



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA
DE AGUASCALIENTES**

CENTRO DE CIENCIAS BÁSICAS

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA

TESIS

**CARACTERIZACIÓN FITOQUÍMICA Y FUNCIONAL DE EXTRACTOS DE
CÁLICES DE DIVERSOS GENOTIPOS DE JAMAICA (*Hibiscus sabdariffa* L.)**

PRESENTA

IBT Zitlaly Cynthia Guerrero Cázares

**PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRA EN CIENCIAS EN EL ÁREA DE
BIOTECNOLOGÍA VEGETAL.**

COTUTORES

Dr. Fidel Guevara Lara

M. en C. Rubén Larios González

ASESORA

Dra. Yenny Adriana Gómez Aguirre

Aguascalientes, Ags., Noviembre de 2018



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA
DE AGUASCALIENTES

FORMATO DE CARTA DE VOTO APROBATORIO

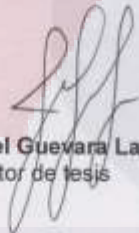
M.C. JOSÉ DE JESÚS RUIZ GALLEGOS
DECANO DEL CENTRO DE CIENCIAS BÁSICAS
P R E S E N T E

Por medio del presente como Tutor designado de la estudiante **ZITLALY CYNTHIA GUERRERO CÁZARES** con ID 225323 quien realizó la tesis titulada: **CARACTERIZACIÓN FITOQUÍMICA Y FUNCIONAL DE EXTRACTOS DE CÁLCICES DE DIVERSOS GENOTIPOS DE JAMAICA (*Hibiscus sabdariffa* L.)**, y con fundamento en el Artículo 175, Apartado II del Reglamento General de Docencia, me permito emitir el **VOTO APROBATORIO**, para que ella pueda proceder a imprimirla, y así como continuar con el procedimiento administrativo para la obtención del grado.

Pongo lo anterior a su digna consideración y sin otro particular por el momento, me permito enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE
"Se Lumen Proferre"

Aguascalientes, Ags., a 13 de Noviembre de 2018.


Dr. Fidel Guevara Lara
Tutor de tesis

c.c.p. - Interesado
c.c.p. - Secretaría de Investigación y Posgrado
c.c.p. - Jefatura del Depto. de Química
c.c.p. - Consejero Académico
c.c.p. - Secretario Técnico



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA
DE AGUASCALIENTES

FORMATO DE CARTA DE VOTO APROBATORIO

M.C. JOSÉ DE JESÚS RUIZ GALLEGOS
DECANO DEL CENTRO DE CIENCIAS BÁSICAS
P R E S E N T E

Por medio del presente como Tutor designado de la estudiante **ZITLALY CYNTHIA GUERRERO CÁZARES** con ID 225323 quien realizó la tesis titulada: **CARACTERIZACIÓN FITOQUÍMICA Y FUNCIONAL DE EXTRACTOS DE CÁLCICES DE DIVERSOS GENOTIPOS DE JAMAICA (*Hibiscus sabdariffa* L.)**, y con fundamento en el Artículo 175, Apartado II del Reglamento General de Docencia, me permito emitir el **VOTO APROBATORIO**, para que ella pueda proceder a imprimirla, y así como continuar con el procedimiento administrativo para la obtención del grado.

Pongo lo anterior a su digna consideración y sin otro particular por el momento, me permito enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE
"Se Lumen Proferre"

Aguascalientes, Ags., a 13 de Noviembre de 2018.

M. en C. Rubén Larios González
Cotutor de tesis

c.c.p.- Interesado
c.c.p.- Secretaria de Investigación y Posgrado
c.c.p.- Jefatura del Depto. de Química
c.c.p.- Consejero Académico
c.c.p.- Secretario Técnico



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA
DE AGUASCALIENTES

FORMATO DE CARTA DE VOTO APROBATORIO

M.C. JOSÉ DE JESÚS RUIZ GALLEGOS
DECANO DEL CENTRO DE CIENCIAS BÁSICAS
P R E S E N T E

Por medio del presente como Tutor designado de la estudiante **ZITLALY CYNTHIA GUERRERO CÁZARES** con ID 225323 quien realizó la tesis titulada: **CARACTERIZACIÓN FITOQUÍMICA Y FUNCIONAL DE EXTRACTOS DE CÁLCICES DE DIVERSOS GENOTIPOS DE JAMAICA (*Hibiscus sabdariffa* L.)**, y con fundamento en el Artículo 175, Apartado II del Reglamento General de Docencia, me permito emitir el **VOTO APROBATORIO**, para que ella pueda proceder a imprimirla, y así como continuar con el procedimiento administrativo para la obtención del grado.

Pongo lo anterior a su digna consideración y sin otro particular por el momento, me permito enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE
"Se Lumen Proferre"

Aguascalientes, Ags., a 13 de Noviembre de 2018.

Yenny Adriana Gómez A.
Dra. Yenny Adriana Gómez Aguirre
Asesora de tesis

c.c.p. - Interesado
c.c.p. - Secretaría de Investigación y Posgrado
c.c.p. - Jefatura del Depto. de Química
c.c.p. - Consejero Académico
c.c.p. - Secretario Técnico



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA
DE AGUASCALIENTES

ZITLALY CYNTHIA GUERRERO CAZARES
MAESTRIA EN CIENCIAS, AREA BIOTECNOLOGIA VEGETAL
P R E S E N T E.

Estimada alumna:

Por medio de este conducto me permito comunicar a Usted que habiendo recibido los votos aprobatorios de los revisores de su trabajo de tesis y/o caso práctico titulado: "**CARACTERIZACION FITOQUIMICA Y FUNCIONAL DE EXTRACTOS DE CALICES DE DIVERSOS GENOTIPOS DE JAMAICA (*Hibiscus sabdariffa* L.)**", hago de su conocimiento que puede imprimir dicho documento y continuar con los trámites para la presentación de su examen de grado.

Sin otro particular me permito saludarle muy afectuosamente.

ATENTAMENTE

Aguascalientes, Ags., a 15 de noviembre de 2018

"Se lumen proferre"

EL DECANO

M. en C. JOSÉ DE JESÚS RUIZ GALLEGOS

c.c.p.- Archivo.

Agradecimiento

Al H. Consejo de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por la beca numero 766391 otorgada para la realización de mi posgrado durante estos dos años.

A la Universidad Autónoma de Aguascalientes y al Programa de Maestría en Ciencias en las áreas de Biotecnología Vegetal y/o Toxicología, por el apoyo económico para estancias y compra de reactivos dado durante la realización de este proyecto.

Al Dr. Fidel Guevara Lara por aceptarme en como su tutorada, permitirme unirme a su equipo de trabajo. Muchas gracias por darme su apoyo desde antes incluyo de que iniciara este proyecto, es un gran profesor e investigador, del que aprendí mucho.

Al M. C. Rubén Larios González por confiar y apoyarme siempre para llevar a cabo este proyecto. A la Dra. Yenny Adriana Gómez Aguirre por motivarme y apoyarme a lo largo de estos dos años.

La Maestra Ma. Lorena Sandoval Cardoso por tratarnos a mí y a todos como si fuéramos parte de su familia y hacer que nos sintiéramos integrados, y estar conmigo en cada experimento. También a la Dra. Becky porque apoyarme desde la carrera hasta ahora y además por motivo a continuar mis estudios.

Michelle, Gabriel, Mireya y Juan Manuel, mis compañeros de laboratorio, aunque son más que eso, son amigos que siempre estuvieron dispuestos a ayudar y a dar consejos.

Al Dr. Horacio Guzmán Maldonado y su esposa por brindarme su ayuda en mi estancia en INIFAP Campo Experimental Bajío. A Isela, Sofi, Cesi, Carmen y Laura, las chicas del INIFAP por brindarme su amistad, sus enseñanzas y su ayuda.

Dedicatoria

A mis padres Héctor y Adriana, por apoyarme siempre en todos los aspectos de mi vida, guiándome y motivándome, hasta llegar a estos momentos. A mis hermanos Érica, Alonso, Moisés y Fátima por escucharme, animarme y darme consejos. A mi adornación, mis sobrinas Gabriella y Gianna.

A mis familiares y a personas que siempre me apoyaron, especialmente mis primas Selene y Diana, que siempre me ayudaron y se interesaban por mi avance.

A mis amigas Nancy, Edith y mi amigo Jorge que aunque estuvimos lejos y casi no nos veíamos siempre estaban conmigo, apoyándome y dando palabras de aliento.

Y a Dios, por permitirme llegar hasta donde estoy, rodeada de todas estas personas maravillosas, de las que aprendí y sigo aprendiendo cada día.

*“No estudio por saber más, sino por ignorar menos.”
Sor Juana Inés de la Cruz*

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	8
2. MARCO TEÓRICO	11
2.1. <i>H. sabdariffa</i> L.....	11
2.1.1. Origen y distribución	11
2.1.2. Descripción botánica y morfología	11
2.2. Composición química de <i>H. sabdariffa</i>	12
2.2.1. Valor nutricional	12
2.2.2. Metabolitos secundarios	15
2.2.3. Polifenoles no extraíbles	21
2.2.4. Composición proximal de los cálices	22
2.2.5. Fibra dietaria y fracción indigerible.....	23
2.3. Actividades funcionales	24
2.3.1. Actividad antibacteriana	24
2.3.2. Actividad antioxidante.....	25
2.4. Usos de <i>H. sabdariffa</i>	27
2.4.1. Uso culinario	27
2.4.2. Uso medicinal.....	28
2.4.3. Otros usos.....	29
3. JUSTIFICACIÓN	31
4. HIPÓTESIS	32
5. OBJETIVO	32
5.1. Objetivos particulares.....	32
6. METODOLOGÍA	33
6.1. Material vegetal.....	33
6.1.1. Humedad.....	35
6.1.2. Residuos minerales (cenizas)	35
6.1.3. Extractos crudos.....	35
6.1.4. Extracto concentrados	36
6.2. Degustación.....	37
6.3. Análisis fitoquímicos de cálices de <i>H. sabdariffa</i>	37

6.3.1. Polifenoles extraíbles.....	37
6.3.2. Polifenoles no extraíbles	40
6.4. Actividad funcional	41
6.4.1. Actividad antioxidante.....	41
6.4.2. Actividad antimicrobiana.....	43
6.5. Fracción indigerible	44
6.6. Análisis estadístico	45
7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	46
7.1. Características de la muestra.....	46
7.1.1. Humedad.....	46
7.1.2. Residuos minerales (cenizas)	47
7.1.4. Rendimiento de extractos metanólico y acuosos concentrados.....	50
7.2. Análisis fitoquímicos	51
7.2.1. Polifenoles extraíbles (PE).....	51
7.2.2. Polifenoles no extraíbles (PNE).....	64
7.3. Actividad funcional	67
7.3.1. Actividad antioxidante.....	67
7.3.2. Actividad antimicrobiana.....	80
7.4. Fracción indigerible (FI).....	88
8. CONCLUSIONES.....	90
9. BIBLIOGRAFÍA.....	91
ANEXOS.....	102

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla No.	Pág.
1. Composición nutricional de cáliz de <i>Hibiscus sabdariffa</i>	14
2. Principales constituyentes de extracto acuoso de cálices de <i>H. sabdariffa</i>	17
3. Porcentaje de la composición proximal de cálices de <i>H. sabdariffa</i>	22
4. Variedades de <i>H. sabdariffa</i>	33
5. Humedad de cálices de <i>H. sabdariffa</i>	47
6. Cenizas.....	48
7. Rendimiento de los extractos metanólicos y acuosos.	50
8. Compuestos fenólicos en flor de Jamaica	63
9. Sensibilidad de <i>S. aureus</i> , <i>S. typhi</i> y <i>A. baumannii</i> a extractos metanólicos y acuosos de cálices de <i>H. sabdariffa</i>	84
10. Susceptibilidad de las cepas a antibióticos.....	85
11. CMB de los extractos metanólicos de cálices de <i>H. sabdariffa</i> contra <i>S. aureus</i> , <i>S. typhi</i> y <i>A. baumannii</i>	87
12. Fracción indigerible.	89
13. Contenido de fenoles solubles totales en Jamaica.....	102
14. Cantidad de flavonoides.....	103
15. Antocianinas totales en cálices de Jamaica.....	104
16. Actividad antioxidante (TEAC-DPPH) polifenoles extraíbles.	105
17. Actividad antioxidante (FRAP) polifenoles extraíbles.	106
18. Actividad antioxidante (ORAC) de extracto de cáliz de Jamaica.....	107
19. Taninos condensados en residuos.	108
20. Actividad antioxidante de taninos condensados-FRAP.	108
21. Taninos hidrolizables en residuos.	109
22. Actividad antioxidante taninos hidrolizables-DPPH.....	109
23. Actividad antioxidante taninos hidrolizables-FRAP.....	110
24. Correlación de Pearson de PE y PNE.	111

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura No.	Pág.
1. Ácido cítrico y sus derivados	15
2. Contenido químico principal de los cálices de <i>H. sabdariffa</i>	16
3. Estructuras químicas de las antocianinas principales.....	19
4. Núcleo de antocianinas: Ión flavilio.	20
5. Cambios estructurales de las antocianinas	21
6. Aceptación de las variedades de <i>H. sabdariffa</i>	49
7. Contenido de fenoles en diversas variedades de flor de Jamaica.....	52
8. Contenido de flavonoides en diversas variedades de flor de Jamaica.....	54
9. Separación de flavonoides por cromatografía de capa fina.....	55
10. Contenido de antocianinas totales en diversas variedades de flor de Jamaica.....	58
11. Cromatograma de ácido gálico y ácido benzoico (280 nm).....	61
12 Cromatograma ácido clorogénico, ácido cumárico, ácido ferúlico (320 nm).....	62
13. Contenido de taninos condensados en diversas variedades de flor de Jamaica.	65
14 .Contenido de TH en diversas variedades de residuo de cáliz de Jamaica.....	67
15. Actividad antioxidante en diversas variedades de flor de Jamaica (TEAC-DPPH).....	70
6. Actividad antioxidante en diversas variedades de flor de Jamaica (FRAP).....	72
17. Actividad antioxidante en diversas variedades de flor de Jamaica (ORAC).	74
18. Actividad antioxidante de taninos condensados de diversas variedades de flor de Jamaica (FRAP).....	76
19. Actividad antioxidante de taninos hidrolizables de diversas variedades de residuos de flor de Jamaica (DPPH).....	77
20. Actividad antioxidante de taninos hidrolizables de diversas variedades de residuos de flor de Jamaica (FRAP).....	79
21. Curva de calibración de ácido gálico.	102
22. Curva de calibración de catequina.	103
23. Espectros de absorción de antocianinas totales en diversas variedades de flor de Jamaica.....	104
24. Curva de calibración de capacidad antioxidante (TEAC-DPPH).	105
25. Curva de calibración de capacidad antioxidante (FRAP).	106
26. Curva de calibración de capacidad antioxidante (ORAC).	107

ACRÓNIMOS

AR: Almidón resistente

CMB: Concentración mínima bactericida

FD: Fibra dietaria

FI: Fracción indigerible

FII: Fracción indigerible insoluble

FIS: Fracción indigerible soluble

PA: Proantocianidinas

PE: Polifenoles extraíbles

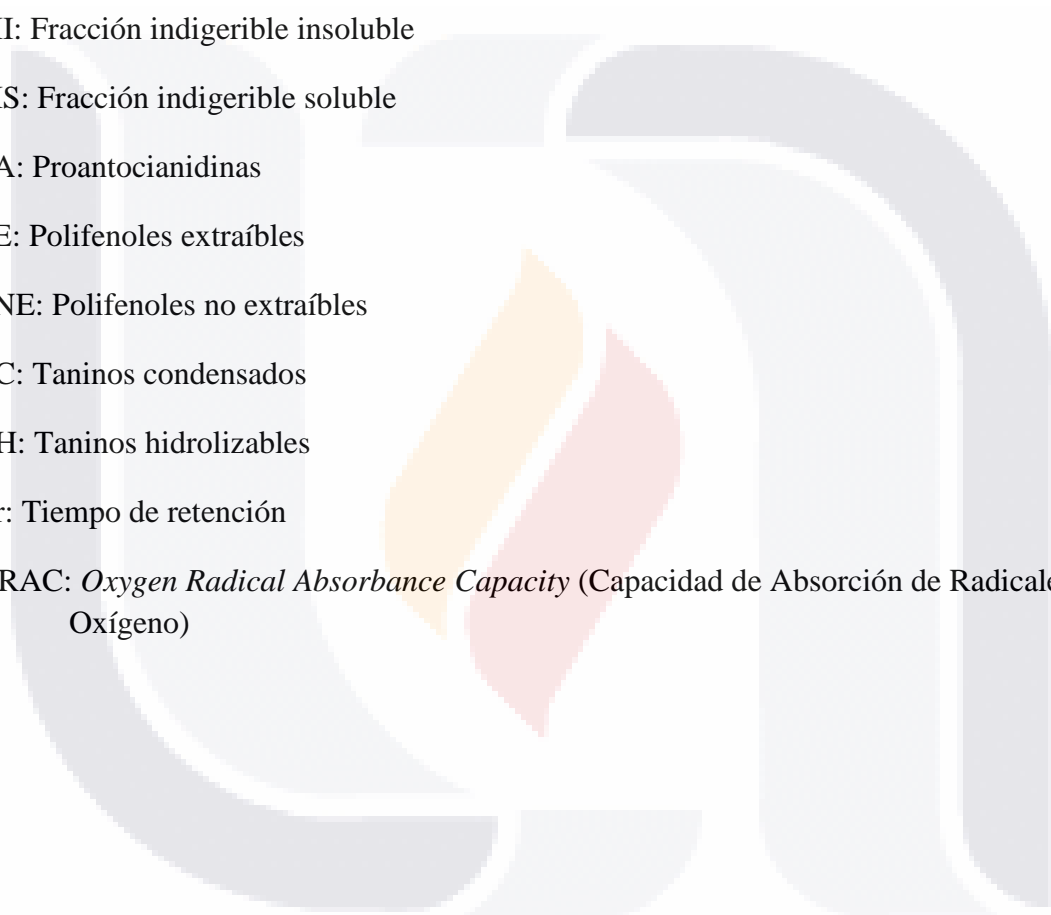
PNE: Polifenoles no extraíbles

TC: Taninos condensados

TH: Taninos hidrolizables

Tr: Tiempo de retención

ORAC: *Oxygen Radical Absorbance Capacity* (Capacidad de Absorción de Radicales de Oxígeno)



RESUMEN

La Jamaica (*Hibiscus sabdariffa*) es una planta que se ha utilizado desde tiempo antiguos hasta la actualidad consumida en forma de infusiones, agua fresca, para preparar algún platillo, usando sus cálices como fuente de colorantes, incluso para tratar algunos padecimientos. Esta planta se cultiva todo el mundo y existen varios genotipos de Jamaica, los cuales tienen características y usos diferentes. En este trabajo, se usaron extractos de cálices de ocho variedades de Jamaica cultivadas en Calvillo, Ags., México, y una variedad comercial, con tonalidades diferentes, a los que se cuantificaron polifenoles extraíbles (PE) (fenoles solubles, flavonoides, antocianinas, ácidos fenólicos) y se evaluó la actividad funcional (actividad antioxidante y antimicrobiana), además de cuantificar polifenoles no extraíbles (PNE) (taninos condensados e hidrolizables), y la evaluación de varios disolventes de extracción (agua, etanol y metanol); también se determinó el porcentaje de fracción indigerible para evaluar qué cantidad de fibra puede ser aprovechada por el organismo, y se realizó una encuesta hedónica de agua de Jamaica. Finalmente se tomaron en cuenta los resultados obtenidos, se compararon todas las variables y se seleccionaron las mejores; en contenido de PE y actividad antioxidante fue SG y en actividad antimicrobiana fue ABG.

Palabras clave: *Hibiscus sabdariffa* L., fenoles solubles, antocianinas, flavonoides, taninos condensados, ácidos fenólicos, taninos hidrolizables, actividad antioxidante, actividad antimicrobiana, fracción indigerible, disolventes de extracción

ABSTRACT

Roselle (*Hibiscus sabdariffa*) is a plant that has been used since ancient times in the form of infusions, fresh water, to prepare a dish, using its chalice as a source of dyes, even to treat some ailments. This plant is grown all over the world and there are several genotypes of Roselle, which have different characteristics and uses. In this work, extracts of chalice of eight varieties of Roselle grown in Calvillo, Ags., México, and a commercial variety, of different shades were used, to which extractable polyphenols (PE) were quantified (soluble phenols, flavonoids, anthocyanins, phenolic acids) and functional activity was evaluated (antioxidant and antimicrobial activity). Also, non-extractable polyphenols (PNE) (condensed and hydrolysable tannins) were quantified and several extraction solvents (water, ethanol and methanol) were evaluated. The percentage of indigestible fraction evaluated how much fiber can be used by the organism, and a hedonic survey of Roselle water beverage was conducted. Finally, all variables were compared and the best ones were selected; SG showed the highest contents of PE and antioxidant activity while ABG was the best for antimicrobial activity.

Key words: *Hibiscus sabdariffa* L., soluble phenols, anthocyanins, flavonoids, condensed tannins, phenolic acids, hydrolysable tannins, antioxidant activity, antimicrobial activity, indigestible fraction, extraction solvents

1. INTRODUCCIÓN

En México, *Hibiscus sabdariffa* L. es conocida como Jamaica o flor de Jamaica y pertenece a la familia Malvaceae (Reyes-Luengas *et al.*, 2015); aproximadamente el 95% de la Jamaica es consumida en forma de cálices deshidratados (SAGARPA, 2009). Es una planta herbácea anual crece en climas secos, subtropicales y montañosos (Guardiola & Mach, 2014; Ojokoh *et al.*, 2002); su cáliz por lo general de color rojo es grueso y carnoso en forma de copa (Ross, 2003) se consumen en todo el mundo comúnmente deshidratados principalmente para elaborar bebidas frías o calientes, mermeladas, salsas, aderezos, entre otros (Reyes-Luengas *et al.*, 2015). Los extractos acuosos se usan en la medicina tradicional contra algunos padecimientos entre los que se pueden mencionar la hipertensión arterial, enfermedades hepáticas y fiebre (Riaz & Chopra, 2018). Estos beneficios terapéuticos se atribuyen a los compuestos fitoquímicos de los cálices como antihipertensivo, antiinflamatorio, antioxidante, entre otros (Guardiola & Mach, 2014; Riaz & Chopra, 2018; Sáyago-Ayerdi *et al.*, 2007). Entre los compuestos bioactivos presentes en vegetales que han despertado mayor interés están los ácidos fenólicos, flavonoides, antocianinas, fitoestrógenos, carotenoides, fitoesteroides, tocoferoles y ácidos grasos esenciales (Sumaya-Martínez *et al.*, 2014).

H. sabdariffa es fuente importante de vitaminas, minerales y compuestos bioactivos como ácidos orgánicos, fitoesteroles y fenoles (Sáyago-Ayerdi *et al.*, 2007), estos últimos son un grupo muy numeroso y heterogéneo de moléculas que comparten la característica de tener varios grupos fenol en sus estructuras, atribuyéndoles propiedades antioxidantes, pero esta capacidad depende de la biodisponibilidad y absorción de estos compuestos (Guardiola & Mach, 2014). Al mismo tiempo, el tipo y cantidad de compuestos bioactivos se ven afectados por factores como el ambiente y el genotipo (Sánchez-Feria *et al.*, 2017).

Los cálices de *H. sabdariffa* tienen una gran variedad de compuestos como las antocianinas (delfinidina-3-sambubiósido o hibiscina, cianidina 3-sambubiósido, cianidina 3-monoglucósido, delfinidina 3-monoglucósido) que representan el 1.5% y orgánicos que representan 15-30%, estos últimos sirven para estabilizar las antocianinas (principalmente ácido cítrico, málico, protocatéquico, tartárico y ascórbico), polisacáridos mucilaginosos en

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

un 50% (ácidos urónicos en forma de sal y el resto ramnosa, arabinosa y pequeñas cantidades de glucosa, xilosa y manosa), flavonoides (principalmente quercetina, gossipitrina, gosipetina, hibiscitrina y su aglicona hibiscetina), saponinas (β -sitosterol- β -D-galactopiranosido), fitosteroles (β -sitosterol, campesterol, ergosterol, estigmasterol), pectina y fibra (Castañeda & Cáceres, 2014).

El contenido de compuestos químicos encontrados en las variedades de *H. sabdariffa*, se relaciona con los que presenta la planta su cáliz, que van desde verde-amarillento hasta rojo intenso (Salinas-Moreno *et al.* 2012). Los cálices oscuros contienen más antocianinas que los cálices claros (Reyes-Luengas *et al.*, 2015); los cálices de color rojo intenso tienen altas concentraciones de ácidos L-ascórbico, araquídico, cítrico, esteárico y málico, además de proteínas, fitoesteroles (por ejemplo β -sitosterol y ergosterol) y polifenoles (Guardiola & Mach, 2014).

Varios factores se tienen que tomar en cuenta para obtener plantas con las características necesarias para ser empleadas con múltiples fines como desarrollar alimentos funcionales con actividad antioxidante a base de *H. sabdariffa* permite la diversificación de su comercialización, no solo como cálices secos, sino como un ingrediente o excipiente de alto valor para la industria alimentaria (Sumaya-Martínez *et al.*, 2014). Se han realizado estudios sobre la composición química de los extractos obtenidos de cálices de diferentes colores en otros países, ya que, se podría utilizar en el desarrollo de alimentos funcionales en la industria de alimentos y farmacéutica (Babalola, Babalola, & Aworh, 2001; Jackson & Christian, 2009; Juliani *et al.*, 2009; Sukwattanasinit, Burana-Osot, & Sotanaphun, 2016).

Algunos estudios como el de la disminución de la presión arterial usando extractos acuosos en gatos y ratas (Ali *et al.* 2005); en 39 pacientes mexicanos con hipertensión leve o moderada que tomaron una infusión de cáliz de *H. sabdariffa* diaria por cuatro semanas, se observó una disminución de la presión (Herrera-Arellano *et al.*, 2004), también se han realizado estudios de la prevención de cáncer, actividad antipirética, antiinflamatoria, antioxidante, efectos renales, acción antibacteriana, antifúngica, antiparasitaria (Ali *et al.*, 2005), además actividad nefroprotectora, hepatoprotectora, antianémica, antinociceptivo, antiobesidad y antidiabética, se han realizado pruebas de toxicidad para esta planta (Da-

Costa-Rocha, Bonnlaender, Sievers, Pischel, & Heinrich, 2014), en algunas se utilizan las semillas, el cáliz fresco y/o deshidratado y también las hojas de la planta.

El extracto acuoso *H. sabdariffa*, se puede usar como una alternativa natural para sustituir a los antioxidantes sintéticos como el butilhidroxitolueno (BHT), butilhidroxianisol (BHA) y terbutilhidroquinona (TBHQ); los compuestos antioxidantes actúan de diferentes maneras, pueden inhibir la peroxidación lipídica (inactivando la lipooxigenasa), atrapando radicales libres y especies reactivas de oxígeno, previniendo la descomposición de peróxidos en radicales libres y quelando iones metálicos pesados. Además de lo ya mencionado puede ser de interés para la industria alimentaria como fuente de colorantes y fibra soluble (Sumaya-Martínez *et al.*, 2014).

H. sabdariffa es relativamente fácil de cultivar por lo que la hace un cultivo ideal para países en desarrollo, esta es capaz de resistir suelos pobres (Da-Costa-Rocha *et al.* 2014). En México, es posible encontrar las condiciones climáticas favorables que permiten el cultivo de esta planta, por lo que es cultivada en 10 estados de nuestro país (Sumaya-Martínez *et al.*, 2014). Sin embargo, desde una perspectiva comercial es importante seleccionar al genotipo que se adapte mejor a estas condiciones ofreciendo beneficios a la región productora minimizando los costos de producción, aumentando la rentabilidad del cultivo y la calidad de la planta (Camelo-Méndez *et al.*, 2018), por tal motivo se han realizado algunos estudios en cálices de *H. sabdariffa* (Ariza-Flores *et al.*, 2014; Reyes-Luengas *et al.*, 2015; Sánchez-Feria *et al.*, 2017), en los principales estados productores que son Guerrero y Oaxaca, encontrándose cultivos de diversas variedades de cálices claros y oscuros, predominando los cultivos de cálices claros (Salinas-Moreno *et al.*, 2012). En Aguascalientes recientemente se comenzó a cultivar *H. sabdariffa* y se desea seleccionar los genotipos que se adapten mejor a la región, pero se desconocen aspectos de interés y no se tiene ningún estudio sobre las variedades cultivadas en el estado.

2. MARCO TEÓRICO

2.1. *H. sabdariffa* L.

2.1.1. Origen y distribución

H. sabdariffa es originaria de África tropical y Sudan, se ha distribuido en regiones tropicales y subtropicales de todo el mundo (Riaz & Chopra, 2018), por ejemplo fue introducida en Egipto, Sri Lanka, Tailandia, Jamaica, México y Guatemala (Castañeda & Cáceres, 2014).

2.1.2. Descripción botánica y morfología

El género *Hibiscus* (Malvaceae) incluye especies de hierbas anuales o perennes, arbustos o árboles (Riaz & Chopra, 2018). *H. sabdariffa* (**Figura 1**) es conocida comúnmente como roselle, hibisco, alazán de Jamaica o alazán rojo y karkadeh (Ali *et al.*, 2005; Ross, 2003). Se mostraron evidencias que *H. sabdariffa* fue domesticada por las poblaciones de África antes de 4000 A.C. Existen dos variedades principales de *H. sabdariffa*, la primera es la variedad *altissima* Wester, cultivada por su fibra similar al yute y la segunda es variedad *sabdariffa*. Esta última incluye diferentes formas de arbusto, descritos como subespecies: *bhagalpuriensi*, *intermedius*, *albus* y *rubber*; la primera tiene cálices jaspeados verde y rojo no comestibles, mientras que la segunda y tercera raza tienen cálices comestibles de color rojo, amarillo-verdoso y se usan también para la producción de fibra; el último es un arbusto anual, erecto y grueso de unos 2.5 m de altura con tallos lisos, típicamente cilíndricos y rojos, el color de sus hojas veteadas rojizas alternadas, de 7.6 a 12.7 cm de largo, tienen de 3 a 7 lóbulos y pecíolos largos o cortos (Da-Costa-Rocha *et al.*, 2014). Posee un sistema radicular herbáceo y poco profundo, aumentando su profundidad hasta 1.5 m en suelos francos arenosos (Nochari, 2001, citado por Castañeda & Cáceres, 2014). Las flores están colocadas individualmente en las axilas de las hojas y miden hasta 12 cm de ancho; el cáliz es cónico en la base y se divide arriba entre 5 o 7 sépalos, cada uno con una pequeña glándula en el centro, es carnoso de color rojo brillante. El fruto es una capsula espinosa, de 5 carpelos, con 15 a 20 semillas de color café oscuro (Da-Costa-Rocha *et al.*, 2014). La cápsula se vuelve

marrón y se divide cuando está madura y seca (Ross, 2003). Cálices, tallos y hojas tienen propiedades ácidas muy similares al sabor del arándano. Algunas de las variedades cultivadas en México son Alma Blanca, Rosalíz Cotzaltzin, Tecoanapa y Criolla (Ariza-Flores *et al.*, 2014).

