

Rendimiento, secado, almacenamiento y calidad de cálices de *Hibiscus sabdariffa* L. de Misiones (República Argentina)

Mercedes L. Stein^{1,2*}, Ana E. Hanske^{1,2}

1 Laboratorio de Especialidades Medicinales de Misiones (LEMis).

2 Departamento de Farmacia, Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales, Universidad Nacional de Misiones (UNaM).

* Autor a quien dirigir la correspondencia: mbellendier@gmail.com

Resumen

Hibiscus sabdariffa L. (Malvaceae) se cultiva en la región nordeste de la Argentina. Sus cálices rojos y carnosos son utilizados con fines alimenticios en estado fresco o seco. Su uso medicinal no está muy difundido en la región. El objetivo del trabajo fue analizar el proceso de obtención y almacenamiento de cálices secos de *H. sabdariffa* cultivados en la provincia de Misiones y la calidad de los mismos, así como evaluar muestras comerciales locales, y compararlos con los requisitos de calidad farmacéuticos. Se analizaron los ácidos orgánicos, intensidad de color y pérdida por secado según la monografía de Roselle (*Hibiscus sabdariffae flos*) de la Farmacopea Europea y el contenido de antocianinas por el método del pH diferencial sobre muestras recién cosechadas sometidas a diferentes temperaturas de secado y tiempos de almacenamiento, así como sobre muestras comerciales. El rendimiento de obtención de cálices secos fue 4,5 %. Cumplieron el ensayo de valoración de ácidos e intensidad de color. El contenido de antocianinas se vio afectado significativamente por la temperatura de secado pero los valores iniciales son altos y superan los 450 mg/100 g (droga seca). Luego de 12 meses de almacenamiento se observan cambios de color de rojo intenso a un color pardo amarillado, reducción del aroma y pérdida de la consistencia crujiente; acompañados por incrementos en el porcentaje de pérdida por secado (superiores al 11,0 %), incremento de compuestos ácidos, reducción de intensidad de absorción de luz a 520 nm, y una drástica reducción del tenor de antocianinas. Iguales resultados pudieron constatarse en las muestras comerciales. El envasado y almacenamiento convencional de cálices de *Hibiscus sabdariffa* L. no asegurarían el mantenimiento de su calidad farmacéutica a pocos meses de su procesamiento, por lo que las recomendaciones generales de uso de drogas vegetales secas por 24 meses no serían aplicables.

Yield, drying, storage, and quality of calyces of *Hibiscus sabdariffa* L. from Misiones (Argentina)

Summary

Hibiscus sabdariffa L. (Malvaceae) is cultivated in the northeast region of Argentina. Its red and fleshy calyces are used for food purposes; in a fresh or dry state. Its medicinal use is not very widespread in the region. The objective of the work is to analyze the process of obtaining and storing dry calyces of *H. sabdariffa* grown in the province of Misiones and their quality, as well as evaluating local commercial samples by comparing them with the pharmaceutical quality requirements. Organic acids, color intensity, and loss on drying were analyzed according to the Roselle (*Hibiscus sabdariffae flos*) monograph of the European Pharmacopoeia, and the anthocyanin content by the differential pH method on freshly harvested samples, subjected to different drying temperatures and storage times, as well as on commercial models. The yield of obtaining dry calyces was 4,5 %. They fulfilled the test for acid titration and color intensity. The anthocyanin content was significantly affected by the drying temperature, although the initial values were high and exceeded 450 mg/100 g (dry drug). After 12 months of storage, the color changed from deep red to a brownish-brown color, the aroma decreases, and the crunchy consistency disappears. Moreover, there is an increase of acid compounds and loss on drying (over 11,0 %), with a reduction in the anthocyanin content and light absorption intensity at 520 nm. The commercial samples verify the same results. The conventional packaging and storage of *Hibiscus sabdariffa* L. calyces would not ensure their pharmaceutical quality within a few months of their processing, so the general recommendations for using dried herbal drugs for 24 months would not be applicable.

Palabras clave: *Hibiscus sabdariffa* L. – almacenamiento – secado – rendimiento – antocianinas – ácidos titulables.

Key words: *Hibiscus sabdariffa* L. – storage – drying – yield – anthocyanin – total acidity.

Introducción

Hibiscus sabdariffa L. es una planta anual herbácea de la familia Malvaceae rica en compuestos fenólicos y con múltiples efectos beneficiosos para la salud. Se la conoce también como “rosa de Jamaica”, o “rosa de Abisinia”. Sus cálices y epicálices rojos y carnosos colectados en época de fructificación constituyen su estructura vegetal más valorada porque en ellos se acumulan numerosos compuestos bioactivos. Contienen un alto porcentaje de polisacáridos y ácidos orgánicos, son ricos en compuestos fenólicos (principalmente antocianinas y flavonoides), vitaminas, minerales y aminoácidos; son fuente de calcio, magnesio y oligoelementos. Su intenso color rojo característico se debe principalmente al alto contenido de antocianinas producidas en la etapa de maduración (Da-Costa-Rocha y col., 2014).

Las antocianinas son metabolitos secundarios de las plantas que se encuentran principalmente en las flores, con una distribución cuantitativa y cualitativa específica. Debido a esta especificidad, a menudo se usan como marcadores quimiotaxonómicos (Beye y col., 2017). Delfinidina 3-O-sambubiósido y cianidina 3-O-sambubiósido son las principales antocianinas encontradas en “rosella” (Beye y col., 2017; Grajeda-Iglesias y col., 2016; Wong y col., 2002). El principal uso comercial de los cálices de *H. sabdariffa* es alimenticio por su contenido de antioxidantes, pigmentos y ácidos orgánicos (Patel, 2014).

Existe evidencia científica sobre la importancia medicinal de esta droga por sus efectos farmacológicos, sustentadas por estudios preclínicos y clínicos realizados en las últimas décadas. Shalgum y col. (2019) avalan su potencialidad neuroprotectora y para reducir riesgos neurodegenerativos por sus efectos antioxidantes y antiapoptóticos. Ojulari y col. (2019) destacan su potencialidad como droga para el tratamiento de la obesidad, por la evidente reducción en el peso corporal y por la inhibición de la acumulación de lípidos y supresión de la adipogénesis. Sus acciones vasodilatadoras, antitrombóticas, antiinflamatorias, antiapoptóticas, antilipídémicas y antiaterogénicas se explicarían por su contenido de polifenoles (Da-Costa-Rocha y col., 2014; Guardiola y Mach, 2014).

