seco. El 100% de inhibición del radical responde a DPPH 0.04 g/L. Se midió la absorbancia a 517 nm utilizando un espectrofotómetro Shimadzu UV-160A (Mohd-Esary, Hern, Ismail & Yee, 2010). El ensayo se hizo por triplicado. El porcentaje actividad captadora de radicales se determinó de la siguiente manera (F1):

$$\% \text{ Actividad captadora de radicales libres} = [1 - (\text{Absorbancia muestra} / \text{Absorbancia } 100\%)] \times 100 \text{ (F1)}$$

Análisis estadístico: Los datos fueron analizados por análisis de varianza (ANDEVA) con el software IBM SPSS Statistics (IBM Company, Estados Unidos de América).

Resultados

El tamizaje fitoquímico para detección de compuestos fenólicos generó resultados positivos en todas las pruebas: Shinoda, cloruro férrico, Wilson, molibdato de sodio, ferrocianuro-amoniaco y precipitación de proteínas, para todas las muestras de material vegetal.

Por el método de pH diferencial, se demostró la presencia de antocianinas en todas las muestras, pues la absorbancia máxima a 520 nm que se mostró a pH 1, no se observó al alcalinizarse a pH 4,5.

El contenido total de compuestos fenólicos expresados en equivalentes de ácido gálico se muestra en la figura 1. Se demostró diferencia significativa ($p < 0.001$) en el contenido de compuestos fenólicos totales.

