

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO

DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL

**“CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA DE EXTRACTOS
DE JAMAICA (*Hibiscus sabdariffa* L.) Y EVALUACIÓN
ANTIOXIDANTE DE SUS COMPUESTOS FENÓLICOS”**

T E S I S

QUE COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS EN
CIENCIA Y TECNOLOGÍA AGROALIMENTARIA

PRESENTA:

CÉSAR SÁNCHEZ FERIA



DIRECCIÓN GENERAL ACADÉMICA
DEPARTAMENTO DE SERVICIOS ESCOLARES
UNIDAD DE EXÁMENES PROFESIONALES



JULIO, 2010

Chapingo, Estado de México

**CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA DE EXTRACTOS DE
JAMAICA (*Hibiscus sabdariffa* L.) Y EVALUACIÓN
ANTIOXIDANTE DE SUS COMPUESTOS FENÓLICOS**

Tesis realizada por **César Sánchez Feria** bajo la dirección del Comité Asesor indicado, aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

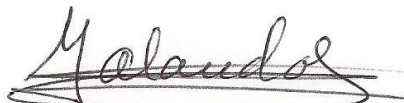
**MAESTRO EN CIENCIAS EN CIENCIA Y
TECNOLOGÍA AGROALIMENTARIA**

DIRECTOR:



M.C. DAVID RUBIO HERNÁNDEZ

CODIRECTORA:



DRA. YOLANDA SALINAS MORENO

ASESORA:



DRA. M. TERESA B. COLINAS DE LEÓN

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por financiar mis estudios.

A la Universidad Autónoma Chapingo, por darme la oportunidad de continuar con mi formación profesional.

Al Consejo Mexiquense de Ciencia y Tecnología (COMECyT), por el apoyo económico otorgado para la culminación de este trabajo de investigación.

Al M. C. David Rubio Hernández por su dirección, disposición y apoyo en todo momento, por confiar en mí y respetar mis decisiones.

A la Dra. Yolanda Salinas Moreno por su dirección, orientación, apoyo, confianza y amistad otorgada.

A la Dra. M. Teresa B. Colinas de León por sus acertadas observaciones durante la realización y revisión del trabajo.

A la secretaria Carmina por facilitarme todos los trámites en mi estancia en la Maestría en Ciencia y Tecnología Agroalimentaria, pero sobre todo por brindarme su amistad que es lo más valioso.

Al Dr. Francisco Caro Velarde por el apoyo brindado en la fase de campo realizada en el estado de Nayarit.

Al Dr. Javier Hernández Morales por el apoyo brindado en la fase de campo realizada en el estado de Guerrero.

DEDICATORIAS

DATOS BIOGRÁFICOS

César Sánchez Feria realizó sus estudios de Licenciatura en la Universidad Autónoma Chapingo en el Departamento de Ingeniería Agroindustrial. Su desarrollo profesional ha sido en investigación en maíz, principalmente, en el Instituto Nacional de Investigación Forestal, Agrícola y Pecuaria (INFAP). Presentó en modalidad de poster el trabajo titulado “Efecto de las zeinas sobre las características de textura de la tortilla” en el Primer Congreso Internacional y Segundo Nacional de Nixtamalización “Del Maíz a la Tortilla” celebrado en el estado de Querétaro del 22 al 25 octubre de 2006. Actualmente forma parte del grupo de trabajo encargado de la elaboración de la norma mexicana de comercialización de jamaica para consumo humano, coordinado por la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA) y el Comité Nacional del Sistema Producto Jamaica.

CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA DE EXTRACTOS DE JAMAICA (*Hibiscus sabdariffa* L.) Y EVALUACIÓN ANTIOXIDANTE DE SUS COMPUESTOS FENÓLICOS

PHYSICOCHEMICAL CHARACTERIZATION OF ROSELLE EXTRACTS (*Hibiscus sabdariffa* L.) AND EVALUATION OF THEIR ANTIOXIDANT PHENOLIC COMPOUNDS

Sánchez-Feria, C.¹; D. Rubio-Hernández² y Salinas-Moreno, Y.²

RESUMEN

El cultivo de jamaica en México se desarrolla principalmente en 11 estados, con alrededor de 19 mil hectáreas cultivadas. En la actualidad la jamaica importada de países como China y Sudán están desplazando a la jamaica nacional del mercado. En el presente trabajo se analizaron muestras de jamaica importada (China) y nacional (Guerrero y Nayarit), con el fin de determinar si existen factores de calidad favorables en las jamaicas nacionales que puedan apoyar su comercialización sobre la jamaica importada. La jamaica China comercializada en mercados locales de la Ciudad de México presentó una humedad superior (15.9 %) a la permitida en el mercado internacional (12 %), en las muestras nacionales fue de 12.2 y 11.9 %, para Guerrero y Nayarit, respectivamente. El contenido de antocianinas en extractos acuosos fue mayor en jamaica China (8011 mg/kg), que en las nacionales (3459.3 a 4201.0 mg/kg). El porcentaje de acidez titulable fue mayor en jamaica nacional (de 3.3-4.3 %), que en la de importación (3.5 %). La actividad antioxidante fue mayor en el extracto de jamaica China. De acuerdo con los parámetros de calidad determinados, la jamaica China presentó mejor calidad que la jamaica nacional. Sin embargo la jamaica producida en Nayarit presentó un porcentaje de acidez mayor, el cual es un parámetro importante que los consumidores emplean para la compra de cálices de jamaica.

Palabras clave: Jamaica, calidad, antocianinas, acidez, actividad antioxidante.

1 Autor

2 Director de tesis

ABSTRACT

The cultivation of roselle in Mexico mainly takes place in 11 states, with about 19,000 hectares cultivated. Currently, roselle imported from countries such as China and Sudan is displacing the national roselle market. In this work, samples of imported roselle (China) and Mexican-grown roselle (Guerrero and Nayarit) were analyzed to determine if national roselle has certain favorable quality factors that could give it a competitive sales advantage over imported roselle. Chinese roselle sold in local markets in Mexico City presented higher moisture (15.9 %) than allowed in the international market (12.0 %), while the national samples were 12.2 % and 11.9 % for Guerrero and Nayarit respectively. The content of anthocyanins in aqueous extracts was higher in Chinese roselle (8011 mg/kg) than in the national samples (3459.3 to 4201.0 mg/kg). The acidity percentage was higher in national roselle (3.3-4.3%) than in the import (3.5%). Antioxidant activity was higher in the Chinese roselle extract. In accordance with certain quality parameters, the Chinese roselle showed better quality than the national roselle. However, the roselle produced in Nayarit presented a greater percentage of acidity, which is an important parameter that consumers use when buying roselle.

Key words: Roselle, quality, anthocyanins, acidity, antioxidant activity.

1 Author

2 Thesis adviser

CONTENIDO

AGRADECIMIENTOS	iii
DATOS BIOGRÁFICOS.....	v
LISTA DE CUADROS	xi
LISTA DE FIGURAS	xiii
1 INTRODUCCIÓN	1
2.- MARCO TEÓRICO	3
2.1 Origen geográfico de la jamaica	3
2.2 Botánica.....	3
2.3 Clasificación taxonómica	5
2.4 Producción.....	6
2.4.1 Producción mundial	6
2.4.2 Producción nacional	7
2.4.2.1 Producción estatal	9
2.5 Índices de cosecha	13
2.6 Cosecha de los cálices de jamaica.....	13
2.7 Deshidratación de los cálices de jamaica	14
2.8 Almacenamiento de cálices deshidratados de jamaica	16
2.9 Uso de la jamaica	17
2.10 Composición del cáliz de jamaica.....	17
2.11 Compuestos fenólicos	18
2.11.1 Ácidos fenólicos.....	19
2.11.1.1 Estructura química.....	20
2.11.1.2 Síntesis.....	21
2.11.2 Flavonoides	22
2.11.2.1 Antocianinas.....	22

2.11.2.1.1 Distribución.....	23
2.11.2.1.2 Estructura química.....	24
2.11.2.1.3 Biosíntesis	25
2.11.2.1.4 Estabilidad.....	29
2.11.2.1.4.1 Concentración y tipos de disolventes	29
2.11.2.1.4.2 pH.....	29
2.11.2.1.4.3 Copigmentación.....	31
2.12 Compuestos fenólicos en jamaica	31
2.13 Actividades biológicas de la jamaica	33
2.14 Actividad antioxidante.....	35
2.14.1 Mecanismos de Acción de los Antioxidantes.....	36
2.14.2 Efecto antioxidante de las antocianinas	37
2.14.3 Actividad antioxidante de los ácidos fenólicos.....	38
3.- LITERATURA CITADA	39

CAPITULO 1. CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA DE EXTRACTOS ACUOSOS DE CALICES DE JAMAICA (*Hibiscus sabdariffa* L.)

RESUMEN Y ABSTRAC	46
1 INTRODUCCIÓN	47
2 MATERIALES Y MÉTODOS.....	49
2.1 Material de estudio	49
2.2 Cuantificación de cálices enteros, fracturados e impurezas	49
2.3 Humedad	49
2.4 Obtención de los extractos acuosos y matanólicos	49
2.5 Color	50
2.6 Cuantificación de antocianinas	50
2.7 pH	51
2.8 Acidez titulable.....	51
2.9 Sólidos solubles totales (°Brix)	51
2.10 Análisis de datos.....	51

3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN	52
3.1 Caracterización física	52
3.2 Cálices enteros, fracturados e impurezas en cálices de jamaica.....	52
3.3 Humedad	55
3.4 Color	57
3.4.1 Color en cálices de jamaica.....	58
3.4.2 Color en extractos acuosos de jamaica.....	60
3.5 Antocianinas	63
3.6 pH	66
3.7 Acidez.....	67
3.8 Sólidos solubles totales (°Brix)	70
4 CONCLUSIONES	73
5 LITERATURA CITADA.....	74

CAPITULO 2. CUANTIFICACIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS Y EVALUACIÓN DE SU ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE EN EXTRACTOS ACUOSOS DE JAMAICA (*Hibiscus sabdariffa* L.)

RESUMEN Y ABSTRAC	78
1 INTRODUCCIÓN	79
2 MATERIALES Y MÉTODOS.....	81
2.1 Material de estudio	81
2.2 Obtención de los extractos acuosos y matanólicos	81
2.3 Cuantificación de antocianinas totales.....	82
2.4 Análisis de antocianinas por HPLC.....	82
2.5 Cuantificación de ácidos fenólicos.....	83
2.6 Análisis de ácidos fenólicos por HPLC	84
2.8 Determinación de actividad antioxidante	85
2.9 Análisis de datos.....	85
3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN	86
3.1 Compuestos fenólicos	86
3.2 Antocianinas	87

3.3 Ácidos fenólicos.....	93
3.4 Actividad antioxidante de extractos de jamaica	101
4 CONCLUSIONES	106
5 LITERATURA CITADA.....	108

LISTA DE CUADROS

MARCO TEÓRICO

Cuadro 1. Clasificación taxonómica de la jamaica.	5
---	---

CAPITULO 1. CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA DE EXTRACTOS ACUOSOS DE CALICES DE JAMAICA (*Hibiscus sabdariffa* L.)

Cuadro 1. Porcentaje de cálices dañados e impurezas en 3 muestras de jamaica.	53
Cuadro 2. Atributos de color en cálices deshidratados de jamaica nacional e importada.	58
Cuadro 3. Valor de parámetros de color evaluados en extractos acuosos de jamaica nacional e importada.	61
Cuadro 4. Porcentajes de acidez titulable en extractos acuosos de variedades de jamaica nacional e importada.	68
Cuadro 5. Porcentaje de sólidos solubles totales (°Brix) en extractos de cálices de jamaica nacionales e importados.	70

CAPITULO 2. CUANTIFICACIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS Y EVALUACIÓN DE SU ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE EN EXTRACTOS ACUOSOS DE JAMAICA (*Hibiscus sabdariffa* L.)

Cuadro 1. Porcentaje relativo de las diferentes antocianinas contenidas en extractos de tres variedades diferentes de jamaica.	88
Cuadro 2. Identificación de ácidos fenólicos mediante uso de estándares comerciales, tiempos de retención y espectros UV, en extractos acuosos de jamaica China.	97

Cuadro 3. Contenido promedio de ácidos fenólicos libres, glucosilados y esterificados presentes en extractos de tres variedades de cálices de jamaica.
..... 98

LISTA DE FIGURAS

MARCO TEÓRICO

Figura 1. Cáliz de jamaica.....	4
Figura 2. Flor de jamaica.....	4
Figura 3. Forma típica del fruto de jamaica y semillas deshidratadas.....	5
Figura 4. Volumen de producción de cálices de jamaica deshidratados en México para el periodo de 1990 a 2008.....	7
Figura 5. Dinámica de la producción de jamaica en los estados productores de la República Mexicana en el periodo de 2000 a 2008.	9
Figura 6. Secado de jamaica en el campo de cultivo en la zona productora del estado de Guerrero.....	14
Figura 7. Secado de cálices de jamaica en superficies de concreto	15
Figura 8. Estructura química de compuestos derivados de los ácidos benzoico y cinámico.....	20
Figura 9. Biosíntesis de compuestos fenólicos derivados del ácido shiquímico.	21
Figura 10. Estructura básica de las antocianinas (catión flavilio).....	24
Figura 11. Etapa inicial en la síntesis de antocianinas.....	25
Figura 12. Ruta biosintética de antocianinas.....	26
Figura 13. Estabilidad de las antocianinas en medios con diferente pH.	30

CAPITULO 1. CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA DE EXTRACTOS ACUOSOS DE CALICES DE JAMAICA (*Hibiscus sabdariffa* L.)

Figura 1. Impurezas encontradas en muestras de cálices deshidratados de jamaica.....	54
Figura 2. Contenido de humedad en cálices de jamaica nacional e importada.....	56

Figura 3. Cálices de jamaica	58
Figura 4. Concentración de antocianinas en extractos metanólicos de jamaica.	64
Figura 5. Concentración de antocianinas en extractos acuosos de jamaica....	65
Figura 6. Valores de pH en extractos acuosos de jamaica de variedades nacionales e importada.....	67
Figura 7. Relación inversa entre la acidez y el pH en los extractos acuosos de jamaica de Nayarit.	69

CAPITULO 2. CUANTIFICACIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS Y EVALUACIÓN DE SU ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE EN EXTRACTOS ACUOSOS DE JAMAICA (*Hibiscus sabdariffa* L.)

Figura 1. Barrido del extracto de cálices de jamaica, variedad Tecuanapa, Guerrero.....	86
Figura 2. Perfil cromatográfico del extracto acuoso de jamaica China.....	87
Figura 3. Concentración de antocianinas extraídas con diferentes disolventes.	90
Figura 4. Contenido promedio de las fracciones de ácidos fenólicos contenidos en tres muestras de extractos de cálices de jamaica.....	94
Figura 5. Cromatograma de estándares de ácidos fenólicos a 254 nm.	95
Figura 6. Cromatograma de fracciones de ácidos fenólicos libres, glucosilados y esterificados encontradas en el extracto acuoso de jamaica China, detectadas a 254 nm:	96
Figura 7. Espectro en UV del ácido protocatecuico y del compuesto con tiempo de retención de 3.12.	100
Figura 8. Actividad antioxidante de extractos acuosos de jamaica diluidos 1:1 con agua destilada.....	101
Figura 9. Actividad antioxidante de extractos acuosos de jamaica ajustados a 100 µg de antocianinas por mL de extracto de jamaica.....	103

1 INTRODUCCIÓN

La jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) de la familia de las malváceas es originaria de África, fue introducida a México en la época colonial y desde entonces se ha cultivado en regiones cálidas y semicálidas de nuestro país, siendo los estados de Guerrero, Oaxaca, Michoacán, Nayarit, Campeche, Colima y Puebla, los principales productores (SIAP, 2009). El cultivo de la jamaica en nuestro país involucra principalmente a 11 estados, con cerca de 19 mil hectáreas de superficie cultivada y cosechada. En México alrededor de 11, 350 mil familias dependen directamente del cultivo de la jamaica (CONJAMAICA, 2010). En la actualidad la producción nacional de jamaica está siendo desplazada por la jamaica importada, principalmente de países como China y Sudán. La jamaica importada posee una elevada concentración de antocianinas (Galicia-Flores *et al.*, 2008), la cual favorece la coloración de los extractos que con ella se obtienen. Sin embargo el color no es el único factor que los consumidores toman en cuenta para el consumo de jamaica, la acidez es otro factor de importancia para el consumo. El consumo de jamaica y de sus productos derivados ha incrementado en el mundo debido a sus funciones nutraceuticas (Herrera-Arellano *et al.*, 2004), que previenen padecimientos cardiovasculares y algunos tipos de cáncer. El objetivo de este estudio fue realizar una caracterización fisicoquímica de extractos acuosos de jamaica importada

(proveniente de China) y nacional (proveniente de Guerrero y Nayarit) y evaluar la actividad antioxidante de sus compuestos fenólicos.

2.- MARCO TEÓRICO

2.1 Origen geográfico de la jamaica

La mayoría de autores que han estudiado a la jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) coinciden en que el centro de origen de este cultivo se encuentra en África (Gassama-Dia *et al.*, 2004).

Se reconocen actualmente dos especies botánicas: *Sabdariffa*, que tiene uso alimenticio y *Altísima wester*, que es apreciada para obtención de fibras. Tales variedades no se cultivan ampliamente a nivel mundial y su disponibilidad es a nivel regional, en algunos países (Rendón-Aguilar, 1992).

2.2 Botánica

La planta es hermafrodita, anual o bianual, herbácea o subarborescente de 0.5 a 3.0 m de altura; tallos robustos y con frecuencia leñosos en su base, de color morado, rojo brillante o verde (Rendón-Aguilar, 1992).

Esta planta tiene hojas simples, alternas, deciduas; ovadas o lanceoladas-oblongas, con márgenes dentados y envés con una glándula característica en su base; pecíolos largos; estipulas deciduas (Rendón-Aguilar, 1992).

El cáliz tiene una longitud de 1.2 a 4.0 cm de largo, está formado por cinco lóbulos profundos, adquiere características carnosas después de la antesis y su

nervadura central marcada, posee pubescencia fina en el interior de los lóbulos; el epicáliz y el cáliz pueden ser de un rojo brillante, verde o casi blancos, dependiendo de la variedad (Figura 1) (Rendón-Aguilar, 1992).



Figura 1. Cáliz de jamaica.

Las flores son solitarias, axilares, perfectas, zigomorfas; el epicáliz con más de 10 brácteas pequeñas, delgadas, fusionadas en su base con el tubo del cáliz. La corola con los pétalos adheridos al tubo estaminal recto; pétalos de color amarillo pálido, con el centro rojo oscuro cuando el tallo es rojo y un centro amarillo para la forma de tallo verde, ovados, carnosos en su base (Figura 2) (Rendón-Aguilar, 1992).



Figura 2. Flor de jamaica.

Los frutos son capsulares, obtusos, ligeramente pilosos, con numerosas semillas, dehiscencia loculicidal, abriéndose en cinco partes cuando maduran. Hay de tres a cuatro semillas reniformes en cada celda (Rendón, 1992). La Figura 3 muestra la forma típica del fruto y las semillas de la jamaica deshidratadas, las cuales presentan en promedio 7.65 % de humedad, un peso de 1000 semillas de 35.6 g y una densidad real de 1224.8 kg m^{-3} (Omobuwajo *et al.*, 2000).



Figura 3. Forma típica del fruto de jamaica y semillas deshidratadas.

2.3 Clasificación taxonómica

La jamaica pertenece a la familia de las malváceas, de acuerdo con Cronquist (1981) se clasifica taxonómicamente como se muestra en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Clasificación taxonómica de la jamaica.

División:	Magnoliophyta
Clase:	Magnoliopsida
Subclase:	Dilleniidae
Orden:	Malvales
Familia:	Malvaceae
Género:	<i>Hibiscus</i>
Especie:	<i>sabdariffa</i> L.

Fuente: Cronquist, 1981.

2.4 Producción

2.4.1 Producción mundial

La demanda de jamaica ha aumentado en las últimas décadas. Se ofertan en el mercado internacional en promedio 15,000 toneladas cada año (FAO, 2005). Muchos países producen jamaica pero con un grado diferente en su calidad, China y Tailandia son los productores más grandes a nivel mundial y controlan el suministro de este producto (FAO, 2005). Tailandia ha realizado una mayor inversión para mejorar la calidad de su producto, a diferencia de China que no ha realizado inversiones para mejorar la calidad de la jamaica que produce (FAO, 2005). La jamaica producida en Sudán es la que tiene mayor preferencia en el mercado internacional, sin embargo, su producción y calidad son bajas (FAO, 2005). Prácticamente toda la producción de jamaica producida en Sudán es exportada a Alemania. Estados Unidos de América (EUA), también prefiere la jamaica producida en este país, pero sólo la puede obtener a través de tratos comerciales con Alemania, por lo cual se consume en menor grado, siendo más consumida la jamaica producida en China y Tailandia. México, Egipto, Senegal, Tanzania, Mali y Jamaica también son proveedores importantes (FAO, 2005).

Los precios obtenidos en el mercado varían de \$1200 a \$3600 dólares por tonelada. La calidad está en función del gusto de los consumidores y del color, principalmente, seguida de la limpieza y otros factores (FAO, 2005). China y Tailandia controlan la mayor parte del suministro mundial de este producto, sin

embargo, hay oportunidades de penetrar en el mercado ofertando un producto de mejor calidad (FAO, 2005).

2.4.2 Producción nacional

El volumen total de la producción de cálices de jamaica deshidratados en el periodo de 2000 a 2008 presentó un comportamiento variado (SIAP, 2009) (Figura 4).

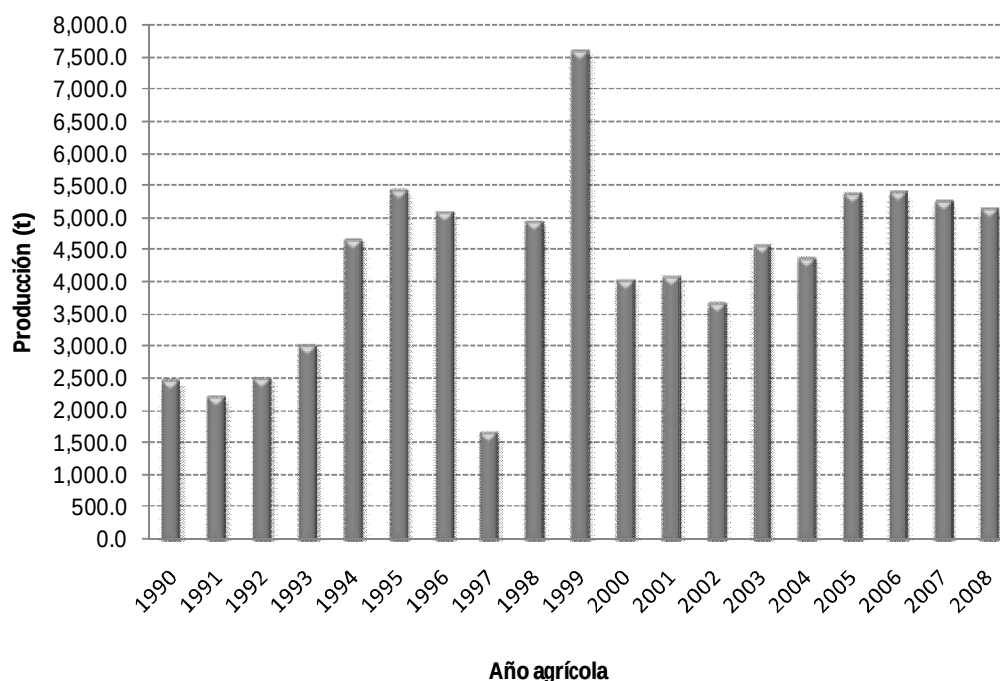


Figura 4. Volumen de producción de cálices de jamaica deshidratados en México para el periodo de 1990 a 2008.

Fuente: Elaboración propia con datos del SIAP 2009.

A partir del año de 1994 la producción de jamaica incrementó en México, presentándose un máximo histórico en 1999 en donde se obtuvo una producción de 7,608.6 toneladas, en este año se reporto un rendimiento de 479

kg•ha⁻¹, lo cual explica la elevada producción registrada. En contraste, en el año de 1997 se registró la producción más baja (1,664 toneladas), la cual podría explicarse a causa del huracán Paulina, que se presentó en ese año en el mes de octubre, provocando daños cuantiosos en el estado de Guerrero, estado que es el mayor productor de jamaica en México (SIAP, 2009).

En México se tiene un rendimiento promedio de 250 kg de cálices deshidratados por hectárea, el cual no ha cambiado de manera importante en el periodo 1990-2008. Los rendimientos han sido inferiores en esta década (254.7 kg•ha⁻¹) en comparación con los obtenidos en la década anterior (293.1 kg•ha⁻¹) (SIAP, 2009). El bajo rendimiento nacional se explica por dos factores: 1) en México este cultivo se siembra asociado con el cultivo de maíz y 2) los productores no cuentan con paquetes tecnológicos para la producción de jamaica y menos para cultivos asociados. La siembra se realiza de forma mateada produciendo una alta densidad de población, la fertilización es baja o nula y el riego es de temporal, la combinación de estos factores da como resultado que las plantas sean raquílicas, con cálices de características similares, obteniéndose bajos rendimientos.

Con respecto al precio, después del año de 1993 los precios de la jamaica incrementaron hasta alcanzar un máximo en el año de 1997 de \$ 28,772.20 por tonelada, lo cual se debió a la baja producción registrada ese año. Sin embargo, los precios se mantuvieron alrededor de \$24,000 por tonelada hasta el 2003. En el año 2004 se registró un descenso muy importante en el precio (\$14, 831.5

por tonelada), y aunque se ha recuperado un poco, persisten los bajos precios (SIAP, 2009), debido a la importación de este producto.

Las importaciones de jamaica son provenientes de Asia y África, principalmente de China, está jamaica es apreciada por su contenido elevado de antocianinas. La jamaica importada en ocasiones es mezclada por los comerciantes con jamaica nacional, de esta manera enmascaran su baja calidad (Galicia-Flores *et al.* 2008). Sin embargo, los precios que se pagan a los productores nacionales son bajos (SIAP, 2009), aunque ofertan un producto de mayor calidad.

2.4.2.1 Producción estatal

La producción estatal de jamaica ha sido variada en los estados en el periodo de 2000 a 2008 (Figura 5) (SIAP, 2009).