Los cálices y epicálices de *Hibiscus sabdariffa* L. secos, enteros o molidos, constituyen la droga vegetal identificada como “Roselle” en la octava edición de la Farmacopea Europea (European Pharmacopoeia, 2013). La monografía correspondiente establece los ensayos y requisitos de calidad a los que debe responder.

La industria alimentaria, por su parte, también establece requisitos de calidad, especialmente para el comercio exterior. La calidad de *H. sabdariffa* depende en gran medida del origen geográfico. Los cálices más deseables provienen de Tailandia y Sudán, sin embargo, el proveedor dominante del mercado mundial es China (Da-Costa-Rocha y col., 2014; Özdogan y col., 2011). El genotipo, el ambiente y su interacción tienen efectos significativos

en la variación de su calidad (Sánchez-Feria y col., 2017). En América es un cultivo no tradicional que se desarrolla en clima cálido seco (Cid-Ortega y Guerrero-Beltrán, 2012).

El secado es una de las principales operaciones poscosecha que permite la preservación de órganos vegetales para ampliar su período de uso, manteniendo las propiedades nutricionales o medicinales. Tradicionalmente los cálices de “rosella” se secan de manera natural por radiación solar directa extendiéndolos sobre superficies de áreas abiertas; este proceso requiere entre tres a cuatro días para el secado, dependiendo de la temperatura ambiente y las condiciones de humedad relativa. La temperatura es un factor que afecta drásticamente el tiempo de secado. Se reporta el secado de cálices por 27 horas en túneles construidos con coberturas de plástico de polietileno reducidos a 4,5 horas con recirculación de aire a 70 °C (Saeed, 2010). Tham y col. (2018) estudiaron la cinética de secado de cálices de “rosella” utilizando diferentes estrategias, y analizaron su efecto en el mantenimiento del color y de los compuestos bioactivos. Una vez secos, los cálices pueden rehidratarse absorbiendo la humedad del entorno; esto se traduce en una pérdida del carácter crujiente y en la posibilidad de enmohecimiento. Una textura crujiente puede ser un indicador fiable de un buen almacenamiento y de la retención de compuestos bioactivos (Maldonado-Astudillo y col., 2019).

En la provincia de Misiones, ubicada cerca del trópico de Capricornio, las condiciones climáticas son favorables para el cultivo de *H. sabdariffa*, donde se la conoce con el nombre de “rosella”.

El cultivo se realiza en primavera y la cosecha se inicia en verano, extendiéndose hasta el comienzo de las primeras heladas del otoño. Se utilizan los cálices para consumo familiar y algunos productores los comercializan en la provincia, en baja escala, a través de cooperativas. La madurez de los frutos se reconoce por el color rojizo (I. Rauh, comunicación personal, 13 de septiembre de 2020).

La transición de floración a fructificación de *H. sabdariffa* es gradual, y es importante conocer en qué tiempo se alcanza la madurez para la cosecha. El tiempo de madurez óptima depende de la variedad y de la finalidad del cultivo. Se reportan períodos de colecta de 7 semanas luego de la floración para evitar la pérdida de compuestos fenólicos antioxidantes (Christian y Jackson, 2010), y colectas realizadas de 20 a 24 días luego de la floración para alcanzar un tamaño óptimo de fruto y evitar la pérdida de antocianinas (Ramírez-Cortés y col., 2011), para citar algunos ejemplos.

En Misiones, los frutos maduros se comercializan frescos en las ferias de agricultura familiar que funcionan en todo el territorio provincial. El principal uso de los cálices es la preparación de jugos y mermeladas.

Pequeños productores los comercializan secos, y en

este estado se los emplean principalmente para la preparación de infusiones y decocciones. Algunas cooperativas industrializan y comercializan cálices secos y molidos, envasados en saquitos para su empleo como infusión o "té". Se podría afirmar que hay una tendencia generalizada por parte de los productores de asignar a los cálices secos (enteros o molidos) un período de uso de 24 meses desde la fecha de envasado.

Estudios recientes de muestras colectadas de la zona norte y sur de la provincia de Misiones (municipios de Posadas y Eldorado), correspondientes a tres períodos de fructificación, demostraron la conformidad de los cálices con los requisitos botánicos y fisicoquímicos de la Farmacopea Europea 8^o. Edición (Stein y col., 2017). Estos estudios fueron realizados antes de cumplidos los 6 meses desde la cosecha y secado e indicarían la potencialidad de uso con fines medicinales.

El objetivo del presente trabajo fue determinar parámetros de calidad fisicoquímicos de cálices de "rosella" cultivados y comercializados en la provincia de Misiones con diferentes tiempos de almacenamiento, empleando ensayos de la Farmacopea Europea con el fin de evaluar el mantenimiento de los requisitos de calidad y analizar algunas condiciones de proceso como el rendimiento y la temperatura de secado y sus efectos sobre la calidad final.

Se determinó el contenido de antocianinas de todas las muestras estudiadas con fines informativos y comparativos.

Materiales

Se estudiaron muestras comerciales que declaran contener *Hibiscus sabdariffa* L. (HS) adquiridas en la ciudad de Posadas (Misiones) que comprenden:

Muestra 1 (M1)-Cálices secos molidos, envasados en saquitos de 2 gramos de contenido neto, contenidos en estuches de 25 unidades, de una misma marca comercial, adquiridos en un hipermercado, y que corresponden a 2 lotes (Lotes identificados como A y B). Uno de los lotes contiene saquitos ensobrados (Lote A).

Muestra 2 (M2)-Cálices secos enteros envasados en bolsas de polietileno translúcido adquiridos en una exposición forestal. El elaborador declara un contenido neto de 40 gramos.

Por otra parte, se evaluaron cálices obtenidos de una plantación perteneciente a la Sra. Irmgard H. M. Rauh, de la localidad de 9 de Julio de la provincia de Misiones (geolocalizado a 26°27'04S 54°28'38 W), cultivados a partir de semillas seleccionadas de cada cosecha propia anual. Las muestras corresponden a colectas de 4 años de producción. Una colecta de este material vegetal fue objeto de identificación botánica y fisicoquímica en estudios simultáneos y demostraron conformidad a los requisitos de la Farmacopea Europea 8^o Edición (Stein y col., 2019). Para su análisis, estas muestras fueron procesadas desde el estado fresco.