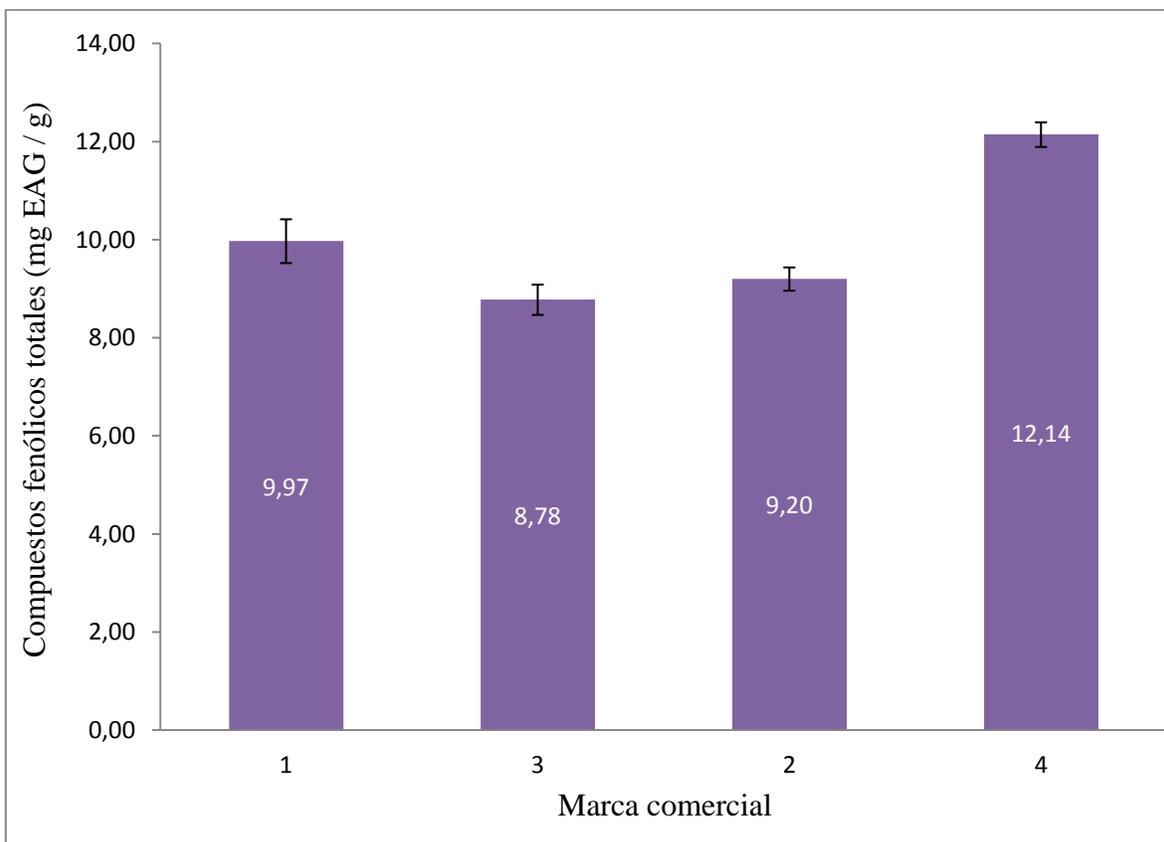


Figura 1. Concentración de compuestos fenólicos totales expresados como miligramos equivalentes de ácido gálico por gramo de material vegetal.

La actividad antioxidante expresada como porcentaje de inhibición del radical DPPH se muestra en la figura 2. También se demostró diferencia significativa ($p = 0,043$) en la capacidad anti-radical de las diferentes marcas comerciales. De forma consistente, la marca comercial 4 presentó mayor porcentaje de actividad captadora de radicales libres.

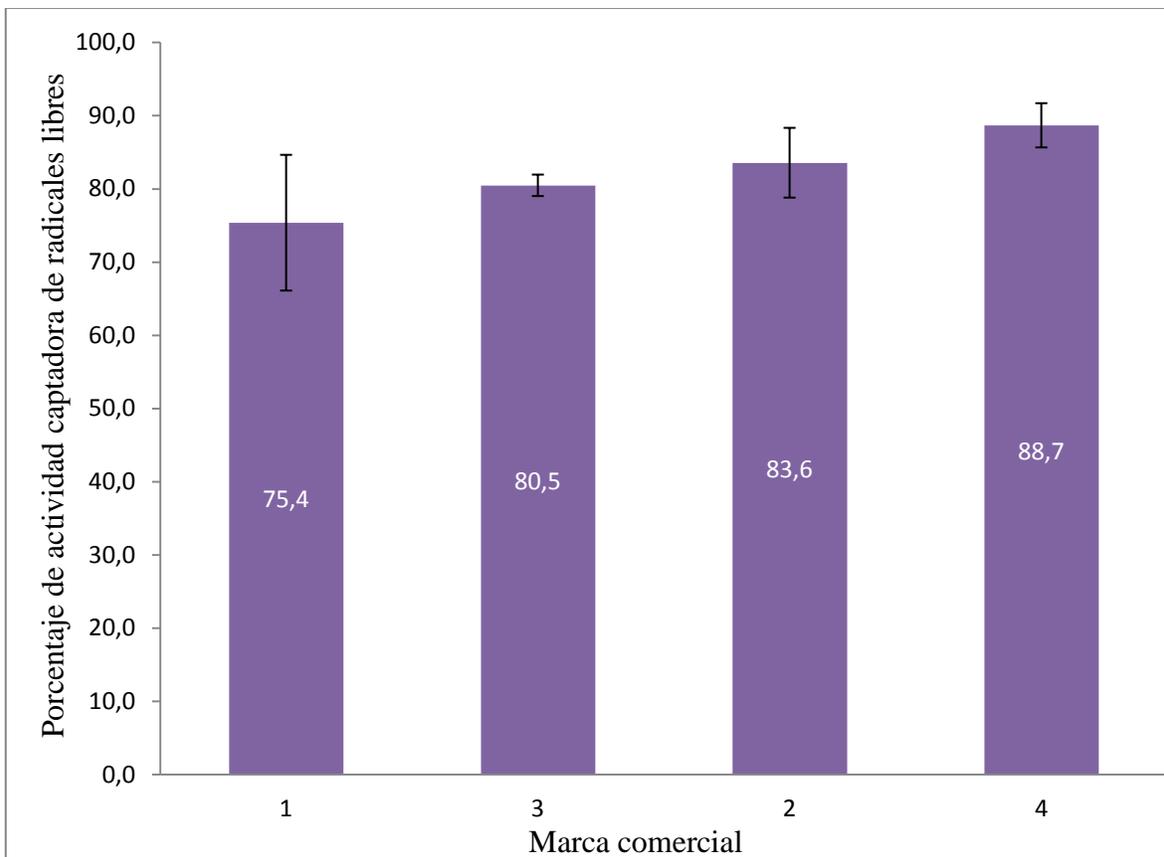


Figura 2. Porcentaje de actividad captadora de radicales libres expresada como porcentaje de inhibición del radical DPPH de extractos de las marcas comerciales a una concentración de 500 µg/mL.

