

***Cosmos bipinnatus* Cav., ¿una alternativa a los colorantes sintéticos? Estudio de su estabilidad frente a factores degradativos**

***Cosmos bipinnatus* Cav., an alternative to synthetic dyes? Study of its stability against degrading factors**

Alvarado-López, A. N. , Buendía-González, L. , Hernández-Jaimes, C. * ,
Orozco-Villafuerte, J. 

Facultad de Ciencias y Facultad de Química,
Campus El Cerrillo, Universidad Autónoma del
Estado de México, Toluca, México C.P. 50200



Please cite this article as/Como citar este artículo:

Alvarado-López A. N., Buendía-González, L., Hernández-Jaimes C., Orozco-Villafuerte J. (2025). *Cosmos bipinnatus* Cav., an alternative to synthetic dyes? Study of its stability against degrading factors. *Revista Bio Ciencias*, 12, e1743. <https://doi.org/10.15741/revbio.12.e1743>

Article Info/Información del artículo

Received/Recibido: Septemebr 03th 2024.

Accepted/Aceptado: June 06th 2025.

Available on line/Publicado: July 08th 2025.

RESUMEN

Los pigmentos de *Cosmos bipinnatus* se caracterizaron por su potencial aplicación como colorantes naturales. En el proceso de extracción, se evaluaron tres solventes, siendo la combinación de agua y etanol la que presentó los mejores resultados. Posteriormente, se evaluó la estabilidad de los pigmentos bajo diversas condiciones de pH, temperatura y radiación lumínica durante un período de almacenamiento de 41 días. El análisis de la cinética de degradación de las antocianinas reveló una reacción de primer orden con una vida media de entre 0.7 y 63 días. Al final del almacenamiento, la formación de color polimérico aumentó significativamente debido al efecto del pH (1.6 – 96.2 %), mientras que la concentración de antocianinas disminuyó debido a los efectos de la temperatura (1.1 - 0 mg cyn-3-glu g⁻¹). La actividad antioxidante también se vio afectada por las condiciones de almacenamiento, disminuyendo de 251 mg ET g⁻¹ a 69 mg ET g⁻¹. En términos de conservación del color, las muestras de pH 4 conservaron su color durante más tiempo, a diferencia de las de pH 10 y 7. Con base en estos resultados, se recomienda utilizar los pigmentos extraídos a pH 4 para maximizar su estabilidad y posibles aplicaciones.

PALABRAS CLAVE: *Cosmos bipinnatus*, pigmentos bioactivos, estabilidad, factores degradativos.

***Corresponding Author:**

Carmen Hernández-Jaimes. Facultad de Ciencias, Campus El Cerrillo, Universidad Autónoma del Estado de México, Toluca, México C.P. 50200. Teléfono 7222262300. E-mail: mdhernandezj@uaemex.mx

ABSTRACT

The pigments of *Cosmos bipinnatus* were characterized for their potential application as natural dyes. In the extraction process, three solvents were evaluated, with the combination of water and ethanol yielding the best results. The stability of the pigments was then assessed under various conditions of pH, temperature, and light radiation over a 41 day storage period. Analysis of the degradation kinetics of anthocyanins revealed a first-order reaction with a half-life ranging from 0.7 to 63 days. At the end of storage, polymeric color formation increased significantly due to the pH effect (1.6 - 96.2 %), while anthocyanin concentration decreased due to temperature effects (1.1 - 0 mg cyn-3-glu g⁻¹). Antioxidant activity was also affected by storage conditions, decreasing from 251 mg ET g⁻¹ to 69 mg ET g⁻¹. In terms of color preservation, pH 4 samples retained their color longer, unlike those at pH 10 and 7. Based on these results, it is recommended to use the extracted pigments at pH 4 to maximize their stability and potential applications.

KEY WORDS: *Cosmos bipinnatus*, bioactive pigments, stability, degradative factors

Introducción

El uso de colorantes sintéticos en alimentos ha sido ampliamente cuestionado en países desarrollados debido a la preocupación por sus posibles efectos sobre la salud. Diversas investigaciones han vinculado el consumo indiscriminado de estos pigmentos con efectos adversos para la salud, como problemas de atención, hiperactividad, irritabilidad, trastornos del sueño y agresividad en bebés (Ngamwonglumlert *et al.*, 2017; Amchova *et al.*, 2015; de Oliveira *et al.*, 2024). Además, se ha asociado el consumo de colorantes sintéticos con el desarrollo de enfermedades degenerativas, como el cáncer en adultos (Salinas-Moreno *et al.*, 2005; Orozco-Villafuerte *et al.*, 2018; Mota *et al.*, 2023). Como resultado, la industria alimentaria ha optado por el uso de pigmentos vegetales como alternativa natural a los colorantes artificiales, promoviendo opciones alimentarias más saludables (Montibeller *et al.*, 2018). Mientras tanto, la creciente concienciación sobre la salud entre los consumidores ha impulsado la demanda de colorantes naturales, convirtiéndolos en una opción cada vez más popular (Ngamwonglumlert *et al.*, 2017). En este contexto, los pigmentos de antocianinas, principales responsables de los colores rojo, rosa, azul y morado de frutas, verduras y flores (Hurtado & Pérez, 2014), ofrecen un potencial significativo. Estos metabolitos secundarios fenólicos de las plantas pertenecen a la familia de los flavonoides y pueden aprovecharse como colorantes alimentarios naturales. Su incorporación a los alimentos no solo aporta color, sino que también proporciona beneficios antioxidantes, gracias a sus características estructurales (Saint-Cricq *et al.*, 1999; Noda *et al.*, 2002). Como

consecuencia, las antocianinas se reconocen como pigmentos bioactivos (Salinas-Moreno *et al.*, 2005) con beneficios documentados para la salud (Tsada *et al.*, 1999; Morimitsu *et al.*, 2002; Lazze *et al.*, 2003). En la Unión Europea, las antocianinas se clasifican como aditivos alimentarios con el código E163 (Martins *et al.*, 2016). A nivel industrial, empresas como Givaudan Sense Colour® ofrecen pigmentos naturales derivados de antocianinas de plantas, como bayas, uvas y otras frutas.

A pesar de la creciente demanda de pigmentos de antocianinas, las fuentes actuales son limitadas e insuficientes para satisfacer las necesidades industriales. Por lo tanto, es necesario explorar fuentes vegetales alternativas para obtener estos pigmentos. Es importante destacar que la intensidad y la estabilidad de los pigmentos de antocianinas dependen de diversos factores, como la estructura y concentración del pigmento, el pH, la temperatura, la intensidad lumínica y la presencia de copigmentos, iones metálicos, enzimas, oxígeno, ácido ascórbico, carbohidratos y dióxido de azufre (Laleh *et al.*, 2006; Ngamwonglumlert *et al.*, 2017). Los estudios cinéticos son útiles para determinar parámetros durante el almacenamiento, predecir cambios en la composición y el color del producto, y determinar sus características al final de su vida útil (Krapfenbauer *et al.*, 2006). Además, la fuente vegetal de los pigmentos desempeña un papel importante en su estabilidad. Por consiguiente, identificar fuentes vegetales adecuadas y optimizar las condiciones de extracción y almacenamiento son fundamentales para garantizar la estabilidad y la calidad de los pigmentos de antocianinas.

Por otro lado, *Cosmos bipinnatus*, miembro de la familia Asteraceae, es una planta anual comúnmente conocida como cosmos de jardín debido a sus vibrantes flores de color rosa, rojo, violeta o blanco. En la medicina tradicional, las flores y hojas de *C. bipinnatus* se han utilizado ampliamente para tratar diversas dolencias, como dolores de cabeza, fiebre intermitente, ictericia, dolor y trastornos estomacales. Diversas investigaciones han demostrado que *C. bipinnatus* posee propiedades antiinflamatorias, como lo demuestran pruebas en macrófagos murinos, actividad antioxidante en modelos *in vitro* y efectos antigenotóxicos, evaluados mediante el ensayo cometa (Bijani *et al.*, 2021). Cabe destacar que las flores de *C. bipinnatus* contienen una cantidad significativa de antocianinas, por lo que podrían ser consideradas como una fuente natural cuyo potencial para producir pigmentos biológicamente activos ha sido poco estudiado (Fernandes *et al.*, 2019). Por lo tanto, el presente estudio tuvo como objetivo extraer pigmentos bioactivos de las flores de *C. bipinnatus* y caracterizar sus propiedades fisicoquímicas.

Materiales y Métodos

El etanol (98 %) se obtuvo de J.T. Baker S.A. de C.V. (Ciudad de México, México). Los siguientes reactivos se obtuvieron de Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, EE. UU.): 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH), sal diamónica de ácido 2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico) (ABTS), ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico (Trolox), reactivo de Folin-Ciocalteu, ácido gálico (98 %), quercetina, carbonato de sodio anhidro (99 %), tricloruro de aluminio, cloruro de potasio, acetato de sodio, ácido ascórbico y metabisulfito de potasio.

Colección de especímenes

Se recolectaron especímenes de *Cosmos bipinnatus* Cav., incluyendo flores, tallos y hojas, así como flores frescas, en septiembre y octubre en Toluca, México. Los especímenes fueron identificados por el Herbario Medicinal del Instituto Mexicano del Seguro Social en el Centro Médico Nacional, y se les asignó el número de registro 17004. Para su posterior análisis, se seleccionaron pétalos intactos, limpios y visualmente sin daños. Estos pétalos se secaron mediante liofilización (FreeZone 2.5, Labconco, MO, EE. UU.) y posteriormente se molieron con un procesador de alimentos hasta obtener un polvo fino.

Extracción de los pigmentos

La extracción de los pigmentos se realizó utilizando una versión modificada de la metodología descrita por Medina-Torres *et al.* (2017). Se suspendieron 2 g de flores secas y en polvo en 120 mL de cada solvente: agua (acuoso), agua:etanol (80:20, v/v) (hidroetanólico) y agua:metanol (80:20, v/v) (hidrometanólico), durante 1 hora. Posteriormente, la extracción se realizó mediante ultrasonido (baño ultrasónico, SK2210HP, Shanghai, China) a una frecuencia constante de 53 kHz durante 40 minutos a 40 °C, seguido de agitación a 40 °C durante 60 minutos. Tras el período de extracción, las muestras se filtraron al vacío y se concentraron a presión reducida (RV10, IKA, EE. UU.). Finalmente, los extractos se liofilizaron y almacenaron a 4 °C hasta su posterior análisis.