Métodos

Análisis de muestras comerciales

Las muestras comerciales se evaluaron en cuanto a su presentación, aspecto, estado del material (molido/trozado) y rotulación (datos de identificación, período de validez, tiempo transcurrido desde el envasado). Se determinó el contenido neto y se caracterizó la granulometría de las muestras molidas siguiendo los lineamientos de la Farmacopea Argentina Séptima Edición (Farmacopea Argentina, 2013), utilizando tamices de acero inoxidable provistos de malla 1,7 y 355 (ISO 3310-1990). Sobre estas muestras se efectuaron los ensayos fisicoquímicos que se describen.

Ensayos fisicoquímicos

Todos los ensayos descriptos se realizaron sobre polvo fino (100 % de cernido por malla 355 ISO 3310-1990). Para realizar los ensayos de cuantificación de ácidos orgánicos, intensidad de color y antocianinas (ensayos 2, 3 y 4) de la muestra M2, ésta requirió ser secada (a 45 °C, hasta un porcentaje de pérdida por secado menor o igual a 11,0 %) y molida (por molino a martillo).

1. *Pérdida por secado*: 1,000 gramo de droga vegetal molida fue secada en estufa a 105 °C por 2 horas, determinándose el % de pérdida (European Pharmacopoeia, 2013).
2. *Cuantificación de ácidos orgánicos*, según la Farmacopea Europea 8va. Edición (European Pharmacopoeia, 2013): 1,0 gramo de droga exactamente pesada, se transfirió a un erlenmeyer de 200 ml, y se adicionaron 100 ml de agua destilada hervida y enfriada. Se agitó la mezcla durante 15 minutos, y luego se filtró por malla de acero inoxidable N° 60 ASTM (250 micras de orificio), plisada a modo de embudo. Se tituló una alícuota de 25,0 ml del filtrado, adicionada de 50 ml de agua destilada hervida, utilizando hidróxido de sodio 0,1 M como titulante (1 ml de hidróxido de sodio 0,1 M equivale a 6,4 mg de ácido cítrico). Se empleó una bureta y se determinó el punto final potenciométricamente. Los porcentajes se calcularon sobre droga seca, considerando el porcentaje de pérdida por secado (% expresado sobre droga seca).
3. *Determinación de intensidad de color*, según la Farmacopea Europea 8va. Edición (European Pharmacopoeia, 2013): 1,0 g de la droga en polvo fino, exactamente pesada, se transfirió a un erlenmeyer de 100 ml, incorporando 25 ml de agua destilada en ebullición, y se mantuvo el recipiente en un baño termostático a baño María durante 15 minutos, agitando frecuentemente. Se filtró la solución caliente haciéndola atravesar por una malla de acero inoxidable N° 60 ASTM (250 micras de orificio), plisada a modo de embudo, lavando el residuo y el frasco con agua destilada caliente (3 fracciones de 5 ml). Una vez frío, se transfirió el filtrado a un matraz de 50 ml y

se llevó a volumen con agua destilada. Se filtró la solución por filtro cuantitativo, descartando los primeros 15 ml de filtrado; 5 ml del filtrado recogido se diluyeron a 50 ml con agua destilada en matraz aforado. Se efectuó una corrida espectral de la solución resultante, entre 400 y 800 nm, se constató la longitud de onda del pico de absorción a 520 nm (máximo de referencia), y se efectuaron las mediciones a la longitud de onda de máxima absorción utilizando agua como líquido de compensación. Las mediciones se efectuaron en un espectrofotómetro Shimadzu UV 1603.

4. *Determinación del contenido de antocianinas monoméricas totales*, siguiendo el método del pH diferencial de Giusti y Wrolstad (Giusti y Wrolstad, 2005): alrededor de 2,5 g de droga en polvo fino, exactamente pesados, se transfirieron a un matraz de 25 ml, llevando a volumen con una mezcla de partes iguales de alcohol 96 ° y agua. Se agitó la mezcla manualmente durante 15 minutos, y se filtró la solución extractiva haciéndola atravesar por una malla de acero inoxidable N° 60 ASTM E11-70 para retener el material sólido. Posteriormente la solución libre de material grosero se filtró a través de filtro jeringa de 0,45 micras. El filtrado obtenido se diluyó separadamente con buffer pH 1,0 (ácido clorhídrico/cloruro de potasio) y buffer pH 4,5 (ácido acético glacial 6 % P/V /acetato de sodio dihidrato): a) se transfirió 1 ml de filtrado a un matraz de 50 ml y se llevó a volumen con buffer de pH 1; b) se transfirió 1 ml de filtrado a un matraz de 50 ml y se llevó a volumen con buffer pH 4,5. Se midió la absorbancia de cada una de estas soluciones a 520 nm y 700 nm utilizando agua destilada como líquido de compensación. Se trabajó por duplicado, y las mediciones se efectuaron en un espectrofotómetro Shimadzu UV 1603. Para el caso de muestras con valores bajos de intensidades de absorbancia, se sustituyó la dilución 1:50 por una dilución 1:25. Las antocianinas monoméricas totales (AMT) expresadas como mg cianidin-3-glucósido por gramo de material analizado se calcularon con:

$$A = (A_{520} - A_{700})_{(pH 1)} - (A_{520} - A_{700})_{(pH 4.5)}$$

$$AT \left(\frac{mg}{100 g} \right) = \frac{(A \cdot MM \cdot FD)}{\epsilon \cdot b \cdot P} \cdot 100$$

Donde A es el valor de absorbancia promedio de cada solución a la longitud de onda y pH correspondientes; MM es la masa molecular de cianidina-3-glucósido (449,2 g/mol); ϵ es la absorptividad molar de cianidina-3-glucósido = 26900 (mol/L)⁻¹ cm⁻¹; FD es el factor de dilución (25 x 50 o 25 x 25, según la dilución final); b es el ancho de la celda de medición (1 cm), y P es el peso de la muestra tal cual (cálices secos y molidos), expresado en gramos. El valor de AT expresadas en mg/100 g sobre droga seca (SDS) se calculó considerando el % de pérdida por secado (% PPS):

$$AT \left(\frac{mg}{100 g} \right)_{SDS} = AT \left(\frac{mg}{100 g} \right) \cdot \frac{100}{100 - \% PPS}$$