2.1.3. Cultivo

Esta planta se cultiva generalmente en suelos de baja fertilidad y con poca retención de humedad (Ariza-Flores *et al.*, 2014). Requiere entre 4 y 8 meses de crecimiento con temperaturas mínimas de 21°C, así como 13 h de luz solar durante los primeros 4-5 meses para evitar la floración prematura necesita; una precipitación mensual de 100 a 250 mm, es decir de 130 a 250 L/m³ durante los primeros 3-4 meses de crecimiento (Contreras, Soto, & Huchin, 2009). Existen varios factores que afectan la calidad de la *H. sabdariffa* como el tipo de semillas, las condiciones de cultivo, el momento de la cosecha, el manejo post-cosecha y la etapa de secado, en estos tres últimos procesos la lluvia o alta humedad pueden degradar la calidad de los cálices y el rendimiento (Mohamed, Sulaiman, & Dahab, 2012).

En México se cosechan 18 mil hectáreas de *H. sabdariffa* con un rendimiento promedio de 210 kg ha⁻¹ (SIAP, 2004). Aunque la superficie cosechada y el rendimiento por unidad de superficie son bajos, los agricultores obtienen altos ingresos por su buen nivel de comercialización y el incremento en la demanda (Ariza-Flores *et al.*, 2014). Guerrero es el principal productor, seguido por Oaxaca (SAGARPA, 2016).

2.2. Composición química de *H. sabdariffa*

2.2.1. Valor nutricional

Los cálices de la *H. sabdariffa* son ricos en hidratos de carbono, proteínas de fibra dietaria, vitaminas, minerales y compuestos bioactivos (**Tabla 1**). Los macronutrientes que se encuentran en mayor porcentaje son los carbohidratos seguidos por cenizas, proteínas y grasas, presenta una cantidad importante el ácido málico que junto con sus derivados pueden usarse con fines medicinales (Jabeur *et al.*, 2017). La fibra dietaria en el cáliz de *H. sabdariffa* se encuentra en mayor porcentaje y segundo lugar a los carbohidratos (Sáyago-Ayerdi *et al.*, 2014). Las cantidades y presencia de los compuestos mencionados pueden variar por factores

ambientales y variedad de *H. sabdariffa*, como se puede observar en la **Tabla 1** y en un artículo reportado por Abou-Arab, Abu-Salem, & Abou-Arab, (2011) en donde algunas muestras en base a su peso seco contienen un 7.51 % de proteínas, 0.46% de grasas, 69.62% de carbohidratos, 11.17% de fibra y 11.24 % de cenizas, mientras que otras muestras de los cálices se reportan que contienen 68.75% de carbohidratos, 6.71% proteínas y 1.01% de grasas.



Tabla 1. Composición nutricional de cáliz de *Hibiscus sabdariffa* L.

Valor Nutricional		Ácidos grasos (%)	
Cenizas (g/100 g bs)	7.4 ± 0.5	Ácido cáprico (C6:0)	0.40 ± 0.02
Proteínas (g/100 g bs)	5.5 ± 0.4	Ácido caprílico (C8:0)	0.14 ± 0.01
Grasas (g/100 g bs)	0.47 ± 0.08	Ácido cáprico (C10:0)	0.220 ± 0.001
Carbohidratos (g/100 g bs)	87 ± 1	Ácido láurico (C12:0)	0.47 ± 0.03
Energía (cal/100 g bs)	373 ± 2	Ácido mirístico (C14:0)	1.24 ± 0.01
Azúcares (g/100 g bs)		Ácido pentadecanoico (C15:0)	0.84 ± 0.01
Fructuosa	4.6 ± 0.3	Ácido palmítico (C16:0)	27.73 ± 0.02
Glucosa	6.5 ± 0.6	Ácido palmitoleico (C16:1)	1.32 ± 0.04
Ácidos orgánicos (g/100 g bs)		Ácido heptadecanoico (C17:0)	1.28 ± 0.06
Ácido oxálico	1.81 ± 0.05	Ácido esteárico (C18:0)	4.46 ± 0.01
Ácido málico	9.10 ± 0.009	Ácido oleico (C18:1n9)	9.1 ± 0.1
Ácido siquímico	0.356 ± 0.002	Ácido linoleico (C18:2n6)	32.65 ± 0.07
Ácido fumárico	0.043 ± 0.002	Ácido α-linoleico (C18:3n3)	15.76 ± 0.04
Tocoferoles (mg/100 g bs)		Ácido araquidónico (C20:0)	1.02 ± 0.05
α-Tocoferol	39.19 ± 0.06	Ácido eicosanoico (C21:0)	0.21 ± 0.02
β-Tocoferol	0.76 ± 0.06	Ácido behénico (C22:0)	1.40 ± 0.02
		Ácido tricosanoico (C23:0)	0.67 ± 0.01
		Ácido lignocérico (C24:0)	1.08 ± 0.02
		AGS	41.2 ± 0.1
		AGM	10.4 ± 0.2
		AGP	48.4 ± 0.1

Media ± DE

AGS: Ácidos grasos saturados, AGM: Ácidos grasos monoinsaturados, AGP: Ácidos grasos poliinsaturados (Jabeur *et al.*, 2017)

2.2.2. Metabolitos secundarios

Las plantas generan metabolitos secundarios, utilizándolos como defensa contra factores como luz UV, insectos, entre otros; estos compuestos han sido utilizados como sustancias terapéuticas. Los cálices de *H. sabdariffa* contienen compuesto bioactivas (Riaz & Chopra, 2018). Los compuestos encontrados en los cálices de *H. sabdariffa* L. son ácidos orgánicos, antocianinas, fibra, flavonoides y glucósidos (**Tabla 2**); estos dos últimos compuestos presentándose en gran cantidad (Ali *et al.*, 2005). Los ácidos orgánicos (**Figura 1**) con mayor abundancia son el ácido cítrico, ácido hidroxícítrico, ácido hibisco, málico y tartárico, y los que se encuentran en menor cantidad son el ácido oxálico y ascórbico (Da-Costa-Rocha *et al.*, 2014). Las antocianinas que se encuentran en los cálices son principalmente delfinidin-3-sambubiosido y cianidin-3-sambubiosido (**Figura 2**), a estos se les atribuye que son los constituyentes activos responsables de los efectos antihipertensivos (Herrera-Arellano *et al.*, 2004). Los compuestos volátiles en el cáliz son los responsables del aroma en los extractos acuosos donde se han obtenido un total de 32 compuestos volátiles derivados de cinco grupos químicos: aldehídos, alcoholes, centonas, terpenos y ácidos, de los cuales los primeros dos grupos son los que contienen la mayor fracción de los compuestos volátiles aromáticos de las bebidas (Da-Costa-Rocha *et al.*, 2014; Ramírez-Rodrigues, Plaza, Azeredo, Balaban, & Marshall, 2012).

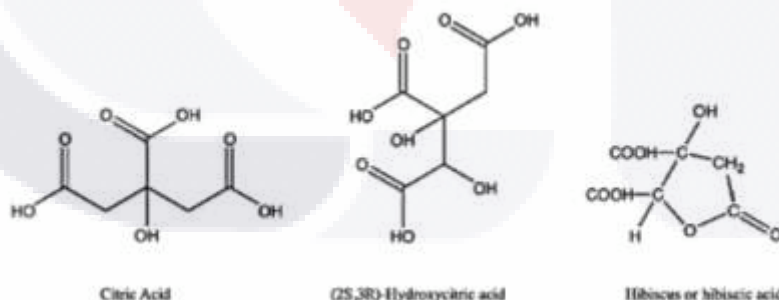


Figura 1. Ácido cítrico y sus derivados (Da-Costa-Rocha *et al.*, 2014).

Algunos de los compuestos anteriormente mencionados son importantes para la industria farmacéutica y/o alimentaria, como el ácido hibisco, fitosterol, los derivados de flavona y la fibra soluble; algunos efectos biológicos que presentan incluyen la diuresis, antihipertensión, hipocolesterolemia y antibacterianas, muchas de estos efectos son

dependientes de la dosis que se consume (Hirunpanchi *et al.*, 2005). Por ejemplo, un extracto rico en polifenoles presenta una mayor capacidad para disminuir el colesterol total, el colesterol LDL-C y el colesterol HDL-C; por otro lado, el ácido hibisco puede disminuir la presión arterial y el colesterol, además tiene bajos niveles de toxicidad (1 mg/ml) (Yang *et al.*, 2010). Los compuestos pueden estar presentes en toda la planta o solo en algunas partes, las prácticas de cosecha y el método de obtención de extractos influye en la obtención y por lo tanto también en la dosificación usada para un fármaco o la cantidad que se le agregará a algún alimento; un ejemplo, es que las variedades con cálices rojos mostraron mayor actividad antioxidante en comparación con variedades rojas claras o blancas (Jackson & Christian, 2009). El solvente de extracción y el material utilizado influye en las extracciones de compuestos los extractos etanólicos de cálices mostraron mayor actividad antioxidante en comparación con las extracciones etanólicas de las hojas (Hopkins, Lamm, Funk, & Ritenbaugh, 2013).

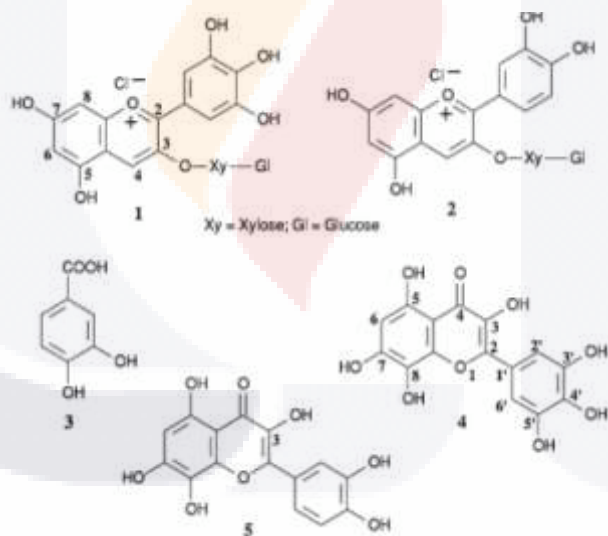


Figura 2. Contenido químico principal de los cálices de *H. sabdariffa*: 1) Delfinidina-3-sambubiósido; 2) Cianidina-3-Sambubiósido; 3) Ácido protocatéquico; 4) Hibiscetina; 5) Gossipitrina (Ali *et al.*, 2005).

Tabla 2. Principales constituyentes de extracto acuoso de cálices de *H. sabdariffa*

(Da-Costa-Rocha *et al.*, 2014).

CLASE	COMPUESTO
Ácidos orgánicos	Ácido hidroxycítrico
	Ácido Hibiscus
	Ácido Hibiscus glucósido
	Ácido hibiscus 6-metil éster
Antocianinas	Delfinidina-sambubiósido
	Cianidina-3-sambubiósido
Flavonoides y ácidos fenólicos	Ácido gálico
	Isómero I de ácido clorogénico
	Ácido clorogénico
	Isómero II de ácido clorogénico
	5-Hidroximetilfurfural
	Metil galato
	2- <i>O-trans</i> -Caffeoil-ácido hidroxycítrico
	Ácido 5-cafeoilquínico
	Miricetin-3-arabinogalactosido
	Ácido 3-cafeoilquinico
	Ácido protocatecuico
	Ácido protocatecuico glucósido
	Ácido coumaroilquínico
	Queratin-3-sambióside
	Queratin-3-rutinosido
	Acido 5- <i>O</i> -Caffeoilshikímico
	Quercetina-3-glucósido
	Keampferol-3- <i>O</i> -rutinosido
	Derivado de feruloil
	Metil (AS en metilepigalocatequina)
	Miricetina
	<i>N</i> -Feruloiltiramida
	Acido 4-Cafeoilquínico
	Isómero de Ácido cafeoilquínico
	Kaempferol-3- <i>p</i> -cumarilglucosido
	Quercetina
	Ácido cafeico
	Ester de galio
	Derivado de ácido feruloilquínico
	Kaempferol-3-glucósido (astragalina)
	Derivado de quercetina
	Tilirosida

2.2.2.1. Flavonoides y polifenoles

Los polifenoles extraíbles son una mezcla compleja de compuestos de bajo peso molecular (monómeros a decámeros), que incluyen proantocianidinas extraíbles (PA) y taninos hidrolizables junto con otros flavonoides y ácidos fenólicos (Arranz, Silván, & Saura-Calixto, 2010).

En varios estudios han revelado que la *H. sabdariffa* es rica en flavonoides y polifenoles, y estos traen beneficios a la salud debido a su potencial capacidad antioxidante. Algunos compuestos fenólicos están presentes en toda la planta y otros solo en algunas partes, por ejemplo, las antocianinas principalmente delfinidina-3-glucósido, cianidina-3-glucósido, delfinidina-3-sambubiósido y cianidina-3-sambubiósido, se encuentran en el cáliz de la *H. sabdariffa* (Borrás-Linares *et al.*, 2015a), otros compuestos presentes en el cáliz son los flavonoides como gosmitina, hibiscetina (hibiscetin-3-glucósido) y sus respectivos glucósidos, sabdaritina, gosipitrina, gossytrin, quercetina y luteína, también ácido protocatecuico, ácido clorogénico, eugenol y esteroides como β -sitosterol y ergosterol (Ali *et al.*, 2005; Da-Costa-Rocha *et al.*, 2014; Hirunpanich *et al.*, 2006).

2.2.2.2. Antocianinas y su estabilidad

Las antocianinas como se menciona anteriormente pertenecen al grupo de los flavonoides, son pigmentos naturales que se obtienen de metabolismo secundario de las plantas, su coloración depende del pH, siendo más estables a pH ácido (Da-Costa-Rocha *et al.*, 2014). Las antocianinas son catión flavilio o 2-fenilbenzo-pirilio con grupos hidroxilo y metoxilo presentes en la posición R1 y R2 de la estructura básica, estas moléculas son fácilmente degradadas por cambios en el pH, temperatura, presencia de algunas enzimas, luz, además que se ve afectada también por la presencia de otros flavonoides, ácidos fenólicos y metales (Riaz & Chopra, 2018).

La intensidad del color de los cálices es diferente, dependiendo de la concentración y el tipo de antocianina, los oscuros obtuvieron un contenido entre cinco y siete veces más altos que los cálices claros (Salinas-Moreno *et al.*, 2012). Otra investigación en donde se compararon cálices rojo oscuro, rojo claro y blanco, los extractos de cáliz rojo oscuro

presentaron la mayor cantidad de antocianinas, lo que indica que la intensidad del color es dependiente del contenido de antocianinas (Jackson & Christian, 2009). El color rojo característico de los extractos de *H. sabdariffa* es dado por las antocianinas, contribuyendo con el 51% de la actividad antioxidante total reportada para la *H. sabdariffa*, por lo que pueden usarse como antioxidante natural (Tsai *et al.*, 2002).

Las principales tipo de antocianinas presentes en los cálices de *H. sabdariffa* son delfinidina-3-sambubiósido (hibiscina), cianidina-3-sambubiósido (gossypicyanin), cianidin-3,5-diglucosido, delfinidina (antocianidina) (**Figura 3**), entre otras. Lo que tienen en común las variedades rojas es que en varios estudios se han identificado la presencia de delfinidina-3-sambubiosida (delfinidina-3-O-(2-O-β-D-xilopiranosil)-β-D-glucopiranosido) y cianidina-3-sambubiosida (cianidina-3-O-(2-O-β-D-xilopiranosil)-β-D-glucopiranosido) (Da-Costa-Rocha *et al.*, 2014).

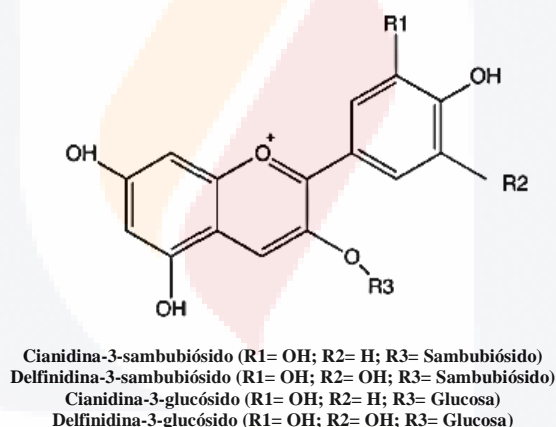


Figura 3. Estructuras químicas de las antocianinas principales (Da-Costa-Rocha *et al.*, 2014).

La importancia de conocer la estabilidad de los extractos de *H. sabdariffa* es debido a que se quiere mantener las propiedades terapéuticas que dependen en mayor medida a las antocianinas, estas tienen una estructura similar a 2-fenil-γ-cromona (estructura C₆-C₃-C₆), con el oxígeno heterocíclico cargado positivamente, originando la estructura 2-fenilbenzopirilio o ion flavilio (**Figura 4**), la cual carece del carboxilo en C₄ de los flavonoides. Las antocianinas se pueden encontrar en varias formas puede ser como agliconas

libres (antocianidinas), como azúcares (antocianósidos), o en conjunto (antocianos) (Castañeda & Cáceres, 2014).

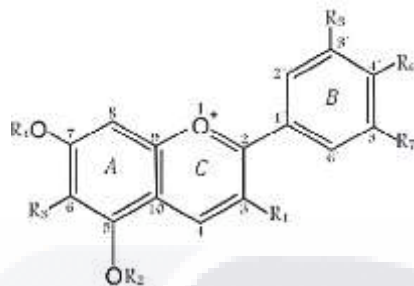


Figura 4. Núcleo de antocianinas: Ión flavilio (Rein, 2005).

Las antocianinas existen en 4 estados dependiendo del pH (**Figura 5**): cationes flavilio, hemiacetales, bases quinoidales y chalconas a pH de 1-3, 3-5, 6-8 y 7-8, respectivamente (Brouillard, 1982). El pH inferior a 3 es donde se encuentra en su forma más estable ion oxonio o catión flavilio (de color rojo intenso). A valores de pH más altos a 3 ocurre una pérdida del protón y ocurre adición de agua en C₂, dando lugar a un equilibrio entre el ion flavilio y el hemiacetal, y a pH mayor a 6 ocurre un equilibrio entre la base quinoidal y la chalcona (de cadena abierta). Tanto el hemiacetal como la chalcona, son formas incoloras y bastante inestables. A valores de pH superiores a 7 se presentan las formas quinoidales de color púrpura oxidándose con el aire (Castañeda & Cáceres, 2014).

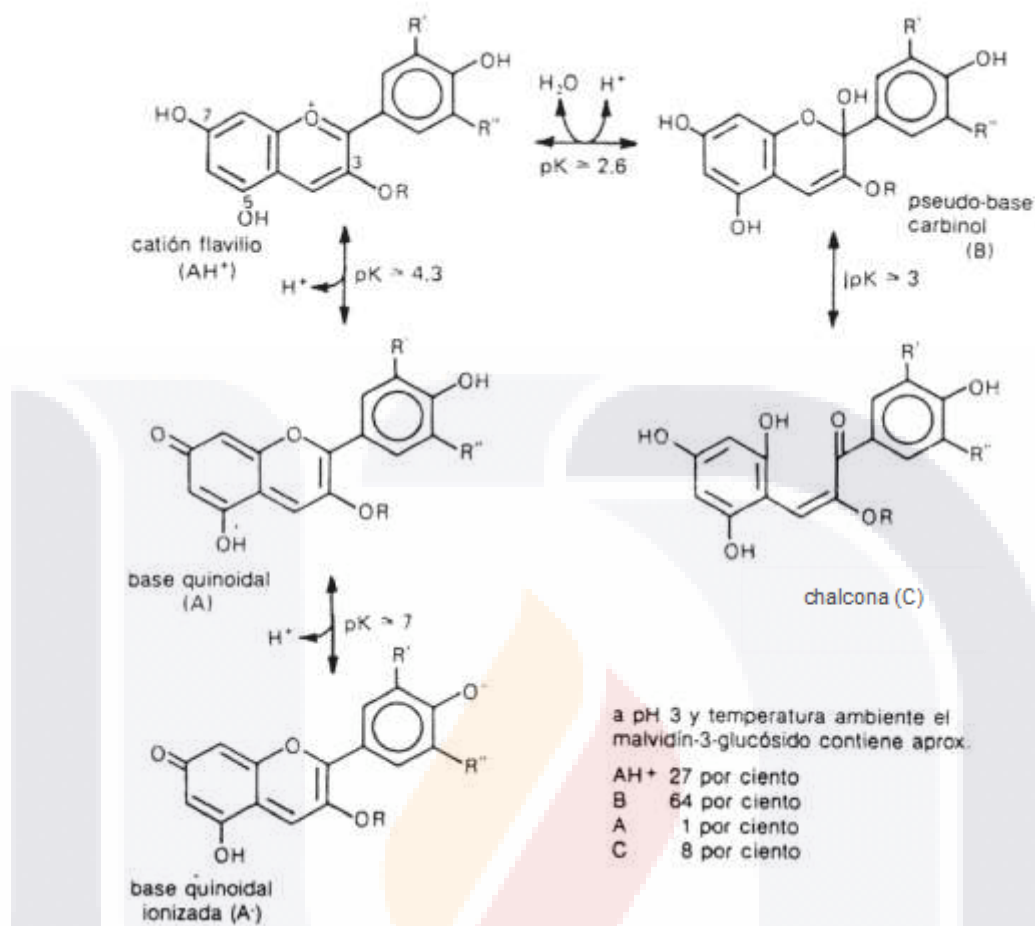


Figura 5. Cambios estructurales de las antocianinas (Coultate, 1984).

2.2.3. Polifenoles no extraíbles

En la dieta humana los fitoquímicos más abundantes son los polifenoles, es por eso que es necesaria su investigación, sobre sus propiedades biológicas, su biodisponibilidad, metabolismo y saber cómo prevenir el riesgo de enfermedades crónicas. Los polifenoles se dividen en dos grupos en función a su solubilidad, los polifenoles extraíbles (PE) o compuestos solubles en disolventes orgánicos-acuosos y los polifenoles no extraíbles (PNE) o compuestos que permanecen en sus residuos de extracción, son compuestos monoméricos y poliméricos, respectivamente. Un ejemplo de polifenoles no extraíbles son las proantocianidinas (PA) no extraíbles y polifenoles hidrolizables de bajo peso molecular unidos a constituyentes de la pared celular, como polisacáridos y proteínas, o también se

pueden encontrar atrapados dentro de la matriz alimentaria. Para la obtención y análisis de PNE requiere de tratamientos específicos como hidrolisis acida de los residuos para poder liberarlos de la matriz alimentaria de los materiales vegetales. Conocer la cantidad real de polifenoles (extraíbles y no extraíbles) es necesario, por los efectos de estos sobre la salud; especialmente la fracción de PNE que contiene mayor cantidad de compuestos bioactivos (Arranz *et al.*, 2010).

Una fuente de antioxidantes naturales se obtiene de la agricultura y de los residuos industriales; estos últimos están formados principalmente por semillas, cascaras, esquejes y hojas. Los desechos representan un problema, ya que no se sabe cómo tratar su eliminación debido a las restricciones legales. Por tal motivo, una posible alternativa es el aprovechamiento de estos desechos para la producción de aditivos o suplementos alimentarios que no perjudiquen el medio ambiente y además aporte beneficios económicos (Babbar *et al.*, 2014).

2.2.4. Composición proximal de los cálices

En varios estudios se ha observado que la composición proximal de cálices secos (baja humedad) y frescos (alta humedad), es diferente. Por ejemplo, en la **Tabla 3** se muestran valores de proteína, ceniza y humedad, el contenido de fibra, éter y carbohidrato en los cálices rojos y rojos oscuros, además de un cáliz rojo fresco (Aregbesola, Faborode, & Ezeokoli, 2016; Babalola *et al.*, 2001).

Tabla 3. Porcentaje de la composición proximal de cálices de *H. sabdariffa* (Aregbesola *et al.*, 2016).

	Humedad	Ceniza	Extracto de éter	Fibra cruda	Carbohidratos	* Proteína cruda
Cáliz rojo	15.28	6.92	1.05	7.90	64.26	4.59
Cáliz rojo oscuro	16.38	7.59	0.45	7.50	61.65	6.43
Cáliz fresco	85.84	1.04	0.94	3.71	5.16	3.31

Nota: * Proteína cruda= proteína total x 6.25

2.2.5. Fibra dietaria y fracción indigerible

Los productos ricos en fibra dietaria (FD) que son los hidratos de carbono complejos y la lignina que alcanzan el intestino grueso y son atacadas por la microflora colónica (Escudero & González, 2006), por lo que han resultado de interés para el mercado de alimentos, se han estudiado su efecto en la prevención de enfermedades cardiovasculares y algunos tipos de cáncer, además de su uso en dietas para adelgazar. Existen varios alimentos en el mercado enriquecidos con fibra proveniente de diversas fuentes. El concepto de FD no incluye el contenido de almidón resistente (AR), proteínas, oligosacáridos, algunos compuestos polifenólicos presentes en los alimentos y que no son digeridos ni absorbidos en el intestino delgado humano, por lo tanto, los efectos positivos de estos sobre el organismo no son aprovechados. Por lo que, surgió el concepto de fracción indigerible (FI) de los alimentos, en donde las sustancias pueden ser fermentadas por la microflora del colon, teniendo efectos fisiológicos similares a los de la FD. (Cummings y MacFarlane, 1991; Bravo, 1998 citados por Saura-Calixto *et al.*, 2000).

Los cálices de *H. sabdariffa* es una buena fuente de FD y polifenoles con capacidad antioxidante (Sáyago-Ayerdi *et al.*, 2014) ya se conocen sus efectos fisiológicos, contra la aterosclerosis, la enfermedad hepática, el cáncer, la diabetes y los síndromes metabólicos (Lin, Chen, & Wang, 2011). Los polifenoles se pueden encontrar libres o unidos a otros nutrientes como lípidos, proteínas, carbohidratos o FD, y es necesario conocer el comportamiento de los polifenoles al ser digeridos, para liberar polifenoles y FD, en ocasiones es necesario aplicar algún proceso como la decocción (Sáyago-Ayerdi *et al.*, 2007), ya que las propiedades biológicas de los antioxidantes presentes en los cálices dependen de su bioaccesibilidad y biodisponibilidad. Los compuestos polifenólicos se pueden dividir en solubles (ácidos fenólicos, proantocianidinas y flavonoides), insolubles (taninos condensados) y polifenoles hidrolizables (Goñi *et al.* 2009).

2.3. Actividades funcionales

2.3.1. Actividad antibacteriana

En los cálices de *H. sabdariffa* se ha reportado la presencia de metabolitos secundarios como alcaloides, compuestos fenólicos, flavonoides y saponinas; estos compuestos son considerados como los principales grupos con efectos antibacterianos en las plantas (Abdallah, 2016). Por tal motivo, se han realizado estudios para evaluar la actividad antibacteriana de *H. sabdariffa*, utilizando diferentes solventes de extracción (Zarkani, 2016) un ejemplo es el extracto acuoso de los cálices deshidratados (100 ppm) que fue activo contra *Schistosoma mansoni* (Ali *et al.*, 2005). También se han realizado extractos metanólicos al 80% de cálices contra cepas multirresistentes como *A. baumannii*, donde el extracto del cáliz de *H. sabdariffa* presenta mayor actividad bactericida que algunos antibióticos como la gentamicina (Abdallah, 2016). En otro estudio donde se analizaron extractos etanólicos de 25 variedades de cálices de *H. sabdariffa* contra bacterias Gram positivas y Gram negativas, teniendo mayor efecto en las cepas Gram positivas (*Staphylococcus aureus* y *Micrococcus luteus*). Los polifenoles son lo que tienen actividad antimicrobiana, ya sea alterando la funcionalidad de la membrana de las bacterias, retardando el crecimiento bacteriano o su multiplicación (Borrás-Linares *et al.*, 2015); un ejemplo es la quercetina que actúa inhibiendo a la enzima ADN girasa (Cushnie y Lamb, 2005) o el efecto antibacteriano del flavonoide llamado glosipetina (Mahadevan, Shivali, & Kamboj, 2009), aunque no siempre un alto contenido de compuestos polifenólicos indica una alta actividad (Borrás-Linares *et al.*, 2015). El posible mecanismo de acción de los flavonoides podría deberse a la capacidad de formar un complejo con las paredes celulares de las bacterias, y además por la permeabilidad de la superficie de las célula bacterianas al extracto. El posible mecanismo de acción contra las bacterias, implica la inhibición de la translocación de la proteína de transporte de electrones, los pasos de fosforilación y otras reacciones dependientes de la enzima seguidas de una mayor permeabilidad de la membrana plasmática, lo que provoca la fuga de un ion de las células bacterianas (Riaz & Chopra, 2018)

El extracto acuoso de *H. sabdariffa* también demostró un efecto antibacteriano contra *Streptococcus mutans*, las bacterias cariogénicas de la cavidad oral, con una concentración

inhibitoria mínima de 2.5 mg/mL (Afolabi, Ogunsola, & Coker, 2008). El extracto acuoso-metanol de cálices de *H. sabdariffa* secas mostró un efecto inhibitor *in vitro* contra varias cepas bacterianas, tales como *S. aureus*, *Bacillus stearothermophilus*, *Micrococcus luteus*, *Serratia marcescens*, *Clostridium sporogenes*, *Escherichia coli*, *K. pneumoniae*, *Bacillus cereus* y *Pseudomonas* sp., a concentraciones diferentes (Zarkani, 2016)

Además de utilizar los extractos de *H. sabdariffa* L. para tratar o prevenir enfermedades causadas por bacterias, se pueden utilizar en la industria alimenticia creando films de extractos acetónicos o metanólicos para inhibir el crecimiento de patógenos como *E. coli*, *S. aureus*, *L. monocytogenes*, *S. flexneri* y *S. typhimurium* (Cruz-Gálvez *et al.*, 2018); el extracto acuoso inhibe el crecimiento de *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli* y *Campylobacter fetus*, que contamina la carne de las aves de corral, la carne de res y el cerdo a un intervalo de concentraciones de 96-152 µg/mL (Da-Costa-Rocha *et al.*, 2014).

2.3.2. Actividad antioxidante

Los antioxidantes son fuertes secuestradores de los radicales libres, que son especies químicamente inestables que reaccionan rápidamente con otras especies químicas en un sistema biológico, atacando moléculas estables en un organismo sano y provocando enfermedades; pero existen compuestos que pueden neutralizar el efecto de los radicales libres (Salazar-González *et al.*, 2012) como flavonoides, ácidos, tocoferoles, carotenoides y vitamina C. Para evaluar la capacidad antioxidante existen métodos como el parámetro total de captura de radicales (TRAP) (Wayner *et al.*, 1985), captura del anión superóxido (CSA) (Kanner y German, 1987), radical 2,2-difenil-1-picril-hidracil (DPPH) (Brand-Williams, Cuvelier, & Berset, 1995), potencia antioxidante reductora de hierro (FRAP) (Benzie & Strain, 1996), capacidad de absorbencia de radicales de oxígeno (ORAC) (Ou, Hampsch-Woodill, & Prior, 2001) y 2,2'-azino-bis (3-etilbenzo-tiazolino-6-sulfónico) (Re *et al.*, 1999) que se basan en la captura de radicales libres, usados en extractos de plantas (Salazar-González *et al.*, 2012).

Varios estudios, tanto *in vitro* e *in vivo* han demostrado que los extractos de *H. sabdariffa* tienen un potente efecto antioxidante, esto debido a su efecto sobre el oxígeno

reactivo y los radicales libres; estos efectos se observaron tanto en extractos acuosos como etanólicos (Da-Costa-Rocha *et al.*, 2014). Pero en un estudio donde se utilizó como disolvente el agua, etanol acidificado y mezcla de etanol:agua, se observaron diferencias significativas en la capacidad antioxidante entre agua y etanol acidificado comparado con la mezcla de etanol:agua, presentando mayor eficiencia como disolvente esta última para evaluar la capacidad antioxidante (Salazar-González *et al.*, 2012).