Cuantificación de fenoles totales

El contenido de fenoles totales (TPC) en los extractos se determinó mediante el método de Folin-Ciocalteu descrito por Skerget *et al.* (2005) con modificaciones menores. Se mezclaron 200 µL de la muestra o estándar con 100 µL de reactivo de Folin, y la mezcla se homogeneizó e incubó en oscuridad durante 8 minutos. Posteriormente, se añadieron 200 µL de solución de carbonato de sodio (20 g/100 mL) y 1,5 mL de agua destilada, y la muestra resultante se homogeneizó e incubó en oscuridad durante 60 minutos. La absorbancia se midió a 765 nm con un espectrofotómetro (Genesys 10S UV-VIS, Thermo Scientific, China). Se generó una curva estándar con ácido gálico, y los resultados se expresaron como miligramos de equivalentes de ácido gálico por gramo de extracto seco.

Cuantificación de flavonoides

El contenido de flavonoides en los extractos se analizó mediante una versión modificada del método espectrofotométrico descrito por Pękal y Pyrzynska (2014). Se mezcló una alícuota de 1000 µL de la muestra con 500 µL de cloruro de aluminio (AlCl_3) al 2 % y 500 µL de agua destilada. Las muestras se agitaron, se incubaron en oscuridad durante 10 minutos y, a continuación, se leyeron a una absorbancia de 425 nm con un espectrofotómetro (Genesys 10S UV-VIS). Se generó una curva estándar con quercetina y los resultados se expresaron en miligramos de equivalentes de quercetina por gramo de extracto seco.

Cuantificación de antocianinas monoméricas

Se empleó el método de pH diferencial descrito por Giusti y Wrolstad (2001) para determinar el contenido de antocianinas monoméricas. Se prepararon dos alícuotas del extracto: una se diluyó con un tampón de pH 1.0 (KCl 0,025 M) y la otra con un tampón de pH 4.5 (CH₃CO₂Na 0.4 M). Ambas mezclas se analizaron de 400 a 700 nm con un espectrofotómetro (Genesys 10S UV-VIS). El contenido de pigmento se calculó como cianidina 3-glucósido, utilizando un coeficiente de extinción de 26.900 L cm⁻¹ mol⁻¹ y un peso molecular de 449,2 g mol⁻¹.

Determinación de la actividad antioxidante

La actividad antioxidante se evaluó mediante el método del radical DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo) descrito por Brand-Williams *et al.* (1995). Se mezcló una muestra de 100 µL con 3.9 mL de una solución de DPPH 0.1 mM en metanol. La mezcla de reacción se incubó en oscuridad durante 30 minutos. Posteriormente, se midió la absorbancia a 517 nm con un espectrofotómetro (Genesys 10S UV-VIS). Se generó una curva estándar utilizando una solución de Trolox 2 mM. Los resultados se expresaron como miligramos de equivalentes de Trolox por gramo de extracto seco.

La actividad antioxidante también se evaluó mediante el método del radical ABTS (ácido 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico) descrito por Pellegrini *et al.* (1999) con modificaciones menores. Inicialmente, se mezclaron 5 mL de ABTS 7 mM y 88 µL de persulfato de potasio 140 mM y se dejaron reposar durante 12 horas en oscuridad. La solución resultante se diluyó con metanol para alcanzar una absorbancia de 0.74 a 734 nm. Para la reacción, se mezcló 1 mL de la muestra con 3 mL de la solución de ABTS. Tras una incubación de 10 minutos en oscuridad, se midió la absorbancia de las muestras a 734 nm con un espectrofotómetro (Genesys 10S UV-VIS). Se generó una curva estándar con una solución de Trolox 2 mM. Los resultados se expresaron en miligramos de equivalentes de Trolox por gramo de extracto seco.

Determinación de la estabilidad del pigmento bioactivo

Se prepararon soluciones acuosas (2 mg/mL) del extracto hidroetanólico. El pH de cada solución se ajustó a 4, 7 o 10 utilizando soluciones saturadas de ácido cítrico (C₆H₈O₇) y carbonato de sodio (NaHCO₃). Las soluciones hidroetanólicas se expusieron a tres condiciones de temperatura (4, 25 y 65 °C) y dos condiciones de luz (luz y oscuridad), lo que resultó en un total de 18 tratamientos. La estabilidad de los extractos resultantes se evaluó mediante el monitoreo de la cinética de degradación de las antocianinas (Sección 2.8.1), el contenido de antocianinas monoméricas (Sección 2.6), la actividad antioxidante por DPPH (Sección 2.7), el color polimérico y el color (Secciones 2.8.2 y 2.8.3) con una frecuencia de dos veces por semana durante un período de 41 días.

Cinética de degradación de las antocianinas

La cinética de degradación de las antocianinas se puede expresar mediante parámetros cinéticos como la constante de velocidad de reacción de primer orden (k) y la vida media ($t_{1/2}$), es decir, el tiempo necesario para la degradación del 50 % de las antocianinas, que se calcularon mediante las siguientes ecuaciones (Yang *et al.*, 2008; Hou *et al.*, 2013; Martynenko & Chen, 2016):

$$\ln \frac{[C_t]}{[C_o]} = -kt \quad (\text{Ec. 1})$$

$$t_{1/2} = -\frac{\ln 0.5}{k} \quad (\text{Ec. 2})$$

Donde C_o es el contenido inicial de antocianina monomérica y C_t es el contenido de antocianina monomérica después de t días de almacenamiento. $t_{1/2}$ es el tiempo de vida media, k es la constante de velocidad de la cinética de primer orden (días^{-1}).

Densidad de color y porcentaje de color polimérico

La densidad de color (CD) se determinó según el método descrito por Giusti y Wrolstad (2001). Se preparó una solución de metabisulfito de potasio al 20 % antes del análisis. Cada muestra (2.8 mL) se trató con 0.2 mL de la solución de $K_2S_2O_3$ para blanquear o con 0.2 mL de agua destilada como control. Tras una incubación de 15 minutos en oscuridad, las muestras se leyeron de 420 a 700 nm frente a un blanco de agua destilada utilizando un espectrofotómetro (Genesys 10S UV-VIS). La densidad de color (CD) se calculó utilizando la muestra control y la Ecuación 3, donde A representa la absorbancia del blanco o la muestra, y DF es el factor de dilución del extracto.

$$CD = [(A_{420} - A_{700}) + (A_{\lambda \text{ vis-max}} - A_{700})] \times DF \quad (\text{Ec. 3})$$

El color polimérico (PC) se determinó utilizando la muestra y de acuerdo con la ecuación (4), donde A corresponde a la absorbancia de la muestra o del blanco, y DF es el factor de dilución del extracto.

$$PC = [(A_{420} - A_{700}) + (A_{\lambda \text{ vis-max}} - A_{700})] \times DF \quad (\text{Ec. 4})$$

El porcentaje de color polimérico (% PC) se calculó de acuerdo con la siguiente ecuación:

$$\%PC = \left(\frac{PC}{CD} \right) \times 100 \quad (\text{Ec. 5})$$

Determinación del color

El análisis de color se realizó con un colorímetro (Chroma Meter CR-400, Konica Minolta Sensing Inc., Japón). Se midieron los parámetros del espacio de color CIE L^* , a^* , b^* , donde L^* representa la luminosidad (0 para el negro y 100 para el blanco), a^* indica la oposición de color rojo-verde (con valores positivos que indican rojo y negativos que indican verde) y b^* representa la oposición de color amarillo-azul (con valores positivos que indican amarillo y negativos que indican azul). Las mediciones de color se realizaron en 20 ml de extracto, colocados en cápsulas de plástico blancas de 4 cm de diámetro. La diferencia de color total entre el pigmento inicial y su color en diferentes momentos se calculó mediante la siguiente ecuación:

$$\Delta E = [(\Delta L)^2 + (\Delta a)^2 + (\Delta b)^2]^{1/2} \quad (\text{Ec. 6})$$

La diferencia de color (ΔE) se calculó mediante la siguiente ecuación, donde ΔL , Δa y Δb representan las diferencias en los valores de L^* , a^* y b^* entre el día 1 y los tiempos de exposición posteriores hasta el día 41. La diferencia de color (ΔE) es una medida cuantitativa determinada por una relación matemática entre los tres parámetros CIE: L^* , a^* y b^* , lo que permite una evaluación objetiva de las variaciones de color entre muestras a lo largo del tiempo. Según Wang *et al.* (2014), las diferencias de color se clasificaron de la siguiente manera: $\Delta E < 0.2$ (diferencia no perceptible), $0.2 \leq \Delta E < 0.5$ (diferencia muy pequeña), $0.5 \leq \Delta E < 2$ (diferencia pequeña), $2 \leq \Delta E < 3$ (diferencia muy perceptible), $3 \leq \Delta E < 6$ (diferencia perceptible), $6 \leq \Delta E < 12$ (diferencia fuerte) y $\Delta E \geq 12$ (colores diferentes).

Análisis estadístico

Todos los experimentos se realizaron por triplicado y los resultados se presentan como la media $\pm$ desviación estándar (SD). Los datos se analizaron mediante análisis de varianza (ANOVA) y las diferencias significativas entre las medias se determinaron mediante la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$). El análisis estadístico se realizó con el software Statgraphics Centurion 16.