Análisis de muestras de procesamiento propio

Los frutos maduros obtenidos de la plantación fueron cosechados en 4 años consecutivos. En cada caso, los cálices y epicálices frescos se separaron manualmente con ayuda de un cuchillo, se lavaron, escurrieron y secaron, hasta alcanzar un porcentaje de pérdida por secado inferior o igual al 11,0 %. Las condiciones de secado, molienda, almacenamiento y ensayos efectuados sobre estas muestras se describen a continuación:

a. Colectas de 3 años diferentes fueron secadas a 45 °C, y se determinaron los rendimientos porcentuales de cálices frescos, de cálices secos y el rendimiento total, los cuales se calcularon con:

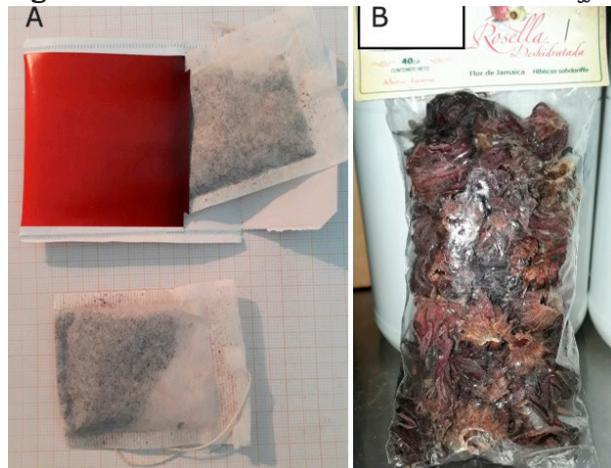
$$\text{Rendimiento \% cálices frescos} = \frac{\text{Peso cálices frescos}}{\text{Peso frutos frescos}} \cdot 100$$

$$\text{Rendimiento \% cálices secos} = \frac{\text{Peso cálices secos}}{\text{Peso cálices frescos}} \cdot 100$$

$$\text{Rendimiento \% total} = \frac{\text{Peso cálices secos}}{\text{Peso frutos frescos}} \cdot 100$$

b. La fracción de una colecta fue sometida a 4 temperaturas de secado diferentes: 40 °C, 50 °C, 60 °C y 80 °C. El proceso de secado se inició de manera simultánea para las distintas condiciones. El secado a 40 °C se realizó en una estufa industrial con circulación de aire; para las demás temperaturas se utilizaron estufas de secado de laboratorio sin circulación y se secaron en cada caso 200 gramos de cálices. Inmediatamente después de secadas, las muestras se molieron a polvo grueso y se envasaron en bolsas de polietileno de 18 micrones, y se colocaron dentro de potes plásticos opacos de cierre perfecto, conservándolas en condiciones ambientales. Estas muestras fueron analizadas durante el primer mes de almacenamiento, efectuándose sobre ellas los ensayos fisicoquímicos descriptos de pérdida por secado, cuantificación de ácidos orgánicos, intensidad de color, y cuantificación de antocianinas.

c. Cálices y epicálices secos de diferentes colectas fueron secados a 45 °C y molidos hasta polvo grueso; el producto molido se acondicionó en bolsas de polietileno de 18 micrones, dentro recipientes plásticos opacos de cierre perfecto, y se almacenaron a temperatura ambiente. Muestras almacenadas por 44, 33, 21 y 7 meses fueron evaluadas en sus características organolépticas de aroma y color, y sobre otras fracciones almacenadas durante 1, 3 y 14 meses se efectuaron los ensayos fisicoquímicos descriptos de pérdida por secado, cuantificación de ácidos orgánicos, intensidad de color, y cuantificación de antocianinas.

Figura 1.- Muestras comerciales de *Hibiscus sabdariffa***A:** Muestra molida en saquitos; **B:** Deshidratada en bolsa de polietileno.

En todos los casos, las moliendas se efectuaron con un molino a martillos provisto de malla 2 según Normas ISO 3310-1990 (Farmacopea Argentina, 2013).

Todos los ensayos fisicoquímicos se realizaron por triplicado. Se reportan la media y el desvío estándar. Con fines comparativos, se determinó la significancia por comparación de los intervalos de confianza para un nivel del 95 %.

Resultados y Discusión

Las muestras comerciales se muestran en la Figura 1 y los resultados de su análisis se presentan en la Tabla 1. El material molido extraído de los saquitos comerciales (M1) se clasificó como “polvo grueso” según los criterios de la Farmacopea Argentina 7ma Edición: el 100 % del polvo atravesó el tamiz N° 1, 7 y 60 % o más fue retenido por tamiz N° 355.

Mientras que los cálices de *Hibiscus sabdariffa* comercializados como material molido envasado cumplieron

Figura 2.- Cálices de *Hibiscus sabdariffa* L. procesados y almacenados varios meses**A:** 44 meses de almacenamiento; **B:** 33 meses de almacenamiento; **C:** 21 meses de almacenamiento; **D-E:** 7 meses de almacenamiento.

con el valor declarado de contenido neto, los cálices secos enteros presentaron una cantidad significativamente inferior al peso declarado (65 % del valor declarado).

Las muestras procesadas y almacenadas del cultivo en estudio mostraron un cambio de color y aroma notable con el tiempo, variando de un color rojo vibrante, a un color marrón que se vuelve opaco y se intensifica a mayores tiempos de almacenamiento. El olor intensamente aromático y característico inicial (que recuerda a la miel), se vuelve muy poco intenso luego del segundo año de almacenamiento. Los cambios de color e intensidad pueden observarse en la Figura 2.