El efecto actividad antioxidante de los extractos de cálices de *H. sabdariffa* es similar al del BHA (butil-hidroxianisol) (Jackson & Christian, 2009), el BHT (butilhidroxitolueno), la TBHQ (terbutilhidroquinona) y el galato de propilo, que son antioxidantes sintéticos, eficaces y económicos, usados en la industria cárnica pero se ha comprobado que poseen efecto tóxico, por lo tanto su uso se ha regulado y restringido en algunos países. Por lo que se buscan alternativas efectivas de origen natural con potencial antioxidante para alargar la vida de anaquel de los productos (López-Nahuatt *et al.*, 2017).

Los cálices de *H. sabdariffa* contienen compuestos como vitamina C, tocoferol y flavonoides como las antocianinas (Ibrahim & Albadani, 2014b); en un estudio de tres variedades de *H. sabdariffa*, dos rojas y una blanca, se reporta que específicamente la delfinidina-3-sambubiosido y cianidina-3-sambubiosido, son clave en la respuesta antioxidantes, en dos variedades rojas y aunque la variedad blanca tiene actividad antioxidante, a pesar de no detectar presencia de antocianinas, esto puede deberse a otros compuestos que no presentan color como el ácido ascórbico; aunque no existieron diferencias significativas en cuanto a la actividad antioxidante entre las tres variedades estudiadas, los valores de contenido de fenólicos y antocianinas fueron más altos en las variedades rojas. Aun así las tres variedades son valiosas por tener componentes benéficos para la salud (Christian, Nair, & Jackson, 2006; Jackson & Christian, 2009).

2.4. Usos de *H. sabdariffa*

2.4.1. Uso culinario

La planta de *H. sabdariffa* se ha usado por muchos años, en varios países del mundo como un recurso culinario y terapéutico, siendo utilizadas para preparar dulces, gelatinas, bebidas frías y calientes (Herrera-Arellano *et al.*, 2004), bebidas a base de hierbas, bebidas fermentadas, mermelada, helados, chocolates, aromatizantes, pudines, pasteles y como colorante alimenticio natural (Da-Costa-Rocha *et al.*, 2014).

En algunos lugares las hojas y tallos tiernos son comidos crudos en ensaladas o cocidos con carne o pescado. En Sudan se consume tanto de forma fresca como deshidratada cocidas con cebolla y cacahuete, o como infusión usando los cálices. En Malasia las hojas cocidas se comen como verduras; en las Antillas, los cálices también pueden usarse para darle color y aroma al ron (Ismail, Ikram, & Nazri, 2008). Las semillas son ricas en proteínas, después de extraer el aceite, estas son tostadas y se come en sopas; en África se usa como sustituto del café; en Paquistán los cálices se usan como fuente de pectina para la industria de conserva de frutas (Riaz & Chopra, 2018).

En Nigeria y la mayor parte de África, dos variedades de cálices rojos son usadas principalmente para producción de jugos o la bebida conocida como “Karkade” o “Zoborodo” (Gibbon & Pain, 1985) y los cálices de variedades verdes son usados para sopa, estofado y salsas (Ojokoh *et al.*, 2002 citado por Aregbesola *et al.*, 2016). En Egipto, los cálices carnosos se utilizan en la fabricación de “té cacody” y bebidas fermentadas (Kochhar, 1986).

En México, *H. sabdariffa* se cultiva para obtener cálices frescos que son deshidratados y que se utilizan principalmente para la preparación de bebidas frescas e infusiones, las cuales se han reportado que tienen diversos efectos benéficos para la salud (Sumaya-Martínez *et al.*, 2014), esta bebida es llamada Jamaica, agua de Jamaica o té de Jamaica (Da-Costa-Rocha *et al.*, 2014)

2.4.2. Uso medicinal

H. sabdariffa es una planta medicinal usada en varios países alrededor del mundo. Varias partes de esta planta han sido usado en la medicina tradicional para tratar diferentes enfermedades (Riaz & Chopra, 2018). La infusión de semillas se usa en África como diurético, en India se usa para aliviar la disuria y estranguria, para casos leves de dispepsia y para aliviar la debilidad, en Guinea-Bissau las semillas son tomadas por los hombres como afrodisíaco; en Brasil el extracto acuoso caliente de raíces se toma para tratar problemas estomacales y externamente como emoliente (Ross, 2003).

En Camerún se prepara extracto con agua caliente de hojas deshidratadas se toman como vermífugo, mientras que en el Congo este extracto se toma para acelerar el parto, en, México y Senegal sirve para disminuir la viscosidad de la sangre y estimular la peristalsis intestinal, además en el Este de África e India se usa para aliviar la tos como agente saborizante, diurético, colerético, febrífugo e hipertensivo y externamente se usa para curar llagas y heridas. En Egipto la decocción de cálices es tomada con azúcar tres veces al día para disminuir la presión arterial, mientras que el extracto preparado con agua caliente y la planta completa es tomada para enfermedades de corazón y nervios, como laxante, para bajar de peso, como diurético, para activar y neutralizar la secreción hepática, para activar la secreción gástrica, como digestivo, para la arterosclerosis, diaforético y como antiséptico intestinal, el aceite esencial de hoja es tomada como tratamiento para el cáncer; mientras que en Tailandia se toma esta decocción contra la presión arterial alta (Ross, 2003), además contra los cálculos en los riñones y la vejiga (Riaz & Chopra, 2018).

El extracto de cáliz deshidratado con agua caliente se toma como diurético y para tratar la inflamación renal en Guatemala; en Senegal el extracto de agua caliente de las flores es tomado para combatir la faringitis, indigestión y como diaforético, expulsión de la bilis y diurético; en Sudan se usa como purificador de la sangre y contra la tos. La decocción de las hojas deshidratadas se toma en Sierra Leona para tratar la hemorragia postparto e iniciar contracciones (Ross, 2003). Los Beduinos en la región norte de Badia en Jordán usan las hojas, así como las flores para preparar infusión caliente cuando quieren tratar la presión sanguínea alta, y fría para tratar la presión arterial baja. Herbolarios de la Región Autónoma

de Kurdistán de Irak recomiendan beber 1 taza/día de la infusión de 1 cuchara cafetera (1/2 cuchara cafetera cuando esta molida) de las flores en 1 taza de agua caliente para el tratamiento de hipotensión y 2 tazas/día de una decocción de 2 cucharas cafeteras de las flores en ½ L de agua o 1 taza/día de una decocción de 50 g en 2 tazas de agua para el tratamiento de obesidad (Hopkins *et al.*, 2013).

El extracto de etanol al 80% es usado como antigénico y en la quimioprevención de la actividad en el modelo de carcinogénesis del colon. El contenido de creatinina, ácido úrico, citrato, tartratos, calcio, sodio, potasio y fosfato en la orina disminuía después del consumo de jugo de Jamaica, pero no tiene efecto sobre el oxalato en la excreción de orina. El extracto de *H. sabdariffa* se utilizó como bebida local es medicinal, contienen efecto antioxidante (Omorodion & Achukwu, 2017) y antimicrobiano (Riaz & Chopra, 2018). En México, se realizó un ensayo clínico involucrando 39 pacientes con hipertensión leve a moderada donde se evaluó la eficiencia del extracto acuoso de cálices deshidratados, comprobándose su actividad antihipertensiva (Herrera-Arellano *et al.*, 2004).

2.4.3. Otros usos

Actualmente *H. sabdariffa* además de su importancia como alimento o medicina tradicional en los países de origen geográfico, la flor de Jamaica se comercializa y se utiliza hoy en día como un ingrediente importante en los tés y bebidas producidos industrialmente (Da-Costa-Rocha *et al.*, 2014).

Por sus compuestos, *H. sabdariffa* puede ser utilizada como fuente de ingredientes colorantes bioactivos y naturales (Jabeur *et al.*, 2017); se realizó un estudio para la elaboración de películas con almidón de papa, glicerol, extractos metanólicos o acetónicos de cáliz de *H. sabdariffa*, estas películas se usaron como recubrimiento para salchichas, presentando efecto antimicrobiano al reducir la carga microbiológica de *L. monocytogenes*, pero estas películas sufrieron modificaciones fisicoquímicas y mecánicas, en ambos extractos pero más con el extracto metanólico (Cruz-Gálvez *et al.*, 2018); en la industria de alimentos no solo se utiliza para elaborar materiales alargando la vida de anaquel, sino que también, se quieren emplear los extractos como conservador por su potencial como antimicrobiano y

antioxidante (López-Nahuatt *et al.*, 2017). Se realizó una investigación sobre un colorante histopatológico natural para el diagnóstico histopatológico a partir del extracto las hojas de *H. sabdariffa*, donde probaron varias soluciones de extractos acuosos y etanólicos, obteniendo mejores resultados con soluciones preparadas a partir de extractos etanólicos, a la vez se comprobó la capacidad de esta planta de teñir secciones de tejidos, pero la intensidad de la tinción depende del tipo de mordiente que se utilice (Omorodion & Achukwu, 2017)

Además de los metabolitos secundarios de interés, *H. sabdariffa* es rica en fibra y debido a esto se puede usar como un sustituto del yute en la confección de ropa, lino, redes de pesca, cuerdas y artículos similares; una desventaja es el lento crecimiento de la planta, tardando alrededor de 180 días para obtener el mayor rendimiento de fibra; aun así existen variedades que no son comestibles pero producen mayor cantidad de fibra y se realizaron investigaciones que muestran propiedades técnicas interesantes al usarla como sustituto de fibras sintéticas o minerales en materiales compuestos, así como fuente para la producción de papel de alta calidad (Da-Costa-Rocha *et al.*, 2014).

Las hojas de esta planta son usadas en la alimentación animal, como forraje (Plotto, 2004). Por otro lado las semillas se utilizan para alimentar aves de corral y ovejas, después de la extracción del aceite de semilla de *H. sabdariffa*, el residuo también puede usarse para el mismo fin (Da-Costa-Rocha *et al.*, 2014). En Malasia, el aceite de las semillas es usado con fines cosméticos, para producir jabones y productos depuradores (Ismail *et al.*, 2008).

3. JUSTIFICACIÓN

La planta de Jamaica (*Hibiscus sabdariffa*) produce metabolitos secundarios en respuesta a diferentes factores. Algunos de estos compuestos son de interés académico e industrial por su potencial beneficio sobre la salud, brindando valor nutricional agregado a los alimentos, alargando la vida de anaquel en productos alimenticios, entre otras aplicaciones.

Al extraer compuestos de interés de la Jamaica, es necesario elegir qué variedad expresa la mayor cantidad de éstos, además de que se debe seleccionar qué parte de la planta se utilizará. En este trabajo se decidió emplear el cáliz deshidratado de Jamaica, siendo la parte de la planta que más se consume en México, no sólo es usado como alimento, sino que también es usado en medicina tradicional alrededor del mundo para tratar varios padecimientos como hipertensión, fiebre, bajar el colesterol, entre otras.

Se pueden encontrar cálices de una gran variedad de colores, que van desde el verde hasta el rojo intenso; además de las diferencias de color, puede ser que estos cálices expresan concentraciones distintas de fitoquímicos e incluso fitoquímicos diferentes entre cada variedad. Se han realizado investigaciones sobre el cáliz de Jamaica y la planta en general alrededor del mundo; en Aguascalientes se introdujo recientemente el cultivo y producción de algunas variedades de Jamaica, de las cuales hace falta su caracterización, por lo que es necesario conocer de cuáles variedades se puede obtener mayor cantidad de compuestos fitoquímicos de interés.

4. HIPÓTESIS

Existen diferencias significativas entre los genotipos de *Hibiscus sabdariffa* L. en cuanto a los niveles de fitoquímicos y actividades funcionales de extractos de cálices de la planta.

5. OBJETIVO

Comparar los niveles de fitoquímicos y las actividades funcionales principales de extractos de cálices de diversos genotipos de Jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.).

5.1. Objetivos particulares

1. Comparar los niveles y patrones de antocianinas y de otros compuestos fenólicos de extractos de cálices de diversos genotipos de Jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.).
2. Cuantificar las actividades funcionales principales de extractos de cálices de los diversos genotipos bajo estudio.
3. Analizar e integrar los resultados obtenidos para clasificar los diversos genotipos estudiados.

6. METODOLOGÍA

6.1. Material vegetal

Se usaron ocho variedades diferentes de *H. sabdariffa* con tonalidades de colores distintos de cálices, que fueron donadas por el invernadero del Centro de Bachillerato Tecnológico Agropecuario (CBTA) No. 61, Calvillo, Aguascalientes, sembradas en charola el 2 de Julio de 2016, cosechadas ente el 15 de Noviembre del 2016 al 30 de Enero de 2017, usando un sistema de riego de microaspersión, también se analizó una variedad comercial. En la **Tabla 4** se muestra la fotografía y abreviatura para cada una de las variedades.

Tabla 4. Variedades de *H. sabdariffa*

VARIEDAD	COLOR	ABREVIACIÓN
COMERCIAL		C
FLOR ROJA		FR
FLOR MORADA		FM

FLOR ROJA XETEADA



FRX

FLOR BLANCA



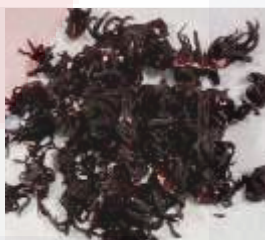
FB

FLOR NEGRA



FN

SUDAN GUERRERO



SG

ALMA BLANCA GUERRERO



ABG

CRIOLLA TECUANAPA GUERRERO



CTG

6.1.1. Humedad

La humedad de los cálices de *H. sabdariffa* se determinó por el método 925.10 de la AOAC (2002), el análisis se llevó a cabo por triplicado. Para el análisis se utilizó el Horno Felisa modelo FE-291 AD, se llevaron las charolas vacías hasta peso constante colocándolas en el horno por lo menos 1 h, posteriormente se colocaron aproximadamente 2 gramos de muestra en cada charola, registrando el peso, en seguida se colocaron en el horno a 105°C por 5 horas o hasta que alcancen un peso constante.

6.1.2. Residuos minerales (cenizas)

El contenido de cenizas se determinó de acuerdo con el método 923.03 de la AOAC (2005). Se tomó la muestra y se colocó en una cápsula, hasta calcinar a peso constante, posteriormente se enfrió en desecador y se pesó.

6.1.3. Extractos crudos

Los cálices se molieron (molino de granos Krups Gx4100) y se pesaron 0.1000 g de muestra, se agregó posteriormente 10 mL del solvente utilizado para la extracción (metanol 30% y etanol 96%), se agitaron (agitador Barnstead Lab-line Lab Modelo 2309) durante 10 min, repitiendo este procedimiento dos veces más (Pandey & Tripathi, 2014; con algunas modificaciones). En cuanto a los extractos acuosos, se pesó la misma cantidad de muestra 0.1000 g, agregando 10 mL de agua destilada hirviendo durante 15 min, este proceso se repitió dos veces más; los extractos se centrifugaron (Centrífuga Hettich EBA 200), recuperando el sobrenadante por decantación (Zarkani, 2016 con algunas modificaciones). Todos los extractos fueron preparados en penumbra. A estos extractos se les determinó

fenoles solubles totales, flavonoides y capacidad antioxidante por el método de TEAC-DPPH y FRAP.

6.1.4. Extracto concentrados

6.1.4.1. Extracto metanólico

Se pesó 25 g de cada una de las variedades previamente molidas (molino de granos Krups Gx4100), se agregó metanol hasta cubrir la muestra (aprox. 40 mL), se agitó durante 2 horas (parrilla de agitación Thermolyne SP-131325 StableTemp) y el extracto fue filtrado (papel filtro Munktel, Grado:1288), usando el IKA® RV 10 Digital se llevó la muestra hasta sequedad, se recuperó con menos de 25 mL del solvente utilizado en la extracción, colocándolo en un vaso de precipitado de 250 mL; utilizando el solvente recuperado se realizó la extracción dos veces más, finalmente se colocó el extracto concentrado en una campana de flujo durante toda la noche, para evaporar el solvente (Pandey & Tripathi, 2014 con algunas modificaciones). Todos los extractos fueron preparados en penumbra.

6.1.4.2. Extracto acuoso

Se pesó 25 g del polvo de cada variedad (molino de granos Krups Gx4100), se agregó agua hasta cubrir la muestra (aprox. 60 mL) e hirvió por 15 min (parrilla de agitación Thermolyne SP-131325 StableTemp), repitiendo este proceso dos veces más, el extracto fue filtrado con una gasa, posteriormente se liofilizó y se usó para determinar la actividad antibacteriana de estos extractos (Zarkani, 2016 con algunas modificaciones). Todos los extractos fueron preparados en penumbra.

6.1.4.3. Rendimiento de extractos metanólico y acuoso concentrados

Para obtener el rendimiento en porcentaje de la extracción, se tomó como referencia el peso del material vegetal antes de la extracción (PI) y el peso del extracto obtenido después de la extracción y/o tratamiento (PE), para lo cual se utilizó la fórmula:

$$\text{Rendimiento} = \frac{PE}{PI} \times 100$$

6.2. Degustación

Se realizó una encuesta a 20 personas que consumieron agua de ocho variedades de *H. sabdariffa* cultivadas en el CBTA No. 61 en Calvillo; se usó una escala hedónica y se tomó en cuenta cuatro aspectos: color, olor (aroma), acidez y aspecto en general. Se evaluaron los resultados, graficando los datos obtenidos y se observó que variedad tuvo mayor aceptación en cada uno de los aspectos.

6.3. Análisis fitoquímicos de cálices de *H. sabdariffa*

6.3.1. Polifenoles extraíbles

6.3.1.1. Fenólicos solubles totales

Para la cuantificación de fenoles solubles totales se utilizó el método descrito por Singleton *et al.* (1999) con algunas modificaciones, esta técnica se basa en una reacción de óxido-reducción en la que se obtendrá una coloración azul que se lee espectrofotométricamente. Todo el procedimiento se realizó en condiciones de penumbra. Para la reacción se tomó una alícuota de 0.5 mL de extracto crudo acuoso o metanólico (completando a 1 mL, con agua o metanol según sea el caso), mientras que se tomó una alícuota de 1 mL de extracto crudo etanólico, se agregó 125 μ L de Folin-Ciocalteu 2N (Sigma, No. Cat. F9252), se agitó en vortex, se dejó reposar por 6 min, pasado el tiempo se agregó 1.250 mL Na_2CO_3 al 7% (p/v) y 625 μ L de agua destilada, finalmente se dejaron reposar por 90 min. Pasado el tiempo se leyeron los tubos en el espectrofotómetro Thermo Scientific, modelo Biomate a una longitud de onda de 757 nm, contra un blanco que no tenía ningún extracto. Para expresar los resultados en miligramos equivalentes de ácido gálico/g de Jamaica base seca (mg EAG/g Jamaica bs) se elaboró una curva de calibración, en la cual se utilizaron concentraciones conocidas de ácido gálico entre 10-80 μ g.

6.3.1.2. Flavonoides

El contenido total de flavonoides se determinó usando un método colorimétrico descrito por Heimler *et al.* (2006) con algunas modificaciones. Se tomaron 250 μ L del extracto, se añadieron 75 μ L de solución de NaNO_2 al 5%, 150 μ L de una solución de AlCl_3

al 10% recién preparada y 500 μ L de solución de NaOH 1M. El volumen final se ajustó a 2.5 mL con agua destilada. La mezcla se dejó reposar durante 30 min y la absorción se midió a 510 nm, el blanco fue esta mezcla sin la muestra, en un espectrofotómetro Thermo Scientific, modelo Biomate 3. El contenido de flavonoides totales se expresa como miligramos equivalentes de catequina por gramo de muestra seca (mg EC/g bs) a través de la curva de calibración de 0-83.33 μ g de catequina.

6.3.1.3. Separación de flavonoides por cromatografía en capa fina

Se realizó la separación de flavonoides en extractos metanólicos de cada variedad de *H. sabdariffa* por cromatografía de capa fina en sílica gel 60 F254 (Merck) de aluminio de 5x10 cm, usando como eluyente una mezcla de metanol:cloroformo (70:30 % v/v). Las placas cromatográficas se revelaron con el reactivo NP/PEG (siglas en inglés de Natural Products - polyethyleneglycol), el cual es una mezcla del difenilboriloxietilamina (NP)/polietilenglicol (PEG) disueltos en etanol. Se usó como estándares quercetina y apigenina; después de 5 min se observó la fluorescencia de los compuestos en UV-365 nm (Wagner & Baldat, 1966).

6.3.1.4. Antocianinas totales

Se encuentra reportado que la concentración de antocianinas en *H. sabdariffa* contribuye con el 51% de su capacidad antioxidante, el resto de la cual está dada principalmente por otros compuestos fenólicos (Tsai *et al.*, 2002). Mientras aumenta el contenido de antocianinas en los extractos de los cálices deshidratados aumenta la actividad antioxidante (Medina-Carrillo *et al.*, 2013).

Para la determinación de antocianinas totales se usó como base el trabajo de Abdel-Aal & Hucl, (1999). Se molieron y pesaron los cálices de las variedades de *H. sabdariffa* 1 g, 0.5 g, 0.25 g, 0.25 g, 1 g, 0.1 g, 0.1 g, 1 g, 0.1 g para la variedad C, FR, FM, FRX, FB, FN, SG, ABG y CTG respectivamente, utilizando como disolvente etanol acidificado (etanol:HCl 1N, 85:15 v/v), se agitaron (agitador Barnstead Lab-line Lab Modelo 2309) durante 30 min, se ajustó pH=1 con HCl 4 N, el sobrenadante se aforó a 50 mL. Se tomó una alícuota de 1.5 mL y se centrifugó (Microcentrífuga BECTON DICKINSON Clay Adams Micro 2000) a 14,000 rpm por 3 min. Se realizó un barrido de la muestra en cada una de las variedades,

usando como línea base etanol acidificado (etanol: HCl 1 N, 85:15 v/v), se obtuvo la longitud de onda máxima de absorción (aproximadamente 535 nm), las muestras fueron leídas a dicha longitud de onda contra un blanco (etanol acidificado). La concentración de antocianinas totales se calculó usando la fórmula 1:

$$C = (A/\epsilon) \times (\text{vol}/1000) \times \text{MW} \times (1/\text{Pm}) \times 10^6 \quad (1)$$

Donde C es la concentración de antocianinas totales (mg/kg), A es la absorbancia del extracto total de antocianinas, ϵ es la absortividad molar de la cianidina 3-glucósido (mg E3G) (25965 cm⁻¹M⁻¹), vol. es el volumen total del extracto de antocianinas (mL), MW es el peso molecular de la cianidina 3-glucósido (449 Da) y Pm es el peso de la muestra (g).

6.3.1.5. Ácidos fenólicos por HPLC

El método que se empleó fue el descrito por Ramamurthy *et al.* (1992). Para preparar el extracto se pesaron 0.5 g de cáliz de *H. sabdariffa* se agregó 10 mL de metanol al 30%, se agitó en vortex por 10 min, se sonicó durante 10 min, nuevamente se agitó en vortex 10 min, se centrifugó 5 min a 5000 rpm, se recuperó el sobrenadante y filtró una alícuota en una membrana de 0.45 μm , finalmente colocarlo en un vial.

El análisis de HPLC de los compuestos fenólicos se efectuó con una separación en fase reversa utilizando la columna Zorbax (ODS)- C18 (5 μm tamaño de partícula, 15 cm x 4.6 mm i.d.). Se usó también una precolumna Zorbax ODS – C18. La fase móvil corrió a 1.5 mL/min y consistió en solvente A (ácido fórmico al 1 % en agua desionizada) y solvente B (ácido fórmico al 1 % en metanol); durante el análisis, el gradiente del solvente fue programado de 10 a 100% de B en A en 30 min; el detector UV fue programado a 280 nm y el volumen de inyección fue de 20 μL ; todos los solventes utilizados fueron filtrados a través de membranas de 0.45 μm .

La identificación de ácidos fenólicos fue realizada mediante comparación con el tiempo de retención y espectros de absorción de estándares de ácidos fenólicos comerciales y para su cuantificación se usaron curvas de calibración de los mismos expresándose en miligramos por 100 gramos de cáliz base seca (mg/100 g de muestra bs).

6.3.2. Polifenoles no extraíbles

El residuo obtenido de las extracciones metanólicas, acuosas y etanólicas, se secó durante 24 horas a 45°C (Horno Felisa modelo FE-291 AD).

6.3.2.1. Taninos condensados

El contenido de taninos condensados se determinó usando el método descrito por Porter, Hrstich, & Chan (1985) con algunas modificaciones. Se preparó una mezcla de butanol:HCl 37%:FeCl₃ (973.3:25:1.7 v/v/p), se agregó 10 mL de esta mezcla al residuo dejando hervir 1 hora a 100°C (parrilla de agitación Thermolyne SP-131325 StableTemp), se centrifugó a 3000 rpm por 10 min (Centrifuga Hettich EBA 200), y se lavó el residuo con 2 mL de la mezcla de butanol, se separó el sobrenadante y se aforó con la misma mezcla a 12.5 mL. Se realizó en penumbra y por triplicado, los extractos se leyeron a 450 y 555 nm en espectrofotómetro Thermo Scientific, modelo Biomate 3, se sumaron las absorbancias de las dos longitudes de onda y se usó una curva de calibración en miligramo equivalente a proantocianidina por gramo de muestra en base seca (mg EPA/g bs). Al extracto se le determinó la capacidad antioxidante mediante el método de FRAP.

6.3.2.2. Taninos hidrolizables

Para cuantificar el contenido de taninos hidrolizables se usó el método descrito por Hartzfeld, Forkner, Hunter, & Hagerman, (2002) con algunas modificaciones. Se pesó 0.040 g de cada residuo, se agregó 5 mL de la mezcla metanol:H₂SO₄ (20:2 v/v), y se dejaron incubar a 85°C por 20 horas en baño María; los tubos se centrifugaron a 3000 rpm durante 10 min, se recuperó el sobrenadante y se lavó el residuo con 2 mL de agua destilada. Posteriormente se aforo a 10 mL cada sobrenadante con agua destilada; a este extracto se le determinó la cantidad de fenoles mediante el método de Folin-Ciocalteu y actividad antioxidante mediante el método de FRAP.

6.4. Actividad funcional

6.4.1. Actividad antioxidante

6.4.1.1. TEAC-DPPH

La actividad o capacidad antioxidante fue medida mediante la reducción de radicales libres usando la técnica del radical DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazilo) (Brand-Williams *et al.*, 1995 con modificaciones). Para esta prueba se utilizaron 50 μL de extractos crudos de etanol, metanol o agua, a los cuales se les agregó una solución metanólica de DPPH 0.13 mM, se dejó incubar durante 20 min en oscuridad, posteriormente se leyeron las muestras contra un blanco (contenía todos los reactivos menos el extracto) a una longitud de onda de 515 nm usando un espectrofotómetro Thermo Scientific, modelo Biomate 3. Se realizó una curva de calibración usando DPPH como radical libre y cantidades conocidas de Trolox (antioxidante) 0-30 nmol, los resultados fueron expresados en μmol equivalentes de Trolox/g de muestra base seca (μmol eq Trolox/g Jamaica bs).

6.4.1.2. FRAP

La actividad antioxidante se determinó por el ensayo de FRAP propuesto por Thaipong *et al.* (2006) con algunas modificaciones. Se preparó una solución tampón de acetato 300 mM [0.246 g de acetato de sodio ($\text{C}_2\text{H}_3\text{NaO}_2$) y 10 mL de ácido acético 10% ($\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2$)] a pH 3.6, solución de TPTZ 10 mM [0.0312 g de TPTZ (2, 4, 6-tripiridil-s-triazina), 0.044 mL de HCl 37% y 10 mL de agua destilada] y solución $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (0.0540 mg de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ y 10 mL de agua destilada). La solución de trabajo (FRAP) se preparó el mismo día mezclando 25 mL de tampón de acetato, 2.5 mL de solución de TPTZ y 2.5 mL de solución de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ y luego se incubó a 37°C antes de su uso. Se tomaron 0.150 mL de extractos y se dejaron reaccionar con 2850 mL de la solución FRAP durante 30 min en la oscuridad. Las lecturas del producto de color (complejo de tripiridiltriazina ferrosa) se realizaron a una longitud de onda de 593 nm, en un espectrofotómetro Thermo Scientific, modelo Biomate 3. Se elaboró una curva estándar de 0-100 nmol de Trolox, los resultados se expresan en micromoles de equivalentes de Trolox por gramo de base seca (μmol ET/g bs).

6.4.1.3. ORAC

Se usó el método descrito por Ou, Hampsch-Woodill, & Prior, (2001) con algunas modificaciones, este es capaz de medir la capacidad global que tienen todos los antioxidantes presentes en una muestra para neutralizar los radicales peroxilo (ROO). Estos son generados a partir del azo-compuesto AAPH (2,2'-azobis(2-amidinopropane) diclorhidrato) y reaccionan con la fluoresceína, oxidándola. La pérdida de la fluorescencia de la fluoresceína es el indicador de la extensión de la oxidación con el radical peroxilo.

Se preparó una solución amortiguadora de fosfatos (71 mL de fosfato de sodio monobásico 0.2 M y 304 mL de fosfato de sodio dibásico 0.2 M, se llevó a 900 mL con agua destilada y se ajustó pH a 7.4 cuidando no rebasar el volumen de 1 L), la cual se utilizó para preparar todos los reactivos y las diluciones necesarias. Esta se almacenó en botella ámbar a 4°C. Se preparó una solución madre de fluoresceína 0.5315 mM (5 mg en 25 mL). De esta solución se preparó la solución de trabajo a 8.185×10^{-5} mM (7.7 μ L de solución madre, aforado a 50 mL).

Se tomó una alícuota de 1.5 mL de solución de trabajo de fluoresceína y se colocaron en una celda espectrofotométrica. En la misma celda se agregó 0.75 mL de muestra (diluida previamente en solución amortiguadora con el objetivo de que el poder antioxidante decaiga en un lapso de tiempo menor que el estándar de Trolox de 40 μ M y mayor que el de Trolox de 10 μ M) y se colocó a baño María a 37°C por 5 min. Después de este tiempo se agregaron 0.75 mL de solución de APPH (2,2-azobis (2-amidinopropano)-HCl; 0.415 g aforado a 10 mL), agitando con la misma pipeta. Inmediatamente se tomó la primera lectura en el fluorómetro ($\lambda_{\text{extinción}} = 493$ $\lambda_{\text{emisión}} = 515$) y se regresó al baño María. Se continuó leyendo la celda cada minuto hasta que el valor de la intensidad corresponda un 10% del valor inicial. Se usó como blanco solución de fosfatos, los resultados se reportaron como micromoles de equivalentes de Trolox por gramo de muestra base seca (μ mol ET/g bs), mediante una curva estándar, usando el área neta bajo la curva (ANBC) de cuatro concentraciones de Trolox. Para los cálculos se utilizaron las siguientes formulas (2 y 3):

$$\text{ANBC} = (\text{ABC}_{\text{muestra}} - \text{ABC}_{\text{blanco}}) \quad (2)$$

$$\text{ABC} = \text{área bajo la curva} = 0.5 + f_1/f_0 + f_2/f_0 + \dots + f_i/f_0 \quad (3)$$

f_0 = Fluorescencia inicial leída al minuto 0

f_i = Fluorescencia leída al tiempo i

6.4.2. Actividad antimicrobiana

6.4.2.1. Cepas y condiciones de cultivos bacterianos

Se utilizaron cultivos de cepas de *Staphylococcus aureus* aislado clínico del Hospital Universitario, *Salmonella typhi* ATCC 19430 y *Acinetobacter baumannii* aislado nosocomial (No. 12-443) del Hospital Universitario Dr. José Eleuterio González en Nuevo León, México. Las cepas se mantuvieron en tubos con Agar Mueller Hinton (MH) a 4°C. Para la activación de la cepa se procedió como indica Sánchez *et al.* (2013) con algunas modificaciones; se toma una asada y se sembró en 5 mL de caldo MH. Los tubos se incubaron durante 18 h a 36°C.