Discusión

Las pruebas fitoquímicas detectaron taninos y flavonoides, evidenciando la presencia de compuestos fenólicos de acuerdo con lo reportado para esta especie vegetal (Marquez *et al.*, 2007). La reacción de Wilson es positiva para flavonoides hidroxilados en la posición 5, tales como la hibiscetina (figura 3) presentes en el *Hibiscus sabdariffa* (Wilson, 1939).

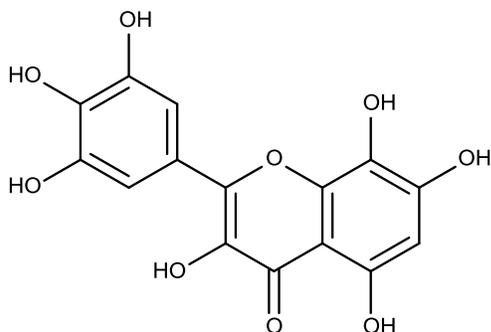


Figura 3. Estructura química de la hibiscetina.

El ensayo de antocianinas se enfocó en detectar la presencia de antocianinas monoméricas, según su cambio de estructura al variar el pH (Lee, Durst, & Wrolstad, 2005). Al alcalinizar la disolución a pH 4,5 se torna incolora y desaparece el máximo de absorbancia a la longitud de onda de trabajo, debido a que la antocianina se encuentra en forma de hemiacetal (figura 4); en estas condiciones el compuesto presenta una absorción no detectable por espectrofotómetro. Esta prueba sencilla permite identificar de manera simple y rápida los compuestos fenólicos tipo antocianinas.

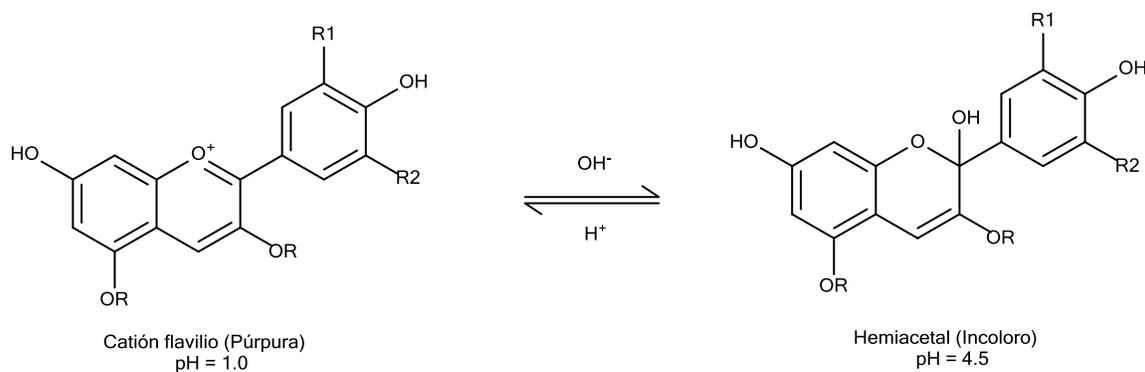


Figura 4. Cambio estructural dependiente del pH en las antocianinas (R= H o glicosilaciones) (Wrolstad, Durst, & Lee, 2005).