Resultados y Discusión

Caracterización parcial de los extractos de pétalos de flores de *C. bipinnatus*

De los tres solventes evaluados, el extracto acuoso presentó el mayor contenido de compuestos fenólicos ($112.7 \text{ mg GAE g}^{-1}$), seguido de los extractos hidroetanólico e hidrometanólico (72.2 ± 2.2 y $77 \pm 1.1 \text{ mg GAE g}^{-1}$, respectivamente), sin diferencias significativas entre estos dos últimos (Tabla 1). Un estudio de Gutiérrez *et al.* (2008) reportó un contenido fenólico de 65 mg GAE g^{-1} en extractos hidrometanólicos de 14 flores, incluyendo *C. bipinnatus*, que ocupó

el tercer lugar. Por el contrario, Chensom *et al.* (2019) reportaron un contenido fenólico menor (13 mg GAE g⁻¹) en extractos hidroetanólicos de *Cosmos yellow*. El mayor contenido fenólico determinado en este estudio se puede atribuir a la combinación del solvente y al método de extracción asistida por ultrasonido, así como a la mayor relación muestra:solvente, lo que mejoró la eficiencia de la extracción. La determinación de fenoles totales en pétalos de *C. bipinnatus* es relevante para su posible uso como pigmento natural en formulaciones alimentarias, debido a sus beneficios para la salud (Butts-Wilmsmeyer *et al.*, 2018; Pires *et al.*, 2019). Por ejemplo, el alto contenido fenólico en *Cosmos caudatus*, *Pluchea indica* y *Lawsonia inermis* se ha relacionado con la actividad antioxidante y la actividad inhibidora de la lipasa pancreática, que contribuyen a combatir la obesidad (Abdul *et al.*, 2017).

Tabla 1. Efecto del disolvente en la caracterización fitoquímica parcial de los pigmentos bioactivos extraídos de flores de *Cosmos bipinnatus*.

Fitoquímica	Extracto acuoso	Extracto hidroetanólico	Extracto hidrometanólico
Fenoles totales (mg AGE g ⁻¹)	112.7 ± 0.5 ^b	72.2 ± 2.2 ^a	77 ± 1.1 ^a
Flavonoides (mg QE g ⁻¹)	13.1 ± 0.7 ^a	24.7 ± 5 ^b	23.7 ± 3.9 ^b
Antocianinas (mg Cyn-3-glu g ⁻¹)	2.3 ± 0.4 ^a	3.6 ± 0.3 ^b	4.9 ± 0.5 ^c
Actividad antioxidante-DPPH (mg TE g ⁻¹)	727.1 ± 19 ^b	321 ± 47 ^a	305.7 ± 13 ^a
Actividad antioxidante -ABTS (mg TE g ⁻¹)	695.4 ± 58 ^b	317.9 ± 19 ^a	379.5 ± 58 ^a

Los datos representan la media ± desviación estándar. Los valores en la misma fila con letras diferentes muestran diferencias significativas ($p \leq 0,05$).

Por otro lado, el contenido de flavonoides en los extractos presentó un alto grado de variación (13.1-24.7 mg EQ g⁻¹), observándose valores significativamente más altos en los extractos hidroalcohólicos (Tabla 1). La eficiencia de extracción está relacionada con la solubilidad de los flavonoides en el solvente, así como con la intensidad de las interacciones con la matriz vegetal (Chaves *et al.*, 2020). Sulaiman *et al.* (2011) reportaron que *C. caudatus* exhibe un mayor contenido de flavonoides en solventes como acetona y metanol al 70 % en comparación con el agua. De manera similar, otros estudios han investigado el efecto del solvente en la extracción de flavonoides en flores comestibles, observando menores rendimientos de extracción con agua (Dian-Nashiela *et al.*, 2015; Petrova *et al.*, 2016; Fernandes *et al.*, 2019). Los flavonoides son sustancias fácilmente oxidables que presentan efectos antioxidantes, incluyendo la inhibición de la lipoperoxidación, efectos antimutagénicos e inhibición enzimática, principalmente debido a su capacidad para reducir radicales libres y metales quelados (López, 2002). Por consiguiente, es deseable conservar los flavonoides, ya que se ha demostrado que poseen bioactividades antioxidantes, antibacterianas, antivirales, antiinflamatorias, diuréticas, antiespasmódicas y antiulcerosas gástricas (López, 2002; Chaves *et al.*, 2020). Estudios de Amamiya e Iwashina (2015)

y Bijani *et al.* (2021) identificaron la presencia de tres flavonoides, apigenina 7-O-glucurónido, crisoeriol 7-O-glucurónido y luteolina 7-O-glucurónido, en los pétalos de *C. bipinnatus*.

Se observaron diferencias significativas en el contenido de antocianinas entre los extractos. El extracto hidrometanólico presentó el mayor contenido (4.9 mg Cyn-3-glu g⁻¹), seguido de los extractos hidroetanólico y acuoso (Tabla 1). Según Santos-Buelga *et al.* (2012), los disolventes polares como el metanol, la acetona y sus mezclas acuosas se utilizan habitualmente para extraer polifenoles, incluidas las antocianinas. Sin embargo, existe una tendencia creciente hacia el uso de disolventes más respetuosos con el medio ambiente, como el agua, el etanol o una combinación de ambos, para producir productos ecológicos que cumplan con los requisitos de las industrias alimentaria y farmacéutica (Pires *et al.*, 2019). Además, se ha descrito que las antocianinas poseen propiedades similares a las vitaminas, efectos beneficiosos sobre el sistema vascular capilar y venoso, y actividades antioxidantes, antiinflamatorias y antiplaquetarias, con muy baja toxicidad (López, 2002).

La actividad antioxidante de los extractos de pétalos de flor de *C. bipinnatus* se presenta en la Tabla 1. Los valores obtenidos utilizando ambos radicales variaron según el tipo de disolvente. El extracto acuoso presentó la mayor actividad antioxidante en ambas pruebas (727.1 y 695.4 mg ET g⁻¹ para DPPH y ABTS, respectivamente), casi el doble que la de los extractos hidroalcohólicos. La capacidad para inhibir los radicales libres DPPH y ABTS se ve influenciada por el contenido de compuestos fenólicos y flavonoides, así como por el grado de polimerización, concentración e interacción de sus diversas estructuras químicas con ensayos colorimétricos (Sulaiman *et al.*, 2011). Cabe destacar que se ha descubierto que *C. caudatus* contiene flavonol glucósido, kaempferol y flavona C-glucósido, considerados agentes antienvjecimiento para la piel debido a su capacidad para inhibir la tirosinasa, la collagenasa y la elastasa (Phong *et al.*, 2022).

Estabilidad de las antocianinas de los pétalos de flores de *C. bipinnatus*

Para evaluar la estabilidad del pigmento frente a factores degradativos, se seleccionó el extracto hidroetanólico por su alto contenido en antocianinas y su amplia capacidad de pigmentación; el hidrometanólico no se consideró debido a sus conocidos efectos tóxicos para los humanos. Sin embargo, si se consideró en la caracterización para tenerlo como referencia por su conocida afinidad por las antocianinas (Santos-Buelga *et al.* 2012). Las antocianinas son los compuestos responsables del color en los pétalos de las flores de *C. bipinnatus*, y a su vez, la tonalidad del color depende del pH, la temperatura, la luz, la presencia de iones metálicos, copigmentos, enzimas, oxígeno y azúcares (Ngamwonglumlert *et al.*, 2017). Para seleccionar extractos con colores adecuados para su posterior aplicación en matrices alimentarias y/o farmacéuticas, se realizó un barrido de pH (1-14). Como se muestra en la Figura 1, a valores de pH ácidos se conserva el color rosado característico de los pétalos de las flores, a pH neutro se genera el color lila, y a pH alcalino, el pigmento puede pasar por colores pardos, verdes y amarillos. De acuerdo con estas tonalidades de color del extracto hidroalcohólico derivadas del cambio de pH, se seleccionaron los extractos a pH 4, 7 y 10.

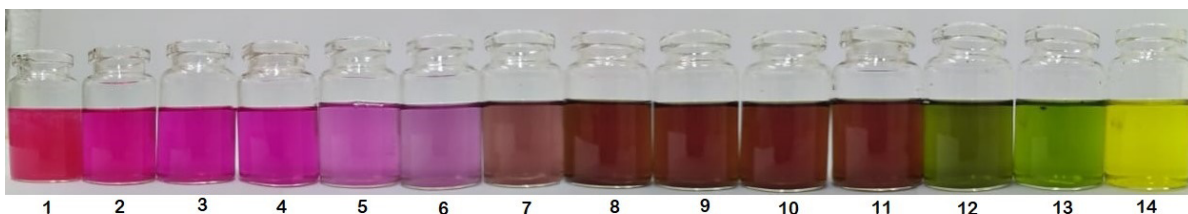


Figura 1. La Gama de colores que presentan los pigmentos bioactivos del *Cosmos bipinnatus* a diferentes pH.

Fuente: Elaboración propia.

Delgado-Vargas *et al.* (2003) y Ngamwonglumlert *et al.* (2017) reportaron cambios de color en soluciones de antocianina, los cuales se atribuyen al equilibrio entre diferentes especies químicas. En soluciones acuosas, las antocianinas existen en un equilibrio dinámico entre el catión flavilio, la pseudobase carbinólica, la base quinoidal y las formas chalcona. A pH 1, el catión flavilio, el cual exhibe un color rojo, es la especie dominante. Sin embargo, a medida que el pH aumenta a 4 o 5, la concentración de la pseudobase carbinólica incolora aumenta a expensas del catión flavilio. A pH 6, los grupos hidroxilo en la estructura de la antocianina se vuelven más pronunciados, y la concentración de la base quinoidal aumenta, resultando en un color azul o violeta inestable. A medida que el pH continúa aumentando a 8, la base quinoidal se transforma en chalcona, la cual exhibe un color amarillo.