6.4.2.2. Efecto antimicrobiano

Se determinó el efecto antimicrobiano de los extractos sobre *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi* y *Acinetobacter baumannii* se utilizó el método propuesto por Sánchez *et al.* (2013) de difusión del pozo en agar. Se sembró por extensión 100 µL de las cepas previamente activadas, con un asa de Driglasky, sobre placas Petri con agar MH, en seguida se realizaron pozos en el agar con un tubo estéril invertido (aprox. 1.2 cm de diámetro); se retiró el agar con una espátula estéril. Para los extractos metanólicos se agregaron 50, 100 y 150 µL (de una concentración de 50 mg/mL) en cada pozo, las placas se incubaron a 36°C por 18 h. El efecto antimicrobiano del extracto se determinó mediante la presencia o ausencia de un halo de inhibición del crecimiento alrededor del pozo. Se utilizaron como control el metanol o agua según sea el caso en un pozo.

6.4.2.3. Concentración mínima bactericida (CMB)

Para la concentración mínima bactericida (CMB) se utilizó el método propuesto por Sánchez, García, & Heredia, (2010) con modificaciones. Se inocularon 30 mL de caldo MH

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

con 300 μL (1%) del cultivo previamente activado de la cepa. El cultivo se homogeneizó, se tomaron diferentes volúmenes de medio activado y se colocaron en una microplaca de 96 pozos, agregando además diferentes concentraciones del extracto correspondiente, el volumen final de cada pozo se ajustó a 200 μL , sin sobrepasar el 10% del solvente en el volumen final. Las placas se incubaron a 36°C por 18 h, se tomaron 20 μL de cada pozo, se sembró por goteo sobre el agar MH y nuevamente se incubaron a 36°C por 18 h. Transcurrido el tiempo de incubación se determinó la CMB, esta fue la concentración más baja del extracto que inhiba completamente el crecimiento de un microorganismo. Los extractos se re suspendieron en metanol o agua y se tomaron como control el metanol o agua.

6.5. Fracción indigerible

Las enzimas se encuentran en todos los seres vivos, estas son proteínas específicas, ya que se une a un sustrato específico sobre el que actúa, acelerando las reacciones químicas, de síntesis y degradación de compuestos.

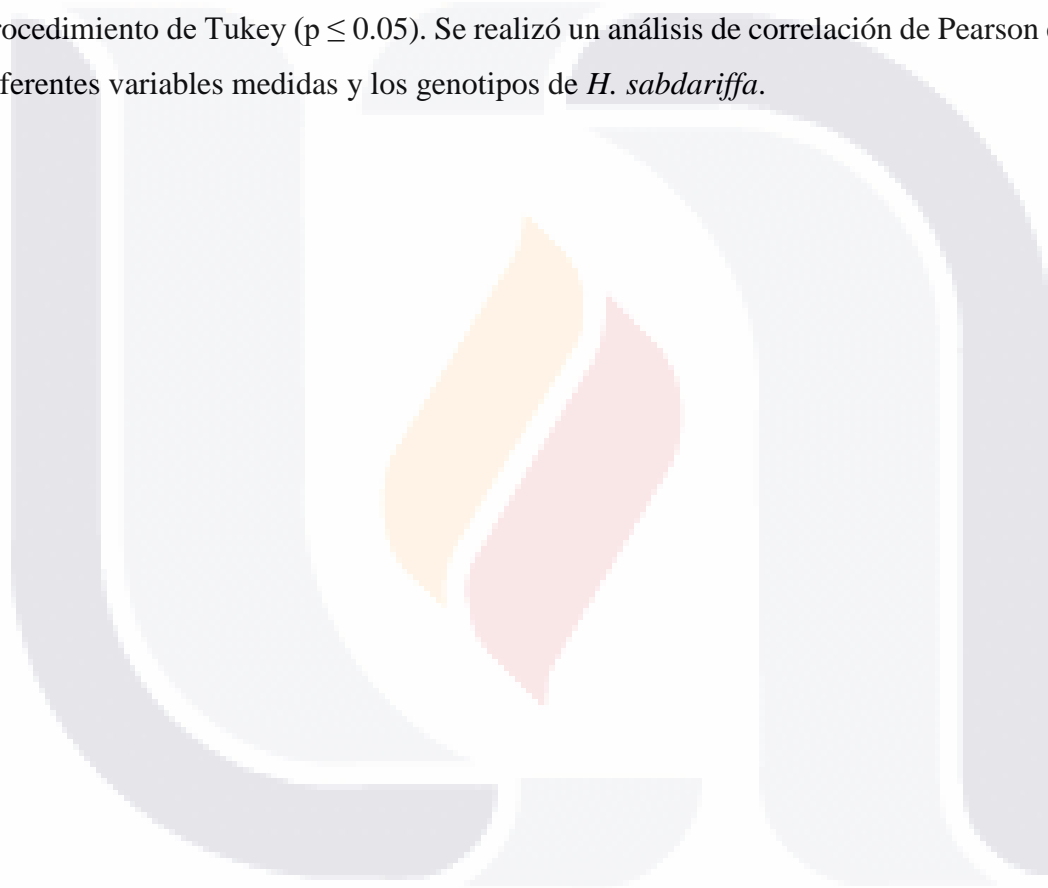
Se utilizó el método de extracción enzimática para cuantificar la fracción no digerible en los alimentos vegetales, en condiciones analíticas cercanas a las fisiológicas. Analizando las muestras como consumidas, se incubaran sucesivamente con pepsina, pancreatina y α -amilasa (Saura-Calixto *et al.*, 2000).

Para la extracción fisiológica se tomó como base la metodología usada por Saura-Calixto *et al.* (2000) con algunas modificaciones. Se tomó una muestra de aproximadamente 300 mg colocándola en una solución con la enzima pepsina en una solución tampón de HCl/KCl 0.2 M a pH de 1.5 a 40°C, colocándose en agitación constante por una hora. Posteriormente se agregó una solución de la enzima pancreatina en una solución tampón de fosfatos 0.1M a pH de 7.5 a 37°C en agitación constante por 6 horas. En seguida se agregó una solución de la enzima α -amilasa en una solución tampón de Tris-maleato 0.1 M a pH de 7.5 a 37°C en agitación constante por 16 horas. Se separó el residuo del sobrenadante; el residuo se secó a 105°C (fracción indigerible insoluble, FII) y se le realizó una diálisis al sobrenadante (fracción indigerible soluble, FIS) a 25°C durante 48 h en una membrana

(dialysis tubing cellulose membrane 43nm x 27 mm, 14000 kDa). Se determinó la fracción indigerible total sumando la fracción indigerible insoluble y la fracción indigerible soluble.

6.6. Análisis estadístico

El análisis estadístico para las pruebas se llevó a cabo mediante un análisis de varianza (ANOVA) con un diseño completamente al azar, para determinar el efecto de tratamientos (variedades) de *H. sabdariffa*, y pruebas de comparación de medias mediante el procedimiento de Tukey ($p \leq 0.05$). Se realizó un análisis de correlación de Pearson entre las diferentes variables medidas y los genotipos de *H. sabdariffa*.



7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

7.1. Características de la muestra

7.1.1. Humedad

La cantidad de agua presente en los cálices de las variedades de *H. sabdariffa* es bajo como era de esperarse debido a que estos estaban deshidratados, en la **Tabla 5** se muestra que el porcentaje de humedad que van de 9.45 hasta 12.68 %, presentando diferencias estadísticamente significativas (Tukey, $p \leq 0.05$). La Norma Mexicana NMX-FF-115-SCFI menciona que el porcentaje de humedad no debe ser superior al 12%, esto para evitar la contaminación microbiana (Secretaría de Economía, 2010), así que solo 3 de las variedades no cumplirían con esta norma.

La variación en la humedad es normal, en el estudio realizado por Duarte-Valenzuela *et al.* (2016) también la humedad cambiaba para cada una de las 20 variedades analizadas e igualmente algunas variedades están fuera del rango ideal declarado por la Norma Mexicana. Mientras que Sáyago-Ayerdi *et al.* (2014) trabajaron con dos variedades mexicanas y dos chinas, la humedad está dentro de lo establecido por la Norma Mexicana; Jung, Kim, & Joo, (2013) también reportó humedad de $103.81 \pm 0.09 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ (10.3%). Por otro lado, los resultados de humedad para las ocho variedades reportadas en el trabajo de Salinas-Moreno *et al.* (2012) son mayores a los reportados en este trabajo y a los aceptados por la Norma Mexicana, estando entre 14 a 16 %.

Tabla 5. Humedad de cálices de *H. sabdariffa*

Variedad	Humedad (%)
C	12.68 ± 0.18 a
FR	10.54 ± 0.07 e
FM	9.45 ± 0.07 g
FRX	11.57 ± 0.09 c
FB	10.01 ± 0.08 f
FN	12.07 ± 0.09 b
SG	10.72 ± 0.07 de
ABG	12.39 ± 0.35 ab
CTG	11.03 ± 0.07 d

Las letras indican diferencias significativas entre las variedades (Tukey, $p \leq 0.05$)
Media ± DE; n=3.

7.1.2. Residuos minerales (cenizas)

En la **Tabla 6** se muestra el contenido de cenizas de las nueve variedades de *H. sabdariffa*, el porcentaje estuvo entre 5.69 - 9.48 %, existiendo diferencias estadísticamente significativas entre las variedades (Tukey, $p \leq 0.05$). Kane *et al.* (2017) reporta valores de 62 g kg⁻¹ (6.2%), mientras que Duarte-Valenzuela *et al.* (2016) reportó valores que están entre 6.14 a 10.87 g/100 g de muestra (6.14 a 10.87 %), en otro estudio realizado por Ariza-Flores *et al.* (2014) los valores para Alma Blanca y Rosaliz (variedades claras) de 9.0 ± 0.18 y 7.1 ± 0.23 g /100 g (9.0 y 7.1%) respectivamente, para las variedades Cotzaltzin, Tecoaapa y Criolla fueron de 8.3 ± 0.15, 6.2 ± 0.20 y 6.8 ± 0.53 g /100 g (8.3, 6.2 y 6.8%), respectivamente. Babalola *et al.* (2001) estudiaron los cálices de tres variedades de *H. sabdariffa*, verde, roja y roja oscuro (6.6, 6.5 y 6.8%, respectivamente) y sólo la variedad oscura fue significativamente mayor a las demás.

Juliani *et al.* (2009) estudiaron 29 muestras traídas de diferentes lugares, tuvieron un porcentaje de cenizas de 5 a 9, y las muestras con un porcentaje mayor a 7% podrían indicar contaminación con arena y tierra. Jung *et al.* (2013) reportaron en una variedad de Jamaica 75.73±0.01 g*kg⁻¹ de cenizas (7.5%). Lo reportado en la literatura y los resultados obtenidos en el trabajo son semejantes a pesar de que la absorción de minerales en la planta es afectada por factores como edad, densidad, distribución del sistema radical, grado de

disolución de los minerales, humedad y pH del suelo, además de los requerimientos nutricionales de cada variedad (Crisosto y Mitchell, 2002).

Tabla 6. Cenizas.

Variedad	Cenizas (% p/p)
C	9.48 ± 0.11 a
FR	7.04 ± 0.02 d
FM	6.08 ± 0.10 f
FRX	5.69 ± 0.03 g
FB	9.12 ± 0.05 b
FN	6.29 ± 0.06 e
SG	6.18 ± 0.06 ef
ABG	7.40 ± 0.08 c
CTG	6.16 ± 0.04 ef

Las letras indican diferencias significativas entre las variedades (Tukey, $p \leq 0.05$)
Media ± DE; n=3.

7.1.3. Encuesta

Se aplicó una encuesta hedónica a 20 personas para evaluar varios aspectos (color, aroma, acidez y aspecto general) de agua de Jamaica de 8 variedades. En la **Figura 6a**, la variedad que presentó mayor aceptación de acuerdo al color fue la SG (40% - me encanta), esta tiene un color rojo oscuro, por el contrario las variedades con menor aceptación fueron FB y ABG, estas son variedades blancas (10% - Odio). En cuanto al aroma (**Figura 6b**), FN fue la favorita con 25% de Me encanta esta es una variedad oscura, fue interesante que las variedades menos aceptadas fueron FM y SG (5% - Odio).

El sabor del agua de Jamaica es ácida, aun así la acidez cambia entre las variedades, y la más aceptada para ABG (variedad blanca) con 25% en Me encanta y la más odiada fue FRX (variedad clara) con 15% (**Figura 6c**); Salinas-Moreno *et al.* (2012) reportaron que el sabor de *H. sabdariffa* se ve afectada por el pH que va de 2.4 a 2.65. Finalmente se evaluó el aspecto general del agua (**Figura 6d**), las variedades FM y FN (variedades oscuras) tuvieron una aceptación del 25% en Me encanta, por el contrario la que menos gusto fue FRX con 10%.



Figura 6. Aceptación de las variedades de *H. sabdariffa*

7.1.4. Rendimiento de extractos metanólico y acuosos concentrados

El rendimiento para cada extracto metanólico expresado en porcentaje (**Tabla 7**) fue mayor para las variedades FRX y CTG, la segunda variedad tuvo una buena aceptación entre las personas a las cuales se les realizó la encuesta, mientras FRX no sobresalió en la encuesta de aceptación, además que presentan bajo contenido de compuestos fenólicos; por otro lado el rendimiento más bajo fue el de la variedad C.

En cuanto al rendimiento de los extractos acuosos el mayor fue para C y SG, esta última tuvo buena aceptación en la encuesta realizada, mientras que la variedad FN presenta menor rendimiento pero fue la que tuvo mayor aceptación en la encuesta, y todas presentan alto contenido de compuestos fenólicos. Aunque se obtuvo un mejor rendimiento, en todas las variedades de *H. sabdariffa* con metanol, el agua es un disolvente inocuo y es como normalmente se consume esta planta en nuestro país y aunque el rendimiento es bajo se logra obtener mayor cantidad de compuestos fenólicos. Otro factor importante para tomar en cuenta al momento de querer comercializar las variedades es la opinión de los consumidores.

Tabla 7. Rendimiento de los extractos metanólicos y acuosos.

Variedad	Rendimiento (%)	
	Metanólico	Acuoso
C	22.8	26.4
FR	35.2	14.2
FM	40.8	13.3
FRX	42.8	15.1
FB	26.0	21.1
FN	30.8	9.8
SG	39.2	22.1
ABG	32.4	18.3
CTG	42.8	11.9

7.2. Análisis fitoquímicos

7.2.1. Polifenoles extraíbles (PE)

7.2.1.1. Fenoles solubles

Los extractos de cáliz de *H. sabdariffa* contienen fenoles solubles y ya que presentan actividad anti radical, demostrando relación entre la cantidad y actividad antioxidante de las variedades; el contenido de compuestos fenólicos se ha vuelto relevante para el consumidor que quiere obtener algún efecto benéfico (Agüero, Segura, & Parra, 2014). Por tal motivo se cuantificaron los fenoles solubles totales de las variedades de *H. sabdariffa* y los disolventes de extracción, mediante el método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu, usando una curva de calibración de ácido gálico (**Anexos Figura 21**), expresando los resultados en miligramos de equivalentes de ácido gálico por gramo de muestra base seca (mg EAG/g bs), además en **Anexos Tabla 15** se indica el valor y las diferencias estadísticamente significativas entre variedades y entre disolventes (**Anexos Tabla 13**).

Para observar las diferencias entre cada una de las variedades se usó la prueba estadística de Tukey ($p \leq 0.05$) en la **Figura 7** se encuentra el promedio de los tres disolventes para cada variedad, observando que la variedad SG (roja) y el contenido de fenoles es significativamente mayor a las demás (Tukey, $p \leq 0.05$), con un valor de 20.657 ± 11.380 mg EAG/g bs, además se muestran las barras indicando la desviación estándar para los disolventes. El disolvente en el mayor efecto de extracción fue el agua, después metanol y por último el etanol; esto es parecido a lo reportado por Vargas-León *et al.* (2018) donde utiliza tres disolventes (agua, etanol y acetona), ellos también concluyeron que el mejor disolvente fue el agua, como se ha mencionado antes el cáliz de *H. sabdariffa* se usa para la elaboración de agua fresca o tés.

Anteriormente se han realizado estudios donde la variedad y el disolvente utilizado influye en la cantidad de compuestos fenólicos extraídos como en el trabajo de Duarte-Valenzuela *et al.* (2016) donde utilizaron 20 variedades de *H. sabdariffa* modificadas e hicieron una doble extracción, una de metanol acidificada seguida de acetona-agua, reportando que las variedades que presentaban mayor cantidad de estos compuestos fueron

UAN 26 y UAN 6-1 con 53.23 y 50.19 mg EAG/g cálices bs, respectivamente. Sindi, Marshall, & Morgan, (2014) informó valores que van de 0 a 22 mg EAG/g bs; las cantidades reportadas por estos autores son parecidos y en algunas ocasiones inferiores a los obtenidos en este trabajo. Otro estudio realizado por Agüero, Segura, & Parra, (2014) en cuatro variedades comerciales de Jamaica en Costa Rica demostró la presencia de compuestos fenólicos en todas, pero la cantidad de estos son diferentes entre ellas; Borrás-Linares *et al.* (2015) reporta al analizar 25 variedades de Jamaica de diferentes colores, que las variedades oscuras tuvieron mayor presencia de compuestos fenólicos, mientras una variedad blanca fue la que presentó el menor contenido, este patrón también se puede observar en los resultados obtenidos con las nueve variedades que se estudiaron. Kane *et al.* (2017) trabajaron con cuatro variedades producidas en diferentes áreas de Senegal, comparando además las condiciones climáticas y de crecimiento de las plantas, y comprobó que el mayor factor de influencia en la cantidad de compuestos se debe más a la variedad que a los otros dos factores. Por lo que todos los estudios concuerdan en que la variedad sí influye en la cantidad de compuestos fenólicos que generan las plantas, observando que las más oscuras presentan los valores más altos.

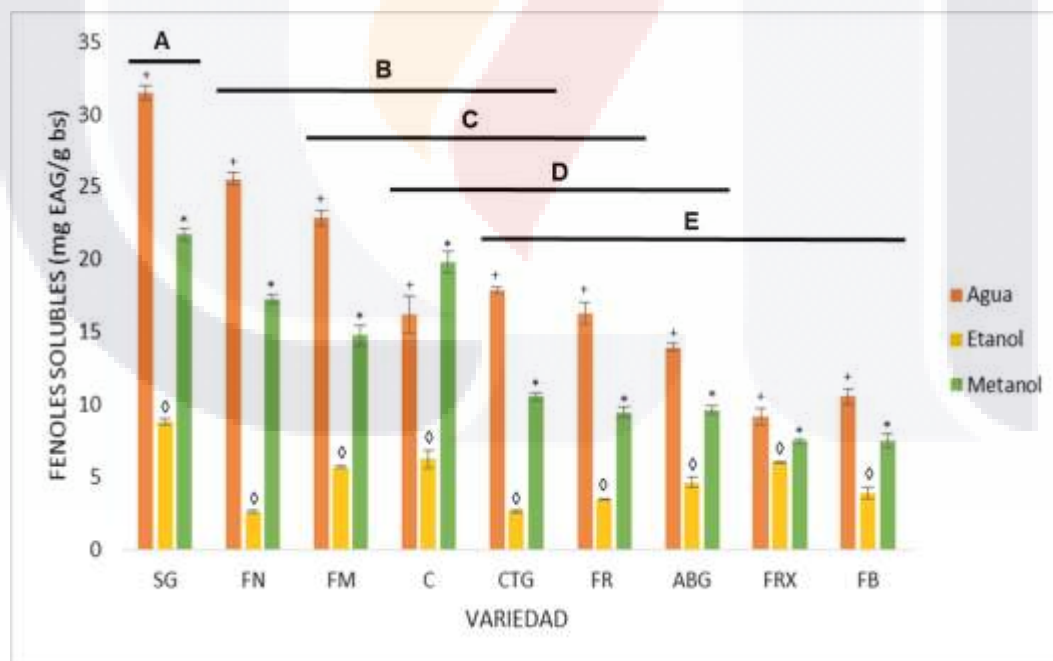


Figura 7. Contenido de fenoles en diversas variedades de flor de Jamaica.

mg EAG/g bs: miligramos de equivalentes de ácido gálico por gramo de muestra base seca.
 Las letras indican la diferencia estadísticamente significativas entre las variedades; N=9
 *, + y ◇ Indican las diferencias estadísticamente significativas entre los disolventes por cada variedad; n=3
 Media ± DE. (Tukey, $p \leq 0.05$)

7.2.1.2. Flavonoides

El contenido de flavonoides se midió espectrofotométricamente utilizando el método de Heimler et al, 2006 con algunas modificaciones, empleando una curva de calibración de catequina (**Anexos Figura 22**) reportando los resultados en miligramos equivalentes a catequina por gramo de muestra base seca (mg EC/g bs), se analizó la influencia del disolvente y la variedad.

Para comparar las variedades de *H. sabdariffa* se promedió los valores de los disolventes para cada una, de los cuales los valores significativamente mayores (Tukey, $p \leq 0.05$) fueron para las variedades FM, ABG, SG, FRX, FR, FN y FB teniendo 12.187 ± 0.743 , 11.688 ± 1.946 , 11.540 ± 2.326 , 10.299 ± 2.380 , 10.262 ± 0.303 , 10.253 ± 0.509 y 9.899 ± 2.361 mg EC/g bs, respectivamente. En la **Figura 8** se aprecia la cantidad de flavonoides que extrajo cada disolvente para cada variedad con sus desviaciones estándar, los datos se encuentran en **Anexos Tabla 14**. Por lo que se puede observar el contenido de flavonoides no se vio afectado por la tonalidad de los cálices, concordando con lo reportado en el trabajo de Vargas-León *et al.* (2018) donde el contenido de flavonoides estaba entre 19.73-784.23 mg CE / 100 g bs, siendo una variedad roja la más alta seguida de una variedad blanca, usando tres disolventes (agua, etanol y acetona) concluyendo que el mejor fue el agua, y las diferencias observadas con respecto al disolvente de extracción, se atribuyen principalmente a como distribuyen los flavonoides en la planta (como agliconas o glucósidos). En el presente trabajo el mejor disolvente dependió de la variedad con la que se estaba trabajando, ya que en algunas se obtuvo mejor resultado con uno o varios disolventes como el caso del extracto acuoso de SG, o FM en donde no existe diferencias significativas entre los disolventes aunque en apariencia el agua tuvo el mejor resultado. Esto podría deberse a la forma en que se encuentran los flavonoides como se comentó anteriormente (agliconas o glucósidos) donde la mayoría de los flavonoides glucosilados presentan mayor afinidad por los disolventes polares (Fernández-Arroyo *et al.*, 2011).

Borrás-Linares *et al.* (2015) estudiaron los extractos de etanol acidificado de 25 variedades de Jamaica donde los valores variaron entre 419 ± 2 a 2260 ± 70 mg EC/100 g bs, estos valores fueron superiores a los reportados en este trabajo pero aun el contenido de flavonoides se ve afectado por factores como el disolvente y la variedad. Chikhouné *et al.*

(2017) trabajaron con Jamaica y tres disolventes diferentes (agua, metanol y acetona), donde los contenidos más altos de flavonoides fueron para el agua.

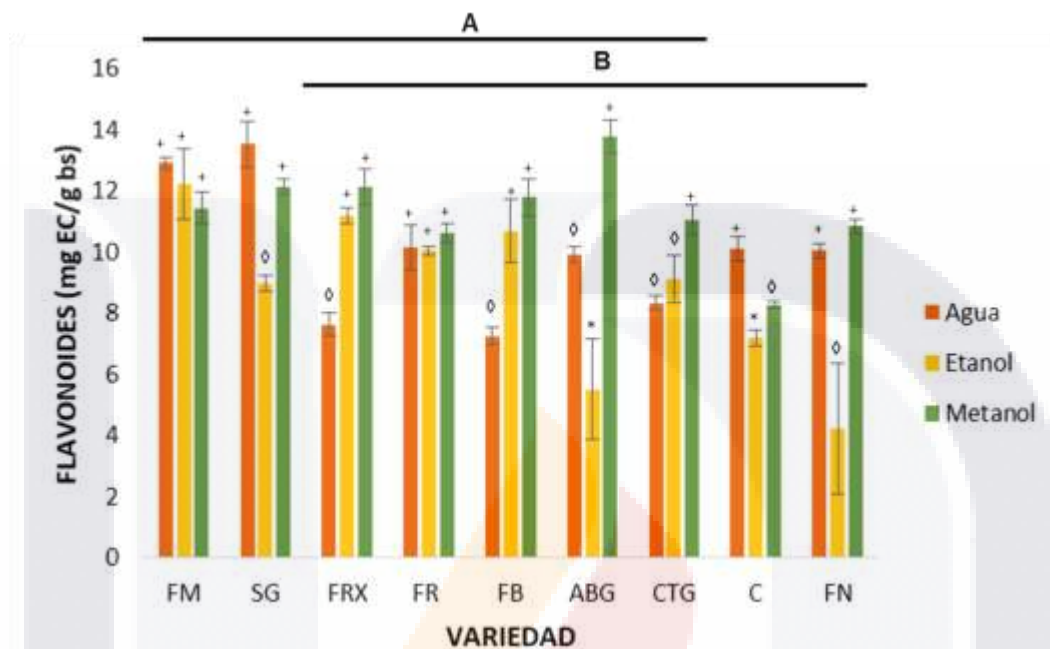


Figura 8. Contenido de flavonoides en diversas variedades de flor de Jamaica.
 mg EAG/g bs: miligramos de equivalentes de catequina por gramo de muestra base seca.
 Las letras indican la diferencia estadísticamente significativas entre las variedades; N=9
 *, + y ◊ Indican las diferencias estadísticamente significativas entre los disolventes por
 cada variedad; n=3
 Media ± DE. (Tukey, $p \leq 0.05$)

7.2.1.3. Separación por cromatografía en capa fina de flavonoides

Los flavonoides están presentes en las plantas y son un tipo de polifenoles responsables del color de las flores y frutas, cuando son purificados presentan una coloración amarilla (Peñarrieta *et al.* 2014).

Se realizó la separación de cromatografía en capa fina del extracto metanólico de *H. sabdariffa*, ya que fue eficiencia al extraer algunos de los contenidos más de flavonoides totales.

Todas las variedades presentaron un patrón cromatográfico parecido, las bandas presentaron fluorescencia amarillo-verde para el tipo de flavona y flavanol a una longitud de 365 nm luz UV, con el reactivo NP/PEG; así como fluorescencia azul que puede corresponder a los ácidos fenólicos carboxílicos (Wagner & Baldat, 1966).

Se utilizaron dos compuestos de referencia, la quercetina y la apigenina; se propone la presencia de quercetina en la variedad FM, FB y ABG (**Figura 9**). En la **Figura 9** se observan bandas de color amarillo que podrían ser flavonoides en las variedades FM, FB y ABG, según lo reportado por Manach *et al.* (2005) con un análisis de HPLC para identificar los flavonoides, lo cual concuerda con la separación por cromatografía en capa fina de la variedad FM, FB y ABG.

En la **Figura 9** como compuesto de referencia se tiene a la quercetina, que es un flavonol que se encuentra comúnmente en alimentos como glucósidos y en la apigenina que es uno de las flavonas que se pueden encontrar en las plantas comestibles (Peñarrieta *et al.*, 2014)

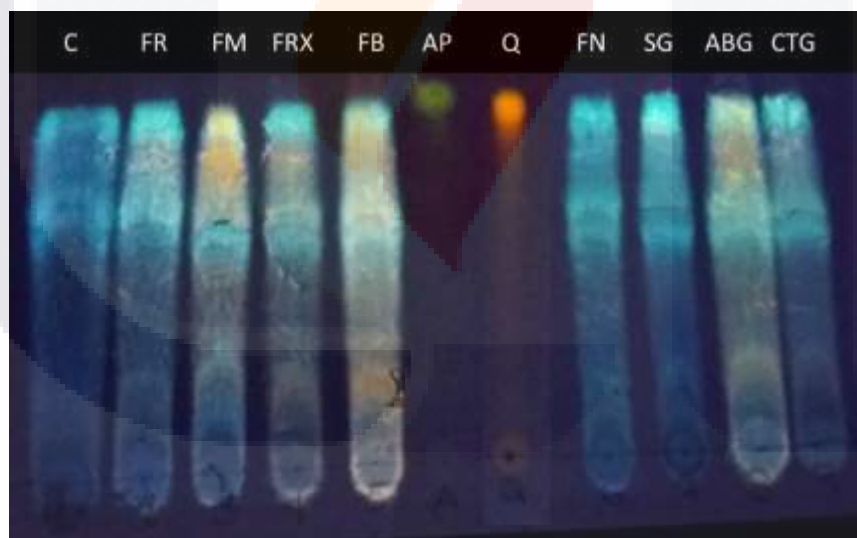


Figura 9. Separación de flavonoides por cromatografía de capa fina.

7.2.1.4. Antocianinas

Las antocianinas son capaces de prevenir el daño oxidativo a ADN, proteínas, lípidos y otras macromoléculas, causado por especies reactivas de oxígeno. Además tienen una acción sistémica, ya que se absorben y circulan en la sangre, actuando sobre diferentes tejidos diana en el cuerpo humano (De Pascual-Teresa, Sanchez-Ballesta, & García-Viguera, 2013), es por eso que la cuantificación de estos compuestos es esencial para la comercialización de productos a base de cálices de *H. sabdariffa* que le dará valor agregado a alimentos, o como el uso de estos compuestos con fines farmacéuticos, etc.

Las antocianinas totales en los cálices de *H. sabdariffa* se determinaron mediante el método propuesto por Abdel-Aal & Hucl, 1999. En la **Figura 10** se compara el contenido de antocianinas, observando que existen diferencias estadísticamente significativas, los valores más altos fueron para las variedades SG y FN con valores de 2222.03 ± 162.14 , 2114.68 ± 166.26 mg EC3G/100 g bs, respectivamente; como era de esperarse la cantidad de antocianinas está relacionada con el color de los cálices ($r=0.880$, $p \leq 0.05$; **Anexos Tabla 24**).

En **Anexos Tabla 15** se encuentran los valores para cada una de las variedades, además de la longitud de onda máxima a la que se midió la absorbancia para cada variedad, para saber la longitud de onda a la que se mediría los extractos se hicieron barridos (**Anexos Figura 23**) donde el pico de mayor absorbancia fue alrededor de 545 nm, a esta longitud de onda se lee la delfinidina, por lo que se podría suponer que este tipo de antocianina es la que se encuentra en mayor cantidad en los cálices rojos, ya que en el barrido las variedades blancas no presentaron un pico máximo de absorción, aun así se tomó una longitud general para medir antocianinas en general (535 nm). En estudios anteriores han descrito la presencia principalmente de cuatro tipos de antocianinas en *H. sabdariffa*, estas son cianidina-3-rutinósido, delfinidina-3-sambubiósido, cianidina-3-sambubiósido, cianidina-3-glucósido y delfinidina-3-glucósido (Ali *et al.*, 2005; Borrás-Linares *et al.*, 2015; Da-Costa-Rocha *et al.*, 2014; Sindi *et al.*, 2014). La delfinidina ha demostrado varias actividades biológicas, como las propiedades antioxidantes, antimutagénicas, antiinflamatorias y antiangiogénicas (Jabeur *et al.*, 2017), aunque es más sensible a las temperaturas altas de almacenamiento en comparación con la cianidina (Sinela *et al.*, 2017).