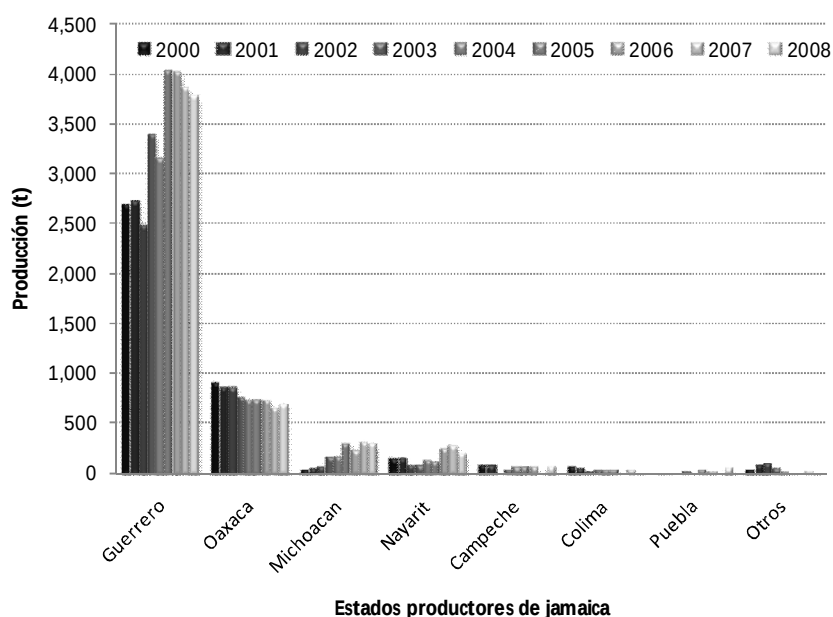


Figura 5. Dinámica de la producción de jamaica en los estados productores de la República Mexicana en el periodo de 2000 a 2008.

Fuente: Elaboración propia con datos del SIAP 2009.

El estado de Guerrero es el mayor productor de jamaica en México. En el periodo comprendido entre los años 2000 y 2007 aportó en promedio 71.3 % de la producción nacional, en el 2008 registró una producción de 3,772.8 toneladas, equivalente al 73.2 % de la producción nacional (SIAP, 2009).

Se estima que en los próximos años la producción de jamaica en este estado disminuya significativamente, ya que en la actualidad gran parte de la superficie donde era cultivada se está destinando a la producción de pastura para la alimentación de ganado, actividad que presenta un mayor ingreso para los productores, en comparación con la comercialización de la jamaica, que en el año 2008 alcanzó un precio de \$ 12.7 kg⁻¹, ligeramente mayor al promedio en los últimos años (\$ 10.5 kg⁻¹). Sin embargo, fuentes de información distintos al SIAP y SIACON, mencionan que en el año 2007, la jamaica alcanzó un precio en el mercado local de hasta \$50 kg⁻¹ (comunicación personal con el Dr. Javier Hernández Morales¹). El bajo precio asociado a los bajos rendimientos que se tienen en el estado (250 kg•ha⁻¹, en el año 2008) (SIAP, 2009), han sido factores fundamentales en el cambio hacia cultivos más rentables.

El segundo estado en importancia es Oaxaca, que aportó en promedio 17.3 % de la producción nacional de jamaica en el periodo 2000-2007, teniendo una producción de 692.0 toneladas en el año 2008, equivalentes a un 13.4 % de la producción nacional de ese año. La producción de jamaica en este estado presentó una ligera tendencia a disminuir en el periodo de analizado, aunque se

¹ Profesor investigador del Colegio de Posgraduados adscrito a la academia de fitopatología, experto en control de enfermedades de jamaica en el estado de Guerrero. Correo electrónico hjavier@colpos.mx

estima que la producción de jamaica a partir del año 2009 muestre una tendencia a incrementar, principalmente en la zona de la costa, debido a un incremento en el precio de la jamaica, que en el año 2008 alcanzó un valor de \$44.4 kg⁻¹, precio superior al promedio que se tenía hasta el año 2007 (\$32 kg⁻¹), este valor asociado con rendimientos superiores a los obtenidos en el estado de Guerrero (324.5 kg•ha⁻¹, reportado en el 2008) (SIAP, 2009), han despertado el interés de los productores, que buscan incrementar sus ingresos.

Michoacán en los años 2000 a 2007 aportó el 3.8 % de la producción nacional. A partir del año 2004 la producción de este estado ha incrementado, alcanzando una producción de 300.5 toneladas en el año 2008, equivalentes al 5.8 % de la producción nacional. El rendimiento promedio que ha tenido ha sido de 322.8 kg•ha⁻¹, siendo en el 2008 de 358 kg•ha⁻¹. El precio de la jamaica producida en Michoacán ha sido oscilante en los últimos ocho años, tendiendo a la alza en los dos últimos años, ofertándose en el 2008 en \$ 36.2 kg⁻¹ (SIAP, 2009).

El estado de Nayarit ha contribuido en promedio con el 3.7 % de la producción en el periodo analizado, registrando una producción de 212.7 toneladas en el año 2008 (4.1 % de la producción nacional correspondiente a ese año). En los años 2007 y 2008 la producción incrementó significativamente en Nayarit. En los últimos años Nayarit ha trabajado en el desarrollo de variedades de jamaica de alto rendimiento, que en parcelas experimentales han logrado la obtención de rendimientos que llegan hasta los 2000 kg•ha⁻¹ (Comunicación personal con

el Dr. Francisco Caro Velarde²), como también lo reportó Gomez-Leyva *et al.* (2008), mencionando rendimientos que van desde 500 hasta 2000 kg•ha⁻¹. Nayarit posee el segundo lugar en rendimiento en el periodo analizado, el rendimiento promedio fue de 493.4 kg•ha⁻¹, registrando 670 kg•ha⁻¹ en 2008. El precio que alcanzó su jamaica en el mercado nacional en el año 2008 fue de \$ 36.1 kg⁻¹ (SIAP, 2009).

El estado de Puebla ha producido en promedio 0.6 % de la producción nacional en el periodo de 2000-2007, en el año 2008 la producción fue equivalente al 1.2 %. Sin embargo, el precio reportó una baja considerable, paso de \$ 50 kg⁻¹ a \$ 14.7 kg⁻¹. Los rendimientos también han ido a la baja, ya que en el periodo 2000-2007 el rendimiento promedio fue de 292.6 kg•ha⁻¹ y en el año 2008 bajo a 200 kg•ha⁻¹ (SIAP, 2009).

La aportación del estado de Colima en el periodo de 2000-2007 ha sido de poco más del 1 % la producción de jamaica a nivel nacional. Sin embargo, en el año 2008 se registró una reducción en su aporte, contribuyendo únicamente con un 0.3 % (equivalente a 14 toneladas de jamaica). En el periodo estudiado presentó un rendimiento promedio de 548.3 kg•ha⁻¹, el cual incrementó en el 2008 a 700 kg•ha⁻¹. El valor que alcanzó la jamaica de Colima en el mercado nacional fue el más elevado de ese periodo, en promedio se comercializó en el mercado nacional a \$ 43.4 kg⁻¹, este precio permaneció sin grandes variaciones en el año 2008 (\$ 45.6 kg⁻¹) (SIAP, 2009).

² Profesor investigador de la Universidad Autónoma de Nayarit, adscrito a la Unidad Académica de Agronomía, ubicada en Xalisco, Nayarit, experto en el fitomejoramiento de variedades de jamaica

Campeche, Sinaloa, Tabasco, Morelos, Jalisco, Tamaulipas, Quintana Roo y Yucatán, presentan bajo volumen de producción y su contribución es variable y poco relevante (SIAP, 2009).

2.5 Índices de cosecha

Los productores de jamaica toman en cuenta dos índices de cosecha principalmente antes de iniciar con la cosecha de los cálices de jamaica, el primero de ellos es cuando la planta de jamaica empieza a defoliarse, en ese momento los productores consideran que la planta esta a sazón y pueden cosecharla. Para afianzar la cosecha el segundo índice de cosecha que consideran es cuando la capsula (fruto de la jamaica) empieza a reventar y pueden apreciarse las semillas. Es importante mencionar que en México se corta la planta completa para realizar la actividad de la cosecha, a diferencia de algunos otros países como Tailandia, en el cual la cosecha se realiza en varias etapas, cortando en cada una de ellas los cálices que cuentan con las características necesarias de calidad (FAO, 2005).

2.6 Cosecha de los cálices de jamaica

Esta actividad en cierto grado determina la calidad de los cálices de jamaica para su comercialización. Consiste en separar los cálices de la jamaica de la cápsula o fruto, comúnmente a esta actividad se le nombra como despicado de la jamaica. Los cálices alcanzan mejores precios en el mercado cuando están enteros, en comparación de los cálices fracturados. La cosecha del cultivo de la jamaica se realiza en los meses de noviembre a enero, según las variedades

que se produzcan en los estados productores y el tiempo que tardan los productores en cosechar, ya que esta actividad básicamente se realiza con mano de obra familiar. Ésta actividad generalmente se desarrolla de forma manual, aunque en algunos estados como el de Puebla y Colima se han desarrollado despicatoras mecánicas para facilitar esta actividad, sin embargo, aun es poco su uso, ya que el daño a los cálices es mayor, pudiendo fracturarlos.

2.7 Deshidratación de los cálices de jamaica

El secado o deshidratado de jamaica es la operación más importante en la poscosecha de la jamaica, ya que de esta operación depende en mayor grado la calidad final de los cálices en el mercado. En México esta operación representa un gran problema ya que los productores, en su mayoría, deshidratan la jamaica al ambiente, depositándola directamente en el suelo (Figura 6).



Figura 6. Secado de jamaica en el campo de cultivo en la zona productora del estado de Guerrero.

Esta práctica demerita su calidad microbiológica, ya que los cálices de jamaica están expuestos directamente a la carga microbiana del suelo, además es común que animales domésticos se encuentren libres en estos espacios y puedan contaminar los cálices de jamaica, principalmente con sus heces fecales o algún otro tipo de materia orgánica que lleven en sus extremidades.

En años recientes los productores han tomado conciencia de este problema, aunque en su minoría. Los que pueden deshidratar en superficies de concreto lo hacen de esa forma, sin embargo, las superficies que utilizan son los patios, azoteas, banquetas, planchas de concreto de instalaciones deportivas e incluso el interior de sus hogares, las cuales en su mayoría están expuestas a partículas de polvo y otros contaminantes que lleva el viento (Figura 7). La falta de interés de los productores en mejorar este proceso es porque no hay remuneración económica alguna por deshidratar la jamaica en condiciones asépticas, ya que los acopiadores pagan el mismo precio por la jamaica que es secada en el suelo y la jamaica que es secada en superficies “asépticas”.



Figura 7. Secado de cálices de jamaica en superficies de concreto

En la actualidad los productores han trabajado en conjunto con instituciones de educación e investigación, como la Universidad Autónoma Chapingo y el Colegio de Postgraduados, y con instituciones de gobierno como el INIFAP, para diseñar un deshidratador solar que facilite el secado de la jamaica, para que este proceso se realice de una manera limpia y rápida, ya que en campo la jamaica tarda en secarse más de una semana, cuando hay un clima favorable (con buena cantidad de radiación solar). Se han evaluado deshidratadores que usan como fuente de energía la combustión de algunos combustibles como gasolina y diesel, pero estos han sido descartados por la baja eficiencia que han mostrado y el alto costo energético.

2.8 Almacenamiento de cálices deshidratados de jamaica

Una vez deshidratados los cálices de jamaica son empacados en costales y almacenados en las casas de los productores o en el caso de los acopiadores en sus bodegas. En la actualidad los acopiadores están realizando mejoras a los almacenes que utilizan para el almacenamiento de la jamaica cambiando al uso de planchas de concreto y en el caso de los grandes acopiadores instalando extractores de aire para mantener una baja humedad, y prevenir la hidratación de los cálices, para evitar el desarrollo de malos olores por la fermentación de azúcares y ácidos presentes en los cálices, además de la proliferación de microorganismos que pudieran afectar al producto, como hongos y levaduras.

La función del almacenamiento y empaçado es facilitar el manejo y transporte durante la comercialización del producto, así como proteger al producto de cualquier contaminación y evitar la exposición de los cálices de jamaica de factores ambientales que pudieran disminuir su calidad, por ejemplo evita la exposición directa con los rayos del sol evitando una degradación de antocianinas.

2.9 Uso de la jamaica

La jamaica es una planta que se cultiva porque de ella se pueden utilizar las hojas, tallos, semillas y principalmente sus cálices. La planta seca se puede utilizar como ornato, las hojas se utilizan en la elaboración de ensaladas, sopas o como forraje para ganado, la fibra de los tallos puede servir en la elaboración de cordones, las semillas se emplean en la extracción de aceite o para obtener harinas (Fasoyiro *et al.*, 2005).

Los cálices de jamaica se utilizan para elaborar bebidas refrescantes, licores, té, jarabes, salsas, harina para galletas, mermeladas, gelatinas, sopas, como ingrediente en la elaboración de perfumes (Galicia-Flores *et al.*, 2008; Mounigan y Badrie, 2007; Fasoyiro *et al.*, 2005; SAGARPA-ASERCA, 1999). A nivel industrial se utiliza para la elaboración de tintes, saborizantes de alimentos, cosméticos y productos farmacéuticos (Galicia-Flores *et al.*, 2008).

2.10 Composición del cáliz de jamaica

Los cálices deshidratados presentan una humedad del 8.3-12 %, 4 % de ácido cítrico, 1.15-6.9 % de proteína, alrededor de 9 % en sólidos solubles a un pH de

2.3, 12 % de fibra, 2.6 % grasa, 6.9 % de cenizas (Omemu *et al.*, 2006; SAGARPA-ASERCA, 1999).

Fasoyiro *et al.* (2005) clasifican a los cálices de jamaica de acuerdo con sus características fisicoquímicas, como altamente ácidos y con bajo porcentaje de azúcares, predominando la concentración de ácido succínico y oxálico (Maganha *et al.*, 2010).

2.11 Compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos constituyen un grupo amplio de sustancias químicas, consideradas metabolitos secundarios de las plantas, derivados de la fenilalanina o tirosina, con diferentes estructuras químicas y actividades biológicas (Martínez-Velarde, 2000). Se han identificado más de 8000 compuestos distintos. La distribución de los compuestos fenólicos en los tejidos y células vegetales varía considerablemente de acuerdo con el tipo de compuesto químico del que se trate, situándose en el interior de las células o en la pared celular (Muñoz-Jáuregui y Ramos-Escudero, 2007; Pokorny *et al.*, 2001).

Las funciones primordiales de estos compuestos son las de actuar como metabolitos esenciales para el crecimiento y reproducción de las plantas, además de fungir como agentes protectores ante la acción de patógenos, siendo secretados como mecanismos de defensa (Pokorny *et al.*, 2001; Fennema, 1993).

En la actualidad este grupo de compuestos químicos son de gran interés por la contribución al mantenimiento de la salud humana. Muchas de las propiedades benéficas de estos compuestos están asociadas principalmente con su elevada actividad antioxidante (Muñoz-Jáuregui y Ramos-Escudero, 2007).

2.11.1 Ácidos fenólicos

Los ácidos fenólicos son metabolitos secundarios ampliamente distribuidos en el reino vegetal, localizados en las vacuolas (Pokorny *et al.*, 2001). De acuerdo a su síntesis pueden ser clasificados en dos grupos, los derivados del ácido benzoico y los derivados del ácido cinámico (Dicko *et al.* 2006; Martínez-Velarde, 2000).

Los ácidos fenólicos se encuentran en forma libre o ligada (en sus formas esterificadas o glucosilada, comúnmente) (Ross *et al.*, 2009). Los ácidos cinámicos (cafeíco, ferúlico, *p*-cumárico y sinápico) se encuentran raramente libres, ya que por regla general se encuentran presentes en forma de derivados. Así por ejemplo, el ácido cafeíco se encuentra esterificado con el ácido quínico como ácido clorogénico, isoclorogénico, neoclorogénico y criptoclorogénico. Las cumarinas e isocumarinas se encuentran generalmente en forma de glicósido (Martínez-Velarde, 2000).

El ácido gálico se encuentra en plantas en forma de ésteres de catequinas, éster de ácido quínico o taninos hidrolizables (Shahidi y Ho, 2005; Martínez-Velarde, 2000).

Estas formas diferentes de ácidos fenólicos resultan en variación a la susceptibilidad a diferentes condiciones de extracción y a su degradación (Ross *et al.*, 2009). Son solubles en agua y en solventes orgánicos (metanol, HCl-metanol, acetona, dimetilformamida, etc.) (Dicko *et al.*, 2006).

2.11.1.1 Estructura química

El término ácido fenólico puede ser definido como una sustancia que posee un anillo aromático que tiene una o más sustituciones hidroxilos, incluyendo derivados funcionales (éster, glucósidos, etc.) (Shahidi y Ho, 2005; Pokorny *et al.*, 2001), además de la presencia de un grupo carboxílico sustituido en el anillo aromático (Vermeris y Nicholson, 2006) (Figura 8).

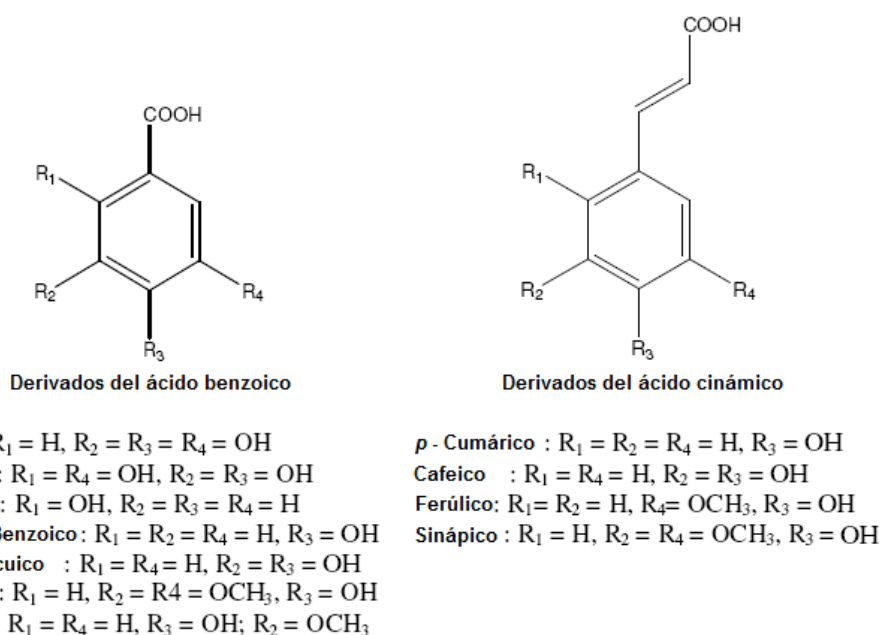


Figura 8. Estructura química de compuestos derivados de los ácidos benzoico y cinámico.

Fuente: Dicko *et al.*, 2006

A los ácidos fenólicos se le atribuyen beneficios en la salud que están relacionados con su actividad antioxidante, quimiopreventiva y su potencial anti-cancerígeno. Estos beneficios o actividades son atribuidos a sus diversas características estructurales (Shahidi y Ho, 2005).

2.11.1.2 Síntesis

Los ácidos fenólicos se originan en la ruta del ácido shiquímico, que comienza con la condensación de fosfoenolpiruvato y eritrosa 4-fosfato (Figura 9) (Fennema, 1993).

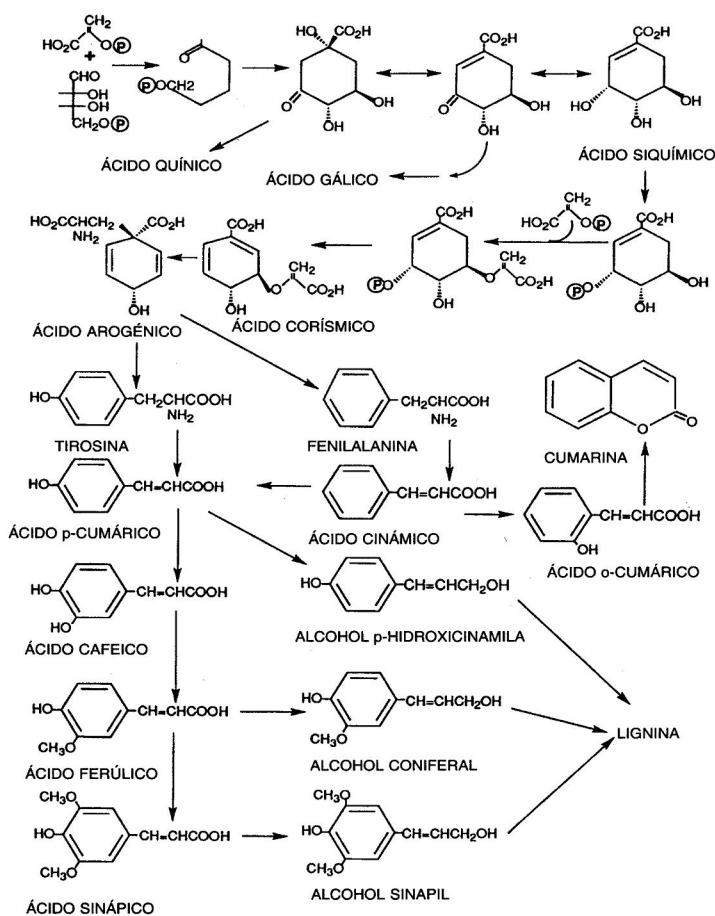


Figura 9. Biosíntesis de compuestos fenólicos derivados del ácido shiquímico.

Fuente: Fennema, 1993.

Estos compuestos suelen encontrarse esterificados con azúcares u otros fenoles, o formando parte de los taninos. La fenilalanina y la tirosina también se sintetizan en la ruta del ácido siquímico y pueden actuar como precursores importantes en la formación de ácidos fenólicos (Fennema, 1993).

La producción de la fenilalanina está determinada por la enzima fenilalanina amonio liasa (PAL), que está asociada indirectamente con la síntesis de varios componentes fenólicos (Dicko *et al.*, 2006).

Los compuestos fenólicos disminuyen con el grado de madurez en las frutas, pero aumentan como respuesta al estrés producido por magulladuras y por infecciones fúngicas. La importancia de estas variaciones dependen mucho del producto vegetal y de las condiciones de almacenamiento (Fennema, 1993).

2.11.2 Flavonoides

Constituyen el grupo más importante dentro de la clasificación de compuestos fenólicos, con más de 5000 compuestos. Son sustancias de bajo peso molecular, que comparten un esqueleto común de difenilpiranos: dos anillos benceno unidos a través de un anillo pirona heterocíclico. Esta estructura básica permite una gran cantidad de sustituciones y variaciones en el anillo pirona, dando origen a diversos tipos de flavonoides (Martínez-Velarde, 2000).

2.11.2.1 Antocianinas

La palabra antocianinas deriva de los vocablos griegos “*anthos*” que significa flor y “*kyanos*” que significa azul (Kong *et al.*, 2003). Las antocianinas

pertenecen al grupo más grande de pigmentos hidrosolubles en las plantas y son el segundo grupo más importantes de pigmentos, después de la clorofila, que el ojo humano percibe en las plantas (Garzón, 2008; Kong *et al.*, 2003; Bridle y Timberlake, 1997), son derivadas del compuesto químico 2-fenilbenzopirilio (Kowalczyk *et al.*, 2003).

Las antocianinas son responsables de la gama de colores que pueden desarrollarse entre el color rojo y azul, que se presenta en una gran variedad de hojas, flores y frutos (Garzón, 2008; Kowalczyk *et al.*, 2003).

Las antocianinas tienen diversas funciones, entre las que destacan las siguientes: La principal función de estos compuestos es proporcionar color a frutos, flores y hojas (Del Valle-Leguizamón *et al.*, 2005), la atracción de insectos polinizadores para la posterior dispersión de semillas y la protección de la planta contra los efectos de la luz ultravioleta y de contaminación viral y microbiana (Garzón, 2008; Winkel-Shirley, 2001). En alimentos el color junto con el sabor son los dos parámetros principales que los consumidores evalúan como parte de la calidad de los alimentos (Bridle y Timberlake, 1997).

2.11.2.1.1 Distribución

En la naturaleza se conocen 17 agliconas, de las cuales la pelargonidina (Pg), peonidina (Pn), cianidina (Cy), malvidina (Mv), petunidina (Pt) y delfinidina (Dp) son las más importantes por ser las que se encuentran en plantas superiores, de las cuales cianidina, delfinidina y pelargonidina son las más distribuidas (Cooke *et al.*, 2005; Kong *et al.*, 2003), representan el 80 % del pigmento de las

hojas, 69 % de las frutas y 50 % de las flores (Kong *et al.*, 2003). La distribución de las 6 antocianinas más comunes en partes comestibles de plantas es: cianidina 50 %, pelargonidina, 12 %, peonidina 12%, delfinidina 12%, petunidina 7 % y malvidina 7% (Castañeda-Ovando *et al.*, 2009; Kong *et al.*, 2003).

2.11.2.1.2 Estructura química

La estructura básica de las antocianinas son las antocianidinas, consisten en un anillo aromático [A] unido a un anillo heterocíclico [C], que contiene oxígeno que está unido por un enlace carbono-carbono a un tercer anillo aromático [B] (Figura 10) (Castañeda-Ovando *et al.*, 2009).

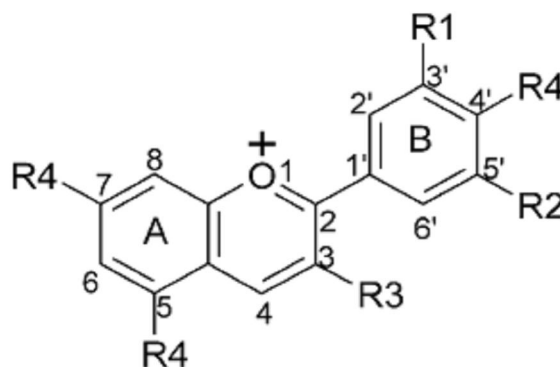


Figura 10. Estructura básica de las antocianinas (catión flavilio). R1 y R2 son H, OH o OCH₃, R3 es un glucósido o H y R4 es OH o un glucósido.

Fuente: Kong *et al.*, 2003.

Se conocen 17 antocianidinas (Kong *et al.*, 2003) usualmente ligadas a residuos de sacáridos, derivando más de 500 tipos de antocianinas (Castañeda-Ovando, 2009). Rara vez se encuentran en la naturaleza como agliconas, ya que son muy inestables (Kowalczyk *et al.*, 2003).

Las diferencias en la estructura de las antocianinas incluye: número y sustituciones de hidroxilaciones o metoxilaciones en la estructura de la antocianidina, en las posiciones 3' y 5' del anillo [B]; número y posición de los residuos de sacáridos unidos a la estructura de la antocianina; y la acilación de azúcares con ácidos aromáticos o alifáticos que se unen durante la acetilación (Galvano *et al.*, 2004; Kowalczyk *et al.*, 2003; Kong *et al.*, 2003).

2.11.2.1.3 Biosíntesis

Las antocianinas se sintetizan en determinados tejidos, en determinadas etapas de la vida de la planta. Estos compuestos son objetos de investigaciones genéticas y bioquímicas intensas, lo que ha llevado al esclarecimiento de la ruta de síntesis (Del Valle-Leguizamón *et al.*, 2005).