La capacidad anti-radical cuantificada por el método DPPH demostró una potencial inhibitorio de radicales similar al encontrado en investigaciones anteriores (Mohd-Esa *et al.*, 2010). Esta actividad antioxidante de *Hibiscus sabdariffa* es de importancia clínica, debido a que le confiere propiedades cardioprotectoras y anti-ateroscleróticas (Chen *et al.*, 2003). Además, estudios en animales han demostrado que, gracias a su potencial anti-radical, los extractos de *Hibiscus sabdariffa* son capaces de inhibir la oxidación de lipoproteínas de baja densidad, previniendo las complicaciones patológicas de la hiperlipidemia (Mourtzinou *et al.*, 2008; Chen *et al.*, 2003).

Los ensayos de cuantificación, tanto de actividad anti-radical como compuestos fenólicos totales, demostraron diferencias significativas en la cantidad y actividad antioxidante de los compuestos fenólicos presentes en los extractos acuosos de las diferentes tisanas de *Hibiscus sabdariffa*. Se ha demostrado que el perfil antioxidante de

especies del género *Hibiscus* se ve alterado por las condiciones de cultivo, así como por las variaciones fenológicas entre las mismas especies (Wong, Lim, & Chan, 2009), por ello es comprensible encontrar variaciones importante de acuerdo con el productor; sin embargo, a la fecha estas diferencias no habían sido reportadas para el mercado costarricense. Como el método de preparación ha demostrado tener un papel importante en la actividad antioxidante de las bebidas que contienen *Hibiscus* (Prenesti, Berto, Daniele, & Toso, 2007), el contenido de compuestos fenólicos adquiere una variabilidad relevante, por lo que el consumidor que busca algún efecto beneficioso para su salud a través del consumo de tisanas de rosa de Jamaica, obtendrá resultados diferentes de acuerdo con la marca del producto que consuma. Debido a los resultados obtenidos, las empresas costarricenses deben establecer metodologías para garantizar que la calidad del producto se asocie al contenido de compuestos fenólicos.

Conclusiones

Todas las marcas comerciales evidenciaron presencia de compuestos fenólicos tipo flavonoide, incluyendo antocianinas, así como de un potencial anti-radical importante. Sin embargo, se demostró que la presencia de estos compuestos fenólicos varió de acuerdo con el productor de tisanas, con diferencias significativas tanto en el contenido de compuestos fenólicos, como en la actividad anti-radical de estos. Por lo tanto, se demostró que las tisanas de *Hibiscus sabdariffa* comercializadas en Costa Rica poseen variaciones importantes en cuanto a la cantidad y actividad de los compuestos fenólicos.

Referencias

- Carvajal-Zarrabal, O., Waliszewski, S. M., Barradas-Dermitz, D. M., Orta-Flores, Z., Hayward-Jones, P. M., Nolasco-Hipólito, C., Angulo-Guerrero, O., et al. (2005). The consumption of *Hibiscus sabdariffa* dried calyx ethanolic extract reduced lipid profile in rats. *Plant Foods for Human Nutrition*, 60(4), 153-9.
- Chen, C., Hsu, J., & Wang, S. (2003). *Hibiscus sabdariffa* extract inhibits the development of atherosclerosis in cholesterol-fed rabbits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(18), 5472-5477.
- Christian, K. R., & Jackson, J. C. (2009). Changes in total phenolic and monomeric anthocyanin composition and antioxidant activity of three varieties of sorrel (*Hibiscus sabdariffa*) during maturity. *Journal of Food Composition and Analysis*, 22(7-8), 663-667.
- Escarpa, A., Gonzalez M. (2001). An Overview of Analytical Chemistry of Phenolic compounds in food. *Critical Reviews Analytical Chemistry*, 31(2), 57-139.
- Gradinaru, G., Biliaderis, C. G., Kallithraka, S., Kefalas, P., & Garcia-Viguera, C. (2003). Thermal stability of *Hibiscus sabdariffa* L. anthocyanins in solution and in solid state: effects of copigmentation and glass transition. *Food Chemistry*, 83(3), 423-436.