Chikhounne *et al.* (2017) midieron el contenido de antocianinas con un método diferencial usando soluciones amortiguadoras (pH 1 y 4.5) con extractos usando diferentes procesos de extracción y disolventes, con valores entre 29 ± 2 a 279 ± 10 mg C3G/100 g; mientras que Kane *et al.* (2017) analizaron cuatro variedades, todas estas tienen una elevada acidez, esto es importante ya que en estas condiciones es cuando las antocianinas son más estables, además observaron que las variedades que tenían mayor cantidad de compuestos fenólicos también tenían alto contenido de antocianinas, como en el presente trabajo donde la variedad SG presentó los niveles más altos, pero en flavonoides fue la segunda más alta. Aunque las antocianinas es un tipo de flavonoide, las variedades de *H. sabdariffa* tienen otros tipos de flavonoides.

En un estudio realizado por Ariza-Flores *et al.* (2014) comparando variedades oscuras (Cotzaltzin, Tecoaapa y Criolla) y claras (Alma Blanca y Rosaliz) donde la cantidad de antocianinas para Cotzaltzin, Tecoaapa, Criolla, Alma blanca y Rosaliz fueron de 3.0 ± 0.17 , 2.3 ± 0.13 , 20.6 ± 0.61 , 0.1 ± 0.01 y 0.7 mg EC3G/100 g, respectivamente. En el presente trabajo se obtuvieron valores más altos en todas las variedades, incluyendo las blancas; la tendencia que se observa es que en ambos estudios las variedades oscuras tienen mayor contenido de antocianinas comparadas con las blancas. Borrás-Linares *et al.* (2015) también encontró presencia de antocianinas en las variedades blancas, específicamente cianidina o delfinidina; no se esperaba la presencia de estos compuestos, ya que estos dan el color rojo a los cálices. Salinas-Moreno *et al.* (2012) y Sánchez-Feria *et al.* (2017) también concuerdan con lo anteriormente mencionado, ellos reportaron que las variedades oscuras tienen mayor cantidad de antocianinas.

Jackson & Christian, (2009) al determinar el contenido de antocianinas en dos variedades (clara y oscura) obtuvo valores entre 2 a 345 mg / 100g bs, por debajo de los valores obtenidos en las variedades estudiadas en este trabajo. Sindi, Marshall, & Morgan, (2014) informaron valores inferiores, entre 0 a 600mg C3G / 100g bs. Galvão *et al.* (2018) reportó que el contenido de antocianinas varió de 243 a 270 mg C3G/ 100 g, siendo inferiores a los obtenidos en este trabajo, por otro lado ellos mencionan que el contenido de antocianinas está relacionado con el cultivar, la etapa de maduración y los procedimientos de extracción.

Además de la variedad, existen otros factores que influyen en la cuantificación de las antocianinas como su estabilidad que es afectada por el pH, temperatura, humedad, luz, oxígeno, enzimas, la presencia de ácidos, azúcares, co-pigmentos, entre otros (Galicia-Flores *et al.* 2008).

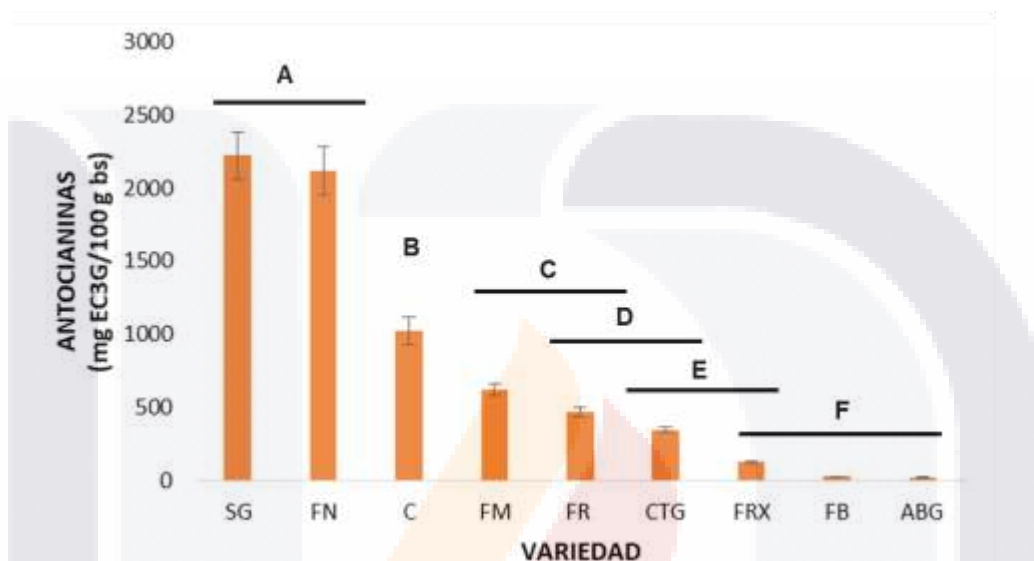


Figura 10. Contenido de antocianinas totales en diversas variedades de flor de Jamaica mg EC3G/100g bs: miligramos de equivalentes de cianidina 3-glucosido por 100 gramos de muestra base seca. Las letras indican las diferencias estadísticamente significativas entre las variedades Media \pm DE; n=3 (Tukey, $p \leq 0.05$)

7.2.1.5. Ácidos fenólicos por HPLC

Los ácidos fenólicos presentan generalmente actividad antioxidante en frutas, verduras y otras plantas; estos ácidos como por ejemplo el gálico, son abundantes en plantas superiores (Zheng y Wang, 2001). Se realizó un análisis de HPLC para identificar y cuantificar el contenido de ácidos fenólicos en las nueve variedades de *H. sabdariffa* (Tabla 8), mediante el cual se detectaron cinco, además se observó que existen diferencias significativas entre las variedades dependiendo del ácido fenólico del que se esté hablando, se usaron estándares de ácido gálico y ácido benzoico a una longitud de onda de 280 nm, con tiempos de retención (Tr) de 2 y 13 minutos, respectivamente (Figura 11a), en la Figura

11b se muestra el cromatograma de SG donde se observa que la concentración de ácido benzoico es superior a la del estándar y en la **Figura 11c** se muestra el cromatograma de ABG. También se usaron estándares de ácido clorogénico, ácido cumárico y ácido ferúlico ($T_r=7, 8.5$ y 9 min, respectivamente) a una longitud de onda de 320 nm (**Figura 12a**), en la **Figura 12b** se muestra el cromatograma de SG y **Figura 12c** se muestra el cromatograma de ABG. Por ejemplo el ácido benzoico es el que se presentó en mayor cantidad en casi todas las variedades, aun así hubo diferencias significativas, siendo SG (cáliz oscuro) la que presento mayor cantidad de este ácido (13555.92 ± 515.71 mg/100 g bs); por otro lado, este mismo ácido no fue detectado en FB (cáliz blanco); el ácido que tuvo los valores más bajos fue el cumárico.

Ariza-Flores *et al.* (2014) reportaron además de los cinco fenoles presentes en la **Tabla 8** otros ácidos fenólicos en cálices de *H. sabdariffa*, como el ácido cafeico, protocatecuico, salicílico, etcétera; aun cuando se detectaron mayor cantidad de compuestos fenólicos, las concentraciones en los ácidos que si concuerda son mayores en nuestro estudio en comparación con lo que ellos obtuvieron. Los valores del ácido gálico están entre 9.11 ± 0.011 a 16.58 ± 0.60 mg/100g; para ácido benzoico son de 22.22 ± 0.30 a 33.70 ± 0.66 mg/100g; el ácido clorogénico los valores fueron de 43.34 ± 0.83 y 78.81 ± 1.39 mg/100g (Alma blanca y Criolla, respectivamente), pero no se detectó en todas las variedades; el ácido cumárico no se detectó en una de las cinco variedades analizadas, en cuanto a las demás los valores estuvieron entre 13.95 ± 0.07 y 28.13 ± 1.18 mg/100 g; y finalmente el ácido ferúlico tampoco se detectó en una de las variedades, los resultados obtenidos van de 20.37 ± 0.009 a 86.43 ± 4.37 mg/100g.

Borrás-Linares *et al.* (2015) observaron la presencia de una amplia gama de polifenoles y otros compuestos polares, entre 24 y 42 compuestos dependiendo de la variedad; entre uno de los compuestos de interés está el ácido clorogénico que tiene actividad antimicrobiana comprobada. En otro trabajo se identificaron diecisiete compuestos en los extractos acuosos (Rodríguez-Medina *et al.*, 2009) El consumo de ácido clorogénico en la dieta puede ser de hasta 800 mg/día (Manach *et al.*, 2005), este ácido también se encuentra presente en las hojas de Jamaica (Zhen *et al.*, 2016).

Los ácidos cinámicos (cafeico, ferúlico, p-cumárico y sináptico) se encuentran raramente libres. El ácido cafeico se encuentra esterificado con el ácido quinico como ácido clorogénico, isoclorogénico, neoclorogénico y criptoclorogénico; otros compuestos fenólicos, entre los que destacan el ácido clorogénico, han sido asociados al sabor amargo de la cerveza, el vino y la sidra (Porrás-Loaiza & López-Malo, 2009), es por eso que tal vez no se detectó el ácido cafeico en ninguna de las 8 variedades, pero sí de clorogénico.



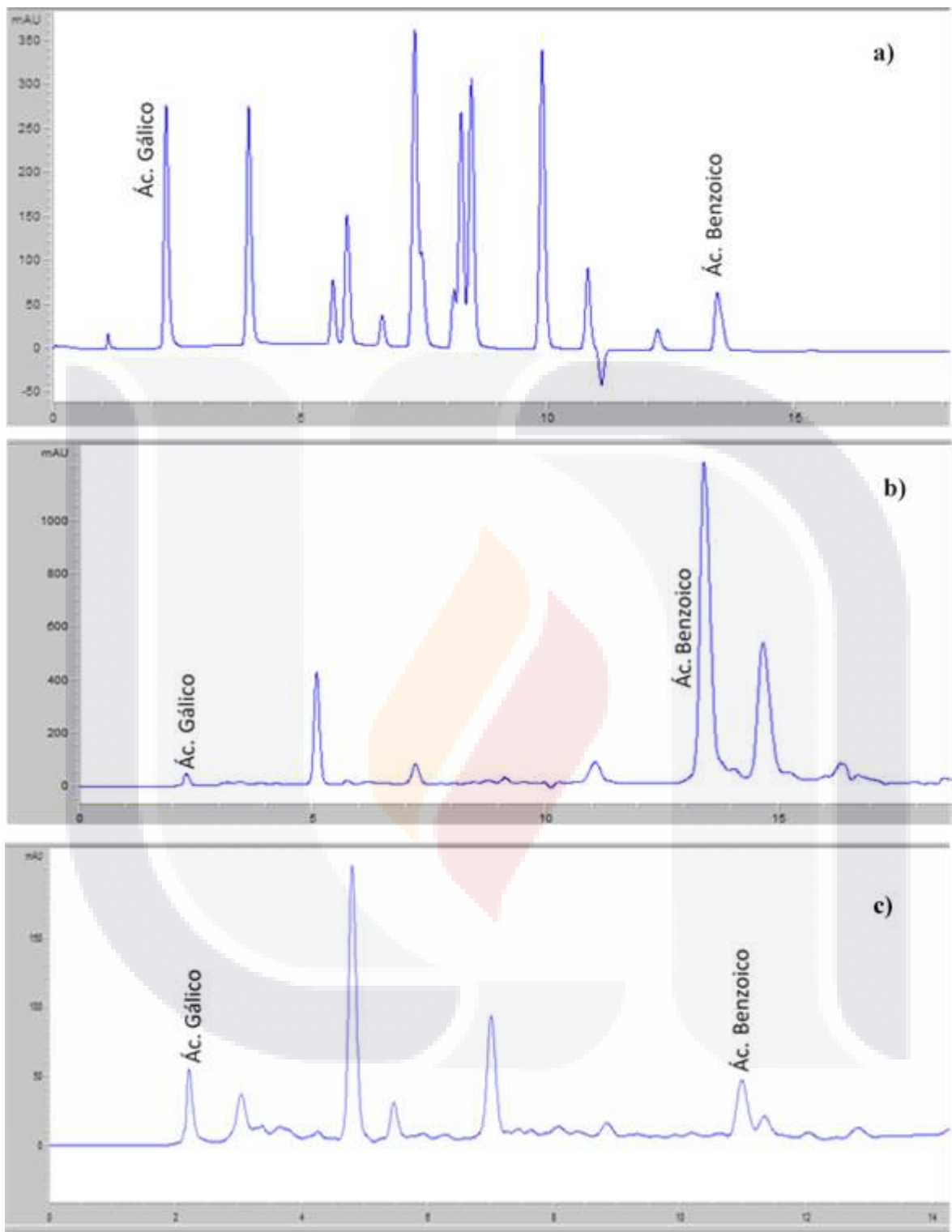


Figura 11. Cromatograma de ácido gálico y ácido benzoico (280 nm)

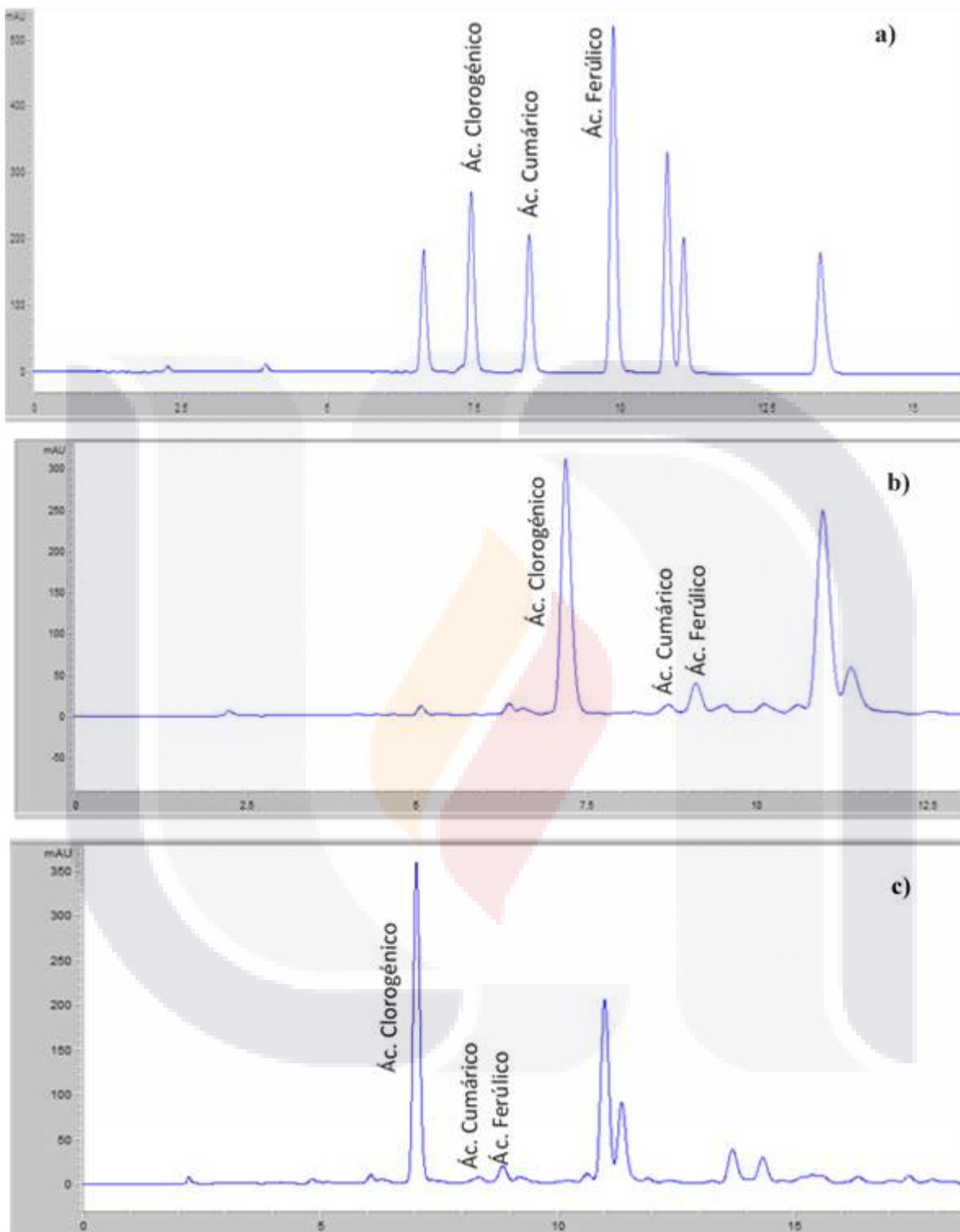


Figura 12 Cromatograma ácido clorogénico, ácido cumárico, ácido ferúlico (320 nm)

Tabla 8. Compuestos fenólicos en flor de Jamaica (mg/100 g bs)

Variedad	Ácido gálico	Ácido benzoico	Ácido clorogénico	Ácido cumárico	Ácido ferúlico
C	265.95 ± 11.35 b	4303.10 ± 10.01 c	1005.59 ± 30.45 ef	84.55 ± 4.99 b	1234.99 ± 32.94 de
FR	248.78 ± 6.91 b	2265.25 ± 11.55 d	2089.22 ± 74.25 a	80.58 ± 2.75 b	859.46 ± 48.69 e
FM	228.89 ± 9.74 bcd	2053.18 ± 36.21 de	1291.80 ± 20.47 bc	41.08 ± 0.10 d	1782.09 ± 51.72 ab
FRX	311.04 ± 7.53 a	263.33 ± 40.78 f	835.47 ± 31.13 f	38.53 ± 1.63 d	906.30 ± 47.08 e
FB	209.98 ± 7.53 cd	ND	1190.51 ± 7.36 cd	60.25 ± 3.61 c	1513.69 ± 89.88 bcd
FN	255.67 ± 3.62 b	9125.96 ± 329.79 b	1430.06 ± 53.05 b	229.17 ± 0.48 a	230.37 ± 11.07 f
SG	201.39 ± 10.98 d	13555.92 ± 515.71 a	1185.44 ± 8.75 cd	64.93 ± 2.03 c	2206.98 ± 83.13 a
ABG	213.23 ± 5.30 d	336.66 ± 14.21 f	1341.47 ± 0.69 bc	33.41 ± 0.13 d	1632.66 ± 62.44 bc
CTG	247.97 ± 5.20 bc	1127.81 ± 22.22 ef	1061.83 ± 6.14 de	32.43 ± 0.30 d	1375.47 ± 15.70 cd

Las letras indican diferencias significativas entre las variedades para cada uno de los ácidos fenólicos (Tukey, $p \leq 0.05$).

ND = No detectado

Media ± DE; n=2

7.2.2. Polifenoles no extraíbles (PNE)

7.2.2.1. Taninos condensados

Los taninos condensados o proantocianidinas (TC) provienen de la esterificación de flavonoides (Vázquez-Flores *et al.* 2012), se cuantificaron espectrofotométricamente utilizando el método de Porter *et al.* (1985) con algunas modificaciones, usando una curva de calibración de proantocianidinas. Se realizó un análisis estadístico de los resultados para observar las diferencias estadísticamente significativas entre las variedades y el tipo de residuo (acuoso, metanólico y etanólico). Se encontraron diferencias significativas entre los residuos de las variedades y el tipo de disolvente que se usó para obtener el residuo, los valores más bajos fueron los de residuo etanólico (**Figura 13** y **Anexo Tabla 19**, Tukey, $p \leq 0.05$); aunque para algunos de las variedades no existen diferencias significativas entre dos de los residuos en la cantidad de TC. Sin embargo, todas las variedades excepto la SG, el residuo metanólico es el que presenta mayor cantidad de TC, seguido por el agua y en último lugar el etano. El residuo acuoso de SG fue la que presentó mayor cantidad de TC (370.02 ± 18.88 mg EPA/g bs), el valor más bajo fue para el residuo etanólico de la variedad blanca FB (14.81 ± 1.22 mg EPA/g bs). Mercado-Mercado *et al.* (2015) reportaron que la cantidad de TC están fuertemente influenciadas por el tamaño de las moléculas de TC, es decir, el número de catequinas, y esto podría haber afectado la extracción de TC ya que se esperaba que en los residuos de extracción etanólica se obtuvieron mayor cantidad de estos compuestos ya que la cantidad de compuestos fenólicos fue menor que con los otros disolventes, y que los compuestos fenólicos se podría suponer que se quedaron atrapados en la pared celular.

Los TC no están presentes en vegetales y cereales, aun así la cantidad de estos compuestos en alimentos como frutas (514 mg/100g), legumbres (312 mg/100g) y frutos secos (199 mg/100 g), es apreciable (Arranz *et al.*, 2010). Duarte-Valenzuela *et al.* (2016) reportaron que para la variedad modificada el valor más alto de TC fue para UAN 16-1 con 8.31 mg TC/g, siendo menor incluso que el valor más bajo obtenido en este trabajo. En el estudio realizado por Sáyago-Ayerdi & Goñi, (2010) reporta un valor de 3.38 ± 0.06 g/100g bs (33.8 ± 0.06 mg/g bs) en los cálices de Jamaica, este valor es parecido a los valores obtenidos con algunas variedades y residuos, sin embargo, los resultados que obtuvieron son

más bajos que los nuestros; en otro estudio realizado por Sáyago-Ayerdi *et al.* (2014) reportó la existencia de diferencias estadísticamente significativas entre los valores de TC en las cuatro variedades e incluso los valores de los residuos son mayores a la de los cálices en polvo que en cálices completos. Los valores de PNE como TC han sido mayores que los de la fracción de PE esto podría deberse a que al romper la pared celular por la decocción y descomposición de compuestos fenólicos insolubles puedan facilitar la extracción y polimerización de antocianinas (Tsai & Huang, 2004), y esto a su vez podría haber producido una nueva formación de TC en los residuos.

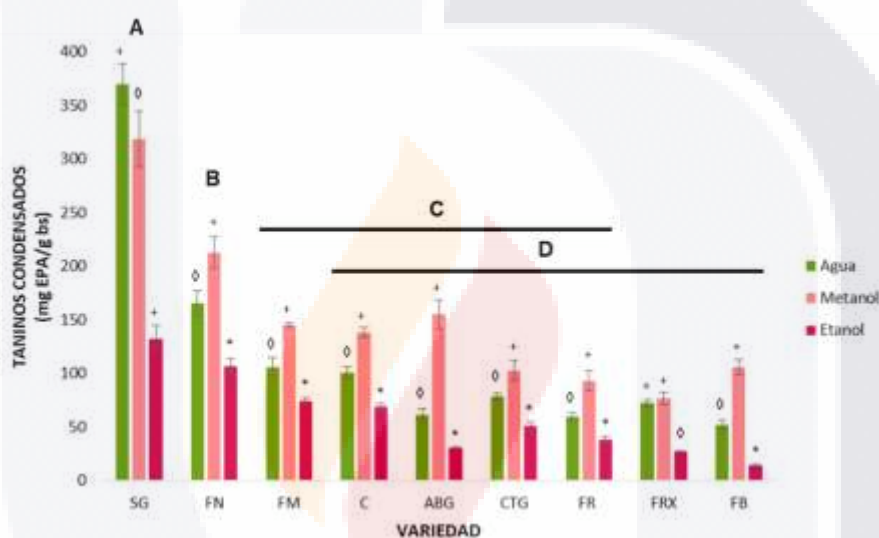


Figura 13. Contenido de taninos condensados en diversas variedades de flor de Jamaica. mg EPA/g bs: miligramos de equivalentes de proantocianidinas por gramo de muestra base seca. Las letras indican la diferencia estadísticamente significativas entre las variedades; N=9 * , + y ◊ Indican las diferencias estadísticamente significativas entre los disolventes por cada variedad; n=3 Media ± DE. (Tukey, $p \leq 0.05$)

7.2.2.2. Taninos hidrolizables (TH)

Los taninos hidrolizables (TH) se cuantificaron mediante el método de Folin-Ciocalteu, usando una curva de ácido gálico, estos taninos fueron el producto de un nuevo extracto obtenido a partir de la hidrólisis de los residuos secos de cáliz de *H. sabdariffa* al utilizar agua, etanol o metanol como disolventes. Se puede observar en la **Figura 14** que los valores más altos de TH se obtuvieron con la variedad SG en extracto acuoso con 30.46 ± 2.91 mg EAG/g bs, y el disolvente con menor eficiencia de extracción de TH fue el etanólico,

siendo el extracto etanólico CTG que presentó menor cantidad de TH con 7.27 ± 0.57 mg EAG/g bs (**Anexos Tabla 21**); comprobando también que existen diferencias estadísticamente significativas entre las variedades y el disolvente utilizado para la extracción (Tukey, $p \leq 0.05$). La cantidad de PNE está siguiendo el mismo patrón que los PE donde las variedades rojas presentan mayor contenido de los compuestos.

Los TH y fenoles solubles (los últimos pertenecen a PE) están presentes en cantidades parecidas pero como TH y TC pertenecen a la fracción de PNE, por lo que esta fracción es mayor que la de PE; lo anterior concuerda con Arranz *et al.* (2010) donde reportan que los PNE son la fracción más importante de alimentos derivados de plantas, por otro lado, la ingesta de PNE (942 mg/día/persona) es cuatro veces mayor que la ingesta de PE (258 mg/día/persona). Los TH están conformados por galotaninos y elagitaninos en cálices completos de *H. sabdariffa*, y se ha identificado ácido cafeico como parte de los TH liberados durante la hidrólisis (Mercado-Mercado *et al.*, 2015). Al consumir la fracción de PNE, la acción de determinados lactobacilos con actividad de tanasa hidrolizan los grupos hexahidroxidifeniloilo en elagitaninos y grupos galilo en galotaninos para ser procesados por el organismo (Rodríguez *et al.* 2008).

Duarte-Valenzuela *et al.* (2016) reportaron los valores más altos para la variedad UAN 16-1 con 14.16 mg EAG/g bs, seguida de la variedad 4Q4 con 13.56 mg EAG/g bs; Sáyago-Ayerdi *et al.* (2014) reportando valores entre 8.5 ± 0.6 y 13.1 ± 0.9 g EAG/kg bs (Conversión 8.5 ± 0.6 y 13.1 ± 0.9 mg EAG/g bs), aunque los valores de ambos trabajos son parecidos no son los más altos comparados con los obtenidos en nuestro trabajo. Mercado-Mercado *et al.* (2015) reportaron un valor de 1.40 ± 0.08 mg EAG/g bs, siendo éste el valor más bajo encontrado en la literatura, siendo incluso más bajo que el valor más chico reportado.

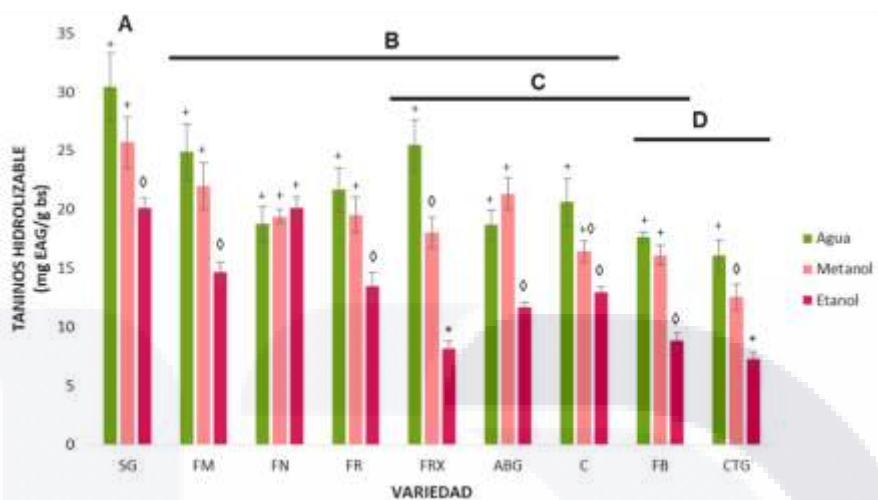


Figura 14. Contenido de TH en diversas variedades de residuo de cáliz de Jamaica. mg EAG/g bs: miligramos de equivalentes de ácido gálico por gramo de muestra base seca. Las letras indican la diferencia estadísticamente significativas entre las variedades; N=9
 *, + y ∅ Indican las diferencias estadísticamente significativas entre los disolventes por cada variedad; n=3
 Media ± DE. (Tukey, $p \leq 0.05$)

7.3. Actividad funcional

7.3.1. Actividad antioxidante

Se midió la actividad antioxidante de las nueve variedades de *H. sabdariffa* comparándolas entre ellas, además de evaluar el efecto del disolvente para extraer compuestos que generen esta actividad. Se determinaron por métodos espectrofotométricos: TEAC-DPPH propuesto por Brand-Williams *et al.* (1995) con algunas modificaciones y FRAP propuesto por Thaipong *et al.* (2006) con modificaciones (para PE y PNE); además se usó el método de fluorescencia de ORAC, solo para PE, basado en capacidad de absorción de radicales de oxígeno propuesto por Ou *et al.* (2001). Para los tres métodos se realizaron curvas de calibración de Trolox (**Anexos Figura 24, Figura 25 y Figura 26**, respectivamente), el uso de varios métodos tuvo como finalidad de evaluar mejor las propiedades y mecanismo de acción de los diferentes compuestos en los extractos.

7.3.1.1. Polifenoles extraíbles (PE)

DPPH

En la **Figura 15** se puede observar el efecto de los tres disolventes utilizados, todos fueron significativamente diferentes pero el que presentó la mayor actividad antioxidante fue el agua en la mayoría las variedades (Tukey, $p \leq 0.05$). Sindi *et al.* (2014) al comparar varios disolventes de extracción detectando que existe diferencias estadísticamente significativas entre la actividad antioxidante. Por otro lado, Jung *et al.* (2013) al comparar los extractos acuosos y etanólicos de *H. sabdariffa*, observaron que la actividad antioxidante de los extractos acuosos fueron significativamente mayores a los etanólicos, la actividad del extracto acuoso fue menor al de antioxidante sintético BHA (butilhidroxianisol), pero fue similar al ácido ascórbico (antioxidante natural); en otro estudio realizado por Galvão *et al.* (2018) informaron que los extractos acuosos de *H. sabdariffa* son ricos en compuestos fenólicos, de los cuales los flavonoides, los ácidos fenólicos y los ácidos orgánicos que están asociados con la actividad antioxidante. Los estudios mencionados anteriormente concuerdan con que el extracto acuoso tiene una potente actividad antioxidante, pudiéndose comparar con antioxidantes naturales utilizados actualmente, por lo que se podrían utilizar los extractos acuosos de cáliz de *H. sabdariffa* como conservador natural en alimentos.