Como se ilustra en la Figura 2a, el contenido de antocianinas monoméricas disminuyó en todos los tratamientos después de 41 días de almacenamiento. La degradación más pronunciada de antocianinas (74-100 %) ocurrió en extractos expuestos a 65 °C a pH 10, mientras que la pérdida más baja (retención del 64 %) se observó en extractos almacenados a 4 °C a pH 4 (Tabla 2), independientemente de las condiciones de luz. Este comportamiento puede atribuirse a los efectos acumulativos del tiempo, la temperatura, el pH y la exposición a la luz, que colectivamente promueven la degradación de antocianinas. El análisis estadístico de los principales efectos reveló que el tiempo fue el principal contribuyente a la degradación de antocianinas, seguido de la temperatura, el pH y finalmente las condiciones de luz. Se sabe que la estabilidad de las antocianinas en los alimentos está influenciada por varios factores físicos y químicos, incluyendo la actividad enzimática, el pH, el contenido de azúcar y la presencia de copigmentos, metales, iones, peróxido de hidrógeno y otros compuestos (Martynenko & Chen, 2016). La temperatura se ha identificado como un factor crucial que influye en la degradación de las antocianinas, Ngamwonglumlert *et al.* (2017) informaron que la temperatura induce la destrucción logarítmica del pigmento con el tiempo, con una mayor degradación ocurriendo a 100 °C. Esta degradación térmica implica la formación de una pseudobase de carbinol incolora y la posterior apertura del anillo de pirilio para formar chalcona, lo que finalmente conduce a la formación de un producto de degradación marrón. De manera similar, Sinela *et al.* (2017) observaron una disminución en la concentración de antocianinas en extractos de *Hibiscus sabdariffa* después de 60 días, lo que

indica la degradación del pigmento original. Específicamente, delphinidina 3-O-sambubiósido y cianidina 3-O-sambubiósido mostraron tasas de degradación del 11 % y 17 % a 4 °C, y del 99 % y 98 % a 37 °C, respectivamente. También se ha reportado la degradación de antocianinas debido a la temperatura y el pH en extractos de diversas flores, como la rosa y el crisantemo (Xu *et al.*, 2021). Patras *et al.* (2010) destacaron el papel crucial de la temperatura de almacenamiento en la pérdida de antocianinas, observando una degradación más lenta a 20 °C en comparación con 37 °C. Además, Brownmiller *et al.* (2008) observaron que más del 50 % de las antocianinas en puré de arándanos (cv. Bluecrop) se perdieron después de 6 meses de almacenamiento, acompañado de un aumento en los valores de color polimérico, lo que indica una extensa polimerización de antocianinas durante el almacenamiento.

La pérdida de antocianinas también se ve influenciada por el efecto del pH. Según Tan *et al.* (2014) y Hou *et al.* (2013), a valores de pH inferiores a 4, las antocianinas se presentan principalmente en forma del catión flavilio, lo que mejora su estabilidad. Por el contrario, un aumento del pH puede reducir la estabilidad de los pigmentos. Cevallos-Casals y Cisneros-Zevallos (2004) informaron que, a pH de 0.9 a 4.0, los pigmentos de batata roja y zanahoria morada mostraron una alta estabilidad durante el almacenamiento a 20 °C durante 134 días. Sin embargo, a valores de pH superiores a 4, el color viró de azul púrpura a amarillo parduzco. En un estudio independiente, Gamage y Choo (2023) observaron que los colorantes preparados a partir de bayas de goji negro (*Lycium ruthenicum*) y polvo de batata morada a pH 3, 4, 5 y 6 retenían hasta el 70 % de las antocianinas a pH 3, lo que indica su idoneidad como colorante en alimentos ácidos almacenados en cámaras frigoríficas. Hu *et al.* (2014) determinaron las condiciones óptimas para la extracción de antocianinas de extractos metanólicos de bayas de goji negro (*Lycium ruthenicum* Murray) e investigaron su estabilidad a diversos niveles de pH (1, 3, 5, 7, 9, 11, 13). Los resultados mostraron que a valores de pH más bajos (1 y 3), se retenía hasta el 90 % de las antocianinas tras 12 días de observación. Por el contrario, en soluciones alcalinas (pH 11 y 13), la retención fue de aproximadamente el 20 %. Estos hallazgos indican que la estabilidad de las antocianinas también depende de la fuente vegetal.

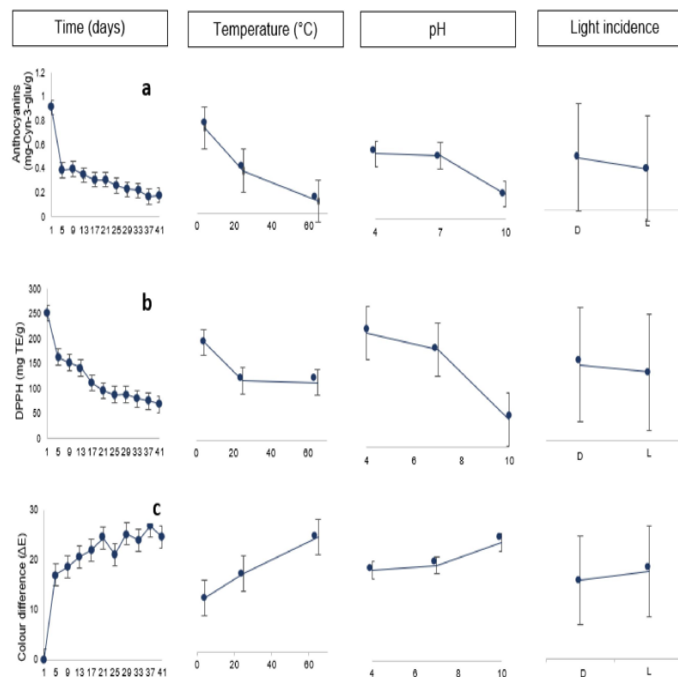


Figura 2. Efecto del tiempo, la temperatura, el pH y la incidencia de la luz sobre los pigmentos bioactivos de los pétalos de la flor de *Cosmos bipinnatus*

durante 41 días de almacenamiento en (a) antocianinas monoméricas (mg de cyn-3-glu g⁻¹), (b) actividad antioxidante por DPPH (mg de TE g⁻¹) y (c) diferencia de color (ΔE).

Fuente: Elaboración propia.

Cinética de degradación de antocianinas

La cinética de degradación de antocianinas en extractos de *C. bipinnatus* se representó gráficamente en función del logaritmo de la concentración frente al tiempo, y se utilizó un análisis de regresión lineal para determinar la constante de velocidad de degradación (k) y el tiempo de vida media ($t_{1/2}$) (Figura 3). La degradación de antocianinas a lo largo del tiempo se ajustó a una ecuación de primer orden, con variaciones en el coeficiente de regresión lineal ($0.7739 < R^2 < 0.9871$) (Tabla 2). Entre los factores evaluados, la temperatura tuvo el mayor impacto en la degradación de antocianinas (Figura 3A), mostrando una relación directamente proporcional entre el aumento de temperatura y la degradación de antocianinas. Cabe destacar que la temperatura de 65 °C provocó la degradación más extensa desde el primer día. Por el contrario, cuando las muestras se expusieron a diferentes valores de pH (Figura 3B), un aumento de la alcalinidad (pH 10) promovió la degradación de antocianinas a los pocos días de almacenamiento.

Los parámetros cinéticos de la degradación de antocianinas se presentan en la Tabla 2. Los resultados indican que el aumento de la temperatura conlleva un aumento de la constante de velocidad (k) y una disminución de los valores de vida media ($t_{1/2}$); se observaron tendencias similares con el aumento del pH y la exposición a la luz. En general, los valores de k y $t_{1/2}$ demuestran que la estabilidad de las antocianinas disminuye principalmente con el aumento de la temperatura y el pH. Este comportamiento se observó con mayor intensidad en muestras a 65 °C y pH 10. Por el contrario, el valor más alto de $t_{1/2}$ (63 días) se determinó a 4 °C, pH 4 y en oscuridad, lo que indica una protección óptima de las antocianinas (64.4 %) en estas condiciones. El análisis de los tratamientos a diferentes temperaturas reveló que los valores de $t_{1/2}$ a 4 °C oscilaron entre 10.4 y 63 días, a 25 °C entre 6.9 y 35.3 días, y a 65 °C entre 0.7 y 7.8 días, lo que indica que las antocianinas son menos estables a temperaturas elevadas.

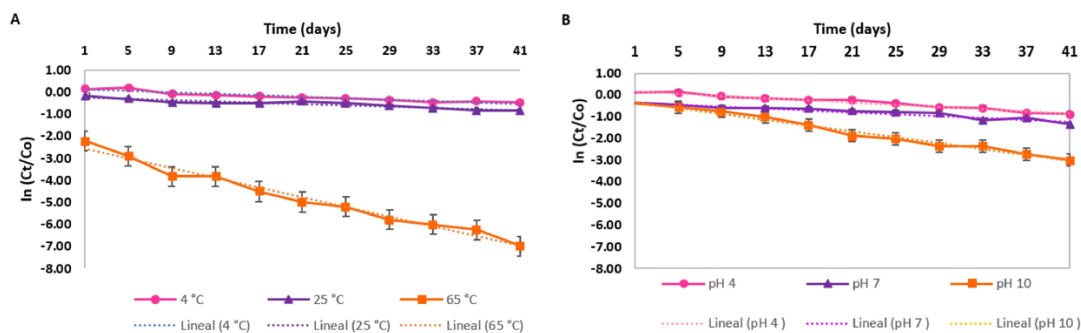


Figura 3. Cinética de degradación de antocianinas en extractos de pétalos de flores de *Cosmos bipinnatus*.

A) Efecto de la temperatura (4, 25 y 65 °C). B) Efecto del pH (4, 7 y 10). Las líneas discontinuas representan el comportamiento predicho por el modelo cinético de primer orden.

Fuente: Elaboración propia.

La exposición al tratamiento térmico puede desencadenar una multitud de mecanismos, incluyendo la glicosilación, el ataque nucleofílico por agua, la escisión y la polimerización, que pueden conducir a la degradación de las antocianinas. Como resultado, tanto la intensidad del color, determinada por las antocianinas monoméricas, como su cantidad disminuyen con el tiempo y la temperatura, mientras que la cantidad de pigmentos marrones resultantes del pardeamiento o la polimerización aumenta (Jiang *et al.*, 2019; Enaru *et al.*, 2021). Este fenómeno de degradación térmica se ha observado en purés de arándanos sometidos a procesamiento hidrotermodinámico (HTD) a temperaturas que oscilan entre 70 y 105 °C. Los resultados muestran una disminución significativa de la vida media ($t_{1/2}$) de 346.6 a 38.7 minutos, lo que indica que las antocianinas son más susceptibles a la degradación térmica a temperaturas superiores a 95 °C. Esta mayor sensibilidad puede atribuirse a varios factores, como la formación de pigmentos de melanoidina, así

como a reacciones de condensación, copigmentación y degradación que dan lugar a la formación de chalcona, que se degrada posteriormente a productos marrones durante el tratamiento térmico (Martynenko & Chen, 2016).