Los frutos frescos estudiados, que contienen los cálices envolviendo a la cápsula seminífera, presentaron un peso promedio igual a $7,299 \pm 0,194$ g (IC 95,0 %; n=150). La distribución de pesos se presenta en la Figura 3. Los cálices exhibieron un color rojo oscuro, brillante (Figura 4). Los rendimientos porcentuales de obtención de cálices frescos, cálices secos y rendimiento total a partir de frutos completos se presentan en la Tabla 2. Wong y col. (2002) reportan un rendimiento de cálices frescos de Malasia de 54,11 %, Chumsri y col. (2008), de $47,45 \pm 0,71$ % para cálices frescos y $9,58 \pm 0,77$ % para secos de Sudán; el rendimiento de cálices secos reportado por Nahed fue cercano al 15 % (Nahed, 2016). Los valores promedios de rendimientos de cálices del cultivo misionero estudiado hallado en este estudio fueron $51,1 \pm 1,2$ % y $8,9 \pm 0,5$ % para cálices frescos y secos respectivamente, y el rendimiento total promedio fue $4,55 \pm 0,26$ %.

Los resultados de los ensayos fisicoquímicos sobre todas las muestras se presentan en la Tabla 3.

Las muestras comerciales M1 y M2 declaran fechas de envasado en meses del año que no se corresponden con períodos de cosecha (julio, agosto y septiembre), por lo cual se estima que los cálices pudieron haberse almacenado por un período de tiempo variable, en estado seco, enteros o molidos, antes de su envasado. Ninguna de las muestras cumple con el parámetro de intensidad de color (mínimo de 0,250 según la Farmacopea Europea para drogas trozadas/molidas), y su contenido de antocianinas totales cuantificado es muy bajo y representa, en promedio, alrededor de un 20 % del contenido determinado para las muestras recién colectadas del cultivo estudiado. Se observa en general una reducción del contenido de antocianinas y un aumento de los ácidos titulables a medida que transcurre el período de almacenamiento. Resultados en este mismo sentido obtuvo Nahed luego de 8 meses de almacenamiento (Nahed, 2016).

En relación al contenido de antocianinas, en la Tabla 4 se presentan datos comparativos de otros autores que trabajaron sobre diferentes variedades de *Hibiscus sabdariffa*, provenientes de distintas regiones del mundo. Los métodos de extracción y cuantificación empleados en cada caso, y las variedades de “rosella” son factores de variabilidad que afectan los resultados y deben ser considerados. El contenido de antocianinas del cultivo misionero estudiado es comparable al obtenido con la variedad “Koor” nativa de

Tabla 1.- Características generales de los productos comerciales de cálices secos de *Hibiscus sabdariffa* L. adquiridos en Misiones

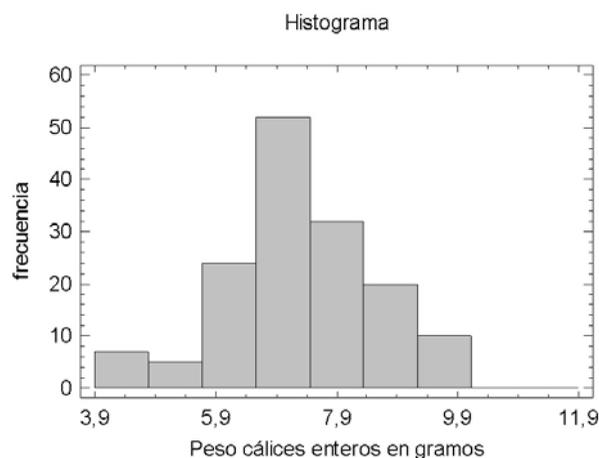
	M1	M2
Presentación de la droga (cálices)	Seca, molida, en saquitos Estuchados Polvo grueso	Entera, seca En bolsa de polietileno
Identificación del producto	“Té de Rosella. Hibiscus”	Rosella deshidratada Flor de Jamaica <i>Hibiscus sabdariffa</i>
Período de validez declarado	24 meses desde la fecha de envasado	24 meses desde la fecha de envasado
Tiempo transcurrido desde fecha de envasado	Lote A: 20 meses Lote B: 9 meses	10 meses
Aspecto del producto	Lote A: polvo de tonalidad marrón, levemente rojiza Lote B: polvo de tonalidad rojiza amarronada	Cálices deshidratados, de color oscuro, con tonalidad marrón, levemente rojiza
Caracteres	Lote A: Olor aromático característico Lote B: Olor aromático característico	Olor aromático característico
Contenido Neto declarado	2 g/saquito	40 g/bolsa
Contenido Neto promedio	Lote A: 2,15 g (DS 0,05; n=10) Lote B: 2,16 g (DS 0,05; n=10)	26 g (DS 1,0; n = 2)
Peso promedio de cálices secos	-	0,6943 ± 0,0691g (IC 95 %; n = 22)

Tabla 2.- Rendimiento de procesos poscosecha de cálices de *Hibiscus sabdariffa* L.

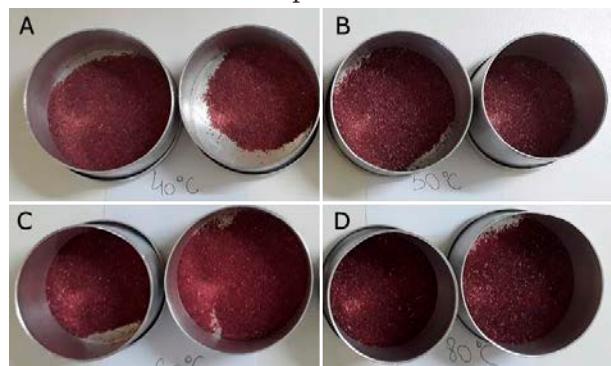
<i>Hibiscus sabdariffa</i> L.	Año de cosecha		
	2020	2018	2015
Peso frutos frescos completos (cápsula/cálices/epicállices) (g)	10520	10870	17390
Peso de cálices y epicállices frescos (g)	5512	5425	8867
Peso de cálices y epicállices secos (g)	494,7	511,2	740
Rendimiento % cálices frescos	52,4	49,9	51,0
Rendimiento % cálices secos	9,0	9,4	8,3
Rendimiento % total	4,7	4,7	4,3

Tabla 3.- Control de calidad físico-químico farmacéutico de muestras de cálices de *Hibiscus sabdariffa* L. de Misiones