Al comparar las variedades de *H. sabdariffa* (**Figura 15**), las que presentan mayor actividad antioxidantes fueron SG y FN (variedades rojas), el promedio de los tres disolventes para estas variedades fue de 117.331 ± 53.848 y 107.677 ± 47.224 $\mu\text{mol ET/g bs}$, respectivamente (Tukey, $p \leq 0.05$); mientras que el valor más bajos para FRX con 57.113 ± 19.11 $\mu\text{mol ET/g bs}$. En el estudio realizado por Borrás-Linares *et al.* (2015) reportaron valores que van desde de 27.4 ± 0.3 a 112 ± 8 $\mu\text{mol ET / g bs}$, donde las variedades Hs 3 (variedad Diamante) con 112.0 ± 8 , Hs 8 (variedad Quesería) con 105.8 ± 0.3 y Hs 1 (variedad Americana) con 104.0 ± 9 , pero no se detectaron diferencias significativas entre ellos; la menor capacidad antioxidante correspondió a la extracción de Hs 23 (27.4 ± 0.3), una variedad blanca de Jalisco, seguida por Hs 21 de Colima 35.1 ± 0.1 (variedad Americana). Los resultados anteriores son parecidos a los que obtuvimos con la excepción de ABG (variedad blanca) se encuentra niveles intermedios de capacidad antioxidante, aun así el valor más bajo

que ellos obtuvieron fue para una variedad blanca y en nuestro caso también (extracto etanólico de FB).

En el estudio realizado por Jackson & Christian, (2009) al comparar tres variedades de Jamaica con tonalidades de cáliz diferentes observaron que la variedad blanca presentaba actividad antioxidante inesperada ya que no presentaba antocianinas, en otros estudios se le atribuye la capacidad antioxidante de la Jamaica principalmente a dos tipos de antocianinas, delfinidina-3- sambubiósido y cianidina-3-sambubiósido, (Christian, Nair, & Jackson, 2006); pero como ya se observó y se ha reportado anteriormente las antocianinas no son los únicos compuestos fenólicos que contribuyen a la actividad antirradical. En nuestro estudio la variedad ABG presentó mayor actividad que algunas variedades rojas claro y la otra variedad blanca (FB) aunque cuando presentó la menor cantidad de antocianinas, además fue el tercer lugar más baja en contenido de fenoles solubles y la cuarta más baja en flavonoides. Aunque existe una fuerte correlación entre antocianinas y actividad antioxidante, es decir que entre mayor sea la cantidad de antocianinas mayor será la capacidad antioxidante (**Anexos Tabla 24**), aun así pueden existir otros compuestos que influyen en la actividad antioxidante. Medina-Carrillo *et al.* (2013) informan que la actividad antioxidante que presentan los cálices deshidratados verdes y rosas estará dada en parte por compuestos de naturaleza fenólica; pero aun así las antocianinas son unos de los compuestos principales que contribuyen con la actividad antioxidante como reportaron Tahir *et al.* (2016) al comparar el extracto de tres cálices con tonalidades diferentes y concluyeron que la variedad Sudanesa (cáliz rojo) tiene sustancias que aportan la actividad antioxidante más alta.

Tanto Agüero *et al.* (2014) y Barhe & Tchouya (2016) concuerdan en que la considerable actividad para eliminar radicales libres de los extractos es atribuida a la diversidad cuantitativa y/o cualitativa de los compuestos encontrados en los extractos. Por lo que probablemente las variedades rojas obtienen su actividad antioxidante principalmente de las antocianinas, mientras que las blancas la obtienen de otro(s) compuesto(s) fenólicos.

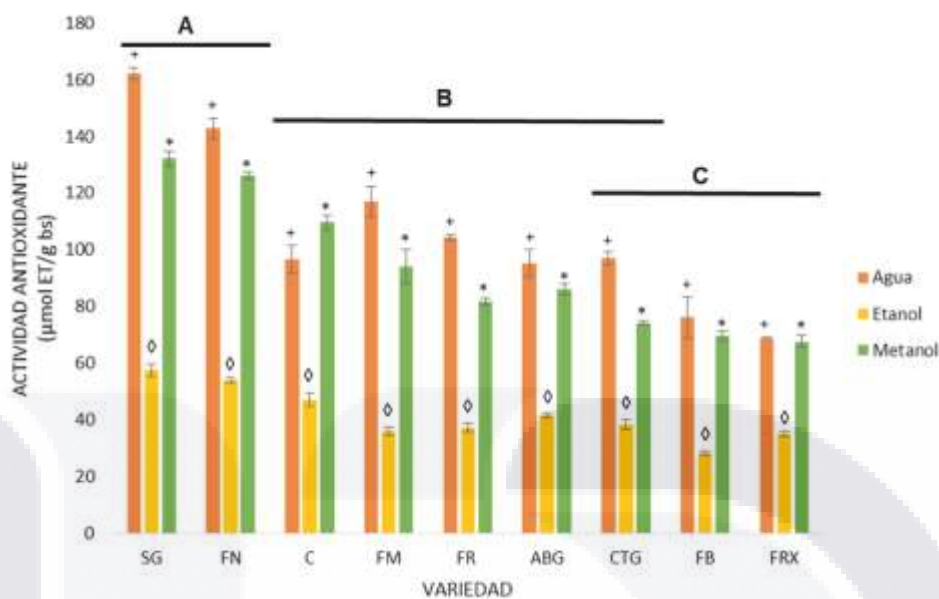


Figura 15. Actividad antioxidante en diversas variedades de flor de Jamaica (TEAC-DPPH).

µmol ET/g: micromol equivalente a Trolox por gramo de muestra en base seca.
 Las letras indican la diferencia estadísticamente significativas entre las variedades; N=9
 *, + y ◇ Indican las diferencias estadísticamente significativas entre los disolventes por cada variedad; n=3
 Media ± DE. (Tukey, $p \leq 0.05$)

FRAP

Este método se basa en la capacidad de reducir Fe^{3+} a su forma Fe^{2+} . En la **Figura 16** se observa el efecto del disolvente sobre la actividad antioxidante, aunque los valores de los extractos acuosos son los más altos en casi todas las variedades, no existen diferencias estadísticamente significativas entre agua y metanol (**Tabla 17**, Tukey, $p \leq 0.05$). Sindi *et al.* (2014) reportaron datos de 0.03 ± 0.37 a 39.14 ± 1.69 mg ET/ g (Conversión 0.11 ± 1.48 a 156.38 ± 6.75 µmol ET/g bs) observando diferencias entre los disolventes usados para la extracción, esto reafirma nuestros resultados que dicen que el disolvente si influyen en la extracción de compuestos con actividad antioxidante.

La comparación entre las variedades se realizó obteniendo el promedio de los tres disolventes, existiendo diferencias estadísticamente significativas entre las variedades. Los valores están entre 111.66 ± 33.74 y 273.91 ± 131.38 µmol ET/g bs (Tukey, $p \leq 0.05$), el valor más pequeño se obtuvo con FB (variedad blanca), el más alto fue con la variedad SG

(variedad roja). Se comprobó mediante el análisis de correlación de Pearson que el contenido de fenoles, flavonoides y antocianinas tienen una correlación positiva con respecto a la actividad antioxidante. El orden de las variedades con respecto a la actividad antioxidante es similar al orden de las variedades usando el método de DPPH. En las variedades rojas el principal compuesto que le da esta actividad a la *H. sabdariffa* son las antocianinas, Camelo-Méndez *et al.* (2018) mencionaron esta misma relación entre antocianinas y actividad antioxidante, por otro lado las variedades blancas pueden tener otro compuesto o sinergismo de varios, que le da esta capacidad.

Duarte-Valenzuela *et al.* (2016) quienes trabajaron con 25 variedades de Jamaica modificadas, reportan que las variedades UAN 26 y Puebla Precoz presentan los valores más altos (422.15 y 378.95 mM ET/100 g bs, respectivamente; conversión 4221.5 y 3789.5 μ M ET/g bs), además la cantidad de compuestos bioactivos influyó sobre la actividad antioxidante, los valores obtenidos son superiores a nuestros resultados, esto era de esperarse ya que ellos modificaron las variedades con el propósito de incrementar el contenido de compuestos de interés. Por otro lado, Sáyago-Ayerdi *et al.* (2014) reportaron la actividad de 4 variedades con valores que se encuentran entre 139.6 y 260.2 μ mol ET/100 g bs (conversión 1.396 y 2.602 μ mol ET/100 g bs), la variedad rosa tuvo menor actividad que los cálices más oscuros, ocurriendo lo mismo con nuestros resultados pero nuestros valores fueron mayores. Sáyago-Ayerdi *et al.* (2007) obtuvo como resultado 66.3 ± 11.2 μ mol ET/g, siendo un valor muy pequeño en comparación a los que obtuvimos, sin embargo es similar a unos pocos extractos etanólicos.

Fernández-Arroyo *et al.* (2011) mencionan que el extracto acuoso tiene mayor actividad, reportando que el ácido clorogénico y sus derivados actúan como reductores y son los principales compuestos en el extracto acuoso (Medina-Carrillo *et al.*, 2013; Reyes-Luengas *et al.*, 2015; Salinas-Moreno *et al.*, 2012), lo que da sentido a que la variedad ABG tenga actividad anti-radical y que es una de las variedades que presenta más altos niveles de este ácido como se observó en apartados anteriores.

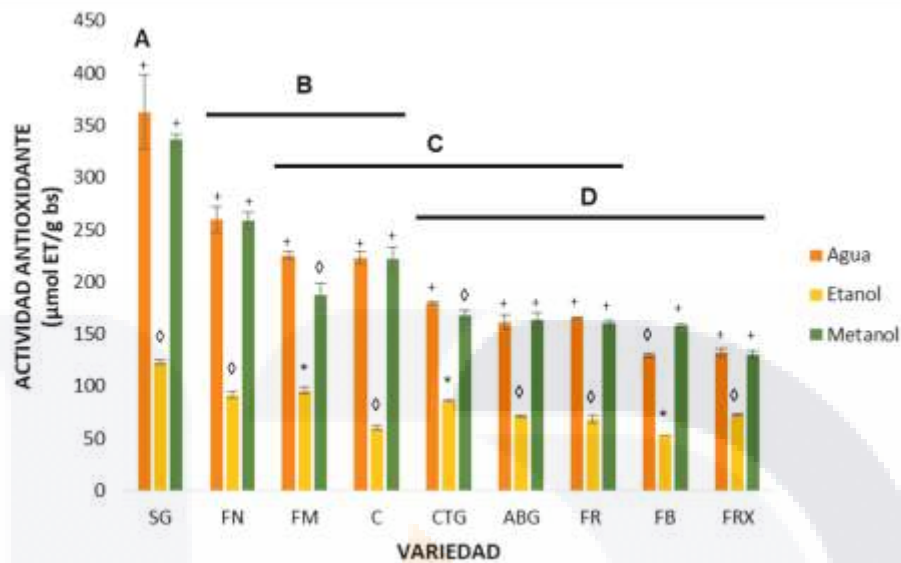


Figura 16. Actividad antioxidante en diversas variedades de flor de Jamaica (FRAP).

µmol ET/g: micromol equivalente a Trolox por gramo de muestra en base seca.
 Las letras indican la diferencia estadísticamente significativas entre las variedades; N=9
 *, + y ◇ Indican las diferencias estadísticamente significativas entre los disolventes por cada variedad; n=3
 Media ± DE. (Tukey, $p \leq 0.05$)

ORAC

El extracto de *H. sabdariffa* posee una importante capacidad antioxidante para reducir los radicales peroxilo por transferencia de átomos de hidrógeno (Fernández-Arroyo *et al.*, 2011). En la **Figura 17** se muestran las variedades de *H. sabdariffa*, demostrando que existen diferencias significativas entre cada variedad, los valores se encuentran entre 515.72 ± 0.055 y 1303.31 ± 83.02 µmol ET/g bs, el valor más alto fue para SG y las menores fueron cuatro variedades entre blancas o roja claro (FB, FM, FRX y FR) que no fueron estadísticamente diferentes (**Tabla 18**, Tukey, $p \leq 0.05$); sin embargo, ABG (cáliz blanco) tuvo una alta actividad antioxidante (869.10 ± 11.52 µmol ET/g bs) y dado que los principales compuestos antioxidantes son derivados de ácido clorogénico y antocianinas (Kähkönen &

Heinonen, 2003). ABG no presenta alta cantidad de antocianinas pero si una de las cantidades más altas en ácido clorogénico, esto podría explicar su actividad antioxidante.

Por otro lado, un estudio realizado por Fernández-Arroyo *et al.* (2011) donde el resultado obtenido al estudiar el extracto acuoso de Jamaica fue de 2307 ± 10 $\mu\text{mol ET/g}$ bs, siendo mayor a nuestros datos. Otros alimentos, a los que se le determinó la capacidad antioxidante fue el extracto metanol:agua de chaya fue de 1829 ± 149 $\mu\text{mol ET/g}$ (Godínez-Santillána, 2017); en jugos de mora azul y arándano con 0.85 ± 0.01 y 0.64 ± 0.04 $\mu\text{mol ET/mg}$, respectivamente (Conversión 850 ± 10 y 640 ± 40 $\mu\text{mol ET/g}$, respectivamente) (Cásedas, González-Burgos, Smith, López, & Gómez-Serranillos, 2018); para el aguacate, uva, mango, melón y granada con valores de 2.140 ± 0.017 , 3.577 ± 0.083 , 0.690 ± 0.033 , 0.475 ± 0.013 , 1.344 ± 0.008 mmol ET/100 g , respectivamente (conversión 21.40 ± 0.17 , 35.77 ± 0.83 , 6.9 ± 0.33 , 4.75 ± 0.13 , 13.44 ± 0.08 $\mu\text{mol ET/g}$, respectivamente) (Morales-Soto *et al.*, 2014). Se puede observar que cada alimento tiene diferente actividad pero aun así los que nosotros obtuvimos son de los más altos, ya que el único que fue superior es el de chaya, en comparación con los jugos los valores son semejantes, pero hubo valores inferiores como los reportados en las frutas.

Sáyago-Ayerdi *et al.* (2007) reportaron valores para el extracto acuoso-metanólico de 621.8 ± 1.7 $\mu\text{mol ET/g}$, este valor es similar con algunas de las variedades rojo claro, aun así es menor a los valores de 4 variedades que tienen la mayor actividad (SG, FN, ABG y CTG), pero como se explicó antes estos resultados dependiendo de varios factores como el tipo de disolvente de extracción entre otros factores. Borrás-Linares *et al.* (2015) reportaron que los coeficientes de correlación de Pearson no mostraron relación directa entre la capacidad antioxidante y el contenido antocianina o fenólico, por si en flavonoides ($r = 0.516$, significación $p < 0.05$). Aun así en nuestros resultados se observa que si existe una correlación principalmente por la fenoles solubles ($r=0.770$, $p \leq 0.05$) y las antocianinas ($r=0.824$, $p \leq 0.05$) (**Anexos Tabla 24**).

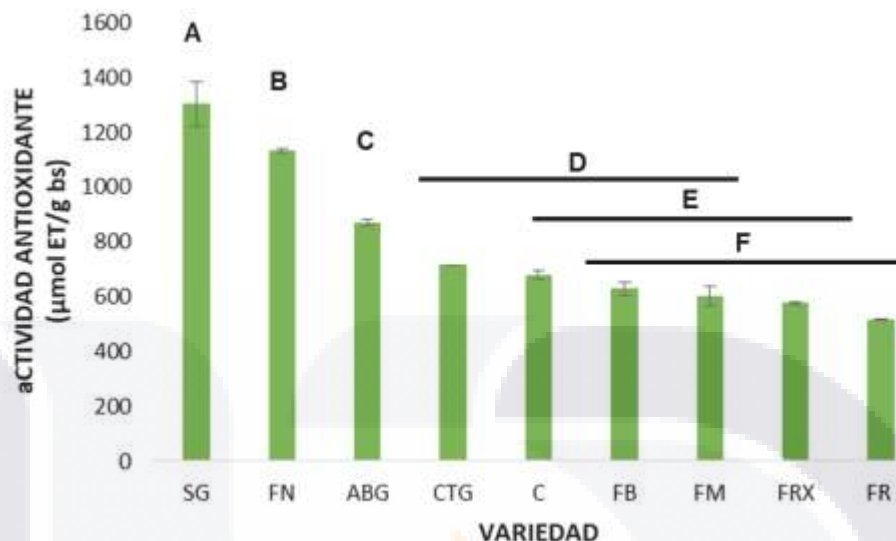


Figura 17. Actividad antioxidante en diversas variedades de flor de Jamaica (ORAC). µmol ET/g: micromol equivalente a Trolox por gramo de muestra en base seca. Las letras indican la diferencia estadísticamente significativa entre las variedades Media ± DE; n=2 (Tukey, $p \leq 0.05$)

En los tres métodos la capacidad antioxidante se ve afectada por factores genéticos y el contenido de compuestos fenólicos; la relación **entre** actividad antioxidante y compuestos fenólicos es directamente proporcional al contenido de fenoles solubles, flavonoides y antocianinas (**Anexos Tabla 24**).

7.3.1.2. Polifenoles no extraíbles

Taninos condensados (FRAP)

La comparación entre las variedades (**Figura 18** y **Anexos Tabla 20**) se realizó obteniendo el promedio de los tres disolventes, el rango obtenido fue de 130.52 ± 28.78 a 255.79 ± 66.47 $\mu\text{mol ET/g bs}$, la variedad que presenta una actividad antioxidante significativamente mayor fue SG y el valor significativamente más bajo fue FRX (Tukey, $p \leq 0.05$), además se puede observar que los extractos etanólicos son los que presentan mayor actividad en casi todas las variedades, mientras que los acuosos y metanólicos estadísticamente parecidos. Al relacionar la actividad antioxidante con los PE, el etanol fue el disolvente donde se encontró la menor cantidad de compuestos, ya que los compuestos se quedaron atrapados en la matriz celular; pero algo interesante fue que el contenido de TC (fracción PNE) tampoco fue alto en el residuo etanólicos, por lo que se podría suponer que se liberaran algunos otro compuestos o hubo un sinergismo entre compuestos que ayudó a incrementar esta actividad, para esto se tendría que realizar otro estudio en un futuro. En el análisis de correlación de TC con actividad antioxidante y también con el contenido de ácido benzoico si se ven positivamente relacionados (**Anexos Tabla 24**).

Sáyago-Ayerdi *et al.* (2014) trabajando con los residuos de 4 variedades de Jamaica reportan actividad de 50.7 a 145.6 $\mu\text{mol ET/g bs}$, estando dentro del rango que nosotros obtuvimos. Al comparar la actividad antioxidante de PE y PNE usando el método de FRAP se observa que en cuanto a las variedades un orden similar, pero son diferentes en la eficiencia del disolvente, esto porque el etanol fue el que presentó valores más altos, mientras que los valore de agua y metanol fueron inferiores en PNE, esto era de esperarse como ya se explicó anteriormente. Mercado-Mercado *et al.* (2015) también observaron una disminución en la actividad antioxidante en la fracción de TC de 46.45 a 17.85 mmol ET/g bs (46450 a 17850 $\mu\text{mol ET/g bs}$) debido a la disminución de los ácidos fenólicos polares, como los ácidos gálico y clorogénico en los residuos de decocción, aun así siendo son más altos que nuestros resultados, aunque si siguen el mismo patrón.

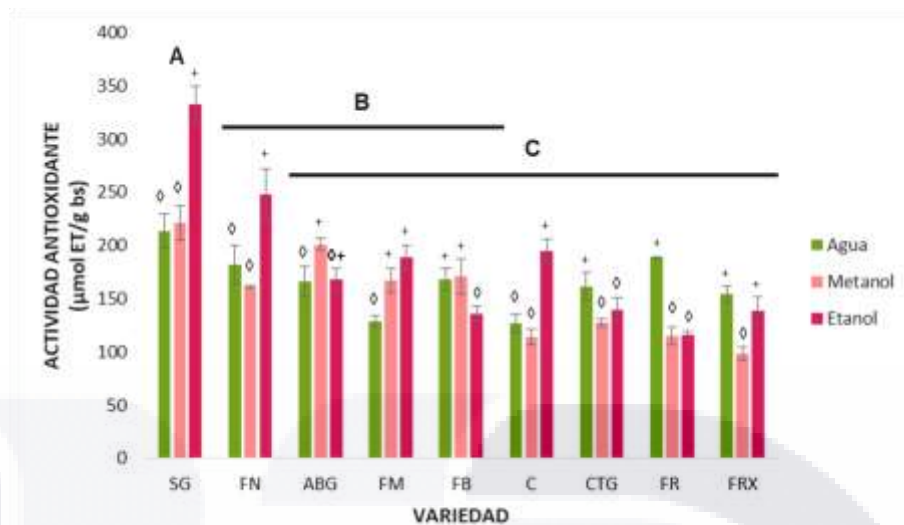


Figura 18. Actividad antioxidante de taninos condensados de diversas variedades de flor de Jamaica (FRAP).

μmol ET/g: micromol equivalente a Trolox por gramo de muestra en base seca.

Las letras indican la diferencia estadísticamente significativas entre las variedades; N=9

*, + y ◇ Indican las diferencias estadísticamente significativas entre los disolventes por cada variedad; n=3

Media ± DE (Tukey, $p \leq 0.05$)

Taninos hidrolizables (DPPH)

La comparación entre la actividad antioxidante de las variedades (**Figura 19 y Anexos Tabla 21**) se realizó obteniendo el promedio de los tres disolventes, la variedad significativamente mayor fue FRX con $1607.03 \pm 47.54 \mu\text{mol ET/g bs}$, esto es lo que se esperaba ya que esta variedad fue la que obtuvo valores más bajos en otras determinaciones de actividad antioxidante y también de compuestos fenólicos, aun así se esperaba que fuera con el residuo etanólico tuviera el valor más alto pero no fue así, esto podría deberse a que hubo una degradación de compuestos o simplemente se quedaron atrapados en la pared celular o unidos a proteínas, aunque los valores para agua y metanol fueron superiores esto podría deberse a que en estos residuos se quedaron atrapados compuestos con una potente actividad antioxidante o hubiera un sinergismo entre varios compuestos extraídos que fueron detectados por este método de cuantificación y que provocaron estos resultados, aunque no hubo diferencia estadísticamente significativa con la variedad SG, CTG y C (1416.01 ± 34.08 , 1396.65 ± 15.87 y 1369.06 ± 51.21 , respectivamente) (Tukey, $p \leq 0.05$). La cantidad de TH no se relaciona con la actividad antioxidante, porque por ejemplo SG fue la que tuvo

mayor cantidad de TH, mientras que su actividad antioxidante si fue de las más altas pero no la más alta. En lo que si se ve una relación es en el disolvente usado ya que los valores más altos se reportaron con los residuos acuosos y metanólicos, por otro lado nuevamente el residuo etanólico fue el más bajo, especialmente el de el residuo de FM con 762.88 ± 9.25 $\mu\text{mol ET/g}$. Pero hablando específicamente de las variedades la más baja fue ABG, hasta el momento había presentado altos valores con respecto a su actividad antioxidante y niveles intermedios de TH (**Figura 14**), en el análisis de correlación no se observa ninguna con algunos de los estudios realizados anteriormente (**Anexos Tabla 24**) pero aunque existan diferencias numéricas entre las variedades se puede observar que no hay una gran diferencia estadísticamente significativa ya que se pueden clasificar fácilmente en dos grupos.

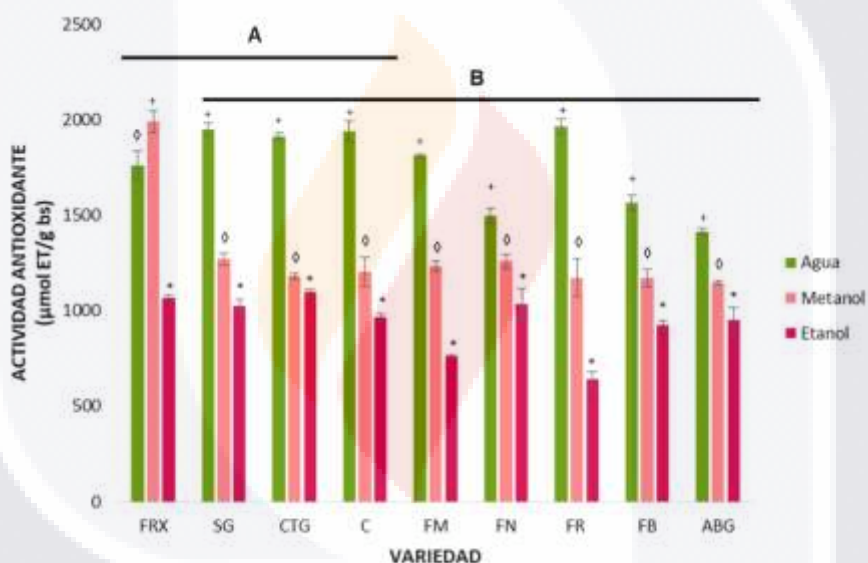


Figura 19. Actividad antioxidante de taninos hidrolizables de diversas variedades de residuos de flor de Jamaica (DPPH).

$\mu\text{mol ET/g bs}$: micromol equivalente a Trolox por gramo de muestra en base seca.

Las letras indican la diferencia estadísticamente significativas entre las variedades; N=9

*, + y ◊ Indican las diferencias estadísticamente significativas entre los disolventes por cada variedad; n=3

Media \pm DE (Tukey, $p \leq 0.05$)

Taninos hidrolizables (FRAP)

Al comparar las variedades (**Figura 20 y Anexos Tabla 23**), los datos más altos son para SG, FN y ABG ya que estas no son estadísticamente significativas (Tukey, $p \leq 0.05$) con valores de 236.35 ± 15.47 , 203.89 ± 11.46 y $199.45 \pm 8.43 \mu\text{mol ET/g}$, respectivamente. Estos resultados siguen un patrón similar de orden de las variedades, es decir, la que presentó mayor contenido de TH mayor será su actividad antioxidante, pero por ejemplo ABG tiene un valor intermedio de TH y aun así es de las variedades con mayor capacidad antioxidante, en pocas palabras tiene algún compuesto que aporta esta capacidad aparte de los TH. La más baja fue la FB (blanca) que a pesar de someterla a otra extracción nuevamente es una de las variedades con menor compuestos y por lo tanto menor actividad antioxidante ($149.19 \pm 3.76 \mu\text{mol ET/g}$), pero aun así no tuvo diferencias estadísticamente significativas con ABG, FRX, C, FN, CTG y FR. Por lo que las variedades se pueden clasificar en tres grupos, comprobando que si existen diferencias estadísticamente significativas con la variedades.

En cuanto al efecto del disolvente en cada una de las variedades el disolvente que presentaba mayor eficiencia fue distinto, mientras que para variedades como ABG no hubo diferencia significativa entre los disolventes, otras como SG tuvo mayor actividad con el residuo etanólico, siendo incluso el que presentó la mayor capacidad antioxidante con $291.52 \pm 26.05 \mu\text{mol ET/g}$ bs, esto se puede entender ya que en la fracción de PE el etanol fue el que extrajo menos compuestos por lo que se puede suponer que la mayoría de los compuestos antioxidantes estaban atrapados en la matriz celular por lo que al darles otro tratamiento más fuerte de extracción fueron liberados. En el análisis de correlación se puede observar que la actividad se vio afectada por fenoles, variedad y el tipo de residuo (**Anexos Tabla 24**).

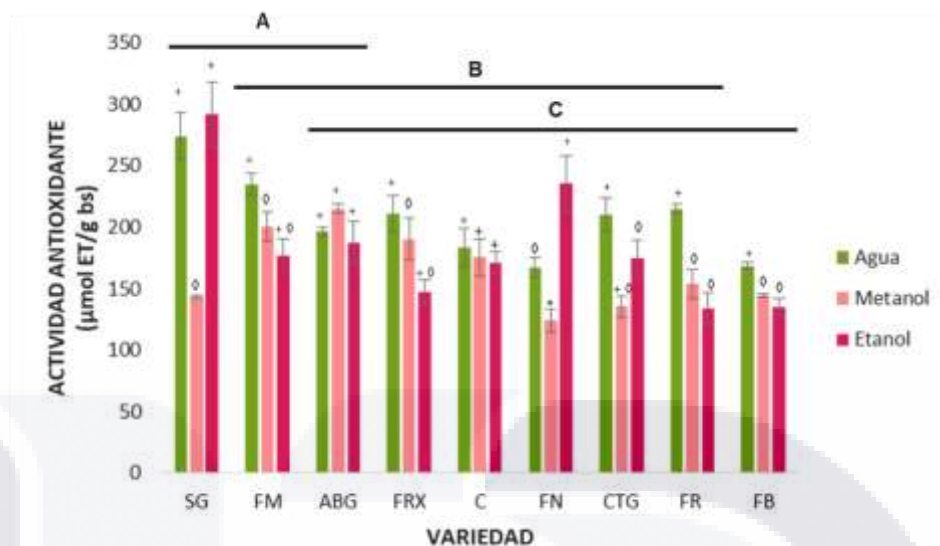


Figura 20. Actividad antioxidante de taninos hidrolizables de diversas variedades de residuos de flor de Jamaica (FRAP).

μmol ET/g bs: micromol equivalente a Trolox por gramo de muestra en base seca.
 Las letras indican la diferencia estadísticamente significativas entre las variedades; N=9
 *, + y ∅ Indican las diferencias estadísticamente significativas entre los disolventes por cada variedad; n=3
 Media ± DE (Tukey, $p \leq 0.05$)

La actividad antioxidante tanto de PE como de PNE, se ve influenciada por el tipo de extracción (disolventes empleados, tiempo y temperatura), la variedad de *H. sabdariffa* y por consiguiente el tipo y cantidad de compuestos bioactivos que son extraídos. Aunque los valores son diferentes en todas las pruebas seguían un patrón similar en cuanto al orden de mayor a menor en los que se encuentran las variedades, excepto en actividad antioxidante de DPPH de taninos hidrolizados. Para el método de DPPH de PE y PNE, los valores más altos fueron para PNE; para el método FRAP en todas las pruebas tuvieron valores similares. Sáyago-Ayerdi *et al.* (2007) indicaron en sus resultados que la muestra contenía tanto PE como PNE, siendo estos últimos los más abundantes (principalmente proantocianidinas), por tal motivo la actividad antioxidante puede ser superior, aunque como se mencionó antes no siempre fue así. Vázquez-Flores *et al.* (2012) menciona que tanto los taninos hidrolizables como los condensados tienen una alta actividad antioxidante. La actividad antioxidante de los residuos es diferente para cada alimento por ejemplo el subproducto de mandarina tiene para DPPH 332.89 a 351.55 μM ET/g bs y FRAP 3.15 a 10.84 μM ET/g bs (Esparza-Martínez, Miranda-López, Mata-Sánchez, & Guzmán-Maldonado, 2016) y esto quiere decir

que el residuo del cáliz de *H. sabdariffa* tiene elevada actividad por lo que se podría utilizar para obtener un beneficio para la salud.

7.3.2. Actividad antimicrobiana

7.3.2.1. Actividad antimicrobiana de extracto metanólico y acuoso

La actividad antimicrobiana de los extractos metanólicos de las diferentes variedades de *H. sabdariffa* contra las cepas *Staphylococcus aureus* (Gram +), *Salmonella typhi* (Gram -) y *Acinetobacter baumannii* (Gram -) fue determinada por el halo de inhibición (mm) presentados en la **Tabla 9**, donde se muestra que las cepas presentan susceptibilidad dependiente de la concentración, es decir, a mayor concentración mayor halo de inhibición; además no existen diferencias estadísticamente significativas entre extractos metanólicos y acuosos (Tukey, $p \leq 0.05$).