El aminoácido fenilalanina es la base para la formación del anillo B de los flavonoides y se deriva de la ruta del ácido shikímico que ocurre en los plastidios (Figura 11) (Yu *et al.*, 2006).

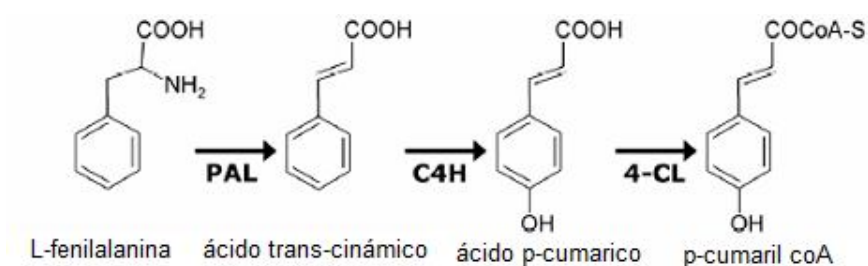


Figura 11. Etapa inicial en la síntesis de antocianinas.

Fuente: Yu *et al.*, 2006.

La enzima fenilalanina amonio liasa (PAL), lleva a cabo el primer paso de la ruta de los compuestos fenilpropanoides, mediante la conversión de la L-

The diagram illustrates the biosynthetic pathway of flavonoids, starting from p-cumaroyl CoA and 3 malonyl CoA. The pathway proceeds through several stages, each catalyzed by a specific enzyme:

- Chalcones:** p-cumaroyl CoA + 3 malonyl CoA → Tetrahydrochalcone (catalyzed by **CHS**).
- Flavanones:** Tetrahydrochalcone → Naringenin (catalyzed by **CHI**). Naringenin is a flavanone with a C6-C3-C6 skeleton, labeled with positions 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157, 158, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170, 171, 172, 173, 174, 175, 176, 177, 178, 179, 180, 181, 182, 183, 184, 185, 186, 187, 188, 189, 190, 191, 192, 193, 194, 195, 196, 197, 198, 199, 200, 201, 202, 203, 204, 205, 206, 207, 208, 209, 210, 211, 212, 213, 214, 215, 216, 217, 218, 219, 220, 221, 222, 223, 224, 225, 226, 227, 228, 229, 230, 231, 232, 233, 234, 235, 236, 237, 238, 239, 240, 241, 242, 243, 244, 245, 246, 247, 248, 249, 250, 251, 252, 253, 254, 255, 256, 257, 258, 259, 260, 261, 262, 263, 264, 265, 266, 267, 268, 269, 270, 271, 272, 273, 274, 275, 276, 277, 278, 279, 280, 281, 282, 283, 284, 285, 286, 287, 288, 289, 290, 291, 292, 293, 294, 295, 296, 297, 298, 299, 300, 301, 302, 303, 304, 305, 306, 307, 308, 309, 310, 311, 312, 313, 314, 315, 316, 317, 318, 319, 320, 321, 322, 323, 324, 325, 326, 327, 328, 329, 330, 331, 332, 333, 334, 335, 336, 337, 338, 339, 340, 341, 342, 343, 344, 345, 346, 347, 348, 349, 350, 351, 352, 353, 354, 355, 356, 357, 358, 359, 360, 361, 362, 363, 364, 365, 366, 367, 368, 369, 370, 371, 372, 373, 374, 375, 376, 377, 378, 379, 380, 381, 382, 383, 384, 385, 386, 387, 388, 389, 390, 391, 392, 393, 394, 395, 396, 397, 398, 399, 400, 401, 402, 403, 404, 405, 406, 407, 408, 409, 410, 411, 412, 413, 414, 415, 416, 417, 418, 419, 420, 421, 422, 423, 424, 425, 426, 427, 428, 429, 430, 431, 432, 433, 434, 435, 436, 437, 438, 439, 440, 441, 442, 443, 444, 445, 446, 447, 448, 449, 450, 451, 452, 453, 454, 455, 456, 457, 458, 459, 460, 461, 462, 463, 464, 465, 466, 467, 468, 469, 470, 471, 472, 473, 474, 475, 476, 477, 478, 479, 480, 481, 482, 483, 484, 485, 486, 487, 488, 489, 490, 491, 492, 493, 494, 495, 496, 497, 498, 499, 500, 501, 502, 503, 504, 505, 506, 507, 508, 509, 510, 511, 512, 513, 514, 515, 516, 517, 518, 519, 520, 521, 522, 523, 524, 525, 526, 527, 528, 529, 530, 531, 532, 533, 534, 535, 536, 537, 538, 539, 540, 541, 542, 543, 544, 545, 546, 547, 548, 549, 550, 551, 552, 553, 554, 555, 556, 557, 558, 559, 560, 561, 562, 563, 564, 565, 566, 567, 568, 569, 570, 571, 572, 573, 574, 575, 576, 577, 578, 579, 580, 581, 582, 583, 584, 585, 586, 587, 588, 589, 590, 591, 592, 593, 594, 595, 596, 597, 598, 599, 600, 601, 602, 603, 604, 605, 606, 607, 608, 609, 610, 611, 612, 613, 614, 615, 616, 617, 618, 619, 620, 621, 622, 623, 624, 625, 626, 627, 628, 629, 630, 631, 632, 633, 634, 635, 636, 637, 638, 639, 640, 641, 642, 643, 644, 645, 646, 647, 648, 649, 650, 651, 652, 653, 654, 655, 656, 657, 658, 659, 660, 661, 662, 663, 664, 665, 666, 667, 668, 669, 670, 671, 672, 673, 674, 675, 676, 677, 678, 679, 680, 681, 682, 683, 684, 685, 686, 687, 688, 689, 690, 691, 692, 693, 694, 695, 696, 697, 698, 699, 700, 701, 702, 703, 704, 705, 706, 707, 708, 709, 710, 711, 712, 713, 714, 715, 716, 717, 718, 719, 720, 721, 722, 723, 724, 725, 726, 727, 728, 729, 730, 731, 732, 733, 734, 735, 736, 737, 738, 739, 740, 741, 742, 743, 744, 745, 746, 747, 748, 749, 750, 751, 752, 753, 754, 755, 756, 757, 758, 759, 760, 761, 762, 763, 764, 765, 766, 767, 768, 769, 770, 771, 772, 773, 774, 775, 776, 777, 778, 779, 780, 781, 782, 783, 784, 785, 786, 787, 788, 789, 790, 791, 792, 793, 794, 795, 796, 79

CHS: chalcona sintetasa, CHI: chalcona isomerasa, F3H: flavanona 3-hidroxilasa, F3'H: flavanona 3'-hidroxilasa, F3'5'H: flavanona 3'5'-hidroxilasa, DFR: dihidroflavonol 4-reductasa, LDOX/ANS: leucoantocianidina dioxigenasa/antocianidina sintetasa.

26

La enzima cinamato-4-hidroxilasa (C4H) introduce un grupo hidroxilo en el carbono 4 del ácido cinámico en presencia de oxígeno molecular para producir ácido trans-4-cumárico. A continuación, la enzima 4-cumarato-CoA ligasa (4CL), activa al ácido *p*-cumárico mediante la adición de coenzima A para producir 4-cumaril-CoA (Yu *et al.*, 2006; Del Valle-Leguizamón *et al.*, 2005).

Posteriormente la chalcona sintasa (que pertenece a la familia de las poliketidos sintasas) condensa una molécula de *p*-cumaroil con tres moléculas de malonil-CoA para producir tetrahidroxichalcona (una chalcona). La chalcona es el precursor para cualquier clase de flavonoide, los cuales incluyen flavonas, flavonoles, flavan-dioles, flavon 4-oles, proantocianidinas (taninos condensados), isoflavonoides y antocianinas (Grotewold, 2006).

El cierre del anillo C, es resultante de la formación de flavononas, y esto es llevado a cabo por la chalcona isomerasa (CHI). Las flavononas (por ejemplo la naringenina) son un punto central en la ruta de los flavonoides, y sirven como sustrato para enzimas tales como la F3'H y la F3'5'H que introducen grupos OH a las posiciones 3' y 5' del anillo B, o para la hidroxilación del anillo C por acción de la flavanona-3-hidroxilasa (F3H), la cual es una dioxigenasa soluble (Grotewold, 2006; Del Valle-Leguizamón, 2005).

En flores, la flavonona 3-hidroxilasa (F3H), enzima del tipo del citocromo P450 hidroxilasas (P450), cataliza la hidroxilación del carbono 3 en el anillo C de la naringinina, para transformarlo en dihidrokaempferol, y dirige el flujo de carbono hacia la síntesis de cianidina, pelargonidina y delphinidina; la otra alternativa es

que se derive a la formación de leucoantocianidinas que conducirán a la síntesis de cianidina y peonidina. Esta etapa es clave ya que los diferentes patrones de hidroxilación que se distinguen en las antocianinas les dan los colores característicos que van desde el rojo hasta el púrpura y además determinan su actividad antioxidante (Del Valle-Leguizamón, 2005).

La dihidroflavonol 4-reductasa (DFR) realiza el paso inicial para la biosíntesis de las antocianinas, y dependiendo de la especie vegetal, esta enzima puede utilizar como sustrato alguno de los siguientes compuestos: dihidroflavonoles, dihidromiricetina, dihidrocaempferol o dihidroquercetina, resultando en la formación de las leucoantocianidinas, las cuales proveen la estructura para la biosíntesis de antocianinas (Grotewold, 2006).

Las leucoantocianidinas son convertidas a las correspondientes antocianidinas por la acción de la leucoantocianidina dioxigenasa o antocianidina sintetasa (ANS). Las antocianidinas se representan como el catión flavilio, pudiendo adoptar diferentes formas en solución en un equilibrio en función del pH y del solvente (Grotewold, 2006).

Con la adición de moléculas de glucosa en las antocianidinas resulta en un cambio hipsocrómico (hacia el color azul) en el espectro de absorción máxima. Esta glucosilación ocurre con la intervención de la enzima UDP-3-O-glucosil transferasa (3GT) resultando las antocianinas. Además de glucosa algunas antocianinas tienen ramnosa y otros carbohidratos en los carbonos 5, 3' y 7 dependiendo de la especie vegetal (Grotewold, 2006).

2.11.2.1.4 Estabilidad

Las antocianinas son altamente inestables y susceptibles a su degradación. Su estabilidad es afectada por varios factores como: pH, temperatura, estructura química, concentración, luz, oxígeno, disolventes, enzimas (de otros flavonoides), proteínas y iones metálicos (Castañeda-Ovando *et al.*, 2009; Osmani *et al.*, 2009; Kong *et al.*, 2003; Kim *et al.*, 2003).

2.11.2.1.4.1 Concentración y tipos de disolventes

Investigaciones realizadas con sales de flavilio sintéticas disueltas en disolventes de distinta naturaleza (acetonitrilo:agua, etanol, propilenglicol, dioxano y 2-butanona) han mostrado que los cambios en el color dependen del disolvente y la concentración de sales de flavilio. En disolventes próticos las sales de flavilio presentan una coloración roja, mientras que encuentran disueltas en disolventes apróticos la coloración es amarilla. Este factor se ha explicado por la propuesta de que las especies roja y amarilla corresponden a un monómero y dímero respectivamente; por lo tanto, cuando incrementa la concentración de las sales de flavilio la coloración roja es favorecida (Castañeda-Ovando *et al.*, 2009).

2.11.2.1.4.2 pH

Dependiendo del pH del medio en el que se encuentren las antocianinas, su estructura puede presentar diversas formas, de las cuales dependerá la

coloración e intensidad que proveerán al medio en el que se encuentran (Castañeda-Ovando *et al.* 2009) (Figura 13).

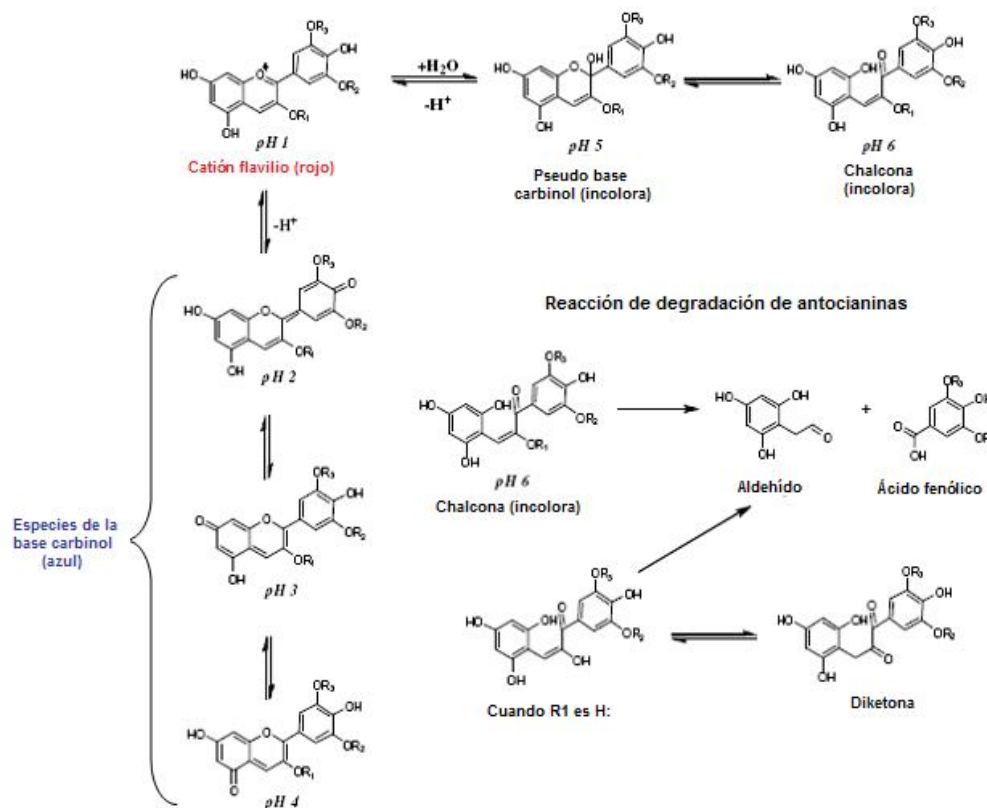


Figura 13. Estabilidad de las antocianinas en medios con diferente pH.

Fuente: Castañeda-Ovando *et al.*, 2009

En medios con pH igual a 1 predomina el catión flavilio que proporciona coloraciones que van del rojo al púrpura. Si el pH del medio oscila entre 2 y 4, la forma predominante es su base quinoidal que denota una coloración azul (Castañeda-Ovando *et al.*, 2009). Sin embargo investigadores como Cook *et al.* (2005) mencionan que el catión flavilio predomina en medios con un pH menor o igual a 3. En rangos de pH entre 5 y 6 sólo dos especies incolores pueden ser

observadas, pseudobase carbinol o chalcona respectivamente (Castañeda-Ovando *et al.*, 2009).

Los cambios de formas estructurales de las antocianinas son reversibles hasta cierto grado, cuando el pH del medio en el que se encuentran es mayor a 7 las antocianinas son degradadas totalmente, por ejemplo en un medio con un pH de 3.01 la solamente el 50 % de la cianidina-3-glucosido expresa color y el otro 50 % es incoloro. (Wrolstad, 2004).

2.11.2.1.4.3 Copigmentación

La copigmentación intermolecular involucra la interacción de las antocianinas con otros flavonoides incoloros (tales como flavonoles), fenilpropanoides, carotenoides o metales (Mg^{2+} o Al^{3+}). En la copigmentación intramolecular, las antocianinas son covalentemente modificadas mediante ácidos orgánicos, otros flavonoides, o por grupos aromáticos. Con la adición de ácidos orgánicos las antocianinas son aciladas por un grupo de enzimas conocidas como aciltransferasas, lo que se traduce en una mayor estabilidad y solubilidad en agua (Grotewold, 2006).

2.12 Compuestos fenólicos en jamaica

La presencia de algunos compuestos fenólicos presentes en jamaica ha sido reportada hace años, sin embargo, en años recientes se han desarrollado técnicas que nos permiten elucidar la composición de algunas de las fracciones de compuestos fenólicos presentes en los cálices de jamaica.

Christian y Jackson (2009), encontraron que la concentración de compuestos fenólicos cambia respecto a la etapa de maduración en la que se encuentren los cálices, reportan en una etapa inicial una concentración de $23.12 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ y $18.95 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ en la final. Las antocianinas contribuyeron hasta con un $3.45 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$, lo cual se aproxima a lo reportado por Sáyago-Ayerdi *et al.* (2007) que determinaron una concentración de $21.7 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$.

Los compuestos fenólicos más estudiados en jamaica han sido las antocianinas, se han encontrado en un rango del 1.5-2.5 % del peso seco de los cálices (Maganha *et al.*, 2010; Gassama-Dia *et al.* 2004). Galicia-Flores *et al.* (2008) reportan la presencia de delfinidina-3-sambubiosido y cianidina-3-sambubiosido como antocianinas predominantes en extractos de jamaica. Gassama-Dia *et al.* (2004) mencionan que la proporción de delfinidina-3-sambubiosido es del 70.9 %, mientras que la cianidina-3-sambubiosido es del 29 %. Sin embargo otros investigadores como Sáyago-Ayerdi *et al.* (2007) han reportado la presencia de otras antocianinas como cianidina-3-glucósido y delfinidina-3-glucósido, en una menor proporción.

Otros flavonoides distintos a las antocianinas han sido encontrados en jamaica, como miricetina 3-arabinogalactósido, quercetina 3-sambubiosido, ácido 5-O-cafeoilshikimico, quercetina 3-rutinósido, quercetina 3-glucósido, kaempferol 3-O-rutinósido, *N*-Feruoiltiramida, kaempferol 3-(*p*-cumarilglucósido), quercetina, hibiscetin-3-monoglucósido, gosipetina-3-glucósido, gosipetina-7-glucósido, gosipetina-8-glucósido, sabdaritrina, catequina, epigalocatequina y epigalocatequina galato (Maganha *et al.*, 2010; Huang *et al.*, 2009; Rodríguez-

Medina *et al.*, 2009; Ali *et al.*, 2005). Maganha *et al.* (2010) reportan un porcentaje de flavonoides en relación al peso seco de los cálices del 1.43 %.

Sáyago-Ayerdi *et al.* (2007) mencionan que un 63.2 % de los compuestos fenólicos son ácidos fenólicos, 32.6 % de derivados del ácido hidroxibenzoico y 30.6 del hidroxicinámico. Entre los ácidos fenólicos identificados se encuentran protocatecuico, clorogénico y dos de sus isómeros y cafeico (Maganha *et al.*, 2010; Rodríguez-Medina *et al.*, 2009). Huang *et al.* (2009) mencionan que el ácido protocatecuico es el más abundante en jamaica, representando un 24.24 % del total de los ácidos fenólicos presentes en jamaica, seguido del ácido cafeico (19.85), sin embargo, investigadores como Rodríguez-Medina *et al.* (2009) no reportan la presencia de ácido protocatecuico en jamaica.

2.13 Actividades biológicas de la jamaica

Los productos obtenidos a partir de cálices de jamaica se usan en medicina tradicional para obtener un efecto anti-hipertensivo, y prevenir enfermedades cardiovasculares y hepáticas. Los cálices son una fuente de antioxidantes como las antocianinas y el ácido ascórbico, por lo que puede ser efectiva contra la oxidación de las lipoproteínas de baja densidad (LDL), reducción del colesterol sérico y contra la hiperlipidemia (Prenesti *et al.*, 2007; Tzu-Li, *et al.*, 2007). Prenesti *et al.* (2007) menciona que la actividad antioxidante de los extractos de jamaica dependen de la concentración de compuestos fenólicos, la actividad antioxidante de estos compuestos es la relacionada con los beneficios a la salud (Tsai *et al.*, 2002).

En México se ha evaluado el efecto benéfico del consumo de infusiones elaboradas con jamaica. Herrera-Arellano *et al.* (2004) compararon el efecto en la reducción de la presión sistólica y diastólica en pacientes con edades entre los 30 y 80 años, encontrando que la ingesta de una infusión obtenida con 10 g de cálices de jamaica en 0.51 L de agua, redujo ambas presiones de manera similar que la ingesta de 50 mg diarios de captopril, medicamento usado en la reducción de la presión arterial. Herrera-Arellano *et al.* (2007) mencionan que la reducción en la presión es posible gracias a un efecto diurético y la inhibición de la enzima convertidora de la angiotensina (ACE), evitando una vasoconstricción intensa de las arteriolas periféricas y una hipertensión arterial. La acción inhibitoria de esta enzima fue reportada por Ojeda *et al.* (2010), mencionan que los compuestos responsables de la inhibición de la enzima son las antocianinas presentes en el extracto de jamaica, delfinidina-3-sambubiosido y cianidina-3-sambubiosido.

Los extractos de jamaica además poseen acción antiséptica y antibacterial, se usan para tratar algunas infecciones intestinales, además de emplearse para relajar dolores musculares del útero y del intestino (Hassanein *et al.*, 2005). El cáncer gástrico es una enfermedad común en muchos países del mundo, especialmente en Asia. Hui-Hsuan *et al.* (2007) mencionan que el consumo de extractos de jamaica induce citotoxicidad y apoptosis en células de carcinoma gástrico (AGS), dependiendo de la concentración. De-Xing *et al.* (2005) mencionan que la delfinidina-3-sambubiosido inhibe la proliferación de células de leucemia en humanos por la inducción de apoptosis.

Otros componentes bioactivos, como el ácido protocatecuico, en extractos de jamaica han mostrado efectos anti-cancerígenos, previniendo cáncer de mama. Won-Kyoung *et al.* (2008) evaluaron el efecto del ácido protocatecuico en la inhibición del crecimiento de células cancerígenas del útero (leiomiomas), con la aplicación de este fenolico se observó un 70 % de la inhibición del crecimiento de estas células cancerígenas. El ácido protocatecuico que contiene ha sido empleado contra la pirexia y enfermedades del hígado.

2.14 Actividad antioxidante

Existen evidencias de que los radicales libres causan daños a las biomoléculas. Este daño es responsable del envejecimiento y algunas enfermedades de tipo cardiovasculares y cáncer (Scherer y Godoy, 2009). Por otra parte los radicales libres son conocidos por participar en la peroxidación de lípidos en los alimentos, que es responsable de los olores y sabores rancios, que disminuyen la calidad nutricional. Por lo tanto los antioxidantes sintéticos como el butilhidroxianisol (BHA), butilhidroxitolueno (BHT) y el ter-butilhidroquinona (TBHQ) son ampliamente utilizados en la industria alimentaria como potenciales inhibidores de la peroxidación de lípidos. Sin embargo, estudios han demostrados que el BHA y BHT se acumulan en el cuerpo y provocan daños en el hígado y carcinogénesis (Tabart *et al.*, 2009).

El interés en las fuentes naturales de moléculas antioxidantes para su uso en la industria de la alimentación y cosmetología ha dado lugar a un gran campo de investigación en los últimos años (Scherer y Godoy, 2009). Es bien sabido que

los antioxidantes de origen natural extraídos de vegetales tienen gran actividad antioxidante (Tabart *et al.*, 2009). De estas sustancias, los compuestos fenólicos, que están ampliamente distribuidos, tienen la capacidad de eliminar radicales libres por transferencia de electrones (Araya *et al.*, 2006).

Los radicales libres son definidos como átomos o grupos de átomos que tienen un número impar de electrones. Esta peculiaridad química los hace muy reactivos y les hace reaccionar con moléculas circundantes de las que toman los electrones que necesitan para lograr su estabilidad electroquímica. Así provocan reacciones en cadena en las que cada molécula implicada se convierte a su vez en reactiva (Avello y Suwalsky, 2006).

Las especies reactivas del oxígeno se producen continuamente dentro de la célula como consecuencia de procesos de transferencia de electrones mitocondriales o como productos biológicos de las enzimas xantinoxidasa, lipoxigenasas y ciclooxigenasas (Masella *et al.*, 2005).

Existen varias fuentes de radicales libres y de oxidantes, por ejemplo: radical anión superóxido ($O_2^{\bullet-}$), 1O_2 , radical hidroxilo ($HO^{\bullet}$), $NO^{\bullet}$, $ONOO^-$, $HOCl$, radical peroxilo $RO(O^{\bullet})$ y $LO(O^{\bullet})$ (Prior *et al.*, 2005).

2.14.1 Mecanismos de Acción de los Antioxidantes

Los antioxidantes desactivan a los radicales por dos mecanismos: uno es la transferencia de átomos de hidrógeno (HAT) y el segundo es la transferencia de electrones simples (SET). (Prior *et al.*, 2005).

Los antioxidantes con el mecanismo de transferencia de átomos de hidrógeno presentan la capacidad de atrapar radicales libres por medio de la donación de hidrogeno. Las reacciones no dependen del pH ni del solvente (Prior *et al.*, 2005). Los ensayos de este tipo, tienen preferencia puesto que el radical peroxilo es el radical libre que con mayor frecuencia interviene en la oxidación de lípidos en alimentos y en los sistemas biológicos (Prior *et al.*, 2005).

Los antioxidantes con el mecanismo de la transferencia de electrones simples tienen la capacidad de reducir un compuesto, tales como metales, carbonilos y radicales. Los métodos de análisis se basan en la desprotonación y el potencial de ionización del grupo funcional depende del pH (Prior *et al.*, 2005).

2.14.2 Efecto antioxidante de las antocianinas

La estructura de las antocianinas es responsable de su actividad antioxidante; por ejemplo, la habilidad de atrapar especies reactivas del oxígeno (ROS) tal como superóxido, peróxido, peróxido de hidrogeno y radical hidroxilo. (Vidal *et al.*, 2001)

Una actividad antioxidante óptima se relaciona con la presencia de grupos hidroxilos en las posiciones 3' y 4' del anillo B, las cuales confieren una elevada estabilidad al radical formado. Los grupos hidroxilos libres en la posición 3 del anillo C y en la posición 5 del anillo A, junto con el grupo carbonilo en la posición 4 son donadores de electrones (Kuskoski *et al.*, 2004).

2.14.3 Actividad antioxidante de los ácidos fenólicos

Los ácidos fenólicos son un grupo de antioxidantes que se encuentran en abundancia en alimentos de origen vegetal.

Los derivados del ácido cinámico son antioxidantes más activos que los derivados del ácido benzoico (Pokorny *et al.*, 2001), exceptuando al ácido protocatecuico que presenta una mayor actividad antioxidante que los derivados del ácido cinámico (Shahidi, 1997).