Muestra	Descripción	Tiempo de almacenamiento hasta el momento del análisis (meses)	% Pérdida por secado (a)		% ácidos orgánicos SDS (como ácido cítrico) (b)		Intensidad de color (c)		AMT mg/100 g SDS (Como cianidin-3-glucósido)	
			Prom	DS	Prom	DS	Prom	DS	Prom	DS
Cálices secos, molidos, en saquitos, ensobrados, estuchados (M1-Lote A)	Producto comercial (alimentario)	20 meses	11,7	0,04	19,99	0,104	0,093	0,004	90,5	13,18
Cálices secos, molidos, en saquitos, estuchados (M1-Lote B)	Producto comercial (alimentario)	9 meses	11,9	0,13	16,75	0,138	0,073	0,006	158,3	43,22
Cálices secos, enteros/trozados, en bolsa de polietileno (M2)	Producto comercial (alimentario)	10 meses	13,0	0,20	19,09	0,066	0,101	0,007	114,1	25,75
Cálices secos, molidos, de procesamiento propio, en bolsa de polietileno contenida dentro de un cuñete de cartón	Cultivo familiar	< 3 meses	10,2	0,07	15,61	0,056	0,341	0,032	577,7	8,39
	Cultivo familiar	< 1 mes	8,2	0,14	17,15	0,119	0,358	0,010	633,8	9,32
	Cultivo familiar	14 meses	13,7	0,07	17,73	0,066	0,204	0,010	317,5	37,13

Figura 3.- Peso de frutos completos de *H. sabdariffa* L.**Figura 4.-** *H. sabdariffa* L. de un cultivo de Misiones

A: planta en estado de fructificación; **B:** material fresco cosechado; **C:** separación manual de cálices y epicálices; **D:** cálices y epicálices frescos separados de su cápsula seminífera.

Figura 5.- Muestras de *Hibiscus sabdariffa* L. molidas, secadas a diferentes temperaturas

A: 40 °C; **B:** 50 °C; **C:** 60 °C; **D:** 80 °C.

Senegal, y es superior al de las muestras mexicanas y sudanesas que se presentan (Beye y col., 2017; Diessana y col., 2015; Cid-Ortega y Guerrero-Beltrán, 2014; Salazar-González y col., 2012; Abou-Arab y col., 2011; Galicia-Flores y col., 2008; Chumsri y col., 2008; Wong y col., 2002).

Los resultados analíticos sobre muestras de una misma colecta de cálices que fueron secados a diferentes temperaturas se presentan en la Tabla 5. El tiempo de secado se reduce considerablemente al incrementar la temperatura. Nahed reporta el secado de cálices a 55 °C por 36 horas (Nahed, 2016). La cantidad de material que se dispone en el equipo de secado es un parámetro que afecta la cinética del proceso y que debe ser considerado.

Las temperaturas de secado en las condiciones de estudio no afectaron la coloración observable. Todas las muestras conservan un intenso color rojizo brillante (Figura 5) y cumplen con el ensayo de intensidad de color de la Farmacopea Europea.

Los resultados indican que no hay diferencias significativas (NC 95 %) para el contenido de antocianinas de las muestras secadas a 40 °C y 50 °C. Sin embargo, el secado a 60 °C y 80 °C redujo significativamente el contenido de estos bioactivos (Figura 6). A pesar de ello, los valores siguen siendo elevados y comparables con productos comercializados a nivel mundial. El porcentaje de ácidos totales se vio incrementado significativamente con el incremento de la temperatura (Figura 6). Este mismo efecto se observó con el tiempo de almacenamiento, resultado que también ha sido reportado por Nahed para muestras almacenadas durante 8 meses (Nahed, 2016).

Las muestras secadas entre 40 °C y 80 °C grados presentaron una intensidad de color mayor o igual al requerido de 0,350, y un contenido porcentual de ácidos mayor o igual al requerido de 12,5 %, de acuerdo con lo establecido en la monografía de la droga de la Farmacopea Europea 8ª Edición.

Conclusiones

Los cálices de *Hibiscus sabdariffa* L. cultivados en la provincia de Misiones cumplen con parámetros de calidad farmacéuticos al momento de la cosecha, lo cual los posiciona como producto candidato al mercado internacional. Sin embargo, el mantenimiento de la calidad depende críticamente del tratamiento poscosecha y de las condiciones de envasado y mantenimiento.

El rendimiento productivo de cálices secos obtenido en este estudio fue de 4,5 % partiendo de frutos maduros completos; este rendimiento puede incrementarse mejorando el porcentaje de epicálices en el recorte.

Cálices secados entre 40 °C y 80 °C cumplieron con los requisitos de calidad de la Farmacopea Europea 8va. Edición en relación a los ensayos de intensidad de color y

ácidos titulables. El incremento de temperatura de secado de 40 °C a 80 °C redujo considerablemente el tiempo del proceso de 39 horas a 8,5 horas. Sin embargo, las muestras secadas a 60 °C y 80 °C evidenciaron un contenido de antocianinas significativamente menor que a temperaturas de secado menores. El contenido de ácidos titulables mostró diferencias significativas para todas las temperaturas.

Si bien el contenido de compuestos bioactivos de los cálices de *Hibiscus sabdariffa* se ve afectado por la temperatura de secado, el tiempo de almacenamiento define su calidad en las condiciones de envasado habituales del mercado. Esto se evidencia por un cambio de color del rojo intenso a un color pardo amarronado con una muy leve tonalidad rojiza, y la pérdida de la consistencia crujiente en muestras enteras o semitrozadas, y se detecta analíticamente con un porcentaje de pérdida por secado superior al 11,0 %, un incremento de compuestos ácidos,

una reducción de intensidad de absorción de luz a 520 nm, y una drástica reducción del tenor de antocianinas.

El envasado convencional de productos alimenticios (saquitos estuchados, bolsas de polietileno) no asegura el mantenimiento de la calidad en términos farmacéuticos a pocos meses de su almacenamiento.