Staphylococcus aureus es un tipo de bacteria contagiosa que puede causar una infección grave, especialmente infecciones nosocomiales (Ibrahim & Albadani, 2014). *S. aureus* presentó susceptibilidad a los extractos metanólicos de *H. sabdariffa* dependiendo de la concentración utilizada a mayor concentración mayor será la inhibición, además hubo diferencias estadísticamente significativas entre los extractos la que presentó mayor capacidad de inhibición fue ABG (variedad blanca,), ya que aunque no presenta una elevada cantidad de antocianinas, tiene una importante cantidad de ácido clorogénico , pero también en la concentración 50 mg/mL de las variedades FB (cáliz blanco) y FN (cáliz oscuro) de extracto metanólico no hubo inhibición, en la **Figura 8** los extractos de las dos variedades no tuvieron valores tan altos en flavonoides. En cuanto al extracto acuoso FR, FN y ABG con concentraciones de 50 mg/mL no inhibieron a la cepa, que no presentaron inhibición y tampoco hubo diferencias estadísticamente significativas entre las variedades (Tukey, $p \leq 0.05$), aun así los valores más altos de inhibición fueron FRX (variedad clara) que tiene uno de los valores de flavonoides más elevados (**Figura 8**). Por lo que parece que el color del cáliz no influye, pero si el contenido de flavonoide según el análisis de correlación (**Anexos Tabla 24**).

De Pascual-Teresa *et al.* (2013) mencionaron que las antocianinas aisladas o los extractos de plantas ricos en este grupo de flavonoides tienen un efecto sobre el crecimiento microbiano, los resultados aún no son concluyentes, esto se puede observar en nuestro trabajo donde las antocianinas no afectan el crecimiento bacteriano, pero el contenido de otros flavonoides si podría afectar el crecimiento de *S. aureus*, pero no afecta a las otras dos cepas. Zarkani, (2016) evaluó el extracto acuoso de cáliz de *H. sabdariffa* contra *E. coli* y *S. aureus*, para esta última usaron el extracto en concentraciones de 250 y 500 mg/mL reportando halos de 11.61 y 15.34 mm, respectivamente, y aunque usaron concentraciones mayores a las de nuestro trabajo, aun así en ambos hubo inhibición y como es de esperar a mayor concentración mayor inhibición, además de que también reportan que el extracto de *H. sabdariffa* reveló una actividad biológica efectiva contra las cepas Gram + y Gram -, como en nuestro trabajo y con otros autores que han reportado la efectividad de los extractos de cáliz de *H. sabdariffa* contra *S. aureus* (Borrás-Linares *et al.*, 2018; Higginbotham *et al.* 2014; Jung *et al.*, 2013; Traidej & Surassmo, 2009). Pero Ibrahim & Albadani, (2014) reportaron que ni los extractos acuoso ni metanólicos de cáliz de *H. sabdariffa* presentan actividad antimicrobiana contra cepas Gram + ni Gram -, esto es contradictorio con nuestro resultados y de los trabajos anteriormente mencionados.

La actividad antibacteriana de extractos de cáliz de *H. sabdariffa* es atribuida a compuestos de naturaleza polifenólica como ácidos fenólicos como ácido clorogénico y sus derivados (Medina-Carrillo *et al.*, 2013; Reyes-Luengas *et al.*, 2015; Salinas-Moreno *et al.*, 2012) y antocianinas (Gutiérrez-Alcántara *et al.*, 2016), un flavonoide llamado glosipetina, al que se le atribuye esta actividad (Mahadevan *et al.*, 2009). Además, las diferencias entre esta actividad puede ser por los disolventes de extracción y las concentraciones y compuestos fenólicos identificados en los extractos, y estos se ven afectados por la polaridad del solvente y el compuesto (Jabeur *et al.*, 2017).

Por otro lado la *S. typhi* si presentó diferencias estadísticamente significativas entre los extractos metanólicos de las variedades, siendo la mejor FN (8.5 ± 0.5 mm) y los extractos en los que no presentaron inhibición fueron FM y SG pero solo con la concentración de 50 mg/mL (Tukey, $p \leq 0.05$). Para los extractos acuoso no existió diferencias significativas

entre las variedades, pero la que tuvo una inhibición mayor fue ABG (7.8 ± 1.5 mm) y las que no presentaron halo de inhibición fueron FR, FRX y SG con concentración de 50 mg/mL. Y en el análisis de correlación no se ve influencia del contenido de flavonoides con la inhibición de los extractos sobre esta bacteria ($p \leq 0.05$). Gutiérrez-Alcántara *et al.* (2016) trabajaron con extractos acuosos, metanol, acetona y acetato de etilo. Contra 13 cepas de *Salmonella* aisladas de zanahoria fresca, algunos de los serotipos fueron *S. typhimurium* y *Salmonella typhi*. Los extractos metanólico y acetona tuvieron un efecto de inhibición mayor que los otros dos. El extracto metanólico y acuoso contra *S. typhi* presenta un halo de inhibición de 13 ± 0.2 y 10 ± 0.2 mm, respectivamente, corroborando nuestros resultados y los de otros autores de que esta cepa si es susceptible a extractos de Jamaica (López-Nahuatt *et al.*, 2017; Rangel-Vargas *et al.*, 2017).

Acinetobacter baumannii es un patógeno oportunista que se ha implicado en varias infecciones adquiridas en el hospital y en la comunidad (Lowings, Ehlers, & Kock, 2015). Para esta cepa no hubo diferencias estadísticamente significativas entre las variedades del extracto metanólico pero la que presentó mayor halo de inhibición fue ABG (7.8 ± 1.5 mm) y la variedad que no tuvo inhibición fue SG. En el extracto acuoso si hubo diferencias estadísticamente significativas (Tukey, $p \leq 0.05$), siendo la mejor la variedad CTG (8.8 ± 1.7 mm) y las variedades que no presentaron inhibición fueron FR, FM y SG pero solamente con la concentración más baja. Abdallah, (2016) estudió cinco cepas de *A. baumannii* son resistentes a varios antibióticos y sensibles a otros, y solo una cepa fue susceptible al antibiótico Imipenem; pero aun así las cepas fueron susceptibles a los extractos metanólicos de Jamaica. El papel de los mecanismos de resistencia a los antibióticos es resistir la acción de un compuesto tóxico o proteger la célula contra compuestos tóxicos como los antimicrobianos, esta cepa utiliza varios mecanismos para crear resistencia (resistencia mecanismos de β -lactamasa, Ambler clase A y B, etc.) (Fernández & Hancock, 2012).

Se colocaron antibióticos que servirían como control positivo y se comprobó que existen grados de significancia entre los antibióticos usado en las cepas (**Tabla 10**, $p \leq 0.05$). *Staphylococcus aureus* y *Salmonella typhi* fueron susceptibles a los antibióticos ceftazidina (3 mg/mL), amoxicilina (3 mg/mL) y amikacina (3mg/mL). Por otra parte la cepa de

Acinetobacter baumannii y se comprueba que es resistente a amoxicilina (3 mg/mL) y amikacina (3mg/mL), y el único antibiótico que lo inhibió fue ceftazidina (3 mg/mL) con un halo de 11 mm. Además se colocaron otros controles, uno de metanol y otro de agua, para comprobar que los disolventes no influyeron en la prueba, y no inhibieron a ninguna cepa. De la Fuente-Salcido *et al.* (2010) trabajaron con cepas de *Salmonella spp* y demostraron que un 91% de las cepas de *Salmonella spp* son resistentes a la ampicilina y la nitrofurantoína y un 55% a cefalotina y cloranfenicol. Además, las cepas aisladas no mostraron resistencia a amikacina, carbenicilina, cefotaximina, gentamicina, netilmicina, norfloxacin y sulfametoxazol/trimetoprim. Esto no concuerda del todo con nuestros resultados, aun así es comprensible ya que son cepas diferentes a las que utilizamos. Gutiérrez-Alcántara *et al.* (2016) informó que las cepas de *S. typhi* aisladas de los vegetales eran resistentes a la amoxicilina; esto último no concuerda con los resultados que obtuvimos.

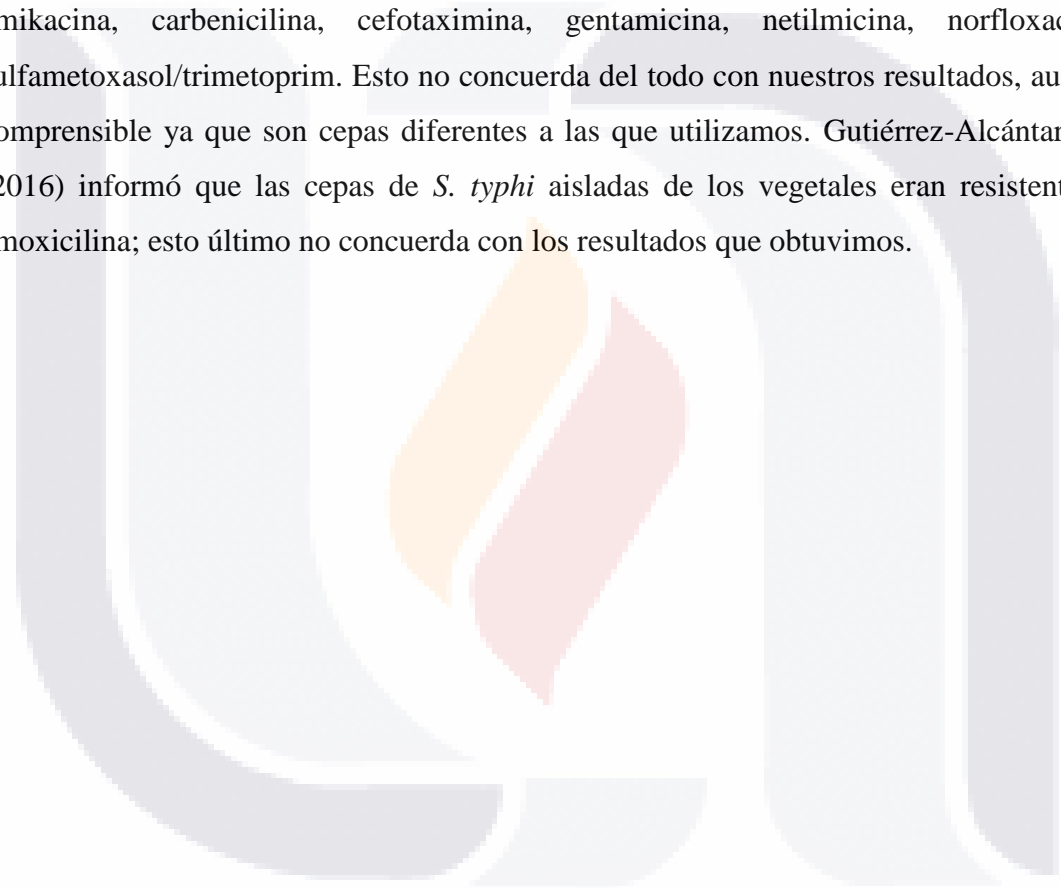


Tabla 9. Sensibilidad de *S. aureus*, *S. typhi* y *A. baumannii* a extractos metanólicos y acuosos de cálices de *H. sabdariffa*

VARIEDAD	Concentración (mg/mL)	HALO (mm)					
		<i>S. aureus</i>		<i>S. typhi</i>		<i>A. baumannii</i>	
		<i>Met*</i>	<i>Acu*</i>	<i>Met*</i>	<i>Acu*</i>	<i>Met*</i>	<i>Acu*</i>
C	50	6.3 ± 0.6 c	6.0 ± 0.6 a	6.3 ± 0.6 ab	6.3 ± 0.6 a	7.3 ± 1.2 a	6.3 ± 0.6 b
	100	7.7 ± 0.6 c	8.7 ± 1.2 a	8.0 ± 0.0 ab	7.0 ± 1.0 a	9.0 ± 0.0 a	7.0 ± 0.0 b
	150	9.3 ± 0.6 c	10.7 ± 1.2 a	9.7 ± 0.6 ab	9.3 ± 0.6 a	9.7 ± 0.6 a	8.3 ± 1.2 b
FR	50	6.7 ± 0.6 c	NI	6.7 ± 0.6 ab	NI	6.7 ± 0.6 a	NI
	100	7.3 ± 1.2 c	8.0 ± 1.7 a	8.3 ± 0.6 ab	6.7 ± 0.6 a	8.3 ± 1.2 a	6.7 ± 0.6 ab
	150	9.3 ± 0.6 c	10.7 ± 1.5 a	9.0 ± 0.0 ab	7.3 ± 1.2 a	10.3 ± 1.2 a	9.7 ± 1.2 ab
FM	50	6.7 ± 1.2 bc	6.7 ± 0.6 a	NI	6.3 ± 0.6 a	6.7 ± 1.2 a	NI
	100	9.7 ± 0.6 bc	9.3 ± 0.6 a	7.7 ± 0.6 ab	7.3 ± 0.6 a	8.3 ± 0.6 a	8.3 ± 1.2 ab
	150	11.0 ± 1.0 bc	10.7 ± 0.6 a	9.3 ± 1.2 ab	8.3 ± 0.6 a	9.7 ± 1.5 a	9.7 ± 1.5 ab
FRX	50	7.0 ± 1.7 c	6.3 ± 0.6 a	6.3 ± 0.6 ab	NI	6.7 ± 0.6 a	6.7 ± 0.6 ab
	100	8.0 ± 1.7 c	9.7 ± 0.6 a	7.0 ± 1.0 ab	7.0 ± 1.0 a	8.3 ± 2.1 a	8.3 ± 0.6 ab
	150	8.3 ± 1.5 c	12.0 ± 0.0 a	8.3 ± 2.1 ab	8.3 ± 1.2 a	10.3 ± 1.2 a	10.7 ± 0.6 ab
FB	50	NI	NI	7.0 ± 1.0 ab	6.3 ± 0.6 a	8.0 ± 1.0 a	6.7 ± 0.6 ab
	100	8.7 ± 0.6 c	8.0 ± 1.0 a	8.0 ± 1.0 ab	7.0 ± 0.0 a	9.7 ± 1.2 a	8.7 ± 1.5 ab
	150	10.3 ± 0.6 c	9.3 ± 0.6 a	9.7 ± 0.6 ab	8.0 ± 1.0 a	11.0 ± 1.0 a	10.0 ± 1.7 ab
FN	50	NI	6.3 ± 0.6 a	8.0 ± 1.0 a	6.3 ± 0.6 a	6.7 ± 0.6 a	6.3 ± 0.6 ab
	100	9.3 ± 0.6 bc	8.0 ± 1.0 a	8.7 ± 1.5 a	7.3 ± 0.6 a	9.7 ± 1.5 a	8.3 ± 0.6 ab
	150	11.0 ± 1.0 bc	10.0 ± 0.0 a	9.0 ± 1.0 a	8.0 ± 1.7 a	11.3 ± 0.6 a	10.7 ± 0.6 ab
SG	50	8.3 ± 0.6 ab	6.3 ± 0.6 a	NI	NI	NI	NI
	100	9.7 ± 0.6 ab	8.0 ± 1.0 a	6.7 ± 1.2 b	7.0 ± 0.0 a	7.0 ± 0.0 a	8.0 ± 1.7 ab
	150	11.7 ± 0.6 ab	9.3 ± 0.6 a	8.0 ± 1.7 b	8.3 ± 1.2 a	8.3 ± 0.6 a	8.7 ± 2.1 ab
ABG	50	9.3 ± 0.6 a	NI	6.3 ± 0.6 ab	6.3 ± 0.6 a	6.7 ± 0.6 a	6.3 ± 0.6 ab
	100	10.7 ± 0.6 a	8.0 ± 1.7 a	7.0 ± 0.0 ab	7.7 ± 0.6 a	9.3 ± 0.6 a	8.3 ± 0.6 ab
	150	12.3 ± 0.6 a	10.7 ± 1.5 a	8.3 ± 0.6 ab	9.3 ± 0.6 a	10.0 ± 1.0 a	10.7 ± 0.6 ab

CTG	50	6.3 ± 0.6 c	6.7 ± 0.6 a	6.7 ± 0.6 b	6.7 ± 0.6 a	6.3 ± 0.6 a	7.0 ± 1.0 a
	100	8.0 ± 1.0 c	9.0 ± 1.7 a	7.0 ± 1.0 b	7.3 ± 1.2 a	8.0 ± 0.0 a	9.0 ± 1.0 a
	150	9.7 ± 1.2 c	10.0 ± 0.6 a	7.3 ± 1.2 b	7.7 ± 1.5 a	9.3 ± 0.6 a	10.3 ± 0.6 a

* Indican que no existen diferencias significativas entre solventes utilizados para la extracción

Las letras diferentes indican diferencias significativas entre las variedades.

NI=no inhibición.

Media ± DE; n=3. (Tukey, p ≤ 0.05)

Tabla 10. Susceptibilidad de las cepas a antibióticos.

<i>Antibiótico</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. typhi</i>	<i>A. baumannii</i>
<i>Ceftazidina</i> (3mg/mL)	10.3 ± 1.2 b	17.7 ± 0.6 a	11.0 ± 0.0 a
<i>Amoxicilina</i> (3mg/mL)	12.3 ± 0.6 ab	17.7 ± 1.2 a	NI
<i>Amikacina</i> (3mg/mL)	13.3 ± 0.6 a	15.0 ± 1.0 b	NI

Las letras diferentes indican diferencias significativas para cada una de las cepas.

NI=no inhibición.

Media ± DE; n=3. (Tukey, p ≤ 0.05)

7.3.2.3. Concentración mínima bactericida (CMB)

Extracto acuoso y metanólico

La concentración mínima bactericida (CMB) es la cantidad de extracto que se necesita para matar a la bacteria, por lo que se busca que el valor de CMB sea lo más pequeños posible, en la **Tabla 11** se observa para la cepa de *S. aureus* que no hay diferencias significativas entre las CMB de las variedades para el extracto metanólico y acuoso, pero la variedad FM (metanólico) y ABG (acuoso) presenta una CMB menor (7.67 ± 2.08 y 12.00 ± 3.00 mg/mL, respectivamente); además si existe diferencias significativas entre el extracto metanólico y acuoso, en donde este último presenta valores de CMB mayores. Traidej & Surassmo, (2009) uso extractos etanólicos de cáliz de Jamaica contra *S. aureus* reporta una CMB de > 5 mg/mL, siendo diferente a nuestros resultados.

En la CMB para extractos acuosos y metanólicos contra *S. typhi* si existen diferencias significativas teniendo valores menores para los extractos metanólicos. Dentro de los extractos metanólicos la CMB más pequeña es de la variedad C (9.67 ± 0.58 mg/mL); mientras que para los extractos acuosos no hay diferencias significativas entre variedades, pero el valor más bajo fue para FRX y FN (12.33 ± 0.58 y 12.33 ± 1.53 mg/mL, respectivamente). Jabeur *et al.* (2017) valores de CMB para *S. aureus* y *S. typhi* con extracto acuoso fueron de 0.20 y 0.30 mg/mL y para el extracto hidroalcohólico fueron 0.30 y 0.30 mg/mL, respectivamente; estos valores son mucho menores a los que nosotros obtuvimos.

En cuanto a la cepa de *A. baumannii* no existen diferencias significativas entre los extractos utilizados; para los extractos metanólicos no hubo diferencias significativas para las variedades; aun así los valores más bajos de CMB son para las variedades FRX, FB y FN (8.00 ± 0.00 mg/mL, para cada una); para los extractos acuosos sí hubo diferencias significativas entre algunas variedades; la CMB menor es para las variedades ABG y CTG (6.00 ± 0.00 mg/mL, para ambas), incluso son más bajas que la de cualquier extracto metanólico (Tukey, $p \leq 0.05$), comprobando que esta cepa bacteriana es la más susceptible ante los extractos de *H. sabdariffa*. (Abdallah, 2016) usando extracto metanólico contra cinco

cepas de *A. baumannii* reportó CMBs entre 50-100 mg/mL; estos valores son mucho mayores a los reportados en este trabajo.

Tabla 11. CMB de los extractos metanólicos de cálices de *H. sabdariffa* contra *S. aureus*, *S. typhi* y *A. baumannii*.

VARIEDAD	CMB (mg/mL)					
	<i>S. aureus</i>		<i>S. typhi</i>		<i>A. baumannii</i>	
	<i>Met</i> *	<i>Acu</i> **	<i>Met</i> *	<i>Acu</i> **	<i>Met</i> *	<i>Acu</i> *
C	8.67 ±	14.67 ±	9.67 ±	12.67 ±	8.33 ±	7.00 ±
	0.58 ^a	0.58 ^a	0.58 ^b	1.15 ^a	0.58 ^a	1.00 ^{ab}
FR	7.00 ±	> 15 ^a	11.33 ±	13.33 ±	8.33 ±	7.67 ±
	0.00 ^a		0.58 ^{ab}	1.73 ^a	0.58 ^a	0.58 ^{ab}
FM	8.00 ±	14.33 ±	12.00 ±	13.00 ±	8.33 ±	7.67 ±
	0.00 ^a	1.15 ^a	2.65 ^{ab}	1.00 ^a	0.58 ^a	1.53 ^{ab}
FRX	7.67 ±	14.33 ±	12.33 ±	12.33 ±	8.00 ±	7.33 ±
	2.08 ^a	1.15 ^a	2.08 ^{ab}	0.58 ^a	0.00 ^a	0.58 ^{ab}
FB	8.67 ±	> 15 ^a	10.67 ±	14.00 ±	8.00 ±	8.33 ±
	2.52 ^a		2.08 ^{ab}	0.00 ^a	0.00 ^a	0.58 ^a
FN	9.33 ±	14.33 ±	13.00 ±	12.33 ±	8.00 ±	7.00 ±
	0.71 ^a	1.15 ^a	2.00 ^{ab}	1.53 ^a	0.00 ^a	0.00 ^{ab}
SG	11.00 ±	> 15 ^a	14.67 ±	> 15 ^a	9.67 ±	8.67 ±
	1.00 ^a		0.58 ^a		0.58 ^a	0.58 ^a
ABG	9.67 ±	12.00 ±	13.00 ±	13.00 ±	8.67 ±	6.00 ±
	1.15 ^a	3.00 ^a	2.65 ^{ab}	2.65 ^a	1.00 ^a	0.00 ^b
CTG	9.00 ±	13.67 ±	13.67 ±	13.67 ±	8.33 ±	6.00 ±
	0.00 ^a	1.15 ^a	1.53 ^{ab}	1.53 ^a	0.58 ^a	0.00 ^b

* y ** Indican diferencias significativas entre solventes utilizados para la extracción; n=27.
 Las letras diferentes indican diferencias significativas entre las variedades; n=3.
 Medias ± DE (Tukey, p ≤ 0.05).

Las propiedades antibacterianas de los cálices pueden atribuirse como se mencionó antes a la riqueza en metabolitos fitoquímicos secundarios, como los alcaloides, compuestos fenólicos, flavonoides y saponinas que son considerados como los principales compuestos antimicrobianos en las plantas (Abdallah, 2016). Además de los compuestos fenólicos, la acidez de los extractos de cáliz de Jamaica tiene el efecto bacteriano, contribuye a la absorción de iones metálicos en el cuerpo humano, especialmente actúa contra la formación de baja solubilidad (Salinas-Moreno *et al.*, 2012). Djeussi *et al.* (2013) reportaron actividad antioxidante de extractos etanólicos, metanólicos y acuosos contra *S. aureus*, sugiriendo que los alcaloides influyen en la actividad de esta planta. En el estudio de

correlación no se observa relación entre los compuestos fenólicos determinados en nuestro trabajo y la actividad antibacteriana.

7.4. Fracción indigerible (FI)

La fracción indigerible (FI) son los compuestos no digeribles de los alimentos vegetales, este término incluye fibra dietaria (FD), almidón resistente (AR), proteína resistente y otros compuestos asociados; FI se divide en fracción indigerible soluble (FIS) y fracción indigerible insoluble (FII). La determinación de FI es importante ya que es la cantidad estimada de compuestos que llega al colon, donde sirven de sustrato para la microflora (Saura-Calixto *et al.*, 2000).

En la **Tabla 12** se presenta en porcentaje de la FI, FIS y FII de los cálices de *H. sabdariffa* encontraron que sí hay diferencias estadísticamente significativas entre las variedades, para FI el valor más alto fue para CTG (93.49 %); en FII la variedad con mayor porcentaje fue nuevamente FRX y CTG (71.71 y 72.76%, respectivamente); y finalmente para FIS las variedades mayores estadísticamente fueron CTG (20.73%). Al consumir el cáliz de *H. sabdariffa* ingerimos un elevado porcentaje de FI que llegará al colon para ser procesado por la microflora fermentadora, obteniendo las fracciones FIS y FII, donde como se puede observar en la **Tabla 14** la que se encuentra en mayor cantidad es la FII, es decir que el cáliz se puede aprovechar como fuente de fibra. La finalidad de que esta fracción sea fermentada por la microflora, es porque al realizar este proceso son liberados compuestos, como polifenoles, que pueden ser absorbidos por nuestro cuerpo y traer efectos positivos en la salud.

Los compuestos como taninos condensados y polifenoles hidrolizables además de otros polifenoles extraíbles, conforman la parte principal de los polifenoles en los alimentos y estos se encuentran en la FII. Las frutas y las legumbres presentan las concentraciones más altas de estos compuestos con 1.2 y 1.4 mg/g muestra bs, respectivamente. Los polifenoles unidos a la FI son los que se encuentran en mayor cantidad, y al ser liberados algunos son accesibles en el intestino delgado y otros en el intestino grueso (Saura-Calixto, Serrano, & Goñi, 2007). Por ejemplo, para que los taninos hidrolizables sean liberados de la matriz

celular, solo pueden ser procesados por la acción de determinados lactobacilos con actividad tanasa distinta (Arranz *et al.*, 2010).

Tabla 12. Fracción indigerible.

VARIEDAD	FII	FIS	FI	RELACIÓN FIS:FII
FR	62.67 ± 1.04 ^{bed}	16.69 ± 0.79 ^b	79.36 ± 1.83 ^{bed}	21.02: 78.98
FM	68.24 ± 6.20 ^{ab}	17.49 ± 1.71 ^{ab}	85.73 ± 7.91 ^{ab}	20.40: 79.60
FRX	71.71 ± 4.43 ^a	15.14 ± 1.18 ^b	86.85 ± 5.60 ^{ab}	17.43: 82.57
FB	59.65 ± 3.27 ^{cd}	15.44 ± 1.37 ^b	75.08 ± 1.37 ^{cd}	20.56: 79.44
FN	70.80 ± 1.79 ^{ab}	16.85 ± 1.65 ^b	87.65 ± 3.44 ^{ab}	19.22: 80.78
SG	65.98 ± 0.84 ^{abc}	17.97 ± 1.74 ^{ab}	83.94 ± 2.58 ^{abc}	21.40: 78.60
ABG	56.87 ± 4.45 ^d	16.90 ± 0.64 ^b	73.78 ± 5.10 ^d	22.91: 77.09
CTG	72.76 ± 1.43 ^a	20.73 ± 1.90 ^a	93.49 ± 3.33 ^a	22.18: 77.82

Los valores se expresan en (%) y representan la media ± DE. Letras indican diferencia significativa (Tukey, $p \leq 0.05$). (FIT: fracción indigerible total; FIS: fracción indigerible soluble; FII: fracción indigerible insoluble)

8. CONCLUSIONES

Las antocianinas fueron los compuestos fenólicos que se encontraron en mayor cantidad en los cálices rojos a diferencia de los blancos, donde fueron prácticamente inexistentes. Los barridos del espectro de absorción sugieren que la delphinidina es la antocianina que se encuentra en mayor cantidad, por la longitud de onda a la que se lee este compuesto. En cuanto a flavonoides, ácidos fenólicos y fenoles solubles, nuevamente las variedades de cáliz oscuros fueron las que tuvieron los niveles más altos, especialmente SG, además de que el agua fue el disolvente más eficaz para la extracción.

En actividad antioxidante de PE y PNE, de todas las variedades SG fue la mejor, aunque la actividad antioxidante de ABG (variedad blanca) fue de las más altas, lo cual fue inesperado. El agua fue el disolvente más eficiente para los PE, mientras que para los PNE no influyó el tipo de disolvente utilizado; en general los valores más altos se obtuvieron con agua y metanol.

Todos los extractos presentaron propiedades antimicrobianas en cepas Gram positivas y Gram negativas; aun así, las variedades blancas fueron más eficientes, especialmente ABG, para halos de inhibición y CMB. En la inhibición antibacteriana, tanto el extracto acuoso como el metanólico fueron eficientes; en cuanto a CMB, fue mejor el extracto metanólico contra *S. aureus* y *S. typhi*; para *A. baumannii* el acuoso y el metanólico fueron eficientes. Por otra parte *A. baumannii* fue la cepa más susceptible a los extractos.

En general, SG fue la mejor variedad en cuanto a polifenoles extraíbles y no extraíbles, además de actividad antioxidante. En actividad antimicrobiana, la variedad ABG fue la mejor, mientras que para la fracción indigerible la mejor fue CTG.