- Herrera, C., García-Barrantes, P., Binns, F., Vargas, M., Poveda, L. & Badilla, S. (2011). Hypoglycemic and antihyperglycemic effect of *Witheringia solanaceae* in normal and alloxan-induced hyperglycemic rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 133(2), 907-910.
- Lee, J., Durst, R. W., & Wrolstad, R. E. (2005). Determination of total monomeric anthocyanin pigment content of fruit juices, beverages, natural colorants, and wines by the pH differential method: collaborative study. *Journal of AOAC International*, 88(5), 1269-78.
- Lock, O. (1994) Investigación Fitoquímica: Métodos en el estudio de productos naturales. (2ª ed). Lima: Fondo Editorial de la Pontificia Universidad Católica del Perú.
- López, M. (2002). Formas de administración más habituales de plantas medicinales. *Offarm*, 21(2), 122-125.
- Marquez, R., De la Rosa, C., Agosto, C., & Medina, M. (2007). Actividad diurética del extracto total acuoso de los cálices de *Hibiscus sabdariffa* L. administrado en ratas albinas variedad Wistar. *Scientia et Technica*, 8(33), 377-381.
- Mckay, D. L., Chen, O., Saltzman, E., & Blumberg, J. B. (2010). *Hibiscus Sabdariffa* L. Tea (Tisane) Lowers Blood Pressure in Prehypertensive and Mildly Hypertensive Adults. *The Journal of Nutrition*, 140, 298-303.
- Mohd-Esa, N., Hern, F. S., Ismail, A., & Yee, C. L. (2010). Antioxidant activity in different parts of roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) extracts and potential exploitation of the seeds. *Food Chemistry*, 122(4), 1055-1060.
- Mourtzinis, I., Makris, D., Yannakopoulou, K., Kalogeropoulos, N., Michali, I., & Karathanos, V. (2008). Thermal Stability of Anthocyanin Extract of *Hibiscus sabdariffa* L. in the Presence of β -Cyclodextrin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(21), 10303-10310.
- Naczka, M., Shahidi, F. (2003). Methods of analysis and quantification of phenolics compounds. En: Phenolics in Food and Nutraceuticals. Boca Ratón: CRC Press.
- Prenci, E., Berto, S., Daniele, P. G., & Toso, S. (2007). Antioxidant power quantification of decoction and cold infusions of *Hibiscus sabdariffa* flowers. *Food Chemistry*, 100, 433-438.
- Price, M., Butler, L. (1977). Rapid visual and spectrophotometric determination of tannin content of sorghum grain. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 25(6), 1268-1273.
- Rebolo, S.(2007) Estudio de la composición polifenólica de vinos tintos gallegos con D.O.: Ribeiro, Valdeorras y Ribeira Sacra. Universidad de Santiago Compostela. España.
- Restrepo-Sánchez, D., Narváez-Cuenca, C., Restrepo-Sánchez, L. (2009). Extracción de compuestos con actividad antioxidante de frutos de guayaba cultivada en Vélez-Santander, Colombia. *Química Nova*, 32(6), 1517-1522.
- Tzu-Li, L. Hui-Hsuan, L. Chang-Che, C. Ming-Cheng, L. Ming-Chih, C. & Chau-Jong, W. (2007) *Hibiscus sabdariffa* extract reduces serum cholesterol in men and women. *Nutrition Research*, 27, 140-145.

- Wilson, C. (1939). A study of the boric acid color reaction of flavone derivatives. *Journal of the American Chemical Society*, 61(9), 2303-2306.
- Wong, S. K., Lim, Y. Y., & Chan, E. W. C. (2009). Antioxidant properties of Hibiscus: species variation altitudinal change, coastal influence and floral colour change. *Journal of Tropical Forest Science*, 21(4), 307-315.
- Wrolstad, R. E., Durst, R. W., & Lee, J. (2005). Tracking color and pigment changes in anthocyanin products. *Trends in Food Science & Technology*, 16(9), 423-428.



Análisis comparativo de compuestos fenólicos totales y actividad antioxidante de cuatro marcas de tisanas de Hibiscus sabdariffa (Malvaceae) comercializadas en Costa Rica (Melissa Agüero y otros) por [Revista Uniciencia](http://www.revistas.una.ac.cr/uniciencia) se encuentra bajo una [Licencia Creative Commons Atribución-NoComercial-SinDerivadas 3.0 Unported](http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/3.0/).