Con respecto a la influencia del pH en la estabilidad de las antocianinas, los valores de vida media ($t_{1/2}$) variaron de 2.2 a 63 días a pH 4, de 1.3 a 35.3 días a pH 7 y de 0.7 a 21.8 días a pH 10. Estos resultados sugieren que el aumento del valor de pH acelera la degradación de las antocianinas, lo que lleva a una disminución en la intensidad del color o un cambio en el color, lo que afecta la aplicación y la vida útil del pigmento. Para contrarrestar este fenómeno y mejorar la estabilidad de las antocianinas, los mecanismos de copigmentación intermolecular, como las asociaciones entre antocianinas y fenoles, flavonoides, polisacáridos, aminoácidos, alcaloides o ácidos orgánicos, pueden prevenir la hidratación del catión flavilio y la posterior formación de chalcona (Enaru *et al.*, 2021).

Tabla 2. Parámetros de la cinética de degradación de antocianinas de los pétalos de la flor de *Cosmos bipinnatus* por efecto de la temperatura, el pH y la incidencia de la luz.

Temperatura	pH	Incidencia de luz	K (días ⁻¹)	$t_{1/2}$ (días)	r^2	Degradación de antocianinas (%)
4 °C	4	Oscuridad	0.01 ± 0.001^f	63.0 ± 5.4^a	0.9069	35.6
		Luz	0.02 ± 0.003^f	32.4 ± 5.2^b	0.9676	57.8
	7	Oscuridad	0.02 ± 0.007^f	35.3 ± 2.1^b	0.8543	51.8
		Luz	0.03 ± 0.011^f	32.6 ± 13^b	0.9227	74.5
	10	Oscuridad	0.03 ± 0.004^f	$21.8 \pm 2.9^{b,c}$	0.9025	74
		Luz	0.07 ± 0.019^f	$10.4 \pm 2.7^{c,d}$	0.9871	94.5
25 °C	4	Oscuridad	0.02 ± 0.006^f	35.3 ± 10.9^b	0.8821	56.7
		Luz	0.03 ± 0.001^f	$21.5 \pm 1.3^{b,c}$	0.7739	100
	7	Oscuridad	0.05 ± 0.007^f	$13.4 \pm 2.2^{c,d}$	0.8252	93.6
		Luz	0.08 ± 0.039^f	$9.6 \pm 4.7^{c,d}$	0.9498	100
	10	Oscuridad	0.05 ± 0.007^f	$13.1 \pm 1.8^{c,d}$	0.9023	94.5
		Luz	$0.1 \pm 0.026^{e,f}$	6.9 ± 1.8^d	0.9519	97.3

Continuación

Tabla 2. Parámetros de la cinética de degradación de antocianinas de los pétalos de la flor de *Cosmos bipinnatus* por efecto de la temperatura, el pH y la incidencia de la luz.

Temperatura	pH	Incidencia de luz	K (días ⁻¹)	$t_{1/2}$ (días)	r^2	Degradación de antocianinas (%)
65 °C	4	Oscuridad	0.21 ± 0.001 ^{d,e}	3.2 ± 0.02 ^d	0.9413	100
		Luz	0.33 ± 0.05 ^d	2.2 ± 0.3 ^d	0.9825	100
	7	Oscuridad	0.50 ± 0.01 ^c	1.3 ± 0.3 ^d	0.9264	100
		Luz	0.89 ± 0.11 ^a	7.8 ± 0.9 ^{c,d}	0.9000	100
	10	Oscuridad	0.78 ± 0.15 ^b	0.9 ± 0.19 ^d	0.9000	100
		Luz	0.93 ± 0.02 ^a	0.7 ± 0.1 ^d	0.8256	89

Los resultados se expresan como la media ± desviación estándar. Los valores seguidos de letras diferentes representan diferencias significativas ($p \leq 0.05$).

Además, los mecanismos de copigmentación intramolecular, que involucran asociaciones entre antocianinas, también pueden contribuir a la estabilidad. Se ha observado que la presencia de grupos acilo y un mayor número de grupos metoxilo en el anillo B mejora la estabilidad de las antocianinas, mientras que un aumento en los grupos hidroxilo o la ausencia de grupos acilo disminuye la estabilidad (Escribano-Bailón *et al.*, 2004). De manera similar, Hou *et al.* (2013) encontraron que las antocianinas de los extractos de arroz negro (*Oryza sativa* L.) se degradaron más rápidamente con el aumento de la temperatura (100 °C) y a valores de pH superiores a 5. Otros estudios también han investigado el impacto del pH en la estabilidad de las antocianinas. Cisse *et al.* (2009) encontraron que un valor de pH mayor de 3 reduce significativamente la estabilidad de las antocianinas en extractos de jugo de naranja sanguina (*Citrus sinensis*). De manera similar, Türker y Erdogdu (2006) informaron que las antocianinas extraídas de zanahoria negra (*Daucus carota* var. L.) son más estables a pH 2, y que el aumento del pH puede conducir a una menor estabilidad del pigmento. Un estudio sobre col lombarda demostró que las antocianinas aciladas son más estables que sus contrapartes no aciladas en condiciones de pH 7 y 50 °C, lo que contribuye a mantener el color azul (Fenger *et al.*, 2020). Si bien la estabilidad de las antocianinas se ha estudiado ampliamente, es evidente que su estabilidad también se ve influenciada por la fuente vegetal de la que se extraen. Por lo tanto, para considerar una posible fuente de obtención de estos pigmentos, se requieren estudios específicos según la fuente vegetal. Cabe destacar la falta de investigación sobre la estabilidad de los pigmentos de *Cosmos bipinnatus* y su posible uso como colorantes naturales en la industria alimentaria.

Color polimérico

El color polimérico es una medida que indica el grado de polimerización de las antocianinas, el cual también está relacionado con su estabilidad. La degradación de las antocianinas siempre va acompañada de la formación de color polimérico (Martynenko & Chen, 2016). La Tabla 3 muestra diferencias significativas ($p < 0.05$) en el porcentaje de color polimérico al día 0 y su formación tras 41 días de almacenamiento para los diferentes tratamientos. Los efectos del pH y la temperatura en la formación de color polimérico también son evidentes. Cuando las muestras se expusieron a pH 4, independientemente de la temperatura, se favoreció la reacción de polimerización de las antocianinas, lo que resultó en un aumento del color polimérico durante el almacenamiento (del 32.19 al 96.19 %). Esta polimerización se considera prioritaria en condiciones ácidas (pH 4), ya que el catión flavilio se encuentra en su forma más estable, lo que le permite polimerizar con otras antocianinas, compuestos fenólicos (ácidos fenólicos, flavonoides, taninos) o compuestos no fenólicos (aminoácidos, ácidos orgánicos) presentes en el entorno (Türkyılmaz & Özkan, 2012; Sinela *et al.*, 2017). Sin embargo, aumentar el pH a 7 y 10 conduce a reacciones adicionales, como la degradación, la hidrólisis, la glicosilación y las reacciones de oxidación, que reducen la formación de color polimérico. En comparación con las muestras a pH 4, las condiciones alcalinas dan como resultado una menor formación de color polimérico (a pH 7 del 22.37 al 83.59 % y a pH 10 del 22.44 al 31.95 %, respectivamente). Esta diferencia en el comportamiento puede atribuirse a la rápida degradación de las antocianinas en condiciones alcalinas y altas temperaturas, lo que conduce a la apertura del anillo de pirilio, la formación de chalconas y productos de degradación marrones, como los glucósidos cumáricos, y la hidrólisis de la fracción de azúcar de las antocianinas para formar antocianidinas, aldehídos y derivados del ácido benzoico, lo que resulta en la pérdida del pigmento original (Seeram *et al.*, 2001; Patras *et al.*, 2010).

Danişman *et al.* (2015), Martynenko y Chen (2016) y Ngamwonglumlert *et al.* (2017) observaron que temperaturas superiores a 60 °C provocan una disminución de las antocianinas monoméricas y un aumento de la formación de color polimérico. Este fenómeno implica la formación de una pseudobase de carbinol incolora y la posterior apertura del anillo de pirilio para formar chalconas, que finalmente se transforman en un producto de degradación marrón. En extractos de boniato morado y zanahoria morada almacenados durante 134 días a valores de pH superiores a 4.0, Cevallos-Casal y Cisneros-Zevallos (2004) encontraron que la degradación de las antocianinas provocó cambios de color de morado a azul, después a marrón y finalmente a amarillo. Según Seeram *et al.* (2001), el aumento del pH a 7 o 10, combinado con altas temperaturas, provoca una rápida degradación de las antocianinas en cerezas (*Prunus cerasus* L. cv. Balaton) a derivados del ácido benzoico. Además, Gössinger *et al.* (2009) informaron un efecto positivo significativo del preenfriado de fresas (*Fragaria ananassa*, cultivar Elsanta) en la estabilidad del color de los néctares de puré, que pueden almacenarse durante más de 12 meses. También descubrieron que el almacenamiento en frío a 4 °C es un método eficaz para estabilizar el color de los néctares de fresa.

Efecto del almacenamiento sobre la actividad antioxidante

Como se muestra en la Figura 2b, durante el almacenamiento, los tratamientos a pH 4 y 7 mostraron una menor pérdida de actividad antioxidante, mientras que los extractos a pH 10 mostraron una drástica pérdida de actividad. La retención de la capacidad antioxidante durante el almacenamiento puede atribuirse a la formación de copigmentos (Tsai *et al.*, 2004), que compensan la pérdida de antocianinas monoméricas, o a la formación de productos donantes de hidrógeno que inhiben la reacción en cadena de los radicales libres, contribuyendo así al efecto reductor del DPPH. Estos resultados concuerdan con la tendencia observada por Tsai y Huang (2004) para extractos etanólicos acidificados de flores de *Hibiscus sabdariffa* L. tras el tratamiento térmico (90 °C) durante 147 horas, que mostró una reducción del 18-43 % en el DPPH. De forma similar, Chaovanalikit y Wrolstad (2004) observaron que la actividad antioxidante de las cerezas enlatadas (*Prunus cerasus* L.), medida mediante la capacidad de absorción de radicales de oxígeno (ORAC), aumentó tras 5 meses de almacenamiento a 22 °C. Hager *et al.* (2008) observaron un aumento de los valores de ORAC del 32 % y el 27 % tras 3 y 6 meses de almacenamiento, respectivamente, en frambuesas negras (*Rubus occidentalis* L.) en almíbar. Por el contrario, los tratamientos a pH 10 mostraron una menor actividad antioxidante al final del almacenamiento, probablemente relacionada con la degradación de las antocianinas asociada al efecto de la temperatura.