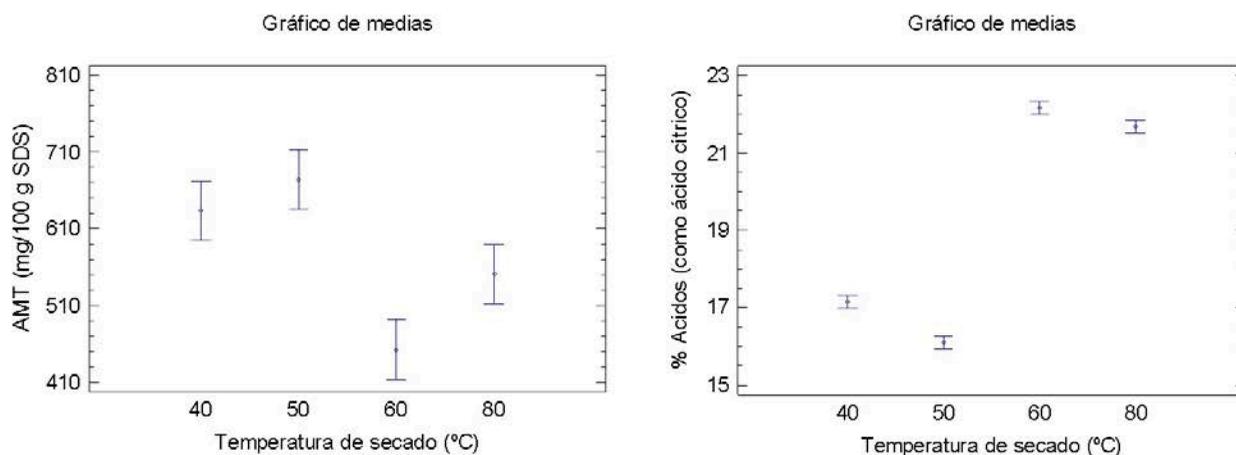
Si se pretende establecer un período de validez recomendado para los cálices secos de *Hibiscus sabdariffa* con fines medicinales, deberán evaluarse las condiciones de secado y seleccionarse adecuadamente el material de envasado, de modo que brinde protección adicional frente a las condiciones ambientales. Estos períodos de uso deberán ser establecidos por estudios de estabilidad convenientemente diseñados. Las recomendaciones generales de uso de drogas vegetales secas por 24 meses no serían aplicables a los cálices de *Hibiscus sabdariffa* L.

Tabla 4.- Contenido de antocianinas en cálices de *H. sabdariffa* L. de los principales países productores del mundo

Investigadores	Origen	Contenido de Antocianinas	Acidez titulable (sobre droga seca)
Beye y col. (2017)	Senegal	1529 ± 347 mg/100 g (variedad Vimto)	
		688 ± 45 mg/100 g (variedad Koor)	
Diessana y col. (2015)	Burkina Faso	2610 ± 110 mg/100 g variedad "dark red"	15,44 ± 0,15 g/100 g variedad "dark red"
		2980 ± 20 mg/100 g variedad "bright red" (como delfinidina-3-sambubiósido)	12,66 ± 0,15 g/100 g Variedad roja "bright red" (como ácido málico)
Cid Ortega y Guerrero-Beltrán (2014)	México	451,4 ± 28,1 mg/100 g (como cianidin-3-glucósido)	
Salazar González y col. (2012)	México	209 ± 21 mg/100 g (como cianidin 3-glucósido)	
Abou-Arab y col. (2011)	Egipto	622,91 ± 2,0 mg/100 g	
Galicia-Flores y col. (2008)	China México Sudán	172,58 a 296,99 mg/100 g (usando agua como extractante)	
Chumsri y col. (2008)	Sudán	340,97 ± 0,15 mg/100 g (como cianidin-3-galactósido)	
Wong y col. (2002)	Malasia	2520 ± 50 mg/100 g (como delfinidina-3-glucósido)	2,42 ± 0,03 g/100g (como ácido málico)

Tabla 5.- Control de calidad de muestras de cálices de *H. sabdariffa* L. sometidas a diferentes temperaturas de secado

Condiciones de secado		% Pérdida por secado				% ácidos orgánicos SDS (como ácido cítrico)		Intensidad de color		AT mg/100 g SDS (como cianidin-3-glucósido)	
		t = 0		t = 15 días		t = 15 días		t = 15 días		t = 15 a 20 días	
Temp. (°C)	Tiempo (horas)	Prom	DS	Prom	DS	Prom	DS	Prom	DS	Prom	DS
40	39	7,7	0,041	8,2	0,14	17,15	0,119	0,358	0,010	633,8	9,32
50	35	7,2	0,037	10,6	0,04	16,10	0,064	0,351	0,011	673,4	27,66
60	22,5	5,7	0,019	8,4	0,12	22,17	0,063	0,359	0,008	452,1	45,97
80	8,5	6,4	0,174	8,1	0,99	21,68	0,063	0,380	0,007	570,0	38,99

Figura 6.- Contenido de antocianinas totales (AMT) y de porcentaje de ácidos orgánicos titulables de cálices de *Hibiscus sabdariffa* L. secados a diferentes temperaturas

Referencias bibliográficas

- Abou-Arab, A.; Abu-Salem, F.M.; Abou-Arab, E. (2011). "Physico-chemical properties of natural pigments (anthocyanin) extracted from Roselle calyces (*Hibiscus sabdariffa*)". *Journal of American Science* 7 (7): 445–456.
- Beye, C.; Hiligsmann, S.; Tounkara, L.; Thonart, P. (2017). "Anthocyanin content of two *Hibiscus sabdariffa* cultivars grown in Senegal". *Agronomie Africaine* 29 (1): 63–68.
- Christian, K.R.; Jackson, J.C. (2010). "Changes in total phenolic and monomeric anthocyanin composition and antioxidant activity of three varieties of sorrel (*Hibiscus sabdariffa* L.) during maturity". *Journal of Food Composition and Analysis* 22: 663–667.
- Chumsri, P.; Sirichote, A.; Itharat, A. (2008). "Studies on the optimum conditions for the extraction and concentration of Roselle (*Hibiscus sabdariffa* Linn.) extract". *Songklanakarinn Journal of Science and Technology* 30 (1): 133–139.
- Cid-Ortega, S.; Guerrero-Beltrán, J. A. (2012). "Propiedades funcionales de la jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.)". *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos* 6 (2): 47–63.
- Cid-Ortega, S.; Guerrero-Beltrán, J. A. (2014). "Roselle Calyces Particle Size Effect on the Physicochemical and Phytochemicals Characteristics". *Journal of Food Research* 3 (5): 83.
- Da-Costa-Rocha, I.; Bonnlaender, B.; Sievers, H.; Pischel, I.; Heinrich, M. (2014). "*Hibiscus sabdariffa* L. - A phytochemical and pharmacological review". *Food Chemistry* 165: 424–443.
- Diessana, A.; Parkouda, C.; Cissé, M.; Diawara, B.; Dicko, M. H. (2015). "Optimization of Aqueous Extraction of Anthocyanins from *Hibiscus sabdariffa* L. Calyces for Food Application". *Food Science and Quality Management* 45: 23–31.
- European Pharmacopoeia (2013). Council of Europe. Strasbourg (8° ed.): 1368–1369.