La introducción de un segundo grupo hidroxilo en posición **orto** o **para** incrementa la actividad antioxidante. La eficacia en la inhibición conseguida por los monofenoles se incrementa sustancialmente al sustituir uno o dos grupos metoxi. La combinación de dos ácidos fenólicos incrementa su eficacia; por ejemplo, el ácido rosmarínico es mejor antioxidante que el ácido cafeíco. La esterificación del ácido cafeíco con un azúcar disminuye su actividad; por ejemplo el ácido clorogénico es menos efectivo que el ácido cafeíco (Pokorny *et al.*, 2001).

3.- LITERATURA CITADA

Ali, B. H., Al-Wabel, N. and Blunden, G. 2005. Phytochemical, pharmacological and toxicological aspects of *Hibiscus sabdariffa* L: A review. *Phytotherapy research*, Vol. 19 (5): 369-375.

Araya L., H., Clavijo R., C. y Herrera, C. 2006. Capacidad antioxidante de frutas y verduras cultivados en Chile. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, Vol. 56: 361-365.

Avello, M. y Suwalsky, M. 2006. Radicales libres, antioxidantes naturales y mecanismos de protección. *Atenea*, Vol. 494:161-172.

Bridle, P. and Timberlake, C. F. 1997. Anthocyanins as natural food colours- selected aspects. *Food Chemistry*, Vol. 58: 103-109.

Castañeda-Ovando, A, Pacheco-Hernández, M. L., Páez-Hernández, M. E., Rodríguez, J. A. and Galán-Vida, C. A. 2009. Chemical studies of anthocyanins: A review. *Food Chemistry*, Vol. 113: 859–871.

Christian, K. R. and Jackson, J. C. 2009. Changes in total phenolic and monomeric anthocyanin composition and antioxidant activity of three varieties of sorrel (*Hibiscus sabdariffa*) during maturity. *Journal of Food Composition and Analysis*, Vol. 22 (7-8): 663-667.

CONJAMAICA (Comité Nacional Sistema Producto Jamaica).

Fecha de consulta: 24/03/2010

Dirección electrónica: <http://www.conjamaica.org.mx/>

Cooke, D., Steward W .P., Gescher A. J. and Marczylo, T. 2005. Anthocyanins from fruits and vegetables- does bright colour signal cancer chemopreventive activity?. *European Journal of Cancer*, Vol. 41: 1931-1940.

Cronquist, A. 1981. An integrated system of classification of flowering plants. The New York Botanical Garden. Columbia University Press. New York. 1262 p.

De-Xing, H., Xuhui, T., Norihiko, T., Dong, L. and Makoto, F. 2005. Delphinidin 3-sambubioside, a *Hibiscus* anthocyanin, induces apoptosis in human leukemia cells through reactive oxygen species-mediated mitochondrial pathway. Archives of Biochemistry and Biophysics, Vol. 440 (1): 101-109.

Del Valle, G. L., González-León, A. y Báez-Sañudo, R. 2005. Antocianinas en uva (*Vitis vinífera* L.) y su relación con el color. Revista Fitotecnia Mexicana, Vol. 28 (4):359-368.

Dicko, M. H., Gruppen, H., Traoré, A. S., Voragen, A. G. J. and Van Berkel, W. J. H. 2006. Phenolic compounds and related enzymes as determinants of sorghum for food use. Biotechnology and Molecular Biology Review, Vol. 1 (1): 21-38.

FAO. 2005. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Post-production management for improved market access for herbs and spices-*hibiscus*.

Dirección electrónica: http://www.fao.org/inpho/content/compend/toc_main.htm
Fecha de consulta: 8/02/2009

Fasoyiro, S.B., Ashaye, O.A., Adeola, A. and Samuel, F.O. 2005. Chemical and storability of fruit-flavoured (*Hibiscus sabdariffa*) drinks. World Journal of Agricultural Sciences, Vol. 1(2): 165-168.

FENNEMA, O.R., 1993. Química de los alimentos. 2ª ed. Acribia. México. 1095 p.

Galicia-Flores., L. A., Salinas-Moreno. Y., Espinoza-García, B. M. y Sánchez-Feria, C. 2008. Caracterización Fisicoquímica y actividad antioxidante de extractos de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) nacional e importada. Revista Chapingo Serie Horticultura, Vol. 14 (2): 121-129.

Galvano, F., La Fauci, L., Lazzarino, G., Fogliano, V., Ritieni, A., Ciappellano, S., Battistini, N. C., Tavazzi, B. and Galvano, G. 2004. Cyanidins: metabolism and biological properties. Journal of Nutritional Biochemistry, Vol. 15: 2–11.

Garzón, G. A. 2008. Las antocianinas como colorantes naturales y compuestos bioactivos: revisión. *Acta biol. Colomb.*, Vol. 13 (3): 27-36.

Gassama-Dia, Y.K., Sané, D. and Ndoeye, M. 2004. Direct genetic transformation of *Hibiscus sabdariffa* L. *African Journal of Biotechnology*, Vol. 3: 226-228.

Gómez-Leyva, J. F., Martínez-Acosta, L. A., López-Muraira, I. G. and Silos-Espino, H. 2008. Multiple shoot regeneration of roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) from a shoot apex cultura system. *International Journal of Botany*, Vol. 4 (3): 326-330.

Grotewold, E. 2006. The genetics and biochemistry of floral pigments. *Annu. Rev. Plant. Biol.*, Vol. 57: 761-80.

Hassanein, R.A., Khattab, H.K.I., El-Bassiouny, H.M.S. and Sadak, M.S. 2005. Increasing the active constituents of sepals of roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) plant by applying gibberellic acid and benzyladenine. *Journal of Applied Sciences*, Vol. 1: 137-146.

Herrera-Arellano, A., Miranda-Sanchez, J., Avila-Castro, P., Herrera-Alvarez, S., Jimenez Ferrer, J.E., Zamilpa, A., Roman-Ramos, R., Ponce-Monter, H. and Tortoriello, J. 2007. Clinical effects produced by a standardized herbal medicinal product of *Hibiscus sabdariffa* on patients with hypertension. A randomized, doubleblind, lisinopril-controlled clinical trial. *Planta Med*, Vol. 73: 6-12.

Herrera-Arellano, A., Flores-Romero, S, Chavez-Soto, M.A. and Tortoriello, J. 2004. Effectiveness and tolerability of a standardized extract from *Hibiscus sabdariffa* in patients with mild to moderate hypertension: a controlled and randomized clinical trial. *Phytomedicine*, Vol. 11: 375-382.

Huang, C. N., Chan, K. C., Lin, W. T., Su, S. L., Wang, C. J. and Peng, C. H. 2009. *Hibiscus sabdariffa* Inhibits Vascular Smooth Muscle Cell Proliferation and Migration Induced by High Glucose#A Mechanism Involves Connective Tissue Growth Factor Signals. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Vol. 57 (8): 3073-3079.

Hui-Hsuan, L., Jing-Hsien, C., Wu-Hsien, K. and Chau-Jong, W. 2007. Chemopreventive properties of *Hibiscus sabdariffa* L. on human gastric carcinoma cells through apoptosis induction and JNK/p38 MAPK signaling activation. *Chemico-Biological Interactions*, Vol. 165 (1): 59-75.

Kim, S.J., Young-Hee, C., Park, W., Han, D., Chang-Hoon, C., Jee-Young, I. 2003. Solubilization of Water Soluble Anthocyanins in Apolar Medium Using Reverse Micelle. Journal of agricultural and food chemistry, Vol. (51): 7805-7809.

Kong, J. M., Chiam, L.S., Goh, N. K., Chia, T. F. y Brouillard. 2003. Analysis and biological activities of anthocianins. Phytochemistry 64: 923-933.

Kowalczyk, E., Krzesiński, P., Kura, M., Szmigiel, B. and Blaszczyk, J. 2003. Anthocyanins in medicine. Polish Journal Pharmacology, Vol. 55: 699-702.

Kuskoski, E. M., Asuero, A. G., García-Parilla, M. C., Troncoso, A. M. and Fett, R. 2004. Actividad antioxidante de pigmentos antociánicos. Ciênc. Tecnol. Aliment. Vol.24 (4):691-693.

Maganha, E.G., da Costa H., R., Rosa, R.M., Pegas H., J. A., Lia de Paula R, A. L. and A.L., Saffi, J. 2010. Pharmacological evidences for the extracts and secondary metabolites from plants of the genus *Hibiscus*. Food Chemistry, Vol. 118 (1): 1-10.

Martínez-Valverde, I., Periago, M. J. y Ros G. 2000. Significado nutricional de los compuestos fenólicos de la dieta. Archivos Latinoamericanos de Nutrición, Vol. 50: 5-18.

Masella, R., Di Benedetto, R., Varì, R., Filesi, C. and Giovannini, C. 2005. Novel mechanisms of natural antioxidant compounds in biological systems: involvement of glutathione and glutathione-related enzymes. The Journal of Nutritional Biochemistry, Vol. 16 (10): 577-586.

Mounigan , P. and Badrie, N. 2007. Physicochemical and sensory quality of wines from red sorrel/roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) calyces: effects of pretreatments of pectolase and temperature/time. International Journal of Food Science & Technology, Vol. 42 (4): 469-475.

Muñoz-Jáuregui, A. M. y Ramos-Escudero, F. 2007. Componentes fenólicos de la dieta y sus propiedades biomedicinales. Revista Horizonte Biomedico, Vol. 7: 23-31.

Ojeda, D., Jiménez-Ferrer, E., Zamilpa, A., Herrera-Arellano, A., Tortoriello, J. and Alvarez, L. 2010. Inhibition of angiotensin convertin enzyme (ACE) activity by the anthocyanins delphinidin- and cyanidin-3-O-sambubiosides from *Hibiscus sabdariffa*. Journal of Ethnopharmacology, Vol. 127 (1): 7-10.

Omemu, A. M., Edema, M. O., Atayese, A. O. and Obadina, A. O. 2006. A survey of the microflora of *Hibiscus sabdariffa* (Roselle) and the resulting "Zobo" juice. African Journal of Biotechnology, Vol. 5: 254-259.

Omobuwajo, T. O., Sanni, L. A. and Balami, Y. A. 2000. Physical properties of sorrel (*Hibiscus sabdariffa*) seeds. Journal of Food Engineering, Vol. 45 (1): 37-41.

Osmani, S. A., Hansen, E. H., Malien-Aubert, C., Olsen, C. E., Bak, S. and Møller, B. L. 2009. Effect of glucuronosylation on anthocyanin color stability. Journal of agricultural and food chemistry, Vol. 57 (8): 3149-3155.

Pokorny, J., Yanishlieva, N. y Gordon, M. Antioxidantes en los alimentos aplicaciones prácticas. Ed. ACRIBIA, S.A., Zaragoza, España. 2001. 110-117 pp.

Prenesti, E., Berto, S., Daniele, P.G. and Toso, S. 2007. Antioxidant power quantification of decoction and cold infusions of *Hibiscus sabdariffa* flowers. Food Chemistry, Vol. 100: 433-438.

Prior, R.L., Wu, X. and Schaich K. 2005. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. Journal of Agriculture and Food Chemistry, Vol. 53: 4290-4302.

Rendón-Aguilar B. 1992. Estudio de la variación morfológica y aspectos etnobotánicos en *Hibiscus sabdariffa* L. (Malvaceae), en relación a su uso y manejo. Tesis de maestría, UNAM, Facultad de Ciencias, Biología. México.

Rodríguez-Medina, C., Beltrán-Debón, R., Micol-Molina, V., Alonso-Villaverde, C., Joven, J., Menéndez, J. A., Segura-Carretero, A. and Fernández-Gutiérrez, A. 2009. Direct characterization of aqueous extract of *Hibiscus sabdariffa* using HPLC with diode array detection coupled to ESI and ion trap MS. J. Sep. Sci., Vol. 32: 3441-3448.

Ross, K. A., Beta, T. and Arntfield, S.D. 2009. A comparative study on the phenolic acids identified and quantified in dry beans using HPLC as affected by different extraction and hydrolysis methods. Food Chemistry, Vol. 113 (1): 336-344

SAGARPA-ACERCA.1999. México, proveedor de Especies y Plantas Medicinales al mundo. El caso de una nueva variedad de Jamaica. Claridades agropecuarias, Vol. 73: 13-21.

Sáyago-Ayerdi, S. G., Arranz, S., Serrano, J. and Goni, I. 2007. Dietary fiber content and associated antioxidant compounds in roselle flower (*Hibiscus sabdariffa* L.) beverage. Journal of agricultural and food chemistry, Vol. 55: 7886-7890.

Scherer, R. and Godoy, H. T. 2009. Antioxidant activity index (AAI) by the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl method. Food Chemistry, Vol. 112: 654-658.

Shahidi, F. and Ho, C. T. 2005. Phenolic Compounds in Foods and Natural Health Products: An Overview In Phenolic Compounds in Foods and Natural Health Products, Chapter 1: 1-8. ACS Symposium Series, Volume 909, Publication Date (Print): July 21, 2005.

Shahidi, F. 1997. Beneficial Health Effects and Drawbacks of Antinutrients and Phytochemicals in Foods: An Overview. In Antinutrients and Phytochemicals in Food, Chapter 1: 1-9. ACS Symposium Series, Volume 662, Publication Date (Print): April 1, 1997.

SIAP/SIACON. 2009. Sistema De Información Agroalimentaria y Pesquera. Sistema De Información Agroalimentaria De Consulta.

Dirección electrónica: <http://www.siap.gob.mx>.
Fecha de consulta: 12/11/2009

Tabart, J., Kevers, C., Pincemail, J., Defraigne, J. O. and Dommes, J. 2009. Comparative antioxidant capacities of phenolic compounds measured by various tests. Food Chemistry, Vol. 113 (4): 1226-1233.

Tsai, Pi-Jen, McIntosh, J., Pearce, P., Camden, B. and Jordan B.R. 2002. Anthocyanin and antioxidant capacity in Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) extract. Food Research International, Vol. 35: 351-356.

Tzu-Li, L., Hui-Hsuan, L., Chang-Che, C., Ming-Cheng, L., Ming-Chih, C. and Chau-Jong, W. 2007. *Hibiscus sabdariffa* extract reduces serum cholesterol in men and women. Nutrition Research, Vol. 27 (3): 140-145.

Vermeris, W. and Nicholson, R. 2006. Families of phenolic compounds and means of classification. In Phenolic compound biochemistry. Published by Springer.

Vidal, N. A., Motidome, M., Mancini-Filho, J., Fallarero-Linares, A., Tana, A. M., Brandao-Torres, L. M. y Lapa, A. J. 2001. Actividad antioxidante y ácidos fenólicos del alga marina *Bryothamnion triquetrum* (S.G. Gmelim) Howe. Revista Brasileira de Ciencias Farmaceuticas, Vol. 37 (3), 373-382.

Winkel-Shirley, B. 2001. Flavonoid Biosynthesis. A Colorful Model for Genetics, Biochemistry, Cell Biology, and Biotechnology. Plant Physiology, Vol. 126: 485-493.

Won-Kyoung, S., Chi-Heum, C., Sabarish, R., Dae-Kyu, S., So-Jin, S., Sang-Hoon K. and Soon, D. C. 2008. Induction of apoptosis by *Hibiscus* protocathechuic acid in human uterine leiomyoma cells. Korean J. Gynecol Oncol, Vol. 19 (1): 48-56.

Wrolstad, R. E. 2004. Anthocyanin Pigments - Bioactivity and Coloring Properties. Journal of Food Science, Vol. 69 (5): 419-421.

Yu, O., Matsuno, M. and Subramanian, S. 2006. Flavonoid compounds in flowers: genetics and biochemistry. Floriculture, Ornamental and Plant Biotechnology, Vol. 1: 282-292.

CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA DE EXTRACTOS ACUOSOS DE CALICES DE JAMAICA (*Hibiscus sabdariffa* L.)

PHYSICOCHEMICAL CHARACTERIZATION OF AQUEOUS EXTRACTS OF ROSELLE (*Hibiscus sabdariffa* L.)

Sánchez-Feria, C.¹; D. Rubio-Hernández² y Y. Salinas-Moreno²

RESUMEN

En el presente estudio se realizó una caracterización físicoquímica de extractos acuosos de jamaica de importación (China) y nacionales (Guerrero y Nayarit), con el objetivo de identificar parámetros de calidad favorables para las jamaicas nacionales. El color y el contenido de antocianinas están relacionados directamente. Los extractos acuosos de jamaica China y de Nayarit presentaron una coloración más intensa debido a su elevada concentración de antocianinas (8011.8 y 4201.0 mg/kg, respectivamente), que el extracto de jamaica de Guerrero (3459.3 mg/kg). El pH de los extractos obtenidos en cada una de las extracciones varió en un rango de 2.26 a 2.98, siendo el extracto de Nayarit el que tuvo los valores más bajos. El porcentaje de acidez titulable fue mayor en el extracto de jamaica de Nayarit (4.3 %), que en los de China (3.5 %) y Guerrero (3.3 %). La jamaica importada y la de Nayarit presentaron las mejores características de calidad. Sin embargo los extractos de la jamaica producida en Nayarit poseen un mayor porcentaje de acidez.

ABSTRACT

Physicochemical characterization of aqueous extracts of imported roselle (China) and Mexican-grown roselle (Guerrero and Nayarit) was carried out in this study in order to identify favorable quality parameters for national roselle. The color and anthocyanin content are directly related. The aqueous extracts of Chinese and Nayarit roselle had more intense coloring due to their higher concentration of anthocyanins (8011.8 and 4201.0 mg / kg, respectively) than that found in the Guerrero roselle extract (3459.3 mg / kg). The pH obtained in each of the extracts varied, ranging from 2.26 to 2.98, with the Nayarit extract having the lowest values. The percentage of titratable acidity was higher in the Nayarit roselle extract (4.3%) than in the Chinese (3.5%) and Guerrero (3.3%) ones. The imported and Nayarit roselle extracts presented the best quality characteristics. However, hibiscus extracts produced in Nayarit have a higher percentage of acidity.

Key words: Roselle, quality, color, anthocyanins, pH, acidity.

¹ Author

² Thesis adviser

Palabras clave: Jamaica, calidad, color, antocianinas, pH, acidez.

¹ Autor

² Director de tesis

1 INTRODUCCIÓN

La jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) es una planta de la familia de las Malváceas que crece en forma arbustiva, con ramas rectas y pequeñas ramificaciones, es un cultivo anual. Mide de 1 a 3 m de altura, dependiendo del lugar y de la época de siembra (Rendón-Aguilar, 1992). En México se cultivan principalmente variedades criollas, sin embargo, también se cultivan variedades como la China, Sudán y Jersey (Dominguez-Dominguez *et al.*, 2007). Por el color de sus cálices encontramos variedades de color rojo claro y oscuro, además de variedades de cálices verdes (Christian y Jackson, 2009; Babalola *et al.*, 2001). En México es mayor el consumo de cálices oscuros de jamaica, por la intensidad de color que confiere a las bebidas que de ellos se elaboran. Esto ha ocasionado que la importación de jamaica aumente, principalmente de China y Sudán, desplazando a la jamaica nacional del mercado. En México la importación de jamaica es fácil ya que no existen normas nacionales de comercialización para este producto que señalen los parámetros de calidad que debe tener para su importación, por lo cual se realizan diversas prácticas desleales, como la venta de cálices con alto porcentaje de humedad, impurezas, etc. El objetivo de este trabajo fue realizar una caracterización fisicoquímica de cálices de jamaica, de procedencia nacional e importada, para generar información acerca de sus parámetros de calidad como

porcentaje de impurezas, color y acidez, que son los más importantes considerados por los acopiadores y consumidores cuando compran jamaica. Dicha información podrá ser utilizada para clasificar los posibles usos de las diferentes variedades de jamaica en la industria alimenticia y farmacéutica, además de emplearla en la elaboración de una norma de comercialización de cálices de jamaica.

2 MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Material de estudio

Se trabajó con tres muestras de cálices deshidratados de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.). Dos de ellas corresponden a las variedades Tecoaapa y Huajicori, cultivadas en los estados de Guerrero y Nayarit, respectivamente, y se obtuvieron directamente en las regiones de producción. La tercera fue una muestra de jamaica importada procedente de China.

2.2 Cuantificación de cálices enteros, fracturados e impurezas

Se realizó separando cada una de las fracciones (cálices enteros, fracturados, dañados por microorganismos e impurezas) y calculando el porcentaje de cada uno de ellos por la diferencia de peso con respecto al total de la muestra integra.

2.3 Humedad

El porcentaje de humedad se realizó de acuerdo con lo establecido en el método 10.004 de la AOAC (1984).

2.4 Obtención de los extractos acuosos y metanólicos

En vasos de precipitado de 500 mL se colocaron 10 g de cálices enteros y se agregaron 150 mL de agua destilada. Los vasos se colocaron en un digestor de

fibra cruda modificado, y se mantuvieron a ebullición durante 15 min. Se realizaron tres extracciones sucesivas que se analizaron de manera separada.

Los extractos metanólicos se obtuvieron a partir de 1 g de muestra molida (malla de 0.5 mm) a la que se le agregaron 20 mL de metanol acidificado con 1 % de ácido trifluoroacético (99 %, Baker, México) manteniéndose 24 horas en condiciones de refrigeración. Posteriormente se realizaron dos extracciones sucesivas empleando como disolvente metanol:ácido acético:agua (en proporciones 10:1:9 v/v/v) y mantenidas en agitación a temperatura de cuarto durante 24 horas.

2.5 Color

Para medir el color en los cálices deshidratados y extractos acuosos se empleó un colorímetro Hunter Lab MiniScan XE Plus (Modelo 45/O-L) en la escala CIE $L^*a^*b^*$, con iluminante D/65 y un ángulo de 10°. Las mediciones se realizaron por quintuplicado en el caso de los cálices enteros y por triplicado en extractos. El color en cálices enteros se midió en una muestra de 100 g, colocando el colorímetro en la superficie de los cálices deshidratados. El color de los extractos se midió en cada una de las tres extracciones que se obtuvieron en los cálices de jamaica

2.6 Cuantificación de antocianinas

Se midió la absorbancia de extractos en metanol y agua utilizando un espectrofotómetro PerkinElmer (Lambda 25 UV/Vis) de acuerdo a lo descrito por Salinas *et al.*, (2003). Se elaboró una curva estándar con cianidina 3-glucósido

(Polyphenols, Nw) en un rango de 0 a 30 ppm para expresar el contenido total de antocianinas en función de este compuesto. La concentración total de antocianinas se obtuvo al sumar los valores de las tres extracciones sucesivas.

2.7 pH

EL pH de los extractos acuosos se midió en un potenciómetro marca Beckman (Modelo 45). Se evaluó en el extracto acuoso puro.

2.8 Acidez titulable

La determinación de la acidez titulable se realizó de acuerdo a la AOAC (1984), preparando las muestras según las indicaciones para soluciones ligeramente coloreadas. La titulación se realizó con NaOH 0.1 N usando el pH de vire de la fenolftaleína (8.3-8.6) como punto final de la titulación. El cálculo se realizó como porcentaje del ácido ascórbico. El análisis se realizó en 10 mL de extracto diluido en 190 mL de agua destilada.

2.9 Sólidos solubles totales (°Brix)

La concentración de sólidos solubles totales se obtuvo como porcentaje, utilizando un refractómetro marca Atago.

2.10 Análisis de datos

Con los datos obtenidos de la caracterización física y química se realizó un análisis de varianza (ANOVA), el diseño experimental fue un completamente al azar. Se realizó una comparación de medias correspondiente a cada ANOVA por el método de Tukey ($\alpha=0.05$). Se utilizó el paquete estadístico SAS system, versión 9.0. Las pruebas fisicoquímicas se realizaron por quintuplicado.

3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Caracterización física

Los cálices deshidratados de jamaica analizados en este trabajo presentaron un olor característico, no se detectó presencia de insectos o de cálices dañados por los mismos, la muestra de jamaica de Guerrero presentó puntas negras, producidas por daño patológico, actualmente esta enfermedad es un problema en la jamaica deshidratada producida en este Estado, ya que por este daño pierde valor económico al momento de comercializarse, por la mala apariencia que adquiere. En México, el estado de Guerrero es el mayor productor de jamaica, pues produce cerca del 74 % de la producción nacional (SIAP, 2009), el fin de su producción es la comercialización de los cálices deshidratados, por lo cual es importante la calidad de éstos (Domínguez-Domínguez *et al.*, 2007).

3.2 Cálices enteros, fracturados e impurezas en cálices de jamaica

Las muestras de cálices de jamaica utilizadas en esta investigación fueron separadas por fracciones de cálices e impurezas, los resultados se presentan en el Cuadro 1. Las 3 muestras presentaron porcentajes similares con respecto a cálices enteros y fracturados, siendo estos últimos productos de una mala cosecha o de una manipulación excesiva y deficiente cuando el producto está deshidratado. La calidad de los cálices fracturados con respecto al contenido de

fitoquímicos es la misma con respecto a los cálices enteros, sin embargo, el consumidor los asocia en la mayoría de los casos con una calidad inferior.

Cuadro 1. Porcentaje de cálices dañados e impurezas en 3 muestras de cálices de jamaica.

Fracción	China	Guerrero	Nayarit
	%	%	%
Cálices enteros	81.18	81.81	82.54
Cálices fracturados	16.81	16.43	13.25
Residuos de cápsulas	1.64	0.05	3.46
Semillas	0.33	0.01	0.35
Otras impurezas	0.03	0.29	0.40
Daño por microorganismos	NP	1.41	NP

NP: No presente.

En México no existen normas que sean empleadas para la comercialización de cálices de jamaica deshidratados. Sin embargo, en la comercialización internacional se manejan parámetros como los mencionados por Augstburger *et al.* (2000) (color, aroma, contenido de impurezas, etc.). Sin embargo, no mencionan la integridad física de los cálices deshidratados como un parámetro de calidad para la comercialización. Las muestras analizadas presentaron un rango de 13.25 a 16.81 % de cálices fracturados, la muestra de Nayarit presentó el porcentaje más bajo. La humedad del producto durante el manejo poscosecha es un factor que influye en la facilidad de la fracturación de los cálices. Omenu *et al.* (2006) reportan una humedad del 8.3 % en cálices de jamaica, un contenido tan bajo, asociado con un mal manejo después del deshidratado, podría provocar que los cálices de jamaica sean quebradizos. Sin

embargo, hay que monitorear este parámetro y la manera en que se da el manejo de los cálices deshidratados desde el acopio en las regiones de producción hasta la comercialización en los centros de acopio que venden al menudeo, como las centrales de abastos, para tener certeza de que en que etapa de este proceso ocurre el mayor daño.

Augstburger *et al.* (2000) mencionan que las muestras deben ser libres de agentes externos como arena, piedras, restos de fibras, insectos, etc. En las muestras estudiadas los porcentajes de impurezas totales encontrados variaron en el rango de 0.35 a 4.21 %, las impurezas encontradas fueron partes de la planta como residuos de cápsulas, semillas, ramas y hojas (Figura 1).



Figura 1. Impurezas encontradas en muestras de cálices deshidratados de jamaica.