Tabla 3. Influencia de los factores degradativos, temperatura, pH e incidencia de la luz sobre el color polimérico en extractos de pétalos de flores de *Cosmos bipinnatus* durante 41 días de almacenamiento.

Temperatura	pH	Incidencia de luz	Color polimérico (%)	
			Día 0	Día 41
4 °C	4	Oscuridad	32.19 ± 0.31 ^f	91.69 ± 1.25 ^{a,b}
		Luz	32.19 ± 0.31 ^f	96.19 ± 2.05 ^a
	7	Oscuridad	22.37 ± 2.58 ^g	29.64 ± 0.42 ^f
		Luz	22.37 ± 2.58 ^g	28.35 ± 2.09 ^f
	10	Oscuridad	22.44 ± 2.22 ^g	1.65 ± 0.62 ^j
		Luz	22.44 ± 2.22 ^g	4.19 ± 0.79 ^{ij}
25 °C	4	Oscuridad	32.19 ± 0.31 ^f	86.47 ± 0.05 ^{b,c}
		Luz	32.19 ± 0.31 ^f	95.85 ± 2.01 ^a
	7	Oscuridad	22.37 ± 2.58 ^g	57.6 ± 2.24 ^e
		Luz	22.37 ± 2.58 ^g	58.13 ± 3.74 ^{d,e}
	10	Oscuridad	22.44 ± 2.22 ^g	31.95 ± 2.69 ^f
		Luz	22.44 ± 2.22 ^g	15.64 ± 0.19 ^h

Continuación

Tabla 3. Influencia de los factores degradativos, temperatura, pH e incidencia de la luz sobre el color polimérico en extractos de pétalos de flores de *Cosmos bipinnatus* durante 41 días de almacenamiento.

Temperatura	pH	Incidencia de luz	Color polimérico (%)	
			Día 0	Día 41
65 °C	4	Oscuridad	32.19 ± 0.31 ^f	95.36 ± 0.75 ^a
		Luz	32.19 ± 0.31 ^f	95.18 ± 0.49 ^a
	7	Oscuridad	22.37 ± 2.58 ^g	63.97 ± 2.05 ^d
		Luz	22.37 ± 2.58 ^g	83.59 ± 1.51 ^c
	10	Oscuridad	22.44 ± 2.22 ^g	12.14 ± 0.02 ^h
		Luz	22.44 ± 2.22 ^g	9.85 ± 1.37 ^{h, i}

Los resultados se expresan como la media ± desviación estándar. Los valores seguidos de letras diferentes representan diferencias significativas ($p \leq 0.05$).

Análisis de la estabilidad del color

El desarrollo de pigmentos naturales para su posible uso en alimentos requiere un análisis de la estabilidad del color antes de su aplicación. En este estudio, se emplearon el análisis del espacio de color CIE Lab y la diferencia de color (ΔE) para determinar el comportamiento del pigmento durante 41 días de almacenamiento en diversas condiciones de exposición a la luz, temperatura y pH (Tabla 4).

Tabla 4. Efecto de los factores degradativos, temperatura, pH e incidencia de la luz sobre el color en extractos de pétalos de flores de *Cosmos bipinnatus* durante 41 días de almacenamiento.

Temperatura (°C)	pH	Día 0				Día 41			
		L*	a	b	ΔE	L*	a	b	ΔE
Oscuridad									
4	4	25.87	28.25	-4.23	0	30.39	18.81	-3.52	10.53
		(0.12)	(1.34)	(0.04)		(0.12)	(0.04)	(0.04)	(1.34)
	7	25.25	13.56	-0.92	0	36.51	-0.28	9.60	20.71
		(0.11)	(0.17)	(0.23)		(0.37)	(0.04)	(0.18)	(0.12)
	10	16.70	10.43	9.01	0	36.15	-1.71	12.03	23.12
		(0.14)	(0.13)	(0.17)		(1.04)	(0.16)	(0.21)	(0.94)

Continuación

Tabla 4. Efecto de los factores degradativos, temperatura, pH e incidencia de la luz sobre el color en extractos de pétalos de flores de *Cosmos bipinnatus* durante 41 días de almacenamiento.

Temperatura (°C)	pH	Día 0				Día 41			
		L*	a	b	ΔE	L*	a	b	ΔE
25	4	25.87	28.25	-4.23	0	35.05	5.93	5.73	30.02
		(0.12)	(1.34)	(0.04)		(0.52)	(0.24)	(0.07)	(1.18)
	7	25.25	13.56	-0.92	0	35.63	0.33	15.85	28.67
		(0.11)	(0.17)	(0.23)		(0.46)	(0.05)	(0.14)	(1.98)
	10	16.70	10.43	9.01	0	36.52	-0.10	12.10	21.65
		(0.14)	(0.13)	(0.17)		(0.74)	(0.08)	(0.52)	(1.12)
65	4	25.87	28.25	-4.23	0	30.84	2.47	19.74	38.53
		(0.12)	(1.34)	(0.04)		(0.28)	(0.06)	(0.04)	(0.87)
	7	25.25	13.56	-0.92	0	36.41	1.32	22.22	28.67
		(0.11)	(0.17)	(0.23)		(0.31)	(0.14)	(0.39)	(0.59)
	10	16.70	10.43	9.01	0	35.79	2.09	28.99	28.86
		(0.14)	(0.13)	(0.17)		(0.28)	(0.04)	(1.61)	(0.48)
Luz									
4	4	25.87	28.25	-4.23	0	32.73	8.45	0.39	21.45
		(0.12)	(1.34)	(0.04)		(0.25)	(0.13)	(0.06)	(1.47)
	7	25.25	13.56	-0.92	0	40.31	-1.05	11.17	24.21
		(0.11)	(0.17)	(0.23)		(0.97)	(0.17)	(0.93)	(1.15)
	10	16.70	10.43	9.01	0	33.17	-2.35	23.02	25.11
		(0.14)	(0.13)	(0.17)		(0.23)	(0.15)	(2.15)	(0.17)
25	4	25.87	28.25	-4.23	0	42.89	3.72	4.42	31.08
		(0.12)	(1.34)	(0.04)		(0.37)	(0.10)	(0.12)	(1.27)
	7	25.25	13.56	-0.92	0	39.55	0.77	17.31	28.67
		(0.11)	(0.17)	(0.23)		(0.15)	(0.01)	(0.36)	(0.22)
	10	16.70	10.43	9.01	0	27.59	4.32	28.08	22.79
		(0.14)	(0.13)	(0.17)		(0.08)	(0.07)	(0.65)	(0.74)
65	4	25.87	28.25	-4.23	0	40.21	0.39	16.62	38.53
		(0.12)	(1.34)	(0.04)		(1.79)	(0.10)	(0.04)	(1.80)
	7	25.25	13.56	-0.92	0	44.77	-0.27	11.81	28.67
		(0.11)	(0.17)	(0.23)		(0.40)	(0.02)	(0.53)	(1.47)
	10	16.70	10.43	9.01	0	38.33	-1.26	21.27	21.65
		(0.14)	(0.13)	(0.17)		(0.28)	(0.03)	(0.16)	(0.04)

Para las 18 muestras estudiadas, se observó un aumento significativo en el valor L^* a partir del día 2, que se mantuvo hasta el final del almacenamiento. Este aumento en L^* también fue reportado por Montibeller *et al.* (2018) al evaluar la estabilidad de las antocianinas de residuos de uva aplicados como colorante alimentario en kéfir y agua carbonatada. Este comportamiento puede estar relacionado con la degradación de las antocianinas en el tiempo, lo que resulta en la decoloración del pigmento y un aumento en el valor L^* . Por el contrario, el parámetro a^* disminuyó significativamente con el tiempo, el mayor cambio observado fue en el pigmento con pH 10 expuesto a la luz y la oscuridad, así como a las tres temperaturas. Según Hubbermann *et al.* (2006), la disminución en el valor a^* está asociada con la pérdida de antocianinas y la consiguiente pérdida de color rojo. Este cambio se puede explicar por el equilibrio entre los cuatro cromóforos de antocianinas en soluciones acuosas y la posterior reacción de hidratación del catión flavilio, que implica la entrada de una molécula de agua, la liberación de un protón y el ataque nucleofílico del hidroxilo del agua, que neutraliza la carga y hace que desaparezca el color rojo. Por otro lado, el parámetro b^* aumentó con el tiempo, esto fue evidente en todos los tratamientos, mostrando un cambio en el color azul ($-b^*$) hacia amarillo ($+b^*$). Este fenómeno está relacionado con la formación de chalconas favorecida por el aumento de la temperatura y el pH, que corresponde a los resultados observados en las muestras sometidas a pH 7 y 10 a 25 y 65 °C. En cuanto a la diferencia de color (ΔE) para todas las muestras a pH 7 y 10, se observó un cambio marcado a partir del día 5 en adelante, lo que indica inestabilidad del color en estas condiciones (Figura 2c). En concreto, en los tratamientos a pH 4 se produjeron cambios significativos a lo largo del tiempo: a 4 °C se observó una fuerte diferencia seguida de un cambio de color a partir del día 21; a 25 °C la diferencia de color apareció a partir del día 13; y a 65 °C la diferencia de color fue evidente a partir del día 2.

Conclusiones

El presente estudio propone el uso del extracto hidroetanólico de pétalos de flor de *Cosmos bipinnatus* como pigmento natural con propiedades bioactivas, atribuidas a su alto contenido de antocianinas monoméricas. La caracterización fitoquímica utilizando diversos solventes polares (acuoso, hidroetanólico e hidrometanólico) confirmó la idoneidad del extracto hidroetanólico. La estabilidad del extracto se evaluó bajo diferentes condiciones, incluyendo pH (4, 7 y 10), temperatura (4, 25 y 65 °C) y radiación luminosa (luz y oscuridad). Los resultados mostraron que la degradación de las antocianinas sigue una cinética de reacción de primer orden, con una vida media máxima de 63 días. Con el tiempo (41 días), la estabilidad de las antocianinas monoméricas disminuyó, mientras que la formación de color polimérico aumentó con el aumento de la temperatura y el pH. El cambio de color más significativo (de rosa a amarillo), así como la pérdida de actividad antioxidante, ocurrió en los tratamientos a pH 10 y 65 °C, tan solo unos días después de la exposición. En cambio, las antocianinas mostraron mayor estabilidad y conservaron su color pigmentario en condiciones de pH 4, 4 °C y oscuridad. Estos hallazgos sugieren que estas condiciones deben considerarse al desarrollar futuros alimentos funcionales o al utilizar el extracto como colorante funcional.