- Farmacopea Argentina, 7ª Edición compilada (2013), Volumen I, p. 173-174. Ministerio de Salud de la Nación; Secretaría de Políticas, Regulación e Institutos; ANMAT (Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica) e INAME (Instituto Nacional de Medicamentos). Buenos Aires, Argentina [en línea] <https://www.argentina.gob.ar/anmat/farmacopea-argentina/libro>.
- Galicia-Flores, L.; Salinas-Moreno, Y.; Espinoza-García, M., Sánchez-Feria, C. (2008). "Caracterización fisicoquímica y antioxidante de extractos de (*Hibiscus sabdariffa* L.) nacional e importada". *Revista de Chapingo Serie Horticultura* 14 (2): 121-129.
- Grajeda-Iglesias, C.; Figueroa-Espinoza, M.C.; Barouh, N.; Baréa, B.; Fernandes, A.; De Freitas, V.; y Salas, E. (2016). "Isolation and Characterization of Anthocyanins from *Hibiscus sabdariffa* Flowers". *Journal of Natural Products* 79 (7): 1709-1718.
- Giusti, M.; Wrolstad, R.E. (2005). "Characterization and Measurement of Anthocyanins by UV-visible Spectroscopy". *Handbook of Food Analytical Chemistry* 2 (2): 19-31.
- Guardiola, S.; Mach, N. (2014). "Therapeutic potential of *Hibiscus sabdariffa*: A review of the scientific evidence". *Endocrinología y Nutrición* 61 (5): 274-295.
- Maldonado-Astudillo, Y. I.; Jiménez-Hernández, J.; Arámbula-Villa, G.; Flores-Casamayor, V.; Álvarez-Fitz, P.; Ramírez-Ruano, M.; Salazar, R. (2019). "Effect of water activity on extractable polyphenols and some physical properties of *Hibiscus sabdariffa* L. calyces". *Journal of Food Measurement and Characterization* 1 (1): 687-696.
- Nahed, M.R. (2016). "Post-Harvest Studies on Reducing Losses and Maintaining Quality of Packaging Roselle Calyxes". *Journal of Sustainable Agricultural Sciences* 42 (4): 68-86.
- Ojulari, O.V.; Lee, S.G.; Nam, J.O. (2019). "Beneficial Effects of Natural Bioactive Compounds from *Hibiscus sabdariffa* L. on obesity". *Molecules* 24 (1): 1-14.
- Özdoğan, F.P.; Orhan, N.; Ergun, F. (2011). "Studies on the conformity of *Hibiscus sabdariffa* L. samples from turkish market to European Pharmacopeia". *Fabád Journal of Pharmaceutical Sciences* 36 (1): 25-32.
- Patel, S. (2014). "*Hibiscus sabdariffa*: An ideal yet under-exploited candidate for nutraceutical applications". *Biomedicine & Preventive Nutrition* 4 (1): 23-27.
- Ramírez-Cortés, B.; Caro-Velarde, F.J.; Valdivia-Reynoso, M.G.; Ramírez-Lozano, M.H., Machuca-Sánchez, M.L. (2011). "Cambios en tamaño y características de cálices de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) durante su maduración". *Revista Chapingo Serie Horticultura* 17 (2): 19-31.
- Saeed, I. E. (2010). "Solar Drying of Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) Part I: Mathematical Modelling, Drying Experiments, Effects of the Drying Conditions". *CIGR Journal* 12 (3-4): 1-13.
- Salazar-González, C., Vergara-Balderas, FT., Ortega-Regules, A.E., Beltrán, J.Á. (2012). Antioxidant properties and color of *Hibiscus sabdariffa* extracts. *Ciencia e Investigación Agraria* 39 (1): 79-90.
- Sánchez-Feria, C., González-Hernández, V.A., Salinas-Moreno, Y., y Cruz-Huerta, N. (2017). "Efecto de genotipo y ambiente en la calidad fisicoquímica de variedades Mexicanas de *Hibiscus sabdariffa* L.". *Agrociencia* 51 (5): 525-541.
- Shalgum, A.; Govindarajulu, M.; Majrashi, M.; Ramesh, S.; Collier, W. E.; Griffin, G.; Amin, R.; Bradford, C.; Moore, T.; Dhanasekaran, M. (2019). "Neuroprotective effects of *Hibiscus sabdariffa* against hydrogen peroxide-induced toxicity". *Journal of Herbal Medicine*: 17-18. <https://doi.org/10.1016/j.hermed.2018.100253>
- Stein, M.L.; Hanske, A.E.; Neudeck, G.; Gallo, M.F.; Gaona, M. (2019). "Control de calidad farmacéutico de cálices de *Hibiscus sabdariffa* L. (Malvaceae) cultivados en la Provincia de Misiones (Argentina)". *Revista BIFASE* 32 (3): 25-32.
- Stein, M.; Neudeck, G.; Macaya, H.; Olocco, P. (2017). "Estudios de conformidad a los requisitos de la Farmacopea Europea y determinación del contenido de antocianinas de *Hibiscus sabdariffa* L. ("rosella") cultivada en la Provincia de Misiones". *Dominguezia* 33 (1): 46.
- Tham, T.C.; Ng, M.X.; Gan, S.H.; Chua, L.S.; Aziz, R.; Abdullah, L.C.; Ong, S.P.; Chin, N.L.; Law, C.L. (2018). "Impacts of different drying strategies on drying characteristics, the retention of bio-active ingredient and colour changes of dried Roselle". *Chinese Journal of Chemical Engineering* 26 (2): 303-316.
- Wong, P.; Yusof, S.; Ghazali, H. M.; Che Man, Y.B. (2002). "Physicochemical characteristics of roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.)". *Nutrition y Food Science* 32 (2): 68-73.