Barajas-Domínguez (2008) menciona un rango de porcentajes de impurezas entre 1.13 y 18.1 % en tres variedades de jamaica comercializadas en México,

la variedad Cristina cultivada en el estado de Jalisco presentó el porcentaje más elevado, un 17.1 % de las impurezas fueron residuos de cápsulas y semillas y tan solo el 1 % fue de residuos de otras partes de la planta. Se infiere que ese porcentaje tan elevado es el resultado de una inadecuada práctica de cosecha o despique de los cálices de jamaica. La muestra de Nayarit analizada en este estudio presentó el porcentaje más elevado de impurezas totales (4.21 %), del cual 3.5 % correspondió a residuos de cápsulas.

3.3 Humedad

En México no existe una norma oficial que defina parámetros de calidad y valores específicos que los cálices de jamaica deshidratados deban cumplir para su comercialización (Galicia-Flores *et al.* 2008). Los comercializadores únicamente consideran el porcentaje de humedad y olor característico que presentan los cálices deshidratados al momento de la compra-venta.

El contenido de humedad es importante, de él depende el tiempo que se pueden almacenar los cálices de jamaica antes de la comercialización sin afectar sus características de calidad.

En los cálices de jamaica estudiados se encontró diferencia estadística en el porcentaje de humedad (Figura 2). Los cálices de jamaica China presentaron un porcentaje de humedad del 15.9 ± 0.1 %, mientras que las muestras de Guerrero y Nayarit presentaron un porcentaje de 12.2 ± 0.1 y 11.9 ± 0.1 %, respectivamente.

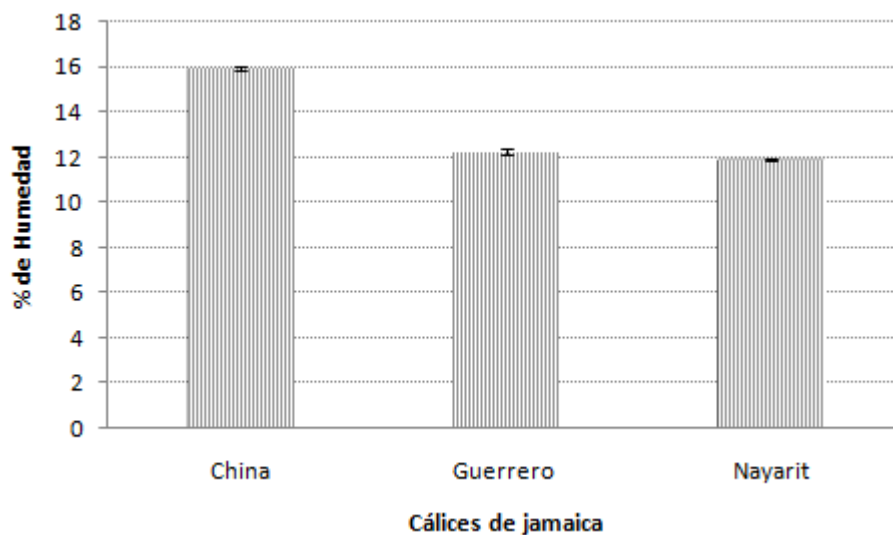


Figura 2. Contenido de humedad en cálices de jamaica nacional e importada.

Cuando la humedad es alta hay fermentación de azúcares que producen mal olor y sabor (Fasoyiro *et al.* 2005a), en contraste cuando la humedad es baja en los cálices de jamaica es señal de que los cálices fueron expuestos por un periodo excesivo de radiación solar durante la deshidratación, lo que provoca que la cantidad de antocianinas disminuya por ser compuestos fotosensibles (Taboada-Salgado y Oliver-Guadarrama, 2002). Augstburger *et al.* (2000) mencionan que el porcentaje máximo de humedad para la comercialización de cálices deshidratados de jamaica en mercados internacionales debe ser del 12 %. En el mercado nacional, los cálices de jamaica se comercializan en las regiones de producción con un porcentaje de humedad entre los 11 y 12 %, Sin embargo se pueden encontrar cálices hasta con el 10 % de humedad, y en los centros de comercialización como las centrales de abastos y mercados populares se pueden comercializan con porcentajes superiores al 12 %. En

México durante la comercialización al menudeo, puede ser aún más elevada que la encontrada en las muestras analizadas en este trabajo. Galicia-Flores *et al.* (2008) reportaron porcentajes de humedad más elevados en muestras comercializadas, en un rango de 10.2 y 16.9 %.

Entre más bajo sea el porcentaje de humedad hay menos posibilidades de proliferación de microorganismos como hongos y bacterias (en México estos microorganismos contaminan los cálices durante el proceso de secado, que se realiza en el suelo de los campos de cultivo), por esta razón es muy importante la obtención de extractos mediante algún tratamiento térmico como el que se realizó en este estudio, y de realizarse una extracción en frío, como se hace comúnmente en el medio rural, es recomendable realizar una pasteurización del extracto antes de consumirse. Omemu *et al.* (2006) y Adebayo-Tayo y Samuel (2009) reportaron la presencia de una gran cantidad de bacterias y hongos, además de la presencia de aflatoxinas en un rango de 1.57 a 17.8 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ en cálices que contenían una humedad entre el 13.1 y el 14.9 %.

3.4 Color

El color junto con el sabor y el aroma son parámetros que los consumidores han evaluado sensorialmente tanto en los cálices como en los extractos de jamaica y sus productos derivados (Odebunmi y Dosumu, 2007; Fasoyiro *et al.*, 2005a; Fasoyiro *et al.*, 2005b), y han formado estándares de ellos, por lo cual, en función de estos atributos se refleja una aceptabilidad para distintas variedades

de jamaica. Existen variedades de jamaica que presentan un mayor contenido de pigmentos y otras que presentan mayor acidez (Babalola *et al.*, 2001).

Los cálices de las muestras de jamaica utilizadas en este estudio se muestran en la Figura 3.



Figura 3. Cálices de jamaica a) China de cálices oscuros, b) Guerrero de cálices claros y c) Nayarit de cálices claros.

3.4.1 Color en cálices de jamaica

Los parámetros del color de los cálices (Cuadro 2) se ubicaron en el cuadrante 1 que contiene los valores de $+a^*$ (color rojo) y $+b^*$ (color amarillo).

Cuadro 2. Atributos de color en cálices deshidratados de jamaica nacional e importada.

Muestra	L*	Ángulo de tono	Croma
	%	(°)	
China	13.5 b ^z	22.0 b	7.0 c
Guerrero	19.3 a	30.1 a	12.4 b
Nayarit	19.0 a	25.0 b	15.6 a
DMS	3.8	3.2	0.7
CV	8.8	4.9	2.4

^z: Medias con letras iguales en una columna son estadísticamente iguales, según la comparación de medias de Tukey ($\alpha=0.05$); DMS: Diferencia mínima significativa; CV: Coeficiente de variación.

El parámetro ángulo de tono indica cuando el color tiende a rojo o anaranjado en el caso de los cálices de jamaica. Los de cálices de jamaica China y de Nayarit no fueron diferentes estadísticamente ($\alpha = 0.05$) en sus valores de ángulo de tono, sin embargo, los cálices de jamaica China son más oscuros y los cálices de jamaica de Nayarit son más saturados de color, ambas muestras presentaron cálices más rojos que la muestra de Guerrero. Los cálices de jamaica de Guerrero muestran valores más elevados de ángulo de tono que las muestras de China y Nayarit, su saturación de color (croma) fue más baja que en los cálices de Nayarit y más elevada que en la muestra de jamaica China. La luminosidad fue similar a la presentada por los cálices de jamaica de Nayarit, siendo en ambos casos más elevada que en la muestra de cálices de jamaica China.

Galicia-Flores *et al.* (2008) reportaron valores similares de luminosidad, ángulo de tono y croma en jamaica China y de Guerrero, sin embargo, se observa un efecto de variedad, ya que la jamaica China que utilizaron en su estudio fue de cálices rojos y no de cálices de color rojo oscuro, como la muestra utilizada en esta investigación.

Los cálices de las muestras utilizadas en esta investigación pueden clasificarse por su color en tres grupos, de acuerdo a lo reportado por Christian y Jackson (2009) y Babalola *et al.* (2001). El primer grupo es el que incluye a cálices de color rojo oscuro, su característica principal es la de tener concentraciones más altas de antocianinas, en este grupo se ubica la jamaica China. El segundo grupo incluye a la jamaica de cálices de color rojo claro, los cuales se

caracterizan por un contenido mayor de acidez en comparación de la jamaica del primer grupo, la jamaica de Guerrero y Nayarit pertenecen a este grupo, sin embargo, existen variedades de jamaica China que se ubican en este grupo, como la estudiada por Galicia-Flores *et al.* (2008). El tercer grupo es integrado por las variedades de jamaica que tienen cálices verdes, estas variedades se caracterizan por la ausencia de antocianinas y el alto contenido de acidez, mayor que en variedades del segundo y tercer grupo.

3.4.2 Color en extractos acuosos de jamaica

Los extractos de jamaica son apreciados en la industria alimenticia y farmacéutica. El color de los extractos de jamaica se considera como un parámetro de aceptación en los consumidores, la intensidad del color en ellos indica una mayor concentración de compuestos antocianos, que son los responsables del color y parte de la actividad antioxidante que presentan los extractos (Galicia-Flores *et al.*, 2008).

Los valores de los atributos de color en extractos de jamaica se observan en el Cuadro 3. Los valores de los parámetros ángulo de tono y croma se ubicaron en el mismo cuadrante que en los cálices deshidratados.

Cuadro 3. Valor de parámetros de color evaluados en extractos acuosos de jamaica nacional e importada.

Muestra	L	Ángulo de Tono	Croma
	%	(°)	
Primera extracción			
China	4.8 b ^z	14.9 b	30.0 b
Guerrero	20.3 a	33.9 a	61.3 a
Nayarit	21.2 a	33.9 a	64.3 a
DMD	4.3	3.2	7.7
CV	11.2	4.7	5.9
Segunda Extracción			
China	24.8 b	37.8 b	68.5 b
Guerrero	35.8 a	41.5 a	81.4 a
Nayarit	38.1 a	41.0 a	83.0 a
DMS	3.6	1.8	4.2
CV	4.34	1.7	2.1
Tercera extracción			
China	46.7 c	28.1 a	64.0 a
Guerrero	51.3 b	24.4 b	64.5 a
Nayarit	60.3 a	13.5 c	51.6 b
DMS	4.1	3.3	3.3
CV	3.1	6.0	2.2

^zMedias con letras iguales en una columna son estadísticamente iguales, según la comparación de medias de Tukey ($\alpha=0.05$); DMS: diferencia mínima significativa. CV: coeficiente de variación.

Los primeros extractos de las muestras de jamaica presentaron una luminosidad baja. Los extractos de jamaica de Guerrero y Nayarit fueron iguales estadísticamente ($\alpha = 0.05$) en el parámetro de ángulo de tono, aunque el extracto de jamaica China fue más rojo, pero menos saturado de color.

En la segunda extracción los valores de luminosidad, ángulo de tono y croma aumentaron en los extractos. Los extractos de jamaica de Guerrero y Nayarit

tuvieron valores de luminosidad, ángulo de tono y croma más altos, no hubo diferencia estadística ($\alpha = 0.05$) entre ellos. El extracto de jamaica China fue más rojo y menos saturado en color.

En la tercera extracción el extracto de jamaica de Nayarit presentó una luminosidad y un ángulo de tono mayor, seguido del extracto de Guerrero y China respectivamente, este extracto fue el más rojo, aunque la saturación de color fue menor en comparación con los demás extractos.

Garzón (2008) y Kowalczyk *et al.* (2003) mencionan que las antocianinas son responsables de la gama de colores que se desarrollan entre el rojo y el azul, incluso el negro, como se observa en los extractos de jamaica China, debido a una elevada concentración de compuestos antocianos. Esta característica depende de varios factores, como el tipo de antocianinas que se encuentren presentes y la concentración de las mismas en el medio. En México se cultivan diferentes variedades de jamaica. Domínguez-Domínguez *et al.* (2007) mencionan como principales a las variedades criollas, como lo son las muestras nacionales utilizadas en este estudio, sin embargo, también se cultivan variedades como la Jerzy, Sudán y China, que son más apreciadas en el mercado nacional, por una mayor pigmentación de los extractos y bebidas que de ellas se obtienen.

El color es de tal importancia para los consumidores que investigadores se han dado a la tarea de buscar aditivos que reduzcan la degradación de estos compuestos. Duangmal *et al.* (2004) evaluaron la adición de maltodextrina en

extractos estandarizados a pH de 2.5, encontrando una reducción en la degradación de estos compuestos durante un periodo de 105 días de evaluación. Mounigan y Badrie (2007) evaluaron el color durante la producción de un licor de jamaica, el cual inició con extracto acuoso, la adición de pectolasa (0 %, 0.5% y 1.0%) propició la reducción de los parámetros de luminosidad, ángulo de tono y croma, cuando se adicionó 0.5 % de pectolasa, sin embargo, cuando se aumentó la concentración aumentó a 1.0 %, el valor de Croma aumento significativamente, el pH de los extractos permaneció entre 2.55 y 2.57. Al final del periodo de fermentación y almacenamiento los consumidores prefirieron los licores con apariencia y color que resultaron de una extracción a 90 °C durante 30 min y sin la adición de pectolasa.

3.5 Antocianinas

La principal función de las antocianinas es proporcionar color (rojo-azul) a frutos, flores y hojas (Del Valle-Leguizamón *et al.*, 2005). Las antocianinas son el segundo grupo más importantes de pigmentos, después de la clorofila, que pueden ser visto por el ojo humano (Kong *et al.*, 2003). La jamaica contiene alrededor de 1.5 % de pigmento, formado principalmente por un 29 % de cianidina 3-sambubiosido y 70.9 % de delphinidina 3-sambubiosido, también se han detectado pequeñas concentraciones de cianidina y delphinidina 3-glucósido (Omemu *et al.*, 2006; Gassama-Dia *et al.*, 2004).

La extracción de antocianinas en jamaica se puede realizar con diversos disolventes. Galicia-Flores *et al.* (2008) mencionan el uso de metanol/TFA

(metanol acidificado con 1 % de ácido trifluoroacético) y de agua como disolventes para la extracción. La ventaja de usar TFA en la extracción es que baja el pH del medio a valores de 1 o incluso inferiores a éste, lo cual es favorable por la conservación del catión flavilio, que confiere la coloración roja del medio, sin embargo, también menciona una alta toxicidad del TFA, por lo cual no es usado en extracciones comerciales. En extracciones comerciales el disolvente más empleado es etanol al cual se le adiciona bajas concentraciones de un ácido para conservar la forma estructural del catión flavilio, sin embargo, la cantidad extraída es inferior a la obtenida con Metanol/TFA, comparándose en este estudio con la extracción acuosa.

La concentración de antocianinas en cada una de las extracciones realizadas con Metanol/TFA en las muestras de jamaica se muestra en la Figura 4.

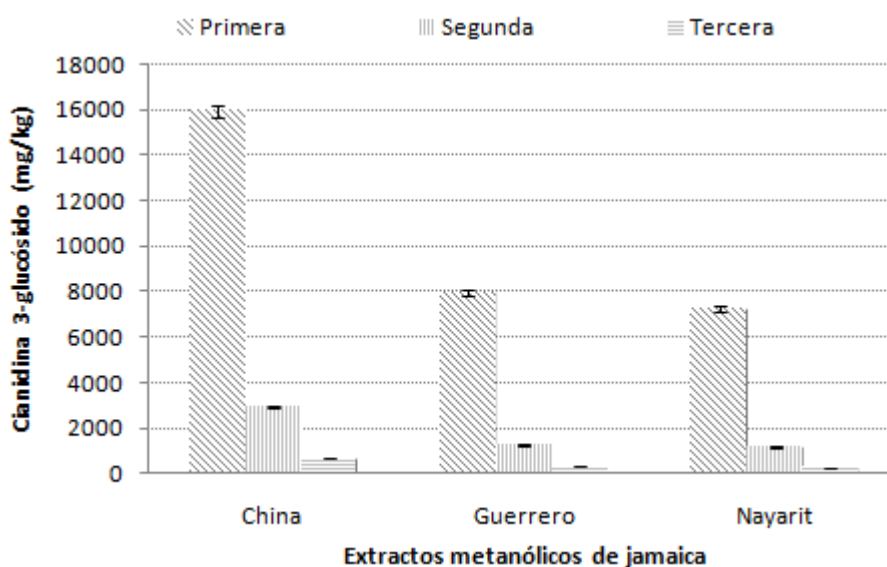


Figura 4. Concentración de antocianinas en extractos metanólicos de jamaica.

El extracto de jamaca China presentó una concentración de 19543.2 ± 248.3 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ de muestra, el extracto de Guerrero de 9546.5 ± 199.4 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ de muestra y el de Nayarit 8639.8 ± 108.2 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ de muestra. En promedio un 82.9 ± 1.2 % de las antocianinas fueron obtenidas en la primera extracción, 14.0 ± 0.9 % en la segunda y 3.1 ± 0.3 % en la tercera.

La concentración de antocianinas en los extractos fue menor cuando se utilizó agua. La concentración de cada uno de los extractos se presenta en la Figura 5.

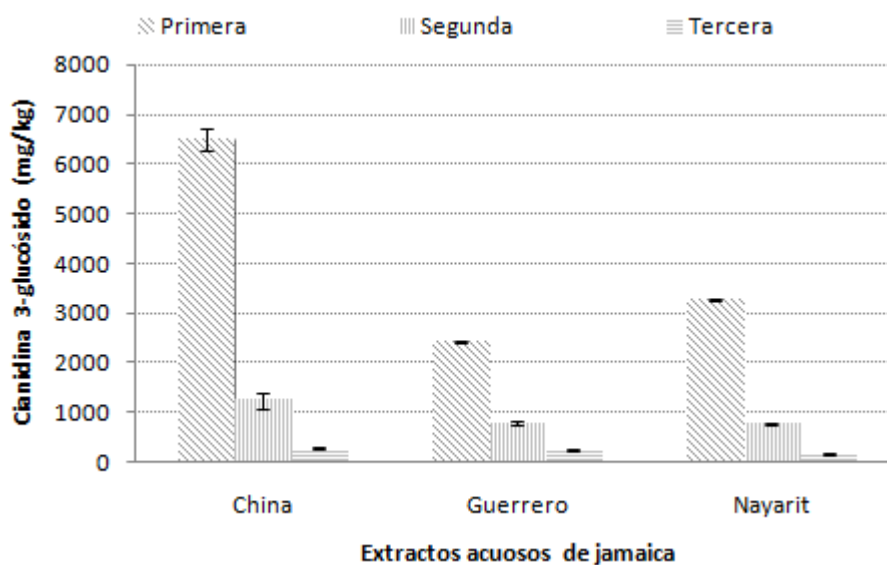


Figura 5. Concentración de antocianinas en extractos acuosos de jamaica.

El extracto de jamaica China presentó una concentración total de antocianinas de 8011.8 ± 75.1 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, el de Nayarit 4201.0 ± 60.7 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ y el de Guerrero 3459.3 ± 92.9 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$. El porcentaje promedio de extracción de antocianinas, bajo estas condiciones, fue de 76.3 ± 5.7 % en el primer extracto, 18.8 ± 3.6 % en el segundo y 4.9 ± 2.1 % en el tercero. Los porcentajes relativos de cianidina y delfinidina 3-sambubiosido obtenidas en extractos hervidos durante 15 min

fueron reportados por Galicia-Flores *et al.* (2008) para variedades de cálices rojos, reportaron un porcentaje relativo promedio de 50.1 ± 2.4 % de delphinidina 3-sambubiosido y 41.3 ± 6.9 % de cianidina 3-sambubiosido, observando una reducción de la segunda cuando el tiempo de ebullición fue mayor.

La eficiencia de extracción en ambos métodos fue diferente. El extracto de jamaica China, utilizando agua tan solo extrajo 41.0 % de antocianinas de las que se extrajeron con Metanol/TFA, mientras que el de Guerrero 36.2 % y el de Nayarit 48.6 %. La diferencia en la eficiencia puede explicarse por el efecto de varios factores sobre la estabilidad y susceptibilidad de las antocianinas. Castañeda-Ovando *et al.* (2009) y Kong *et al.* (2003) mencionan que las antocianinas son degradadas por cambios de $\text{pH} > 3$, temperaturas elevadas, luz, oxígeno, presencia de enzimas, etc. Otros factores que pudieron afectar la eficiencia de extracción fueron: 1) el tamaño de partícula, ya que en los extractos metanólicos las muestras fueron molidas (0.5 mm) y en los extractos acuoso se utilizaron cálices enteros, y 2) el uso de ácido, ya que cuando se utiliza un medio ácido se favorece la hidrólisis parcial de antocianinas aciladas, principalmente de aquellas que están unidas a un ácido dicarboxílico, por ejemplo, el malónico.

3.6 pH

Como ya se ha comentado el pH es un parámetro de suma importancia en la obtención de extractos ricos en antocianinas, en jamaica es importante conservar la estructura del catión flavilio, que confiere el color rojo a los

extractos. Esta forma estructural es estable cuando el pH de los extractos es igual o inferior a 3, cuando este valor incrementa la estructura del catión flavilio cambia a su base quinoidal (Salinas-Moreno *et al.*, 2005), que en los extractos de jamaica confiere una coloración azul-verdosa.

Los extractos presentaron un aumento del pH conforme se incrementó el número de extracciones, sin embargo, en ninguna de las extracciones realizadas se alcanzó un valor de 3. Los extractos de Nayarit mostraron el pH más bajo, seguidos por el extracto de Guerrero y China, respectivamente (Figura 6).

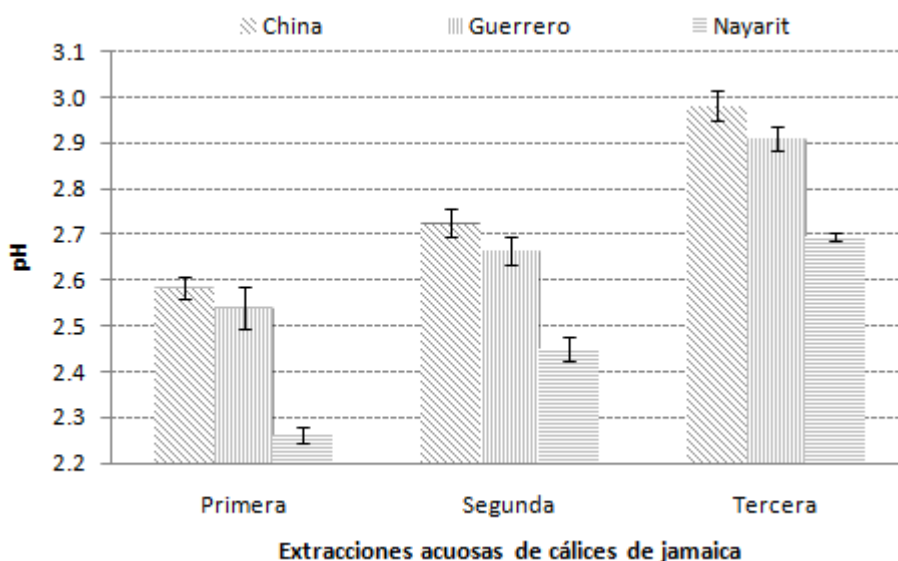


Figura 6. Valores de pH en extractos acuosos de jamaica de variedades nacionales e importada.

3.7 Acidez

La acidez es otro parámetro importante en la calidad de los extractos de jamaica, de éste depende el sabor. Un factor evidente en la concentración de

ácido carboxílicos en los extractos de jamaica es la variedad que se emplea, es sabido que los empresarios utilizan preferentemente variedades de cálices de color rojo oscuro (como la China), pese a que estas variedades contienen una concentración inferior a la que poseen variedades criollas (como la Nayarit), sin embargo, el color que se obtiene en los extractos y bebida preparadas es más agradable a la vista del consumidor.

Los porcentajes de acidez en las muestras analizadas se presentan en el Cuadro 4. La variedad de jamaica de Nayarit presentó un porcentaje de acidez total de 4.3 %, mientras que las variedades China y Guerrero presentaron un porcentaje de acidez total promedio de 3.4 %, un 20.9 % de acidez menos con respecto a la variedad de Nayarit. En la primera extracción se extrajo cerca del 83.5 % de la acidez total de las muestras, en la segunda extracción un 12.4 % y en la tercera extracción el porcentaje fue de 4.1 %.

Cuadro 4. Porcentajes de acidez titulable en extractos acuosos de variedades de jamaica nacional e importada.

Muestra	1^{er} extracción	2^{da} extracción	3^{ra} extracción
	%	%	%
China	3.05 b ^z	0.35 c	0.10 c
Guerrero	2.60 c	0.48 b	0.19 a
Nayarit	3.60 a	0.54 a	0.16 b
DMS	0.14	0.02	0.01
CV	2.93	2.87	6.20

^zMedias con letras iguales en una columna son estadísticamente iguales, según la comparación de medias de Tukey ($\alpha=0.05$); DMS: diferencia mínima significativa. CV: coeficiente de variación.

Las variedades de jamaica con un porcentaje mayor de acidez son las que tienen cálices verdes, seguidas de las de cálices rojos claros y menor en las de cálices de color rojo oscuro (Christian y Jackson, 2009; Babalola *et al.* 2001).

Los ácidos orgánicos predominantes en jamaica son oxálico y succínico (Fasoyiro *et al.*, 2005a; Wong *et al.*, 2002). Además, Wong *et al.* (2002) reportaron una concentración de ácido ascórbico de 141.09 mg•100 g, y Mounigan y Bradie (2007) de 43 mg•mL⁻¹. Otros investigadores (Hirunpanich *et al.*, 2005; Duke *et al.*, 2003; Li, 2002) reportan también la presencia de otros ácidos carboxílicos en los cálices de jamaica, como el cítrico, málico y esteárico.

En la Figura 7 se representa el comportamiento de las extracciones de la acidez y pH en cálices de jamaica de Nayarit.