Contribución de los autores

Conceptualización del trabajo, HJC, OVJ; desarrollo de la metodología, ALAN, BGL; gestión del software, ALAN; validación experimental, HJC, BGL; análisis de resultados, ALAN, OVJ; gestión de datos, ALAN, OVJ; redacción y preparación del manuscrito, redacción, revisión y edición, ALAN, HJC, BGL; gestión del proyecto y búsqueda de financiación, OVJ.

Todos los autores de este manuscrito han leído y aceptado la versión publicada.

Financiamiento

Esta investigación fue financiada por la Secretaría de Investigación y Estudios Avanzados de la UAEMéx a través del proyecto 4989/2020CIB.

Agradecimientos

El primer autor agradece al Consejo Mexicano de Ciencia y Tecnología por la beca recibida a través del Programa de Cátedras de Investigación COMECYT EDOMEX para la convocatoria 2022.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Referencias

- Abdul Rahman, H., Saari, N., Abas, F., Ismail, A., Mumtaz, M. W., & Abdul Hamid, A. (2017). Anti-obesity and antioxidant activities of selected medicinal plants and phytochemical profiling of bioactive compounds. *International Journal of Food Properties*, 20(11), 2616-2629. <https://doi.org/10.1080/10942912.2016.1247098>
- Amamiya, K., & Iwashina, T. (2016). Qualitative and quantitative analysis of flower pigments in chocolate Cosmos, *Cosmos atrosanguineus*, and its hybrids. *Natural Product Communications*, 11(1), 1934578X1601100122. <https://doi.org/10.1177/1934578X1601100122>
- Amchova, P., Kotolova, H., & Ruda-Kucerova, J. (2015). Health safety issues of synthetic food colorants. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 73(3), 914-922. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2015.09.026>
- Bijani, S., Gharari, Z., Ahmadnia, A., Danafar, H. & Sharafi, A. (2021). A comparative study of apigenin content and antioxidant potential of *Cosmos bipinnatus* Transgenic Root Culture. *Pharmaceutical and Biomedical Research*, 7(2), 87-96. <http://pbr.mazums.ac.ir/article-1-363-en.html>
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E. & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, 28(1), 25–30. [https://doi.org/10.1016/0023-6460\(95\)00060-4](https://doi.org/10.1016/0023-6460(95)00060-4)

- [org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)
- Brownmiller, C., Howard, L. R., & Prior, R. L. (2008). Processing and storage effects on monomeric anthocyanins, percent polymeric color, and antioxidant capacity of processed blueberry products. *Journal of Food Science*, 73(5), H72-H79. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2008.00761.x>
- Butts-Wilmsmeyer, C. J., Mumm, R. H., Rausch, K. D., Kandhola, G., Yana, N. A., Happ, M. Ostezan, A., Wasmund, M., & Bohn, M. O. (2018). Changes in phenolic acid content in maize during food product processing. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 66(13), 3378-3385. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.7b05242>
- Cevallos-Casals, B. A., & Cisneros-Zevallos, L. (2004). Stability of anthocyanin-based aqueous extracts of Andean purple corn and red-fleshed sweet potato compared to synthetic and natural colorants. *Food Chemistry*, 86(1), 69-77. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2003.08.011>
- Chaovanalikit, A., & Wrolstad, R. E. (2004). Total anthocyanins and total phenolics of fresh and processed cherries and their antioxidant properties. *Journal of Food Science*, 69(1), FCT67-FCT72. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2004.tb17858.x>
- Chaves, J. O., De Souza, M. C., Da Silva, L. C., Lachos-Perez, D., Torres-Mayanga, P. C., Machado, A. P. D. F., Foster-Carneiro, T., Vázquez-Espinosa, M., González-de-Peredo, A. V., Barbero, G. F. & Rostagno, M. A. (2020). Extraction of flavonoids from natural sources using modern techniques. *Frontiers in Chemistry*, 8, 507887. <https://doi.org/10.3389/fchem.2020.507887>
- Chensom, S., Okumura, H., & Mishima, T. (2019). Primary screening of antioxidant activity, total polyphenol content, carotenoid content, and nutritional composition of 13 edible flowers from Japan. *Preventive Nutrition and Food Science*, 24(2), 171. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6615357/>
- Cisse, M., Vaillant, F., Acosta, O., Dhuique-Mayer, C., & Dornier, M. (2009). Thermal degradation kinetics of anthocyanins from blood orange, blackberry, and roselle using the Arrhenius, Eyring, and ball models. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(14), 6285–6291. <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf900836b>
- Danişman, G., Arslan, E., & Toklucu, A. K. (2015). Kinetic analysis of anthocyanin degradation and polymeric colour formation in grape juice during heating. *Czech Journal of Food Sciences*, 33(2), 103-108. scholar.google.es/
- Delgado-Vargas, F., Jiménez, A. R., & Paredes-López, O. (2000). Natural pigments: carotenoids, anthocyanins, and betalains characteristics, biosynthesis, processing, and stability. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 40(3), 173-289. <https://doi.org/10.1080/10408690091189257>
- de Oliveira, Z. B., Silva da Costa, D. V., da Silva dos Santos, A. C., da Silva Júnior, A. Q., de Lima Silva, A., de Santana, R. C. F., ... & da Silva, S. K. R. (2024). Synthetic Colors in Food: A Warning for Children's Health. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 21(6), 682. <https://doi.org/10.3390/ijerph21060682>
- Dian-Nashiela, F., Noriham, A., Nooraain, H., & Azizah., A. H. (2015). Antioxidant activity of herbal tea prepared from *Cosmos caudatus* leaves at different maturity stages. *International Food Research Journal*, 22(3), 1189 – 1194. [http://www.ifrj.upm.edu.my/22%20\(03\)%202015/\(43\).pdf](http://www.ifrj.upm.edu.my/22%20(03)%202015/(43).pdf)
- Enaru, B., Dreţcanu, G., Pop, T. D., Stănilă, A., & Diaconeasa, Z. (2021). Anthocyanins: Factors

- affecting their stability and degradation. *Antioxidants*, 10(12), 1967. <https://doi.org/10.3390/antiox10121967>
- Escribano-Bailón, M. T., Santos-Buelga, C., & Rivas-Gonzalo, J. C. (2004). Anthocyanins in cereals. *Journal of Chromatography A*, 1054(1–2), 129–141. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2004.08.152>
- Fenger, J. A., Robbins, R. J., Collins, T. M., & Dangles, O. (2020). The fate of acylated anthocyanins in mildly heated neutral solution. *Dyes and Pigments*, 178, 108326. <https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2020.108326>
- Fernandes, L., Casal, S., Pereira, J. A., Malheiro, R., Rodrigues, N., Saraiva, J. A., & Ramalhosa, E. (2019). Borage, calendula, cosmos, JohnnyJumpup, and pansy flowers: Volatiles, bioactive compounds, and sensory perception. *European Food Research and Technology*, 245(3), 593–606. <https://doi.org/10.1007/s00217-018-3183-4>
- Gamage, G. C. V., & Choo, W. S. (2023). Thermal and pH stability of natural anthocyanin colourant preparations from black goji berry. *Food Chemistry Advances*, 2, 100236. <https://doi.org/10.1016/j.focha.2023.100236>
- Giusti, M. M. & Wrolstad, R. E. (2001). Characterization and measurement of anthocyanins by UV-visible spectroscopy. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*, (1), F1-2. <https://doi.org/10.1002/0471142913.faf0102s00>
- Givaudan Sense Colour® (2023, 15 de diciembre) <https://www.ddwcolor.com/>
- Gössinger, M., Moritz, S., Hermes, M., Wendelin, S., Scherbichler, H., Halbwirth, H., Stich, K., & Berghofer, E. (2009). Effects of processing parameters on colour stability of strawberry nectar from puree. *Journal of Food Engineering*, 90(2), 171-178. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2008.06.018>
- Gutiérrez, D., Mendoza, S., Serrano, V., Bah, M., Pelz, R., Balderas, P., & Leon, F. (2008). Proximate composition, mineral content, and antioxidant properties of 14 Mexican weeds used as fodder. *Weed Biology and Management*, 8(4), 291-296. <https://doi.org/10.1111/j.1445-6664.2008.00307.x>
- Hager, A., Howard, L. R., Prior, R. L., & Brownmiller, C. (2008). Processing and storage effects on monomeric anthocyanins, percent polymeric color, and antioxidant capacity of processed black raspberry products. *Journal of Food Science*, 73(6), H134-H140. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2008.00855.x>
- Hou, Z., Qin, P., Zhang, Y., Cui, S., & Ren, G. (2013). Identification of anthocyanins isolated from black rice (*Oryza sativa* L.) and their degradation kinetics. *Food Research International*, 50(2), 691-697. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.07.037>
- Hu, N., Zheng, J., Li, W., & Suo, Y. (2014). Isolation, stability, and antioxidant activity of anthocyanins from *Lycium ruthenicum* Murray and *Nitraria tangutorum* Bobr of Qinghai-Tibetan plateau. *Separation Science and Technology*, 49(18), 2897-2906. <https://doi.org/10.1080/01496395.2014.943770>
- Hubbermann, E. M., Heins, A., Stöckmann, H., & Schwarz, K. (2006). Influence of acids, salt, sugars and hydrocolloids on the colour stability of anthocyanin rich black currant and elderberry concentrates. *European Food Research and Technology*, 223, 83-90. <https://link.springer.com/article/10.1007/s00217-005-0139-2>
- Hurtado, N. H., & Pérez, M. (2014). Identificación, estabilidad y actividad antioxidante de las antocianinas aisladas de la cáscara del fruto de capulí (*Prunus serotina* spp. capulí (Cav)