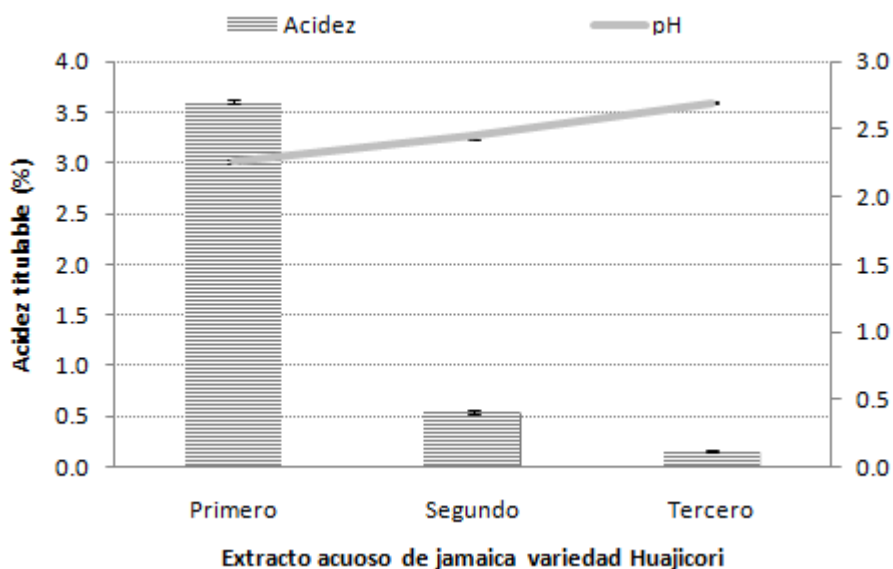


Figura 7. Relación inversa entre la acidez y el pH en los extractos acuosos de jamaica de Nayarit.

La acidez de los extractos se reduce considerablemente al incrementarse el número de extracciones, en tanto que el pH se modifica solo ligeramente. Los compuestos responsables de la acidez son básicamente los ácidos orgánicos, tanto carboxílicos como fenólicos.

3.8 Sólidos solubles totales (°Brix)

El porcentaje de sólidos solubles totales extraídos de los cálices de las variedades de jamaica se muestra en el Cuadro 5.

Cuadro 5. Porcentaje de sólidos solubles totales (°Brix) en extractos de cálices de jamaica nacionales e importados.

Muestra	Extracción 1	Extracción 2	Extracción 3
	%	%	%
China	3.9a ^z	1.0a	0.1b
Guerrero	3.1c	1.0a	0.4a
Nayarit	3.6b	1.0a	0.4a
DMS	0.24	0.0	0.17
CV	2.7	0.0	23.1

^zMedias con letras iguales en una columna son estadísticamente iguales, según la comparación de medias de Tukey ($\alpha=0.05$); DMS: diferencia mínima significativa. CV: coeficiente de variación.

En el primer extracto se obtuvo en promedio 73 % de los sólidos solubles totales de las muestras, en el segundo 20.9 % y 6.1 % en la tercera extracción, se podría decir que una tercera extracción no es rentable en procesos comerciales. Fasoyiro *et al.* (2005b) caracterizaron un extracto de cálices de jamaica encontrando la siguiente composición: carbohidratos (6.31 %), Proteína (0.36 %), fibra cruda (0.24 %), grasa (1.14 g/100 g), ácidos orgánicos (2.3 g/100 g expresado como ácido ascórbico) y minerales (2.31 %), siendo los principales

el calcio (2.3 g/100 g), el fósforo (2.78 g/100 g) y el sodio (2.25 g/100 g), estos compuestos más los bioactivos, como por ejemplo ácidos fenólicos, antocianinas y otros flavonoides, conforman los sólidos solubles totales en jamaica.

Con esta información se podría establecer que el extracto de la primera extracción de los cálices de jamaica podría ser destinado a la producción de extractos concentrados, mientras el segundo a la elaboración de otros subproductos, por ejemplo mermeladas, en donde se puede aprovechar los cálices para su elaboración, con lo cual se tendría buenas características de color y sabor, atribuidas a los compuestos que aun se encuentran presentes en ellos, una tercera extracción no sería rentable, por la baja concentración de compuestos que se obtiene en ella.

Es importante mencionar que los extractos de cálices de jamaica contienen compuestos fenólicos diferentes a las antocianinas, como ácidos fenólicos y otros flavonoides principalmente (Huang *et al.*, 2009), que poseen propiedades terapéuticas, atribuidas a su potente actividad antioxidante. Galicia-Flores *et al.* (2008) evaluaron la actividad antioxidante en extractos de jamaica y encontraron que las antocianinas le confieren una mayor actividad a los extractos, sin embargo, cuando estandarizaron en el contenido de antocianinas, como lo hace la industria que elabora bebidas a base de cálices de jamaica para estandarizar su producto, encontraron que además de las antocianinas, existen otros compuestos bioactivos que contribuyen a esta actividad en los extractos. Por lo cual es importante que se consuman extractos naturales y no

aquellos en donde el color se desarrolla mediante el uso de colorantes sintéticos, principalmente rojo y azul, los cuales no poseen actividad antioxidante, y además están relacionados con la aparición de varios padecimientos, entre los que se encuentran el cáncer.

Por todo lo anterior es importante caracterizar las variedades de jamaica que se producen en el país, además de las que se importan, para poder diferenciar el uso de ellas en diversos procesos de la industria alimenticia y farmacéutica, otro aspecto importante es la generación de información acerca de sus características físicas y químicas, la cual podría ser empleada en la formulación de alguna norma de comercialización de jamaica en el país, hasta el momento inexistente, y de esta forma darle un plus a la jamaica que producen campesinos mexicanos y de los cuales muchos basan su economía en utilidad que deja la comercialización de este cultivo.

4 CONCLUSIONES

Las variedades de jamaica utilizadas en esta investigación se pueden clasificar de acuerdo al color de sus cálices como de color rojo claro (cálices de jamaica de Guerrero y Nayarit) y rojo oscuro (jamaica China).

El porcentaje de cálices fracturado encontrado en las muestras analizadas fue elevado, lo cual indica la necesidad de una mejora en los procesos de despique y manejo de la jamaica una vez deshidratada.

Los porcentajes de impurezas fueron menores a los reportados por lo menos para jamaica cultivada en el estado de Jalisco.

Los cálices de jamaica China presentaron un porcentaje de humedad superior al empleado en la comercialización de jamaica. Los cálices de jamaica Nacional se encontraron dentro del rango empleado (12 %).

Los cálices y extractos de jamaica China presentaron las mejores características de color, debido a una mayor concentración de antocianinas y sólidos solubles totales.

El extracto de jamaica de Nayarit presentó una mayor acidez.

5 LITERATURA CITADA

AOAC. 1984. Association Of Official Analytical Chemist Inc. Official Methods of Analysis. 12a Ed. St. Paul Minnesota, USA.

Adebayo-Tayo, B. C. and Samuel, U. A. 2009. Microbial quality and proximate composition of dried *Hibiscus sabdariffa* calyxes in Uyo, Eastern Nigeria. Malaysian Journal of Microbiology, Vol 5 (1): 1-6.

Augstburger, F., R. Berger., Censkowsky, U., Heid ,P., Milz, J. and Streit, C. 2000. Producción ecológica de Hibisco. Asociación Naturland, Alemania. 234-243.

Babalola, S.O., Babalola, A.O. and Aworh, O.C. 2001. Compositional attributes of the calyces of roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.). The Journal of Food Technology in Africa, Vol. 6:133-134.

Barajas Domínguez, M. I. 2008. Estudio de tres variedades de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) para la preparación de yogur. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma Chapingo, México, 51 pp.

Castañeda-Ovando, A., Pacheco-Hernández, M. L., Páez-Hernández, M. E., Rodríguez, J. A. and Galán-Vida, C. A. 2009. Chemical studies of anthocyanins: A review. Food Chemistry, Vol. 113: 859–871.

Christian, K. R. and Jackson, J. C. 2009. Changes in total phenolic and monomeric anthocyanin composition and antioxidant activity of three varieties of sorrel (*Hibiscus sabdariffa*) during maturity. Journal of Food Composition and Analysis, Vol. 22 (7-8): 663-667.

Del Valle-Leguizamón, G., González-León, A. y Baáez-Sañudo, R. 2005. Antocianinas en uva (*Vitis vinífera* L.) y su relación con el color. Revista Fitotecnia Mexicana 28, 4:359-368.

Domínguez-Domínguez, S., Domínguez-López, A., González-Huerta, A. y Navarro-Galindo, S. 2007. Cinética de imbibición e isotermas de adsorción de humedad de la semilla de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.). Revista Mexicana de Ingeniería Química, vol. 6 (3): 309-316.

Duangmal, K., Saicheua, B. and Sueeprasan, S. 2004. Roselle anthocyanins as a natural food colorant and improvement of its colour stability. Interim Meeting of the International Color Association, Proceedings. p. 155-158.

Duke, J.A., Jo Bogenschutz-Godwin, M., Ducellier, J. and K. Duke, P.A. 2003. Handbook of medicinal spices. CRC Press LLC. New York, USA. 348 p.

Fasoyiro, S.B., Ashaye, O.A., Adeola, A. and Samuel, F.O. 2005a. Chemical and storability of fruit-flavoured (*Hibiscus sabdariffa*) drinks. World Journal of Agricultural Sciences, Vol. 1(2): 165-168.

Fasoyiro, S. B., Babalola, S.O. and Owosibo, T. 2005b. Chemical composition and sensory quality of fruit-flavoured roselle (*Hibiscus sabdariffa*) drinks. World Journal of Agricultural Sciences, Vol. 1: 161-164.

Galicia-Flores., L. A., Salinas- Moreno. Y., Espinoza-García, B. M. y Sánchez-Feria, C. 2008. Caracterización Fisicoquímica y actividad antioxidante de extractos de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) nacional e importada. Revista Chapingo Serie Horticultura, Vol. 14 (2): 121-129.

Garzón, G. A. 2008. Las antocianinas como colorantes naturales y compuestos bioactivos: revisión. Acta biol. Colomb., Vol. 13 (3): 27-36.

Gassama-Dia, Y.K., Sané, D. and Ndoeye, M. 2004. Direct genetic transformation of *Hibiscus sabdariffa* L. African Journal of Biotechnology Vol. 3: 226-228.

Hirunpanich, V., Utaipat, A., Morales, N.P., Bunyapraphatsaea, N., Sato, H., Herunsalee, A. and Suthinsisang, C. 2005. Antioxidant effect of aqueous extracts from dried calyx of *Hibiscus sabdariffa* Linn. (Roselle) *in vitro* using rat

low-density lipoprotein (LDL). Biological and Pharmaceutical Bulletin, Vol. 28: 481-484.

Huang, C. N., Chan, K. C., Lin, W. T., Su, S. L., Wang, C. J. and Peng, C. H. 2009. *Hibiscus sabdariffa* Inhibits Vascular Smooth Muscle Cell Proliferation and Migration Induced by High Glucose#A Mechanism Involves Connective Tissue Growth Factor Signals. Journal of Agricultural and Food Chemistry, Vol. 57 (8): 3073-3079.

Kong, J. M., Chiam, L.S., Goh, N. K., Chia, T. F. y Brouillard. 2003. Analysis and biological activities of anthocyanins. Phytochemistry, Vol. 64: 923-933.

Kowalczyk, E., Krzesiński, P., Kura, M., Szmigiel, B. and Blaszczyk, J. 2003. Anthocyanins in medicine. Polish Journal Pharmacology, Vol. 55: 699-702.

Li, T.S.C. 2002. Chinese and related north American herbs. Phytopharmacology and therapeutic values. CRS Press. New York, USA. 598 p.

Mounigan , P. and Badrie, N. 2007. Physicochemical and sensory quality of wines from red sorrel/roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) calyces: effects of pretreatments of pectolase and temperature/time. International Journal of Food Science & Technology, Vol. 42 (4): 469-475.

Odebunmi, E. O. and Domusu, O. O. 2007. Fermentation studies and nutritional analysis of drinks made from water extract of *Hibiscus sabdariffa* calyx (sobo), juices of *Citrus sinensis* (orange) and *Ananas comosus* (pineapple). Journal of Food technology, Vol. 5 (3): 198-204.

Omemu, A. M., Edema, M. O., Atayese, A. O. and Obadina, A. O. 2006. A survey of the microflora of *Hibiscus sabdariffa* (Roselle) and the resulting “Zobo” juice. African Journal of Biotechnology, Vol. 5 (3): 254-259.

Rendón-Aguilar B. 1992. Estudio de la variación morfológica y aspectos etnobotánicos en *Hibiscus sabdariffa* L. (Malvaceae), en relación a su uso y manejo. Tesis de maestría, UNAM, Facultad de Ciencias, Biología. México.

Salinas-Moreno, Y., Rubi-Hernández, D. y Días-Velazquez, A. 2005. Extracción y uso de pigmentos del grano de maíz (*Zea mays* L.) como colorantes en yogur. Archivos Latinoamericanos de Nutrición (ALAN), Vol. 55 (3): 293-298.

Salinas-Moreno Y., Martinez-Bustos F., Soto-Hernández M., Ortega-Paczka R. y Arellano-Vázquez J. L. 2003. Efecto de la nixtamalización sobre las antocianinas del grano de maíces pigmentados. Agrociencia Vol. 37: 617-628.

SIAP/SIACON. 2009. Sistema De Información Agroalimentaria y Pesquera. Sistema De Información Agroalimentaria De Consulta.

Dirección electrónica: <http://www.siap.gob.mx>.
Fecha de consulta: 12/03/2009.

Taboada-Salgado, M. y Oliver-Guadarrama R. ed. 2002. Cultivos alternativos en México. AGT EDITOR, S. A. México. 169 p.

Wong, P.K., S. Yusof, H.M. Ghazali, Y.B. Che-Man. 2002. Physicochemical characteristics of roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) Nutrition and Food Science. Vol. 32 (2): 68-73.

CUANTIFICACIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS Y EVALUACIÓN DE SU ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE EN EXTRACTOS ACUOSOS DE JAMAICA (*Hibiscus sabdariffa* L.)

QUANTIFICATION OF PHENOLIC COMPOUNDS AND ANTIOXIDANT ACTIVITY EVALUATION IN AQUEOUS EXTRACTS OF ROSELLE (*HIBISCUS SABDARIFFA* L.)

Sánchez-Feria C.¹ Y. Salinas-Moreno² y D. Rubio-Hernández²

RESUMEN

En años recientes el consumo de alimentos funcionales y nutraceuticos ha tomado gran interés, ya que están asociados con la disminución y prevención de padecimientos de tipo cardiovascular y algunos tipos de cáncer. El objetivo del presente trabajo fue caracterizar cualitativa y cuantitativamente las antocianinas y ácidos fenólicos presentes en extractos acuosos de jamaica de tres variedades, además de evaluar su actividad antioxidante. El perfil de antocianinas de los extractos acuosos de las tres variedades de jamaica empleando Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución (HPLC) mostró la presencia de ocho antocianinas, entre las que sobresalieron delphinidina 3-sambubiosido (59.1 a 64.3 %) y cianidina 3-sambubiosido (21.8 a 31.5 %). El extracto acuoso de jamaica China presentó la mayor concentración de antocianinas (8011.8 mg/kg), seguido del extracto de Nayarit (4201.0 mg/kg) y Guerrero (3459.3 mg/kg). Se analizaron las fracciones de ácidos fenólicos libres, glucosilados y esterificados por HPLC, encontrándose 25 diferentes compuestos, de los cuales los ácidos clorogénico y caféico se encontraron en mayor concentración en cada una de las fracciones. La concentración de antocianinas y ácidos fenólicos fue mayor en el extracto acuoso de la jamaica China. Una mayor concentración de antocianinas se asocio con una mayor actividad antioxidante. Sin embargo, cuando esta concentración fue estandarizada en los extractos el contenido de ácidos fenólicos fue fundamental para una actividad antioxidante mayor.

Palabras Clave: Jamaica, HPLC, antocianinas, ácidos fenólicos, actividad antioxidante.

¹ Autor

² Director de tesis

ABSTRACT

In recent years the consumption of functional and nutraceutical foods has taken on great interest, since they are associated with the reduction and prevention of cardiovascular diseases and some types of cancers. The aim of this study was to characterize qualitatively and quantitatively the anthocyanins and phenolic acids present in aqueous extracts of three varieties of roselle as well as assess their antioxidant activity. The anthocyanin profile of the aqueous extracts of the three varieties of roselle using high performance liquid Chromatography (HPLC) showed the presence of eight anthocyanins, among which delphinidin 3-sambubioside (59.1 to 64.3%) and cyanidin 3-sambubioside (21.8 to 31.5%) stood out. The aqueous extract of Chinese roselle had the highest concentration of anthocyanins (8011.8 mg / kg), followed by the Nayarit (4201.0 mg / kg) and Guerrero (3459.3 mg / kg) extracts. The fractions were analyzed for free, glycosylated and esterified phenolic acids by HPLC. In total, 25 different compounds were found, of which chlorogenic and caffeic acids were found in the highest concentration in each fraction. The concentration of anthocyanins and phenolic acids was higher in the aqueous extract of Chinese roselle. A higher concentration of anthocyanins was associated with a higher antioxidant activity. However, when this concentration was standardized in the extracts, the phenolic acids content was key to greater antioxidant activity

Key words: Roselle, HPLC, anthocyanins, phenolic acids, antioxidant activity.

¹ Author

² Thesis adviser

1 INTRODUCCIÓN

En años recientes los investigadores han puesto su particular atención en los compuestos que presentan actividad biológica, especialmente varios compuestos fenólicos y alcaloides en alimentos y bebidas, debido a sus efectos en la prevención de enfermedades de tipo cardiovascular y de algunos tipos de cánceres (Horžić *et al.*, 2009). Numerosos estudios epidemiológicos vinculan el consumo de té y otro tipo de infusiones herbales con la reducción de padecer enfermedades cardiovasculares (Horžić *et al.*, 2009; Nakamura *et al.*, 2000). Las antocianinas son compuestos bioactivos que pertenecen a los compuestos fenólicos, al grupo de los flavonoides (Lila, 2004), son responsables de la gama de colores desarrollados entre los colores rojo y azul que se presentan en una gran variedad de flores, frutas, vegetales y cereales (Garzón, 2008). Otro grupo importante de compuestos fenólicos por sus propiedades bioactivas son los ácidos fenólicos (Natella *et al.*, 1999), y son abundantes en la naturaleza (Robbins, 2003).

En los cálices de jamaica se tienen dos grupos de fenoles importantes: las antocianinas y los ácidos fenólicos (Galicia-Flores *et al.* 2008; Sáyago-Ayerdi *et al.*, 2007). Las antocianinas predominantes son delfinidina y cianidina 3 sambibiosido, que se encuentran en proporciones aproximadas de 70 y 29.1 %

respectivamente (Sáyago-Ayerdi *et al.*, 2007). Se presentan también otras antocianinas tales como delfinidina y cianidina unidas a otros azúcares como glucosa, xilosa y fructosa, pero en cantidades muy bajas (Mizukami, 1993).

Dentro de los ácidos fenólicos, uno de los más estudiados es el protocatecuico, al cual se le atribuye una fuerte actividad antioxidante que se relaciona con la disminución de enfermedades de tipo cardiovasculares (Herrera-Arellano *et al.*, 2004), además de la prevención de ciertos tipos de cánceres, por ejemplo el de colon (Nakamura *et al.*, 2000).

Las investigaciones en los compuestos bioactivos de la jamaica se han enfocado más hacia el estudio de sus antocianinas, que son las responsables del 51 % de la actividad antioxidante de los extractos de esta planta (Tsai *et al.*, 2002), sin embargo, los ácidos fenólicos poseen otras actividades biológicas no menos importantes, por lo que es necesario estudiar su contenido y variabilidad. Los objetivos del presente trabajo fueron determinar el contenido y perfil de los ácidos fenólicos y evaluar la actividad antioxidante de los extractos acuosos de cálices de jamaica en variedades nacionales y de importación.

2 MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Material de estudio

Se trabajó con tres muestras de cálices deshidratados de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.). Dos de ellas corresponden a las variedades de Tecuanapa y Huajicori, cultivadas en los estados de Guerrero y Nayarit, respectivamente, que se obtuvieron directamente en las regiones de producción. La tercera fue una muestra de jamaica importada procedente de China, adquirida en un mercado local de la ciudad de México.

2.2 Obtención de los extractos acuosos y metanólicos

En vasos de precipitados de 500 mL se colocaron 10 g de cálices enteros y se agregaron 150 mL de agua destilada. Los vasos se colocaron en un digestor de fibra cruda modificado, y se mantuvieron a ebullición durante 15 min, considerando como tiempo inicial (t_0) cuando la mezcla alcanzó ebullición plena. Se realizaron tres extracciones sucesivas que se analizaron de manera separada.

Los extractos metanólicos se obtuvieron a partir de 1 g de muestra molida (malla de 0.5 mm) a la que se le agregaron 20 mL de metanol acidificado con 1 % de ácido trifluoroacético (99 %, Baker, México) manteniéndose 24 horas en condiciones de refrigeración. Se separó el sobrenadante del residuo mediante

centrifugación. Se realizaron dos extracciones sucesivas adicionales empleando como disolvente metanol:ácido acético:agua (en proporciones 10:1:9 v/v/v). En este caso, las muestras se mantuvieron en agitación por 24 horas a temperatura de cuarto. Se midió el volumen del sobrenadante en cada extracción para realizar los cálculos de la concentración de antocianinas.

Los extractos acuosos para la determinación de la actividad antioxidante se obtuvieron realizando dos extracciones sucesivas igual que en el caso de antocianinas, los extractos se juntaron y aforaron a un volumen conocido.

2.3 Cuantificación de antocianinas totales

Se midió la absorbancia de los extractos en metanol y agua utilizando un espectrofotómetro PerkinElmer (Lambda 25 UV/Vis) de acuerdo a lo descrito por Salinas *et al.*, (2003). Se elaboró una curva estándar con cianidina 3-glucósido (Polyphenols, Nw) en un rango de 0 a 30 ppm para expresar el contenido total de antocianinas en función de este compuesto. La concentración total de antocianinas se obtuvo al sumar los valores de las tres extracciones sucesivas realizadas.

2.4 Análisis de antocianinas por HPLC

Se realizó a partir de un extracto de antocianinas con metanol acidificado con 1 % de ácido trifluoroacético (TFA 99 % Sigma-Aldrich) el cual se purificó de acuerdo a lo descrito por Salinas *et al.*, (2005) en una columna con Amberlita XAD-7 (tamaño de partícula 20-60 mesh, Sigma Chemical, EUA). La muestra

purificada se filtro en un acrodisco PVDF 0.45 μm (Millipore Corporation, M.A.) y se depositó en viales ámbar a temperatura de congelación hasta su análisis en el HPLC. Se utilizó un cromatógrafo de líquidos (HPLC) PerkinElmer Series 200, con una columna C18 hypersil ODS (200 x 4.6 mm, 5 micras). La metodología de análisis fue la descrita por Fossen *et al.*, (2001) que emplea un sistema de gradientes en el que el disolvente A es ácido fórmico (Merck):agua (1:9 v/v) y el B ácido fórmico:agua:metanol (1:4:5 v/v/v). Todos los solventes empleados fueron grado HPLC y antes de utilizarse se filtraron a través de membranas de nylon de 0.45 μm (Supelco) con ayuda de una bomba de vacío. El volumen de muestra inyectado fue de 20 μL y el tiempo de corrida de 21 min. La detección de las antocianinas se realizó a 525 nm, manteniendo una temperatura en la columna de 25 °C y una velocidad de flujo de 1.2 mL•min⁻¹.

2.5 Cuantificación de ácidos fenólicos

Las fracciones de ácidos fenólicos obtenidas fueron libres, glucosilados y esterificados. Se utilizó el método de Bakan *et al.* (2003). Brevemente, del extracto final aforado a un volumen conocido se tomaron 20 mL. Para el caso de los ácidos fenólicos libres, la alícuota se ajustó a un pH de 2 con HCl 2 N. Se realizaron dos extracciones líquido-líquido con acetato de etilo (AE), las cuales se mezclaron y concentraron a sequedad en un rotavapor (marca Heidolph instruments, mod. Laborata 4010 digital), el residuo se resuspendió en 1 mL de metanol grado HPLC y se guardó a temperatura de congelación para su posterior análisis por HPLC.

La fase acuosa restante fue medida y aforada con agua destilada a un volumen de 20 mL; se dividió en dos volúmenes iguales, agregando a una fracción 10 mL de HCl para la hidrólisis de ácidos fenólicos glucosilados (a temperatura de refrigeración por 1 h) y a la otra fracción se le adicionaron 10 mL de NaOH 2N para la hidrólisis de ácidos fenólicos esterificados (en oscuridad durante 3 h a temperatura de cuarto), la separación y conservación para análisis en HPLC se realizó de forma similar que en los ácidos fenólicos libres.

2.6 Análisis de ácidos fenólicos por HPLC

El análisis de las tres fracciones de ácidos fenólicos (libres, glucosilados y esterificados) se realizó a partir del extracto de fenoles resuspendido en 1 mL de fase móvil (metanol:ácido acético: agua 25:1:75 v/v/v), empleando el método de descrito por Glowniak, *et al.* (1996). El cromatógrafo empleado fue un PerkinElmer serie 200, que consta de una bomba cuaternaria con degasificador, un detector de UV/Vis con arreglo de diodos y un automuestreador. Se usó una columna analítica Hypersil ODS.2 (250 x 46 mm) con tamaño de partícula de 5 μm . Como fase móvil se empleó una mezcla de metanol: ácido acético:agua (25:1:75 v/v/v) a un flujo de $1 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$. El tiempo de corrida fue de 22 min. La detección de ácidos fenólicos se realizó a 254 y 320 nm, manteniendo la columna a 30 °C.

Se prepararon curvas patrón de los ácidos: caféico, clorogénico, ferúlico, gálico, protocatecuico, *p*-cumárico, *p*-hidroxibenzóico, sinápico, salicílico, siríngico y

vanílico (Sigma, St. Louis, MO) utilizando como disolvente la solución de fase móvil.

2.8 Determinación de actividad antioxidante

Se empleó el método del DPPH, el cual consiste en la reducción del radical 2,2-difenil-1-picrihidrazil (Prior *et al.*, 2005). Se prepararon soluciones estandarizadas a una concentración de 100 µg de antocianinas por mL de los diferentes extractos. Esto con el fin de eliminar el efecto de la concentración de antocianinas. También se prepararon soluciones a partir de un volumen conocido del extracto (500 µL) al que se añadió un volumen igual de agua destilada para tener 1 mL. Se preparó una solución 200 µM de DPPH (Sigma-Aldrich, México) en metanol al 80 %, de la cual se tomaron 2900 µL y 100 µL de las soluciones a analizar en cada caso. Se midió la absorbancia de la muestra cada 30 s durante 60 min a 515 nm, en un espectrofotómetro PerkinElmer, Lambda 25 UV/Vis, utilizando como blanco metanol al 80 %.

2.9 Análisis de datos

Con los datos obtenidos de la cuantificación de antocianinas y ácidos fenólicos se realizó un análisis de varianza (ANOVA), el diseño experimental fue un completamente al azar. Se realizó una comparación de medias correspondiente a cada ANOVA por el método de Tukey ($\alpha=0.05$). Se utilizó el paquete estadístico SAS system, versión 9.0. Los análisis se realizaron por triplicado.

3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Compuestos fenólicos

Los dos grupos de compuestos fenólicos presentes en los extractos acuosos de las muestras de jamaica analizadas presentan máximos de absorción a diferentes longitudes de onda. En la Figura 1 se presenta un barrido del extracto de jamaica de Guerrero (los barridos con los extractos de China y Nayarit fueron similares) en el cual se ubicaron 2 grupos de compuestos fenólicos. El primero grupo es el conformado por ácidos fenólicos, con su espectro de absorción entre los 200 y 400 nm y el segundo es el de las antocianinas, las cuales ubican su espectro de absorción en un rango de 515 a 520 nm, sin embargo estos compuestos también absorben en el rango en el que lo hacen los ácidos fenólicos.

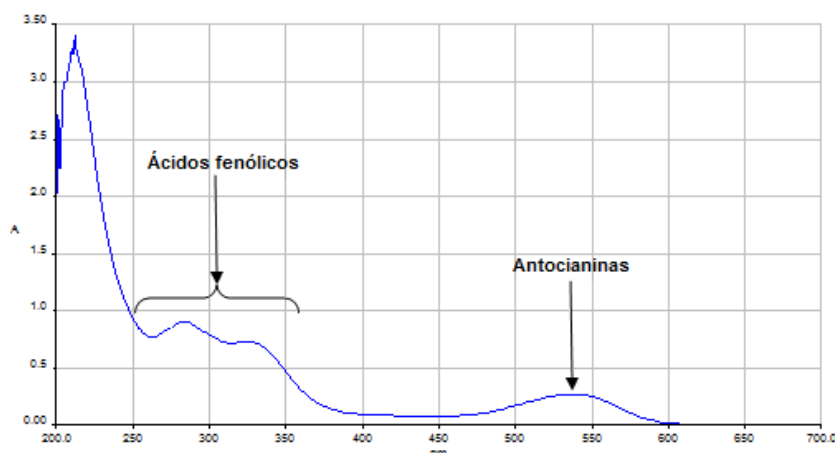


Figura 1. Barrido del extracto de cálices de jamaica, variedad Tecoañapa, Guerrero.

El pH del extracto afecta la absorbancia relativa de los compuestos fenólicos. En este caso el extracto acuoso tenía un pH de 2.7, condición que favorece la forma química del catión flavilio en las antocianinas y cuyo máximo de absorbancia se ubica alrededor de los 520 nm. A pH mayores, la absorbancia de las antocianinas a esta longitud de onda es mínima (Prenesti *et al.*, 2007).

3.2 Antocianinas

En la Figura 2 se muestran el perfil cromatográfico de las antocianinas en el extracto de la jamaica China, que fue muy parecido al obtenido en las otras dos variedades. Se observaron 8 diferentes picos que corresponden a compuestos diferentes.

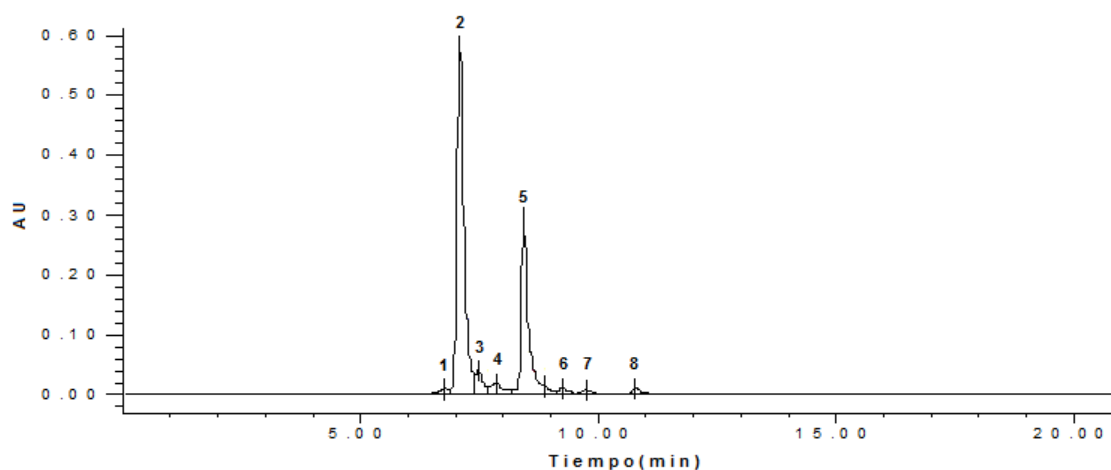


Figura 2. Perfil cromatográfico del extracto acuoso de jamaica China. Identificación de los picos: 1= NI, 2= delphinidina 3-sambubiósido, 3-4= NI, 5= cianidina 3-sambubiósido, 6-10= NI.

Los picos con mayor altura fueron 2 y 5, que de acuerdo con lo informado por diversos autores (Segura-Carretero *et al.*, 2008; Sáyago-Ayerdi *et al.*, 2007;

Gassama-Dia *et al.*, 2004) corresponden a las antocianinas delfinidina 3-sambubiósido y cianidina 3-sambubiósido, respectivamente. El pico 1 corresponde a delfinidina 3-glucósido, en tanto que el 6 y 7 han sido identificados por Segura-Carretero *et al.* (2008) como cianidina 3-rutinosido y cianidina 3 diglucósido, en ese orden. El porcentaje relativo de delfinidina 3-sambubiósido en las variedades China y Huajicori fue similar, y ligeramente inferior al de la variedad Tecuanapa (Cuadro 1). Los valores obtenidos en este trabajo son parecidos a los informado por otros autores (Galicia-Flores *et al.*, 2008), aunque se sabe que estos porcentajes pueden variar de acuerdo con la variedad y las condiciones de cultivo (Christian y Jackson, 2009).

Las antocianinas son los compuestos más estudiados en los cálices de jamaica, tanto por su aplicación en la industria alimentaria (Mounigan y Badrie, 2007) como en la farmacéutica (Okasha, 2008).

Cuadro 1. Porcentaje relativo de las diferentes antocianinas contenidas en extractos de tres variedades diferentes de jamaica.

No.	Identidad de los Picos	Variedades de jamaica		
		China	Guerrero	Nayarit
1	NI	0.7	1.2	1.7
2	Delfinidina 3-sambubiósido ⁺	59.1	64.3	59.2
3	Delfinidina 3-glucósido ⁺	4.3	4.4	7.3
4	NI	2	1.8	4.2
5	Cianidina 3-sambubiósido ⁺	31.5	27.6	21.8
6	Cianidina 3-rutinosido [#]	1	ND	2.1
7	Cianidina 3-diglucósido [#]	0.5	ND	1.4
8	NI	0.8	0.7	2.4

NI: No identificado.

⁺: Según Sukwattanasinit *et al.* (2007).

[#]: Según Segura-Carretero *et al.* (2008).

En general, el perfil de antocianinas es una característica que es determinada genéticamente, en tanto que el porcentaje relativo de estas antocianinas, lo mismo que el contenido son variables que se ven influenciadas más por el ambiente.

En cuanto a la concentración de antocianinas, el disolvente usado y la condición de la muestra (entera o molida) influyen de manera muy importante en la cantidad extraída (Figura 3). Cuando la extracción de antocianinas se realizó empleando Metanol/TFA como disolvente y la muestra molida, la jamaica China presentó una concentración de $19543.2 \pm 248.3 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ de muestra, sin embargo, cuando se usó como disolvente agua y la muestra en forma de cálices enteros, fue de $8011.8 \pm 75.1 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ de muestra. En el caso de las muestras de Guerrero y Nayarit las concentraciones obtenidas con Metanol/TFA como disolvente fueron de 9546.5 ± 199.4 y $8639.8 \pm 108.2 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ respectivamente, en tanto que cuando la extracción se realizó con agua destilada fueron de 3459.3 ± 92.9 y $4201.0 \pm 60.7 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ en ese orden.

Resultados similares en cuanto al efecto del tipo de disolvente y la condición de la muestra han sido informados por autores como Galicia-Flores *et al.* (2008). Sin embargo, Prenesti *et al.* (2007) mencionan que cuando se emplea la muestra molida, no existe diferencia en la cantidad de antocianinas extraídas usando agua o etanol al 12% como disolventes.

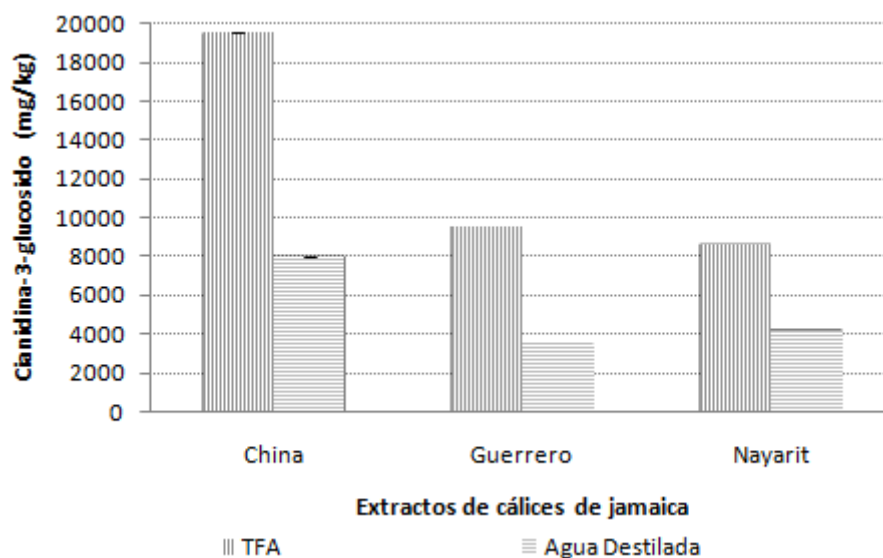


Figura 3. Concentración de antocianinas extraídas con diferentes disolventes.

Definitivamente se extrae una mayor cantidad con el metanol/TFA y la muestra molida (mayor superficie de contacto), pero estas no son condiciones que permitan aprovechar los extractos para consumo humano. El disolvente metanol/TFA es tóxico y moler la muestra es impráctico para el consumidor.

En las extracciones con agua destilada la muestra de Nayarit presentó una mayor concentración de antocianinas con respecto a la muestra de Guerrero, el pH en las diferentes extracciones de jamaica de Nayarit fue más bajo que el de los extractos de Guerrero, por lo que es posible que este factor haya contribuido a lograr mayor extracción de estos compuestos. El Metanol/TFA tenía un pH de 0.98, posterior a la primera extracción, y se incrementó en promedio a 1.75 en el extracto de jamaica de Nayarit y 1.87 y 1.99 en los extractos de de jamaica de China y Guerrero y en la tercera extracción fue de 2.01 para el extracto de Nayarit y de 2.55 y 2.65 para los extractos de China y Guerrero,

respectivamente. En los extractos acuosos el pH de la primera extracción fue en promedio de 2.26 para el extracto de jamaica de Nayarit y de 2.58 y 2.54 para los extractos de jamaica de China y Guerrero incrementando en la tercera extracción a 2.70 en el extracto de jamaica de Nayarit y a 2.98 y 2.91 en los extractos de jamaica de China y Guerrero. Dado que con los dos disolventes empleados para la extracción de antocianinas el pH del extracto se mantuvo por debajo de 3, la forma química predominante fue la de catión flavilio como estructura base de las antocianinas (Castañeda-Ovando *et al.*, 2009).

En las extracciones acuosas del presente trabajo se utilizaron 15 min de ebullición ya que según Galicia-Flores *et al.* (2008) prolongar este tiempo no incrementa la concentración de antocianinas en el extracto, sino que la reduce, por el efecto negativo de la temperatura sobre las antocianinas, que son termolábiles.

Autores como Mizucami (1993) y Ali *et al.* (2005) mencionan un contenido de antocianinas entre 1.7 a 2.5 % base seca de los cálices de jamaica, otros mencionan que ese porcentaje es aproximado a 1.5 % (Omemu *et al.*, 2006). En este estudio cuando se utilizó Metanol/TFA como disolvente y muestra molida, la única variedad con un contenido parecido a los reportados fue la China con 1.96 % de pigmento, las muestras de Guerrero y Nayarit presentaron porcentajes inferiores (0.96 y 0.86 % respectivamente). Cuando las extracciones se realizaron con agua destilada los porcentajes de pigmento fueron menores a 0.85 %. Autores como Galicia-Flores *et al.* (2008) reportan

valores similares a los encontrados en este estudio, en variedades importadas y una nacional.

Christian y Jackson (2009) hacen referencia a tres tipos de variedades de jamaica, la primera es aquella que produce cálices verdes, la segunda produce cálices rojos y una tercera que produce cálices de color rojo oscuro, esta última presenta mayor contenido de antocianinas. La concentración de antocianinas también se puede atribuir al manejo del cultivo, Hassanein *et al.* (2005) mencionan que la síntesis de antocianinas puede incrementarse al realizar aplicaciones de giberelinas y benziladenina, ya que ambos compuestos juegan un papel importante en la síntesis de fenilalanina amonio liasa (PAL) y tirosina amonio liasa (TAL).

El grado de maduración de los cálices influye en la concentración de antocianinas. Algunas variedades presentan mayor contenido en etapas de maduración tempranas (3 días antes de la floración) y otras en etapas más tardías (entre los 7 y 21 días después de la floración) (Christian y Jackson, 2009). Sin embargo, las variedades nacionales con las que se trabajó fueron cosechadas de acuerdo con los criterios que manejan los propios productores de esta planta. Por lo que sería conveniente realizar estudios similares para ubicar las fechas óptimas de cosecha de los cálices en las variedades estudiadas

3.3 Ácidos fenólicos

Solo una pequeña cantidad de ácidos fenólicos se encuentra en forma libre, la mayoría de estos compuestos se encuentran unidos mediante enlaces ésteres o éteres a otros compuestos como antocianinas (co-pigmentación) u otras moléculas orgánicas como glucosa o ácidos quínico, málico o tartárico, o bien a otros productos naturales como terpenos (Marquez y Farah, 2009; Robbins, 2003).

Se analizaron tres tipos de ácidos fenólicos solubles en los extractos acuosos de cálices de jamaica: libres, glucosilados y esterificados. La suma de estos tres tipos de ácidos fenólicos representa el contenido total de fenoles solubles en los extractos y este fue mayor en el extracto de jamaica China que presentó una concentración total de $11977.3 \pm 76.4 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ de muestra, seguido del extracto de jamaica de Nayarit con $9259.3 \pm 35.0 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ de muestra, y por el de Guerrero, con una concentración de $7713.5 \pm 37.5 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ de muestra (Figura 4). La fracción de ácidos esterificados fue la que se encontró en mayor proporción en las tres muestras, seguida de la fracción de glucosilados y por último la de libres. Del total de fenoles solubles en el extracto de jamaica China, 27.3 % correspondió a fenoles libres, 31.0 % a glucosilados y 41.7 % a esterificados; el de Guerrero presentó 25.2 % de libres, 28.6 % de glucosilados y un 46.2 % de esterificados, en tanto que el de Nayarit tuvo 22.1 % de fenoles libres, 25.6 % de glucosilados y un 52.3 % de esterificados.

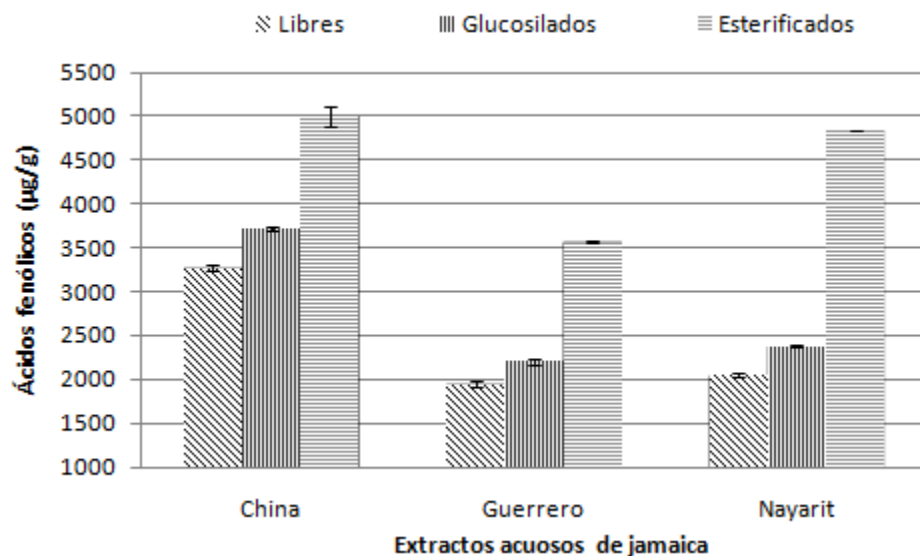


Figura 4. Contenido promedio de las fracciones de ácidos fenólicos contenidos en tres muestras de extractos de cálices de jamaica.

La identificación de los ácidos fenólicos en los extractos acuosos de jamaica se realizó mediante la comparación de su tiempo de retención con el de estándares comerciales (Figura 5), y con el espectro en UV-visible obtenido con el detector de arreglo de diodos. La detección se realizó a dos longitudes de onda por la variación en los máximos de absorción de cada compuesto. La longitud de onda más común para la detección de ácidos fenólicos es 254 nm, sin embargo, puede realizarse en un rango de 190 a 380 nm, principalmente por los derivados del ácido cinámico que debido a sus conjugaciones adicionales en su estructura pueden tener máximos de absorción alrededor de los 360 nm (Robbins, 2003).

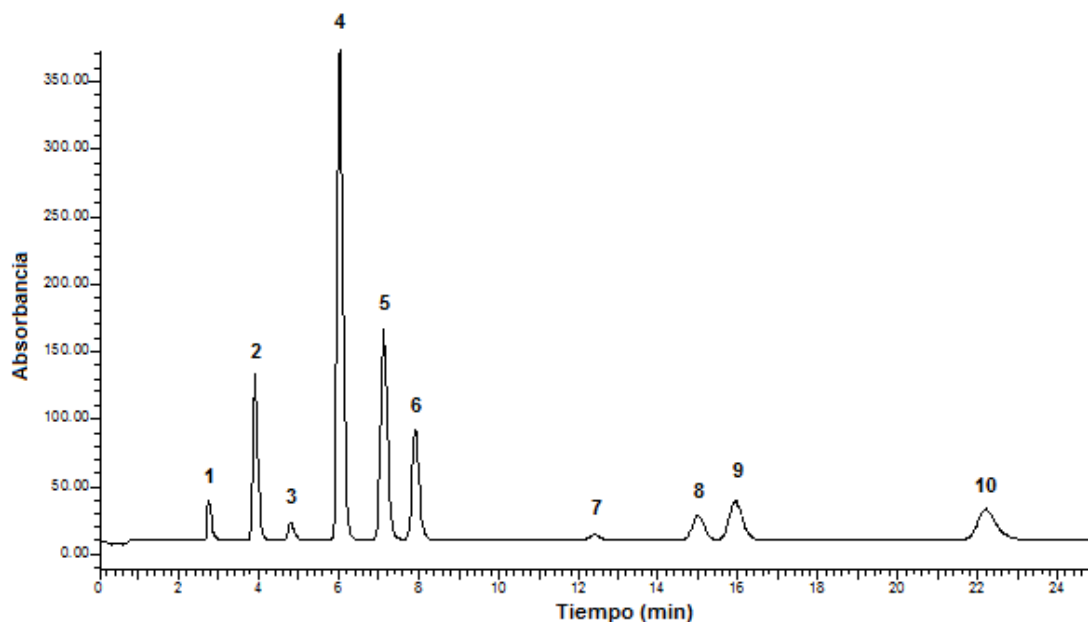


Figura 5. Cromatograma de estándares de ácidos fenólicos a 254 nm. La identidad de los picos es: 1= Gálico, 2= Protocatecuico, 3= Clorogénico, 4= *p*-Hidroxibenzoico, 5= Vanílico y Caféico, 6= Siríngico, 7= *p*-Cumárico, 8= Ferúlico, 9= Salicílico y 10= Sinápico.

En este caso las curvas patrón de los estándares se analizaron tanto a 254 nm como a 320 nm, y se utilizó para los cálculos aquella a la cual mostró mayor absorbancia el ácido.

En la Figura 6 se muestran los cromatogramas obtenidos de cada una de las tres fracciones de ácidos fenólicos de la muestra de jamaica China. Se apreciaron 25 diferentes compuestos de los cuales se identificaron únicamente nueve, utilizando para ello los tiempos de retención de los estándares y su respectivo espectro en UV (Cuadro 2). De los ácidos fenólicos identificados, los que mayor variación presentaron entre las tres fracciones analizadas fueron clorogénico y caféico.

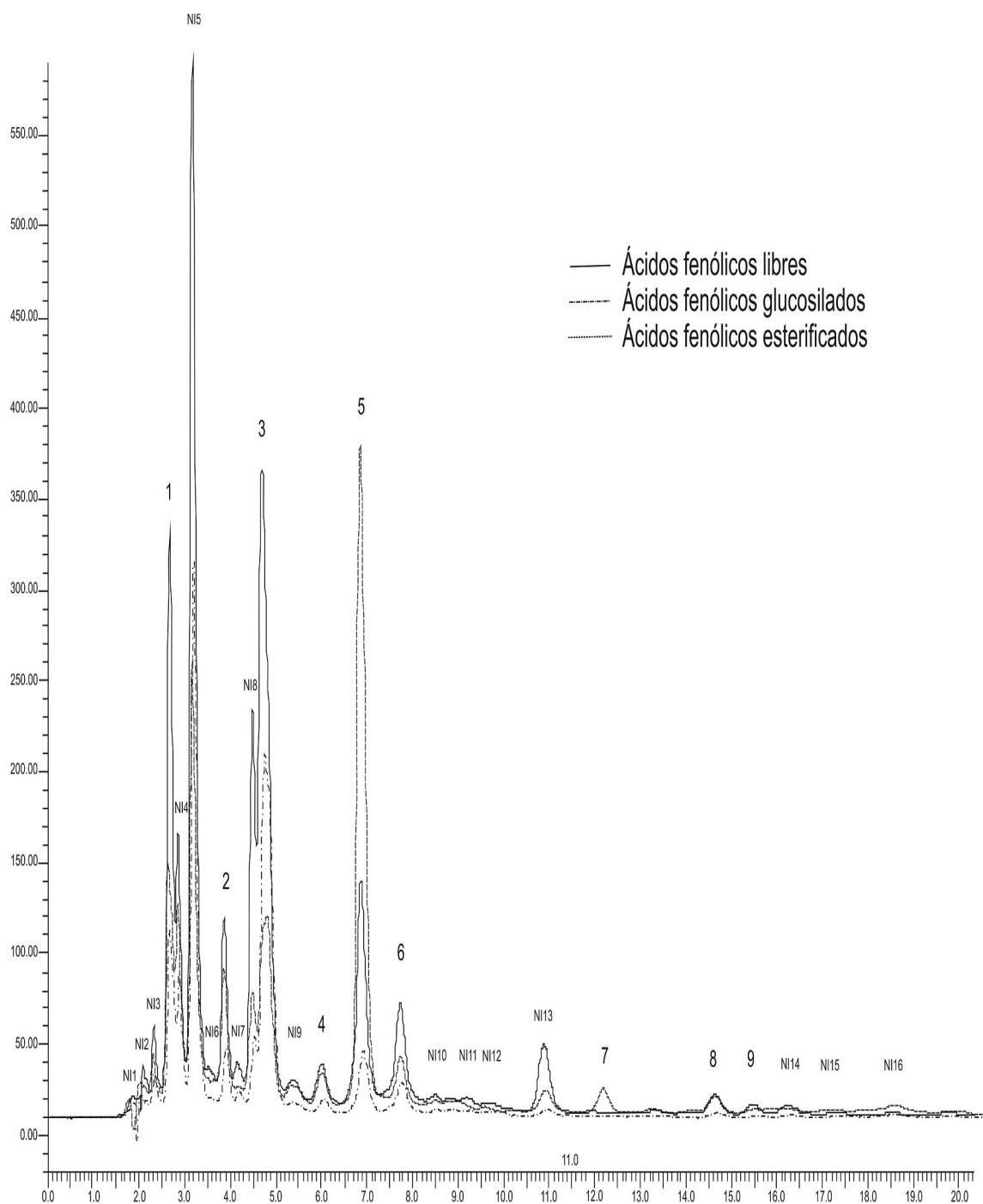


Figura 6. Cromatograma de fracciones de ácidos fenólicos libres, glucosilados y esterificados encontradas en el extracto acuoso de jamaica China, detectadas a 254 nm: 1= Gálico, 2= Protocatecuico, 3= Clorogénico, 4= *p*-hidroxibenzoico, 5= Vanílico y Cafeico, 6= Sirínigico, 7= *p*-Cumárico, 8= Ferúlico, 9= Salicílico y 10= Sinápico. NI: No Identificado.

Cuadro 2. Identificación de ácidos fenólicos mediante uso de estándares comerciales, tiempos de retención y espectros UV, en extractos acuosos de jamaica China.

No. Pico	Ácidos fenólicos	λ_{max}	Estándares	TR			Espectro Similar
				FL	FG	FE	
		nm	min	min	min	min	
NI1				1.87	1.86	1.78	Á. gálico
NI2				2.15	2.00	2.02	Á. gálico
NI3				2.32	2.29	2.30	Á. gálico
1	Gálico	272.9	2.73	2.66	2.63	2.64	
NI4				2.85	2.85	2.85	Á. gálico
NI5				3.16	3.16	3.18	Á.protocatecuico
NI6				3.52	3.54	3.64	Á.protocatecuico
2	Protocatecuico	259.7	3.88	3.85	3.85	3.87	
NI7				4.14	4.15	4.20	Á. clorogénico
NI8				4.47	4.49	4.49	Á. clorogénico
3	Clorogénico	330.1	4.77	4.68	4.71	4.81	
NI9				5.37	5.39	5.34	Á. clorogénico
4	<i>p</i> -Hidroxibenzoico	255.0	5.99	6.00	6.01	6.01	
5	Vanílico	260.9	7.07	6.85	6.87	6.87	
5	Caféico	327.1	7.07	6.85	6.87	6.87	
6	Siríngico	273.7	7.84	7.72	7.72	7.74	
NI10				8.43	8.84	8.81	Á. <i>p</i> -cumárico
NI11				9.15	9.18	9.60	Á. <i>p</i> -cumárico
NI12				13.34	9.85	10.21	Á. <i>p</i> -cumárico
NI13				10.86	10.91	10.92	Á.protocatecuico
7	<i>p</i> -Cumárico	310.1	12.33	12.41	12.35	12.18	
NI14				16.26	16.17	13.26	Á. <i>p</i> -cumárico
8	Ferúlico	323.8	14.85	14.63	14.64	14.64	
9	Salicílico	303.2	15.75	15.43	15.81	15.90	
NI15				17.32	17.30	17.06	Á. salicílico
NI16				18.52	18.58		Á. salicílico

λ_{max} : Máximo de absorción; TR: Tiempo de retención; FL: Fenoles libres; FG: Fenoles glucosilados; FE: Fenoles esterificados.