- Mc. Vaug Cav). *Información Tecnológica*, 25(4), 131-140. <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-07642014000400015>
- Jiang, T., Mao, Y., Sui, L., Yang, N., Li, S., Zhu, Z... & He, Y. (2019). Degradation of anthocyanins and polymeric color formation during heat treatment of purple sweet potato extract at different pH. *Food Chemistry*, 274, 460-470. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.07.141>
- Krapfenbauer, G. H., Frydoonfar, H., Heidary, R., Jameei, R., & Zare, S. (2006). The effect of light, temperature, pH and species on stability of anthocyanin pigments in four *Berberis* species. *Pakistan Journal of Nutrition*, 5(1), 90-92. <https://citeseerx.ist.psu.edu/document?repid=rep1&type=pdf&doi=634f4ea76298fc08577160e664412e683fa5bbe7>
- Lazze, M. C., Pizzala, R., Savio, M., Stivala, L. A., Prosperi, E. & Bianchi, L. (2003). Anthocyanins protect against DNA damage induced by ter-butyl-hydroperoxide in rat smooth muscle and hepatoma cells. *Mutation Research*, 535(1), 103-115. [https://doi.org/10.1016/S1383-5718\(02\)00285-1](https://doi.org/10.1016/S1383-5718(02)00285-1)
- López, L.T. (2002) Flavonoides. *Fitoterapia* 21(4), 108-114.
- Martins, N., Roriz, C. L., Morales, P., Barros, L., & Ferreira, I. C. (2016). Food colorants: Challenges, opportunities and current desires of agro-industries to ensure consumer expectations and regulatory practices. *Trends in Food Science & Technology*, 52, 1-15. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.03.009>
- Martynenko, A., & Chen, Y. (2016). Degradation kinetics of total anthocyanins and formation of polymeric color in blueberry hydrothermodynamic (HTD) processing. *Journal of Food Engineering*, 171, 44-51. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2015.10.008>
- Medina-Torres, N., Ayora-Talavera, T., Espinosa-Andrews, H., Sánchez-Contreras, A., & Pacheco, N. (2017). Ultrasound assisted extraction for the recovery of phenolic compounds from vegetable sources. *Agronomy*, 7(3), 47. <https://doi.org/10.3390/agronomy7030047>
- Montibeller, M. J., de Lima Monteiro, P., Tupuna-Yerovi, D. S., Rios, A. D. O., & Manfro, V. (2018). Stability assessment of anthocyanins obtained from skin grape applied in kefir and carbonated water as a natural colorant. *Journal of Food Processing and Preservation*, 42(8), e13698. <https://doi.org/10.1111/jfpp.13698>
- Morimitsu, Y., Kubota, K., Tashiro, T., Hashizume, E., Kamiyo, T. & Osawa, T. (2002). Inhibitory effect of anthocyanins and colored rice on diabetic cataract formation in the rat lenses. *International Congress Series*, 1245(6), 503-508. [https://doi.org/10.1016/S0531-5131\(02\)00919-6](https://doi.org/10.1016/S0531-5131(02)00919-6)
- Mota, I. G. C., Neves, R. A. M. D., Nascimento, S. S. D. C., Maciel, B. L. L., Morais, A. H. D. A., & Passos, T. S. (2023). Artificial dyes: Health risks and the need for revision of international regulations. *Food Reviews International*, 39(3), 1578-1593. <https://doi.org/10.1080/87559129.2021.1934694>
- Ngamwonglumlert, L., Devahastin, S., & Chiewchan, N. (2017). Natural colorants: Pigment stability and extraction yield enhancement via utilization of appropriate pretreatment and extraction methods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57(15), 3243-3259. <https://doi.org/10.1080/10408398.2015.1109498>
- Noda, Y., Kaneyuki, T., Mori, A., & Packer, L. (2002). Antioxidant activities of pomegranate fruit extract and its anthocyanidins: delphinidin, cyanidin, and pelargonidin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(1), 166-171. <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf0108765>
- Orozco-Villafuerte, J., Escobar-Rojas, A., Buendía-González, L., García-Morales, C., Hernández-Jaimes, C., & Alvarez-Ramirez, J. (2018). Evaluation of the protection and release rate of

- bougainvillea (*Bougainvillea spectabilis*) extracts encapsulated in alginate beads. *Journal of Dispersion Science and Technology*. <https://doi.org/10.1080/01932691.2018.1496834>
- Patras, A., Brunton, N. P., O'Donnell, C., Tiwari, B. K. (2010). Effect of thermal processing on anthocyanin stability in foods; mechanisms and kinetics of degradation. *Trends in Food Science and Technology*, 21 (1), 3-11. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2009.07.004>
- Pekal, A. & Pyrzynska, K. (2014). Evaluation of aluminium complexation reaction for flavonoid content assay. *Food Analytical Methods*, 7(9), 1776–1782. <https://link.springer.com/article/10.1007/s12161-014-9814-x>
- Pellegrini, G., Miller, N. & Rice-Evans, C. A. (1999). Screening of dietary carotenoids and carotenoid-rich fruit extracts for antioxidant activities applying 2, 2'-azinobis (3-ethylenbenzothiazoline-6-sulfonic acid) radical cation decolorization assay. In Packer, L. *Methods in Enzymology, oxidants and antioxidants* (pp. 379-389). Ed. Academic Press, New York. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(99\)99037-7](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99037-7)
- Petrova, I., Petkova, N., & Ivanov, I. (2016). Five edible flowers—valuable source of antioxidants in human nutrition. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*, 8(4), 604-610. scholar.google.es/
- Pires, T. C., Barros, L., Santos-Buelga, C., & Ferreira, I. C. (2019). Edible flowers: Emerging components in the diet. *Trends in Food Science & Technology*, 93, 244-258. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.09.020>
- Phong, H. X., Viet, N. T., Quyen, N. T. N., Van Thinh, P., Trung, N. M., & Ngan, T. T. K. (2022). Phytochemical screening, total phenolic, flavonoid contents, and antioxidant activities of four spices commonly used in Vietnamese traditional medicine. *Materials Today: Proceedings*, 56, A1-A5. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2021.12.142>
- Saint-Cricq de Gaulejac, N., Provost, C., & Vivas, N. (1999). Comparative study of polyphenol scavenging activities assessed by different methods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(2), 425-431. <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf980700b>
- Salinas-Moreno, Y., Rubio-Hernández, D., & Díaz- Velázquez, A. (2005). Extracción y uso de pigmentos del grano de maíz (*Zea Mays* L.) como colorantes en yogur". *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 55(3), 293-298. https://ve.scielo.org/scielo.php?pid=S0004-06222005000300011&script=sci_arttext
- Santos-Buelga, C., Gonzalez-Manzano, S., Dueñas, M., & Gonzalez-Paramas, A. M. (2012). Extraction and isolation of phenolic compounds. *Methods in Molecular Biology*, 864, 427-464. https://doi.org/10.1007/978-1-61779-624-1_17
- Seeram, N. P., Bourquin, L. D., & Nair, M. G. (2001). Degradation products of cyanidin glycosides from tart cherries and their bioactivities. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(10), 4924-4929. <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf0107508>
- Sinela, A., Rawat, N., Mertz, C., Achir, N., Fulcrand, H., & Dornier, M. (2017). Anthocyanins degradation during storage of *Hibiscus sabdariffa* extract and evolution of its degradation products. *Food Chemistry*, 214, 234-241. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.07.071>
- Skerget, M., Kotnik, P., Hadolin, M., Rizner, A., Simonic, M. & Knez, Z. (2005) Phenols, proanthocyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities. *Food Chemistry*, 89(2), 191-198. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.02.025>
- Sulaiman, S. F., Sajak, A. A. B., Ooi, K. L., & Seow, E. M. (2011). Effect of solvents in extracting polyphenols and antioxidants of selected raw vegetables. *Journal of Food Composition and analysis*, 24(4-5), 506-515. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2011.01.020>

- Tan, J. B. L., Lim, Y. Y. & Lee, S. M. (2014). Rhoeo spathacea (Swartz) stearn leaves, a potential natural food colorant. *Journal of Functional Foods*, 7:443– 451. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2014.01.012>
- Tsada, T., Hono, F., Kitoh, J. & Osawa, T. (1999). Protective effects of dietary cyanidin 3-O- β -D-glucoside on liver ischemia-reperfusion injury in rats. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 368(2), 361-366. <https://doi.org/10.1006/abbi.1999.1311>
- Tsai, P. J. & Huang, H. P. 2004. Effect of polymerization on the antioxidant capacity of anthocyanins in roselle. *Food Research International Journal*, 37, 313-318. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2003.12.007>
- Tsai, P., Huang, H., Huang, T. (2004). Relationship between anthocyanin patterns and antioxidant capacity in mulberry wine during storage. *Journal of Food Quality*, 27, 497–5005. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4557.2004.00645.x>
- Türker, N., & Erdogdu, F. (2006). Effect of pH and temperature of extraction medium on effective diffusion coefficient of anthocyanin pigments of black carrot (*Daucus carota* var. L.). *Journal of Food Engineering*, 76(4), 579–583. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2005.06.005>
- Türkyılmaz, M., & Özkan, M. (2012). Kinetics of anthocyanin degradation and polymeric colour formation in black carrot juice concentrates during storage. *International Journal of Food Science & Technology*, 47(11), 2273-2281. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2012.03098.x>
- Wang, S., Lin, T., Man, G., Li, H., Zhao, L., Wu, J., & Liao, X. (2014). Effects of anti-browning combinations of ascorbic acid, citric acid, nitrogen, and carbon dioxide on the quality of banana smoothies. *Food and Bioprocess Technology*, 7(1), 161–173. <https://doi.org/10.1007/s11947-013-1107-7>
- Xu, K., Zhang, M., Fang, Z., & Wang, B. (2021). Degradation and regulation of edible flower pigments under thermal processing: A Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 61(6), 1038-1048. <https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1752142>
- Yang, Z., Han, Y., Gu, Z., Fan, G., & Chen, Z. (2008). Thermal degradation kinetics of aqueous anthocyanins and visual color of purple corn (*Zea mays* L.) cob. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 9(3), 341-347. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2007.09.001>