El contenido de ácidos fenólicos en cada una de las fracciones analizadas en los extractos acuosos de jamaica se muestra en el Cuadro 3.

Cuadro 3. Contenido promedio de ácidos fenólicos libres, glucosilados y esterificados presentes en extractos de tres variedades de cálices de jamaica.

Fenoles	G	P	C	p-H	V	Ca	Si	p-C	F	Sa
	µg/g	µg/g	µg/g	µg/g	µg/g	µg/g	µg/g	µg/g	µg/g	µg/g
Libres										
China	281.2 a	155.1 a	1309.4 a	10.6 a	825.3	412.6 a	93.1 a	45.7 b	24.2 a	112.1 a
Guerrero	329.2 a	88.7 c	1069.8 b	9.8 a	ND	198.2 c	75.0 b	84.0 a	11.2 b	78.1 b
Nayarit	188.2 b	133.6 b	1319.8 a	2.4 b	ND	236.2 b	60.6 c	53.0 b	3.5 c	45.5 c
DMS	55.9	16.8	36.7	0.7	26.1	21.3	4.5	8.1	1.1	10.4
CV	8.4	5.3	1.2	3.8	3.8	3.0	2.4	5.3	3.2	5.3
Glucosilados										
China	362.5 a	158.3 a	1883.7 a	10.1 a	928.4	243.1 a	41.2 a	32.9 c	1.0 a	48.8 b
Guerrero	228.8 b	86.9 c	1517.1 c	4.1 b	ND	194.3 b	38.8 a	73.1 a	1.1 a	60.1 a
Nayarit	164.6 c	117.3 b	1779.2 b	1.5 c	ND	206.7 b	38.4 a	42.9 b	0.0 b	23.6 c
DMS	38.0	13.5	54.8	0.2		13.1	3.0	5.2	2.8	1.1
CV	6.0	4.5	1.3	1.2	3.7	2.4	3.0	4.2	17.8	1.0
Esterificados										
China	462.2 a	183.5 a	1245.8 b	16.1 a	664.7	2101.0 a	75.5 c	108.1 a	40.6 b	100.4 a
Guerrero	388.3 b	131.4 c	1221.0 b	13.3 b	ND	1459.0 c	119.9 a	76.6 b	54.1 a	101.9 a
Nayarit	259.1 c	156.4 b	1493.9 a	14.0 b	834.4	1825.1 b	110.3 b	82.0 b	20.9 c	46.5 b
DMS	9.7	15.4	62.5	1.5		27.2	3.0	11.2	6.1	6.7
CV	1.0	3.9	1.9	4.2	5.1	0.6	1.2	5.0	6.3	3.2

DMS: Diferencia Mínima Significativa; CV: Coeficiente de variación; DMS: Diferencia mínima significativa; G: Gálico; P: Protocatecuico; C: Clorogénico; p-H: *p*-Hidroxibenzoico; V: Vanílico; Ca: Caféico; Si: Sirínigico; p-C: *p*-Cumárico; F: Ferúlico; Sa: Salicílico.

Los ácidos fenólicos encontrados en mayor concentración en los extractos acuosos de jamaica fueron clorogénico y caféico. El primero presente mayormente en forma glucosilada y el segundo en forma esterificada. En el extracto acuoso de jamaica China, el ácido clorogénico representó 37.1 % del total, en el de Guerrero 49.4 % y en el de Nayarit 49.6 %. Estos resultados coinciden con los de otros autores (Segura-Carretero *et al.*, 2008; Gassama-Dia

et al., 2004), en relación a que el ácido clorogénico es el que se encuentra en mayor proporción en los cálices de jamaica.

El ácido clorogénico es el más abundante en alimentos de origen vegetal, se estima un consumo en el rango de 25 mg hasta 1 g por día (Petzke *et al.*, 2005). Marques y Farah (2009) mencionan que la síntesis de ácido clorogénico se incrementa como respuesta al estrés ambiental, a la presencia de patógenos en el cultivo, por heridas producidas en la planta o por una alta radiación ultravioleta o niveles elevados de luz visible.

Los porcentajes relativos de ácido caféico encontrados en las muestras fueron de 24.5 % en el extracto de jamaica de Nayarit, 24.0 % en el de Guerrero y 23 % en el de China. Huang *et al.* (2009) reportaron un porcentaje de 19.9 % para este ácido en extractos de jamaica, valor parecido a los encontrados en el presente trabajo.

Otro ácido fenólico que se encontró en cantidad importante fue vanílico, que en el extracto de jamaica China representó 20.2 % del total de ácidos fenólicos encontrados en las tres fracciones, en el extracto de Nayarit solo se detectó en la fracción de ácidos esterificados. Sin embargo, este ácido fenólico contribuyó con el 9 % de la concentración total de estos compuestos en su extracto. En el extracto de Guerrero no se detectó.

Otros ácidos presentes en los extractos de jamaica analizados fueron: gálico (6.6 a 12.3 %), *p*-hidroxibenzoico (0.2 a 0.4 %), sirínico (1.8 a 3.0 %), ferúlico (0.3 a 0.9 %) y salicílico (1.2 a 3.1 %).

Huang *et al.* (2009) mencionan como ácido predominante en la jamaica al protocatecuico (23.2 %). Sin embargo, el porcentaje promedio de este ácido en los extractos acuosos de jamaica analizados fue de 4.2 %, encontrándose en mayor proporción en el extracto de jamaica de Nayarit (4.4 %).

En los cromatogramas de ácidos fenólicos solubles (libres, glucosilados y esterificados) se observó un compuesto cuyo tiempo de retención fue de 3.12 min, que es muy cercano al tiempo de retención del estandar de ácido protocatecuico (3.85 min), pero con un espectro en UV ligeramente diferente (Figura 7), por lo que es posible de que se trate de un derivado de este ácido. El porcentaje relativo de este compuesto en las tres fracciones de ácidos fenólicos analizados fue mayor que el del ácido clorogénico, particularmente en la fracción de ácidos libres.

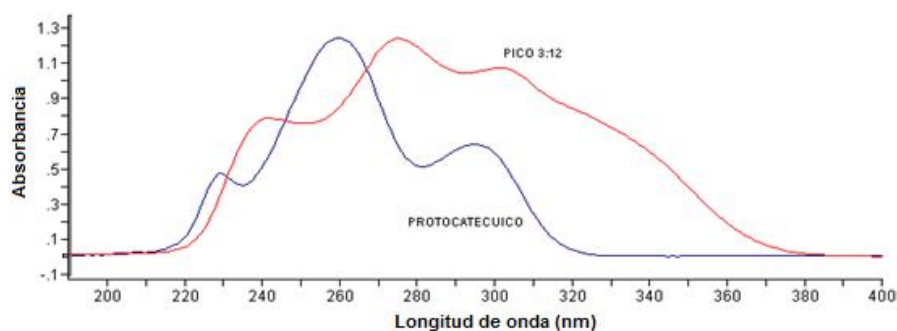


Figura 7. Espectro en UV del ácido protocatecuico y del compuesto con tiempo de retención de 3.12.

El ácido gálico es uno de los principales derivados del ácido benzoico en plantas comestibles y frutos, y se le atribuye una fuerte actividad antioxidante (Nakamura *et al.*, 2000).

3.4 Actividad antioxidante de extractos de jamaica

En la actualidad es de interés evaluar alimentos y bebidas que presenten efecto funcional o nutracéutico. Los extractos de jamaica analizados en este estudio mostraron una gran diversidad de compuestos que son apreciados por su contribución a la actividad antioxidante, como son ácidos fenólicos y compuestos antocianos. Natella *et al.* (1999) evaluaron la actividad antioxidante de ácidos fenólicos, encontrando que el ácido sinápico presenta mayor actividad antioxidante que los ácidos cafeíco, siríngico, ferúlico y protocatecuico, en ese orden respectivamente.

La Figura 7 ilustra el comportamiento de la actividad antioxidante de los diferentes extractos de jamaica diluidos en proporciones 1:1 con agua, observando la participación de todos los compuestos y sus diferentes concentraciones.

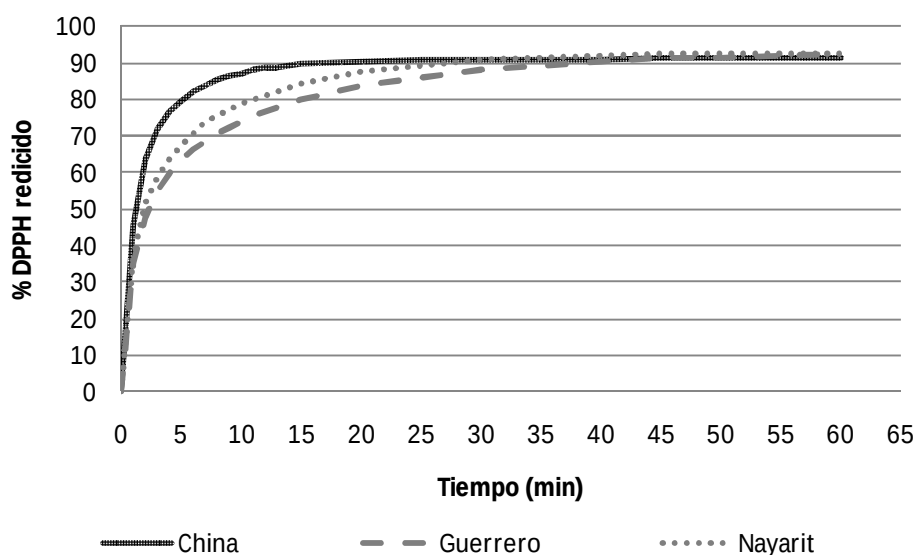


Figura 8. Actividad antioxidante de extractos acuosos de jamaica diluidos 1:1 con agua destilada.

El extracto de jamaica China con una concentración de $14.5 \pm 0.1 \mu\text{g}$ de antocianinas y $22.5 \pm 0.1 \mu\text{g}$ de ácidos fenólicos mostró un efecto antioxidante mayor, redujo 89.6 % del DPPH en 15 min y en 30 min la reducción fue del 91.0 %. El extracto de jamaica de Nayarit con $7.6 \pm 0.1 \mu\text{g}$ de antocianinas y $17.4 \pm 0.1 \mu\text{g}$ de ácidos fenólicos redujo 84.1 % del DPPH en 15 min, incrementando a 90.7 % en 30 min. El extracto de Guerrero que contenía $6.0 \pm 0.2 \mu\text{g}$ de antocianinas y $14.5 \pm 0.1 \mu\text{g}$ de ácidos fenólicos redujo en 15 min el 79.7 % del DPPH y un 88.0 % a los 30 min. Después de 30 min no se percibieron cambios significativos en la reducción del DPPH por los extractos, la reducción final de DPPH a los 60 min por los extractos de jamaica China y Nayarit fue similar (91.0 y 90.7 % respectivamente), lo que hace suponer que otros compuestos además de las antocianinas y ácidos fenólicos y carboxílicos, contribuyen en la capacidad antioxidante del extracto de Nayarit. El extracto de Guerrero redujo 88.2 % del DPPH en 60 min, este extracto presento las concentraciones más bajas de antocianinas y ácidos fenólicos.

En este primer ensayo de actividad antioxidante se observó que una concentración de antocianinas y ácidos fenólicos más elevada implica una mayor velocidad en la reducción del DPPH por los extractos. Galicia-Flores *et al.* (2008) mencionan que entre más elevada sea la concentración de antocianinas en los extractos de jamaica mayor es la actividad antioxidante. Sin embargo, cuando se estandariza la concentración de antocianinas, los demás compuestos antioxidantes juegan un rol importante en la diferenciación de una mayor actividad antioxidante.

Los resultados de este ensayo concuerdan con lo reportado por Christian y Jackson (2009), que encontraron que las variedades de jamaica como la China (de cálices color rojo oscuro) empleada en este trabajo presentan mayor actividad antioxidante, ya que es una variedad que sintetiza una mayor cantidad de antocianinas debido posiblemente a su naturaleza genética. Sin embargo la síntesis de otros compuestos como lo son diversos ácidos es mayor en las variedades con cálices claros, como las muestras nacionales utilizadas en esta investigación (Babalola *et al.*, 2001).

En la Figura 8 se puede observar el comportamiento antioxidante de los extractos de jamaica ajustados a una concentración de 100 µg de antocianinas por mL de extracto.

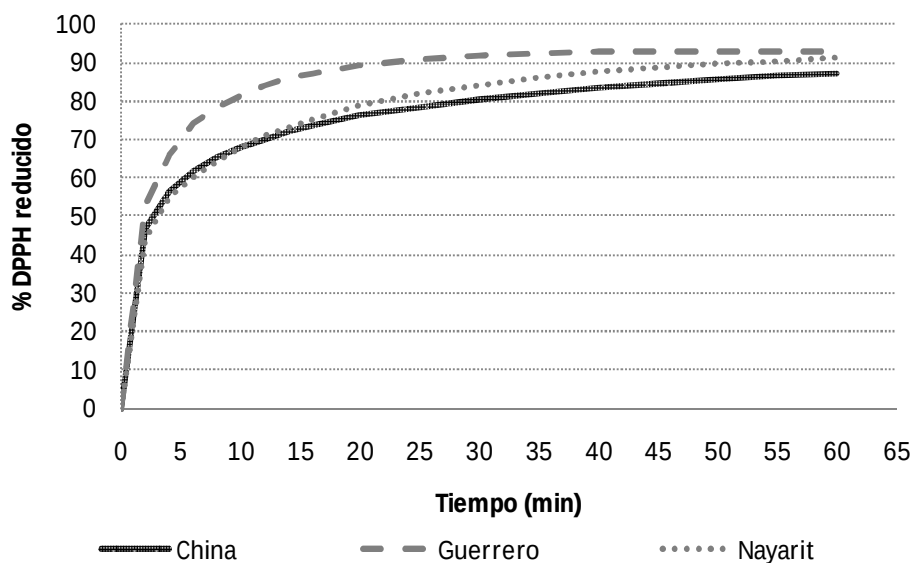


Figura 9. Actividad antioxidante de extractos acuosos de jamaica ajustados a 100 µg de antocianinas por mL de extracto de jamaica.

En éste segundo ensayo, el efecto de la concentración de antocianinas fue el mismo para todos los extractos. Tsai *et al.* (2002) determinaron que las antocianinas aportan el 51 % de la actividad antioxidante en extractos de jamaica, por lo cual la concentración de otros compuestos como ácidos fenólicos y otros flavonoides diferentes de antocianinas están relacionados con el aporte del otro 49 % de su actividad antioxidante.

El extracto de jamaica China presentó la actividad antioxidante más baja, resultado de la dilución por el ajuste de la concentración de antocianinas, su concentración de ácidos fenólicos se redujo a 15.5 ± 0.1 µg por mL de extracto, el extracto redujo un 72.8 % del DPPH en 15 min, 80.5 % en 30 min y en 60 min un 87.2 %. Por otro parte los extractos de jamaica nacional tuvieron una dilución menor para ajustar la cantidad de antocianinas, lo que el resto de los compuestos presentes sufrieron menor dilución. El extracto de jamaica de Nayarit con 22.9 ± 0.1 µg de ácidos fenólicos por mL redujó un 74.5 % del DPPH en 15 min, 84.3 % en 30 min y 91.2 % en 60 min, mientras el extracto de jamaica de Guerrero con 24.1 ± 0.1 µg de ácidos fenólicos por mL presentó mayor actividad antioxidante que los dos anteriores, reduciendo el 86.7 % del DPPH en 15 min, a los 30 un 91.9 % y a los 60 min 93.0 %. La velocidad de reducción del DPPH en los tres extractos fue menor con relación a lo que se observo en el primer ensayo. El comportamiento de la actividad antioxidante del extracto de Nayarit fue parecida a la del extracto de jamaica China en la mayor parte del ensayo, aunque el contenido de antocianinas y ácidos fenólicos fue similar al del extracto de jamaica de Guerrero. Esto hace suponer que en el

extracto de jamaica de Guerrero podrían existir otros compuestos que le confieren una mayor actividad biológica.

Diversos autores (Maganha *et al.*, 2010; Huang *et al.*, 2009; Rodríguez-Medina *et al.*, 2009) reportan la presencia de otros compuestos que pudieran estar relacionados con el aporte de una mayor actividad antioxidante en extractos de jamaica como son epigallocatequina galato, catequina, epigallocatequina, quercitina, kaemferol, ácido hidroxycítrico y β -caroteno.

Es importante seguir analizando los extractos de jamaica para poder identificar los compuestos que pudieran estar contribuyendo con una mayor actividad antioxidante, como en el caso del extracto de Guerrero en esta investigación.

4 CONCLUSIONES

El contenido de ácidos fenólicos y antocianinas fue diferente en las muestras analizadas, la jamaica China presentó el mayor contenido en ambos grupos de compuestos fenólicos. En las variedades nacionales, la jamaica de Nayarit tuvo mayor concentración tanto de antocianinas como de ácidos fenólicos que la de Guerrero.

El perfil de antocianinas no se vio afectado por el origen de las muestras, aunque si los porcentajes relativos de estas.

Los ácidos fenólicos más importantes en los extractos acuosos de cálices de jamaica fueron el clorogénico y caféico; el primero abundo en la fracción de fenoles glucosilados en tanto que el segundo en el de esterificados.

El extracto de jamaica China presentó mayor actividad antioxidante cuando se evaluó la concentración de antocianinas.

El extracto de jamaica China presentó un mayor efecto antioxidante en comparación con los extractos nacionales, por presentar una mayor concentración de antocianinas. Sin embargo cuando la concentración de antocianinas es estandarizada (por ejemplo: como en las bebidas comerciales) la concentración de otros compuestos afectan el comportamiento antioxidante de los extractos.

Existen reportes de otros compuestos antioxidantes diferentes de antocianinas y ácidos fenólicos en los extractos de jamaica, por lo cual es importante su estudio para esclarecer la contribución antioxidante de cada uno de ellos en los extractos.

Es necesario seguir caracterizando la composición de los extractos de jamaica y evaluar el efecto antioxidante de cada uno de ellos, para poder clasificar el posible uso de variedades nacionales para la industria alimenticia y farmacéutica.

5 LITERATURA CITADA

Ali, B. H., Wabel, N. A. and Blunden, G. 2005. Phytochemical, pharmacological and toxicological aspects of *Hibiscus sabdariffa* L.: A review. *Phytotherapy Research*, Vol. 19 (5): 369-375.

Babalola, S.O., Babalola, A.O. and Aworh, O.C. 2001. Compositional attributes of the calyces of roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.). *The Journal of Food Technology in Africa* Vol. 6: 133-134.

Bakan, B., Bily, A. C., Melcion, D., Cahagnier, B., Regnault-Roger, C., Philogene, B. J. R. and Richard-Molard, D. 2003. Possible role of plant phenolics in the production of trichothecenes by *Fusarium graminearum* strains on different fractions of maize kernels. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Vol. 51: 2826-2831.

Castañeda-Ovando, A., Pacheco-Hernández, M. L., Páez-Hernández, M. E., Rodríguez, J. A. and Galán-Vida, C. A. 2009. Chemical studies of anthocyanins: A review. *Food Chemistry*, Vol. 113: 859-871.

Christian, K. R. and Jackson, J. C. 2009. Changes in total phenolic and monomeric anthocyanin composition and antioxidant activity of three varieties of sorrel (*Hibiscus sabdariffa*) during maturity. *Journal of Food Composition and Analysis*, Vol. 22 (7-8): 663-667.

Fossen, T., Slimestad, R. and Andersen, Ø. M. 2001. Anthocyanins from Maize (*Zea mays*) and Reed Canarygrass (*Phalaris arundinacea*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Vol. 49 (5): 2318–2321.

Galicía-Flores., L. A., Salinas-Moreno. Y., Espinoza-García, B. M. y Sánchez-Feria, C. 2008. Caracterización Fisicoquímica y actividad antioxidante de extractos de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) nacional e importada. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, Vol. 14 (2): 121-129.

Garzón, G. A. 2008. Las antocianinas como colorantes naturales y compuestos bioactivos: Revisión. Acta biol. Colomb., Vol. 13 (3): 27-36.

Gassama-Dia, Y.K., Sané, D. and Ndoeye, M. 2004. Direct genetic transformation of *Hibiscus sabdariffa* L. African Journal of Biotechnology, Vol. 3: 226-228.

Glowniak, K, Zgórk, G., Kozyra, M. 1996. Solid Phase Extraction and reversed-phase high HPLC of free phenolic acids in some Echinacea species. J. Chromatography A. Vol. 730 (1-2): 25-29.

Hassanein, R. A., Khattab, H. K. I., El-Bassiouny, H. M. S. and Sadak, M. S. 2005. Increasing the active constituents of sepals of roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) plant by applying gibberellic acid and benzyladenine. Journal of Applied Sciences, Vol. 1: 137-146.

Herrera-Arellano, A., Flores-Romero, S., Chavez-Soto, M.A. and Tortoriello, J. 2004. Effectiveness and tolerability of a standardized extract from *Hibiscus sabdariffa* in patients with mild to moderate hypertension: a controlled and randomized clinical trial. Phytomedicine, Vol. 11: 375-382.

Horžić D., Komes D., Belščak A., Ganić K. K., Iveković D. and Karlović D. 2009. The composition of polyphenols and methylxanthines in teas and herbal infusions. Food Chemistry, Vol. 115 (2): 441-448.

Huang, C. N., Chan, K. C., Lin, W. T., Su, S. L., Wang, C. J. and Peng, C. H. 2009. Hibiscus sabdariffa Inhibits Vascular Smooth Muscle Cell Proliferation and Migration Induced by High Glucose#A Mechanism Involves Connective Tissue Growth Factor Signals. Journal of Agricultural and Food Chemistry, Vol. 57 (8): 3073-3079.

Lila, M. A. 2004. Anthocyanins and Human Health: An In Vitro Investigative Approach. Journal of Biomedicine and Biotechnology, Vol. 5: 306-313.

Maganha, E.G., da Costa H., R., Rosa, R.M., Pegas H., J. A., Lia de Paula R, A. L. and A.L., Saffi, J. 2009. Pharmacological evidences for the extracts and secondary metabolites from plants of the genus *Hibiscus*. Food Chemistry, Vol. 118 (1): 1-10.

Marques, V. and Farah, A. 2009. Chlorogenic acids and related compounds in medicinal plants and infusions. Food Chemistry, Vol. 113: 1370-1376.

Mizukami, H. 1993. *Hibiscus sadariffa* L. (Roselle): In vitro culture and the production of anthocyanins. In: Biotechnology in Agriculture and Forestry, 43 (5): 218.

Mounigan, P. and Badrie, N. 2007. Physicochemical and sensory quality of wines from red sorrel/roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) calyces: effects of pretreatments of pectolase and temperature/time. International Journal of Food Science & Technology, Vol. 42 (4): 469-475.

Nakamura, Y., Torikai, K., Ohto, Y., Murakami, A., Tanaka, T. and Ohigashi, H. 2000. A simple phenolic antioxidant protocatechuic acid enhances tumor promotion and oxidative stress in female ICR mouse skin: dose-and timing-dependent enhancement and involvement of bioactivation by tyrosinase. Carcinogenesis, Vol. 21(10):1899-1907.

Natella F., Nardini M., Di-Felice M. and Scaccini C. 1999. Benzoic and cinnamic acid derivatives as antioxidants: Structure-activity relation. Journal of Agricultural and Food Chemistry, Vol. 47: 1453-1459.

Okasha, M. A. M., Abubakar, M. S. and Bako, I. G. 2008. Study of the effect of aqueous *Hibiscus sabdariffa* Linn seed extract on serum prolactin level of lactating female albino rats. European Journal of Scientific Research, Vol. 22 (4): 575-583.

Omemu, A. M., Edema, M. O., Atayese, A. O. and Obadina, A. O. 2006. A survey of the microflora of *Hibiscus sabdariffa* (Roselle) and the resulting "Zobo" juice. African Journal of Biotechnology Vol. 5: 254-259.

Petzke, K. J., Schuppe, S., Rohn, S., Rawel, H. M. and Kroll, J. 2009. Chlorogenic Acid Moderately Decreases the Quality of Whey Proteins in Rats. Journal of Agricultural and Food Chemistry, Vol. 53: 3714-3720.

Prenesti, E., Berto, S., Daniele, P. G. and Toso, S. 2007. Antioxidant power quantification of decoction and cold infusions of *Hibiscus sabdariffa* flowers. Food Chemistry, Vol. 100: 433-438

Prior, R.L., Wu, X. and Schaich K. 2005. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 53: 4290-4302.

Robbins, R. J. 2003. Phenolic Acids in Foods: An Overview of Analytical Methodology. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Vol. 51 (10): 2866-2887.

Rodríguez-Medina, I. C., Beltrán-Debón, R., Molina, V. M., Alonso-Villaverde, C., Joven, J., Menéndez, J. A., Segura-Carretero, A. and Fernández-Gutiérrez, A. 2009. Direct characterization of aqueous extract of *Hibiscus sabdariffa* using HPLC with diode array detection coupled to ESI and ion trap MS. *J.Sep. Sci.*, Vol. 32: 3441-3448.

Salinas-Moreno, Y., Rubi-Hernández, D. y Días-Velazquez, A. 2005. Extracción y uso de pigmentos del grano de maíz (*Zea mays* L.) como colorantes en yogur. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición (ALAN)*, Vol. 55 (3): 293-298.

Salinas-Moreno Y., Martinez-Bustos F., Soto-Hernández M., Ortega-Paczka R. y Arellano-Vázquez J.L. 2003. Efecto de la nixtamalización sobre las antocianinas del grano de maíces pigmentados. *Agrociencia*, Vol. 37: 617-628.

Sáyago-Ayerdi S. G., Arranz S., Serrano J., Goni I. 2007. Dietary fiber content and associated antioxidant compounds in roselle flower (*Hibiscus sabdariffa* L.) beverage. *Journal of agricultural and food chemistry*, Vol. 55: 7886-7890.

Segura-Carretero, A., Puertas-Mejía, M. A., Cortacero-Ramírez, S., Beltrán, R., Alonso-Villaverde, C., Joven, J., Dinelli, G. and Fernández-Gutiérrez, A. 2008. Selective extraction, separation, and identification of anthocyanins from *Hibiscus sabdariffa* L. using solid phase extraction-capillary electrophoresis-mass spectrometry (time-of-flight/ion trap). *Electrophoresis*, Vol. 29: 2852-2861.

Sukwattanasinit, T., Burana-Osot, J. and Sotanaphun, U. 2007. Spectrophotometric method for quantitative determination of total anthocyanins and quality characteristics of roselle (*Hibiscus sabdariffa*). *Plant Med*, Vol. 73: 1517-1522.

Tsai, P. J., McIntosh, J., Pearce, P., Camden, B. and Jordan B.R. 2002. Anthocyanin and antioxidant capacity in Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) extract. *Food Research International*, Vol. 35: 351-356.