9. BIBLIOGRAFÍA

- Abdallah, E. M. (2016). Antibacterial activity of Hibiscus sabdariffa L. calyces against hospital isolates of multidrug resistant Acinetobacter baumannii. *Journal of Acute Disease*, 5(6), 512–516. <https://doi.org/10.1016/j.joad.2016.08.024>
- Abdel-Aal, S. M., & Hucl, P. (1999). A Rapid Method for Quantifying Total Anthocyanins in Blue Aleurone and Purple Pericarp Wheats, 76(3), 350–354.
- Abou-Arab, A. A., Abu-Salem, F. M., & Abou-Arab, E. A. (2011). Physico-chemical properties of natural pigments (anthocyanin) extracted from Roselle calyces (*Hibiscus sabdariffa*). *Journal of American Science*, 7(7), 445–456. <https://doi.org/1545-1003>
- Afolabi, O. C., Oguniola, F. T., & Coker, A. O. (2008). Susceptibility of Cariogenic Streptococcus mutans to extracts of Garcinia kola, Hibiscus sabdariffa, and Solanum americanum. *West African journal of medicine*, 27(4).
- Agüero, M., Segura, C., & Parra, J. (2014). Análisis comparativo de compuestos fenólicos totales y actividad antioxidante de cuatro marcas de tisanas de Hibiscus sabdariffa (Malvaceae) comercializadas en Costa Rica. *Uniciencia*, 28(1), 34–42.
- Akindahunsi, A. A., & Olaleye, M. T. (2003). Toxicological investigation of aqueous-methanolic extract of the calyces of Hibiscus sabdariffa L. *Journal of Ethnopharmacology*, 89(1), 161-164.
- Ali, B. H., Wabel, N. Al, & Blunden, G. (2005). Phytochemical , Pharmacological and Toxicological Aspects of Hibiscus sabdariffa L .: A Review. *Wiley InterScience*, 19, 369–375.
- AOAC. 2002. Official Methods of Analysis. Method 925.10. 17th Edition.
- AOAC. 2005. Official Methods of Analysis. Method 923.03. 18th Edition.
- Aregbesola, O. A., Faborode, M. O., & Ezeokoli, O. I. (2016). Engineering properties of Roselle (*Hibiscus sabdariffa*) calyces. *Agricultural Engineering International: CIGR Journal*, 18(3), 225–233.
- Ariza-Flores, R., Serrano-Altamirano, V., Navarro-Galindo, S., Ovando-Cruz, M. E., Vázquez-García, E., Barrios-Ayala, A., ... Otero-Sánchez, M. A. (2014). VARIETADES MEXICANAS DE JAMAICA (*Hibiscus sabdariffa* L .) “ ALMA BLANCA ” Y “ ROSALÍZ ” DE COLOR CLARO , Y “ COTZALTZIN ” Y “ TECOANAPA ” DE COLOR ROJO. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 37(2), 181–185.
- Arranz, S., Silván, J. M., & Saura-Calixto, F. (2010). Nonextractable polyphenols, usually ignored, are the major part of dietary polyphenols: A study on the Spanish diet. *Molecular Nutrition and Food Research*, 54(11), 1646–1658. <https://doi.org/10.1002/mnfr.200900580>

- Babalola, S. O., Babalola, A. O., & Aworh, O. C. (2001). Compositional attributes of the calyces of roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.). *The Journal of Food Technology in Africa*, 6(4), 133–134. <https://doi.org/10.1108/10650750910961929>
- Babbar, N., Oberoi, H. S., Sandhu, S. K., & Bhargav, V. K. (2014). Influence of different solvents in extraction of phenolic compounds from vegetable residues and their evaluation as natural sources of antioxidants. *Journal of Food Science and Technology*, 51(10), 2568–2575. <https://doi.org/10.1007/s13197-012-0754-4>
- Barhe, T. A., & Tchouya, G. R. F. (2016). Comparative study of the anti-oxidant activity of the total polyphenols extracted from *Hibiscus Sabdariffa* L., *Glycine max* L. Merr., yellow tea and red wine through reaction with DPPH free radicals. *Arabian Journal of Chemistry*, 9(1), 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2014.11.048>
- Benzie, I. F. F., & Strain, J. J. (1996). The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of “Antioxidant Power”: The FRAP Assay. *Analytical Biochemistry*, 239(1), 70–76. <https://doi.org/10.1006/abio.1996.0292>
- Borrás-Linares, I., Fernández-Arroyo, S., Arráez-Roman, D., Palmeros-Suárez, P. A., Del Val-Díaz, R., Andrade-González, I., ... Segura-Carretero, A. (2015a). Characterization of phenolic compounds, anthocyanidin, antioxidant and antimicrobial activity of 25 varieties of Mexican Roselle (*Hibiscus sabdariffa*). *Industrial Crops and Products*, 69, 385–394. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.02.053>
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995). Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. *Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie*, 28(1), 25–30.
- Camelo-Méndez, G. A., Vanegas-Espinoza, P. E., Escudero-Gilete, M. L., Heredia, F. J., Paredes-López, O., & Del Villar-Martínez, A. A. (2018). Colorimetric Analysis of Hibiscus Beverages and their Potential Antioxidant Properties. *Plant Foods for Human Nutrition*, 1–6. <https://doi.org/10.1007/s11130-018-0672-3>
- Cásedas, G., González-Burgos, E., Smith, C., López, V., & Gómez-Serranillos, M. P. (2018). Regulation of redox status in neuronal SH-SY5Y cells by blueberry (*Vaccinium myrtillus* L.) juice, cranberry (*Vaccinium macrocarpon* A.) juice and cyanidin. *Food and Chemical Toxicology*, 118(May), 572–580. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2018.05.066>
- Castañeda, R., & Cáceres, A. (2014). Compuestos bioactivos y propiedades terapéuticas de los cálices de rosa Jamaica (*Hibiscus sabdariffa* Linn). *Facultad de Ciencias Químicas Y Farmacia*, 24(1).
- Chikhoun, A., Gagaoua, M., Désiré, K., Souleymane, A., Hafid, K., Aliane, K., ... Vovk, I. (2017). Antioxidant Activity of *Hibiscus sabdariffa* Extracts Incorporated in an Emulsion System Containing Whey Proteins: Oxidative Stability and Polyphenol – Whey Proteins Interactions. *Arabian Journal for Science and Engineering*, 42(6), 2247–2260. <https://doi.org/10.1007/s13369-017-2428-z>

- Christian, K. R., Nair, M. G., & Jackson, J. C. (2006). Antioxidant and cyclooxygenase inhibitory activity of sorrel (*Hibiscus sabdariffa*). *Journal of Food Composition and Analysis*, 19(8), 778–783. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2006.04.004>
- Contreras, J. Á., Soto, J. M., & Huchin, A. (2009). *Tecnología para el cultivo de Jamaica en Quintana Roo*.
- Cruz-Gálvez, A. M., Castro-Rosas, J., Rodríguez-Marín, M. L., Cadena-Ramírez, A., Tellez-Jurado, A., Tovar-Jiménez, X., ... Gómez-Aldapa, C. A. (2018). Antimicrobial activity and physicochemical characterization of a potato starch-based film containing acetic and methanolic extracts of *Hibiscus sabdariffa* for use in sausage. *Lwt*, 93(August 2017), 300–305. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.02.064>
- Da-Costa-Rocha, I., Bonnlaender, B., Sievers, H., Pischel, I., & Heinrich, M. (2014). *Hibiscus sabdariffa* L . – A phytochemical and pharmacological review. *Food Chemistry*, 165, 424–443. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.05.002>
- De la Fuente-Salcido, N. M., Castañeda-Ramírez, C., Cortes-Rodríguez, V., Espino-Monzón, A. N., & Barboza-Corona, J. E. (2010). Análisis comparativo de la susceptibilidad de cepas de *Salmonella* spp aisladas de vegetales (*Lactuca sativa*) contra antibióticos, bacteriocinas de *Bacillus thuringiensis* y nisina. *Universidad de Guanajuato*, 1431–1440.
- De Pascual-Teresa, S., Sanchez-Ballesta, M. T., & García-Viguera, C. (2013). Anthocyanins. *Natural Products: Phytochemistry, Botany and Metabolism of Alkaloids, Phenolics and Terpenes*, 1803–1819. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-22144-6>
- Djeussi, D. E., Noumedem, J. A. K., Seukep, J. A., Fankam, A. G., Voukeng, I. K., Tankeo, S. B., ... Kuete, V. (2013). Antibacterial activities of selected edible plants extracts against multidrug-resistant Gram-negative bacteria. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 13(1), 164.
- Duarte-Valenzuela, Z. N., Zamora-Gasga, V. M., Montalvo-González, E., & Sáyago-Ayerdi, S. G. (2016). CARACTERIZACIÓN NUTRICIONAL DE 20 VARIEDADES MEJORADAS DE JAMAICA (*Hibiscus sabdariffa* L.) CULTIVADAS EN MÉXICO. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 39(3), 199–206.
- Escudero, E., & González, P. (2006). La fibra dietética. *Nutrición Hospitalaria*, 21(2), 61–72. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Esparza-Martínez, F. J., Miranda-López, R., Mata-Sánchez, S. M., & Guzmán-Maldonado, S. H. (2016). Extractable and Non-Extractable Phenolics and Antioxidant Capacity of Mandarin Waste Dried at Different Temperatures. *Plant Foods for Human Nutrition*, 71(3), 294–300. <https://doi.org/10.1007/s11130-016-0559-0>
- Fernández-Arroyo, S., Rodríguez-Medina, I. C., Beltrán-Debón, R., Pasini, F., Joven, J., Micol, V., ... Fernández-Gutiérrez, A. (2011). Quantification of the polyphenolic fraction and in vitro antioxidant and in vivo anti-hyperlipemic activities of *Hibiscus*

sabdariffa aqueous extract. *Food Research International*, 44(5), 1490–1495. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.03.040>

Fernández, L., & Hancock, R. E. W. (2012). Adaptive and mutational resistance: Role of porins and efflux pumps in drug resistance. *Clinical Microbiology Reviews*, 25(4), 661–681. <https://doi.org/10.1128/CMR.00043-12>

Frankel, N.E. y Meyer, S.A. 2000. The problems of using one-dimensional methods to evaluate multifunctional food and biological antioxidants. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 80: 1925-1941

Galicia-Flores, L. ., Salinas-Moreno, Y., Espinoza-García, B. M., & Sanchez-Feria, C. (2008). Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE (Hibiscus sabdariffa L.) NACIONAL E IMPORTADA. *Revista Chapingo. Serie Horticultura*, 14(2), 121–129.

Galvão, L., Araújo, M., Azevedo, L., Daguer, H., Molognoni, L., Mendes, M., ... Deliberali, N. (2018). Hibiscus sabdariffa anthocyanins-rich extract : Chemical stability , in vitro antioxidant and antiproliferative activities. *Food and Chemical Toxicology*, 113, 187–197. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2018.01.053>

Godínez-Santillána, R. I. (2017). *Caracterización fenólica y capacidad antioxidante de diferentes extractos de Cnidoscolus aconitifolius (Miller) I.M. John*. Universidad Autónoma de Queretaro.

Goñi, I., Díaz-Rubio, M. E., Pérez-Jiménez, J., & Saura-Calixto, F. (2009). Towards an updated methodology for measurement of dietary fiber, including associated polyphenols, in food and beverages. *Food Research International*, 42(7), 840–846. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2009.03.010>

Guardiola, S., & Mach, N. (2014). Therapeutic potential of Hibiscus sabdariffa : A review of the scientific evidence. *Endocrinología Y Nutrición (English Edition)*, 61(5), 274–295. <https://doi.org/10.1016/j.endoen.2014.04.003>

Gutiérrez-Alcántara, E. J., Gómez-Aldapa, C. A., Román-Gutierrez, A. D., Rangel-Vargas, E., González-Olivares, L. G., & Castro-Rosas, J. (2016). ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF ROSELLE HIBISCUS SABDARIFFA CALYX EXTRACTS ON CULTURE MEDIA AND CARROTS AGAINST MULTIDRUG-RESISTANT SALMONELLA. *Journal of Food Safety*, 36(4), 450–458. <https://doi.org/10.1111/jfs.12259>

Hartzfeld, P. W., Forkner, R., Hunter, M. D., & Hagerman, A. E. (2002). Determination of hydrolyzable tannins (gallotannins and ellagitannins) after reaction with potassium iodate. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(7), 1785–1790. <https://doi.org/10.1021/jf0111155>

Heimler, D., Vignolini, P., Dini, M. G., Vincieri, F. F., & Romani, A. (2006). Antiradical activity and polyphenol composition of local Brassicaceae edible varieties. *Food Chemistry*, 99(3), 464–469. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.07.057>

- Herrera-Arellano, A., Flores-Romero, S., Chávez-Soto, M. A., & 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*, *11*(5), 375–382. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2004.04.001>
- Higginbotham, K. L., Burris, K. P., Zivanovic, S., Davidson, P. M., & Stewart, C. N. (2014). Aqueous extracts of Hibiscus sabdariffa calyces as an antimicrobial rinse on hot dogs against *Listeria monocytogenes* and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Food Control*, *40*, 274–277. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2013.12.011>
- Hirunpanchi, V., Utaipat, A., Morales, N. P., Bunyapraphatsara, N., Sato, H., Herunsalee, A., & Suthisisang, C. (2005). Antioxidant Effects of Aqueous Extracts from Dried Calyx of Hibiscus sabdariffa LINN. (Roselle) in Vitro Using Rat Low-Density Lipoprotein (LDL). *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, *28*(March), 481–484.
- Hirunpanich, V., Utaipat, A., Morales, N., Bunyapraphatsara, N., Sato, H., Herunsalee, A., & Suthisisang, C. (2006). Hypocholesterolemic and antioxidant effects of aqueous extracts from the dried calyx of Hibiscus sabdariffa L . in hypercholesterolemic rats. *Journal of Ethnopharmacology*, *103*(2), 252–260. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2005.08.033>
- Hopkins, A. L., Lamm, M. G., Funk, J. L., & Ritenbaugh, C. (2013). Hibiscus sabdariffa L. in the treatment of hypertension and hyperlipidemia: a comprehensive review of animal and human studies. *Fitoterapia*, *85*, 84–94. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2013.01.003>
- Ibrahim, A., & Albadani, R. N. (2014a). Evaluation of the Potential Nephroprotective and Antimicrobial Effect of Camellia sinensis Leaves versus Hibiscus sabdariffa (In Vivo and In Vitro Studies). *Advances in Pharmacological Sciences*.
- Ibrahim, A., & Albadani, R. N. (2014b). Evaluation of the Potential Nephroprotective and Antimicrobial Effect of Camellia sinensis Leaves versus Hibiscus sabdariffa (In Vivo and In Vitro Studies). *Advances in Pharmacological Sciences*.
- Ismail, A., Ikram, E. H. K., & Nazri, H. S. M. (2008). Roselle (Hibiscus sabdariffa L.) Seeds – Nutritional Composition, Protein Quality and Health Benefits. *Food*, *2*(1), 1–16.
- Jabeur, I., Pereira, E., Barros, L., Calhelha, R. C., Sokovi, M., Oliveira, M. B. P. P., & Ferreira, I. C. F. R. (2017b). Hibiscus sabdariffa L., as a source of nutrients, bioactive compounds and colouring agents. *Food Research International*, *100*, 717–723. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.07.073>
- Jackson, C., & Christian, K. R. (2009). Changes in total phenolic and monomeric anthocyanin composition and antioxidant activity of three varieties of sorrel (Hibiscus sabdariffa) during maturity. *Journal of Food Composition and Analysis*, *22*, 663–667. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2009.05.007>
- Juliani, H. R., Welch, C. R., Wu, Q., Diouf, B., Malainy, D., & Simon, J. E. (2009). Chemistry and quality of hibiscus (Hibiscus sabdariffa) for developing the natural-

product industry in Senegal. *Journal of Food Science*, 74(2).
<https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2009.01076.x>

Jung, E., Kim, Y., & Joo, N. (2013). Physicochemical properties and antimicrobial activity of Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 9(15), 3769–3776. <https://doi.org/10.1002/jsfa.6256>

Kähkönen, M. P., & Heinonen, M. (2003). Antioxidant activity of anthocyanins and their aglycons. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(3), 628–633. <https://doi.org/10.1021/jf025551i>

Kane, A., Achir, N., Cisse, M., Pallet, D., Sakho, M., & Dornier, M. (2017). Identification of roselle varieties through simple discriminating physicochemical characteristics using multivariate analysis. *Food Science and Technology*, 1–7.

Lin, H.-H., Chen, J.-H., & Wang, C.-J. (2011). Chemopreventive Properties and Molecular Mechanisms of the Bioactive Compounds in *Hibiscus Sabdariffa* Linne. *Current Medicinal Chemistry*, 18(8), 1245–1254. <https://doi.org/10.2174/092986711795029663>

López-Nahuatt, G., Sumaya-Martínez, M. T., Jiménez-Ruiz, E. I., Balois-Morales, R., Medina-Carrillo, R. E., & Guzmán-Ceferino, J. (2017). Propiedades antimicrobianas y antioxidantes de Jamaica. *Acta Agrícola Y Pecuaria*, 3(3), 61–69.

Lowings, M., Ehlers, M. M., & Kock, M. M. (2015). *Acinetobacter baumannii*: A Superbug. *The Battle against Microbial Pathogens: Basic Science, Technological Advances and Educational Programs*. Badajoz: Formatex Research Center, 587–597.

Mahadevan, N., Shivali, K., & Kamboj, P. (2009). *Hibiscus sabdariffa* Linn: an overview. *Natural Product Radiance*, 8(1), 77–83. <https://doi.org/ISSN:0972-592X>

Manach, C., Williamson, G., Morand, C., Scalbert, A., & Rémésy, C. (2005). Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. II. Review of 93 intervention studies. *Am J Clin Nutr*, 81, 243S–255S. <https://doi.org/81/1/230S> [pii]

Martínez, M. T. S., Carrillo, R. E. M., Sánchez, M. L. M., Ruiz, E. J., Morales, R. B., & Herrera, L. M. S. (2014). POTENCIAL DE LA JAMAICA (HIBISCUS SABDARIFFA L.) EN LA ELABORACIÓN DE ALIMENTOS FUNCIONALES CON ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE, *Revista Mexicana De Agronegocios*, 35, 1082-1088.

Medina-Carrillo, R. E., Sumaya-Martínez, M. T., Machuca-Sánchez, M. L., Sánchez-Herrera, L. M., Balois-Morales, R., & Jiménez-Ruiz, E. I. (2013). Actividad antioxidante de extractos de cálices deshidratados de 64 variedades de Jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) en función de fenólicos y antocianinas totales. *Revista Ciencias Técnicas Agropecuarias*, 22, 41–44.

Mercado-Mercado, G., Blancas-Benitez, F. J., Velderrain-Rodríguez, G. R., Montalvo-González, E., González-Aguilar, G. A., Alvarez-Parrilla, E., & Sáyago-Ayerdi, S. G.

- (2015). Bioaccessibility of polyphenols released and associated to dietary fibre in calyces and decoction residues of Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.). *Journal of Functional Foods*, 18, 171–181. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.07.001>
- Mohamed, B. B., Sulaiman, A. A., & Dahab, A. A. (2012). Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L .) in Sudan , Cultivation and Their Uses. *Bull. Environ. Pharmacol. Life Sci*, 1(6), 48–54.
- Morales-Soto, A., García-Salas, P., Rodríguez-Pérez, C., Jiménez-Sánchez, C., Cádiz-Gurrea, M. de la L., Segura-Carretero, A., & Fernández-Gutiérrez, A. (2014). Antioxidant capacity of 44 cultivars of fruits and vegetables grown in Andalusia (Spain). *Food Research International*, 58, 35–46. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.01.050>
- Ojokoh., A. O., Adetuyi, F. C., Akinyosoye, F. A., & Oyetayo, V. O. (2002). Fermentation Studies on Roselle (*Hibiscus Sabdariffa*) Calyces Neutralised with Trona. *The Journal of Food Technology in Africa*, 7(3), 75–78.
- Omorodion, N. T., & Achukwu, P. U. (2017). Investigation of *Hibiscus Sabdariffa* (Roselle) as Histological Stain and in Assessment of Bar Bodies. *American Journal of Biomedical Sciences*, 9(1), 15–19. <https://doi.org/10.5099/aj170100015>
- Ou, B., Hampsch-Woodill, M., & Prior, R. L. (2001). Development and validation of an improved oxygen radical absorbance capacity assay using fluorescein as the fluorescent probe. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(10), 4619–4626. <https://doi.org/10.1051/jp2:1995126>
- Pandey, A., & Tripathi, S. (2014). Concept of standardization, extraction and pre phytochemical screening strategies for herbal drug. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 2(5), 115–119. <https://doi.org/2278-4136>
- Peñarrieta, J. M., Tejada, L., Mollinedo, P., Vila, J. L., & Bravo, J. A. (2014). Compuestos fenólicos y su presencia en alimentos. *Bolivian Journal of Chemistry*, 31(312), 68–81. <https://doi.org/10.1007/s00394-008-2002-2>
- Porrás-Loaiza, A. P., & López-Malo, A. (2009). Importancia de los grupos fenólicos en los alimentos. *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos*, 3(1), 121–124.
- Porter, L. J., Hrstich, L. N., & Chan, B. G. (1985). The conversion of procyanidins and prodelphinidins to cyanidin and delphinidin. *Phytochemistry*, 25(1), 223–230. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)94533-3](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)94533-3)
- Ramamurthy, M. S., Maiti, B., Thomas, P., & Nair, P. M. (1992). High-performance liquid chromatography determination of phenolic acids in potato tubers (*Solanum tuberosum*) during wound healing. *Journal of agricultural and food chemistry*, 40(4), 569–572.
- Ramírez-Rodriguez, M. M., Plaza, M. L., Azeredo, A., Balaban, M. O., & Marshall, M. R. (2012). Phytochemical, sensory attributes and aroma stability of dense phase carbon dioxide processed *Hibiscus sabdariffa* beverage during storage. *Food Chemistry*,

134(3), 1425–1431. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.03.042>

- Reyes-Luengas, A., Salinas-Moreno, Y., Ovando-Cruz, M., Arteaga-Garibay, R., & Martínez-Peña, M. (2015). Análisis de ácidos fenólicos y actividad antioxidante de extractos acuosos de variedades de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) con cálices de colores diversos. *Agrociencia*, 49(3), 277–290.
- Riaz, G., & Chopra, R. (2018). A review on phytochemistry and therapeutic uses of *Hibiscus sabdariffa* L. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 102(May 2017), 575–586. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.03.023>
- Rodríguez-Medina, I. C., Beltrán-Debón, R., Molina, V. M., Alonso-Villaverde, C., Joven, J., Menéndez, J. A., ... 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. *Journal of Separation Science*, 32(20), 3441–3448. <https://doi.org/10.1002/jssc.200900298>
- Ross, I. A. (2003). *Medicinal plants of the world* (Vol. 1).
- SAGARPA. (2009). Anuario estadístico. 2009S. Consultado en www.sagarpa.gob.mx. el 3 de junio de 2012
- SAGARPA, 2016. Consultado en <https://www.gob.mx/sagarpa/articulos/conoce-mas-sobre-la-flor-de-jamaica>. El 10 de noviembre de 2018
- Salazar-González, C., Vergara-Balderas, F. T., Ortega-Regules, A. E., & Guerrero-Beltrán, J. Á. (2012). Antioxidant properties and color of *Hibiscus sabdariffa* extracts. *Ciencia E Investigación Agraria*, 39(1), 79–90.
- Salinas-Moreno, Y., Zúñiga-Hernández, A. R. E., Serrano-Altamirano, V., & Sánchez-Feria, C. (2012). Color en cálices de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) y su relación con características fisicoquímicas de sus extractos acuosos. *Revista Chapingo. Serie Horticultura*, 18(3), 395–407. <https://doi.org/10.5154/r.rchsh.2011.08.038>
- Sánchez-Feria, C., González-Hernández, V. A., Salinas-Moreno, Y., & Cruz-Huerta, N. (2017). Efecto de genotipo y ambiente en la calidad fisicoquímica de variedades mexicanas de *Hibiscus sabdariffa* L. *Agrociencia*, 51(5), 525–541.
- Sánchez, E., García, S., & Heredia, N. (2010). Extracts of Edible and Medicinal Plants Damage Membranes of *Vibrio cholerae* □. *Applied and Enviromental Microbiology*, 76(20), 6888–6894. <https://doi.org/10.1128/AEM.03052-09>
- Sánchez, E., Heredia, N., Camacho-Corona, M. D. R., & García, S. (2013). Isolation, characterization and mode of antimicrobial action against *Vibrio cholerae* of methyl gallate isolated from *Acacia farnesiana*. *Journal of Applied Microbiology*, 115, 1307–1316. <https://doi.org/10.1111/jam.12328>
- Saura-Calixto, F., García-Alonso, A., Goñi, I., & Bravo, L. (2000). In Vitro Determination of the Indigestible Fraction in Foods: An Alternative to Dietary Fiber Analysis. *Journal*

of Agricultural and Food Chemistry, 48(8), 3342–3347.

- Saura-Calixto, F., Serrano, J., & Goñi, I. (2007). Intake and bioaccessibility of total polyphenols in a whole diet. *Food Chemistry*, 101(2), 492–501. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.02.006>
- Sáyago-Ayerdi, S. G., Arranz, S., Serrano, J., & Goñi, I. (2007). Dietary Fiber Content and Associated Antioxidant Compounds in Roselle Flower (*Hibiscus sabdariffa* L.) Beverage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(19), 7886–7890. <https://doi.org/10.1021/jf070485b>
- Sáyago-Ayerdi, S. G., & Goñi, I. (2010). Hibiscus sabdariffa L: Fuente de fibra antioxidante. *Archivos Latinoamericanos de Nutricion*, 60(1), 79–84. <https://doi.org/10.1007/s12205-011-1125-9>
- Sáyago-Ayerdi, S. G., Velázquez-López, C., Montalvo-González, E., & Goñi, I. (2014). By-product from decoction process of *Hibiscus sabdariffa* L. calyces as a source of polyphenols and dietary fiber. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 94(5), 898–904. <https://doi.org/10.1002/jsfa.6333>
- SIAP, S. de I. A. (2004). Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA). In *Anuario Estadístico 2004*. México. Retrieved from http://infosiap.siap.gob.mx/aagricola_siap_gb/icultivo/index.jsp
- Sindi, H. A., Marshall, L. J., & Morgan, M. R. A. (2014). Comparative chemical and biochemical analysis of extracts of *Hibiscus sabdariffa*. *FOOD CHEMISTRY*, 164, 23–29. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.04.097>
- Sinela, A., Rawat, N., Mertz, C., Achir, N., Fulcrand, H., & Dornier, M. (2017). Anthocyanins degradation during storage of *Hibiscus sabdariffa* extract and evolution of its degradation products. *Food Chemistry*, 214, 234–241. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.07.071>
- Singleton, V.L.; Orthofer, R.; Lamuela-Raventos, R.M. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of the Folin-Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology* 299:152-178
- Sukwattanasinit, T., Burana-Osot, J., & Sotanaphun, U. (2016). Simple and rapid spectrophotometric method for quality determination of roselle (*Hibiscus sabdariffa*). *Journal of Pharmaceutical Sciences (TJPS)*, 40(4), 194–199.
- Sumaya-Martínez, M. T., Medina-Carrillo, R. E., Machuca-Sánchez, M. L., Jiménez-Ruiz, E., Balois-Morales, R., & Sánchez-Herrera, L. M. (2014). Potencial de la jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) En la elaboración de alimentos funcionales con actividad antioxidante. *Revista Mexicana de Agronegocios*, 18(35), 1082–1088.
- Tahir, H. E., Xiaobo, Z., Jiyong, S., Mariod, A. A., & Wiliam, T. (2016). Rapid Determination of Antioxidant Compounds and Antioxidant Activity of Sudanese

- Karkade (Hibiscus sabdariffa L.) Using Near Infrared Spectroscopy. *Food Analytical Methods*, 9(5), 1228–1236. <https://doi.org/10.1007/s12161-015-0299-z>
- Thaipong, K., Boonprakob, U., Crosby, K., Cisneros-zevallos, L., & Hawkins, D. (2006). Comparison of ABTS , DPPH , FRAP , and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19(6), 669–675. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2006.01.003>
- Traidej, M., & Surassmo, S. (2009). Fitoterapia Antibacterial Activity of Thai Medicinal Plants against Methicillin-resistant Staphylococcus aureus. *Fitoterapia*, 80(2), 102–104. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2008.10.007>
- Tsai, P. J., & Huang, H. P. (2004). Effect of polymerization on the antioxidant capacity of anthocyanins in Roselle. *Food Research International*, 37(4), 313–318. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2003.12.007>
- Tsai, P. J., McIntosh, J., Pearce, P., Camden, B., & Jordan, B. R. (2002). Anthocyanin and antioxidant capacity in Roselle (Hibiscus sabdariffa L.) extract. *Food Research International*, 35(4), 351–356. [https://doi.org/10.1016/S0963-9969\(01\)00129-6](https://doi.org/10.1016/S0963-9969(01)00129-6)
- Vargas-León, E. A., Díaz-Batalla, L., González-Cruz, L., Bernardino-Nicanor, A., Castro-Rosas, J., Reynoso-Camacho, R., & Gómez-Aldapa, C. A. (2018). Effects of acid hydrolysis on the free radical scavenging capacity and inhibitory activity of the angiotensin converting enzyme of phenolic compounds of two varieties of jamaica (Hibiscus sabdariffa). *Industrial Crops and Products*, 116, 201–208. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.02.044>
- Vázquez-Flores, A. A., Álvarez-Parrilla, E., López-Díaz, J. A., Wall-Medrano, A., & De la Rosa, L. A. (2012). Taninos hidrolizables y condensados: naturaleza química, ventajas y desventajas de su consumo. *Tecnociencia Chihuahua*, 6(2), 84–93. <https://doi.org/10.3305/nh.2015.31.1.7699>
- Wagner, H., & Baldat, S. (1966). *Plant drug analysis: a thin layer chromatography atlas. Eukaryotic Transcription Factors* (Segunda Ed). Springer Science & Business Media. <https://doi.org/10.1016/B978-012373983-4.50006-7>
- Yang, M. Y., Peng, C. H., Chan, K. C., Yang, Y. I. S., Huang, C. N., & Wang, C. J. (2010). The hypolipidemic effect of Hibiscus sabdariffa polyphenols via inhibiting lipogenesis and promoting hepatic lipid clearance. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(2), 850–859. <https://doi.org/10.1021/jf903209w>
- Zarkani, A. (2016). Antimicrobial activity of Hibiscus sabdariffa and Sesbania grandiflora extracts against some G-ve and G+ve strains. *Banat's Journal of Biotechnology*, 7(13), 29–34. <https://doi.org/10.7904/2068>
- Zhen, J., Villani, T. S., Guo, Y., Qi, Y., Chin, K., Pan, M. H., ... Wu, Q. (2016). Phytochemistry, antioxidant capacity, total phenolic content and anti-inflammatory activity of Hibiscus sabdariffa leaves. *Food Chemistry*, 190, 673–680.

<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.06.006>



ANEXOS

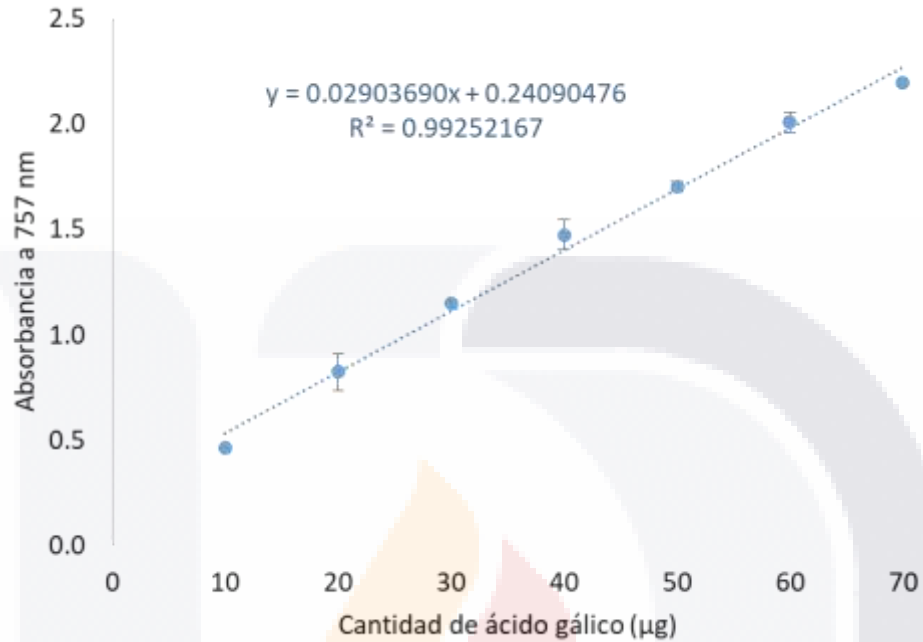


Figura 21. Curva de calibración de ácido gálico. Medias ± desviación estándar; n=3.

Tabla 13. Contenido de fenoles solubles totales en Jamaica (mg EAG/g bs).

Variedad	Agua	Etanol	Metanol
C ^{bcd}	16.20 ± 1.26 **	6.24 ± 0.62 *	19.79 ± 0.74 ***
FR ^{cde}	16.29 ± 0.77 ***	3.43 ± 0.07 *	9.44 ± 0.35 **
FM ^{bc}	22.85 ± 0.52 ***	5.68 ± 0.11 *	14.75 ± 0.67 **
FRX ^e	9.19 ± 0.58 ***	5.95 ± 0.04 *	7.45 ± 0.19 **
FB ^e	10.52 ± 0.56 ***	3.84 ± 0.40 *	7.51 ± 0.49 **
FN ^b	25.53 ± 0.44 ***	2.57 ± 0.08 *	17.27 ± 0.32 **
SG ^a	31.48 ± 0.50 ***	8.79 ± 0.23 *	21.70 ± 0.46 **
ABG ^{de}	13.93 ± 0.25 ***	4.61 ± 0.37 *	9.57 ± 0.29 **
CTG ^{bcde}	17.86 ± 0.25 ***	2.60 ± 0.05 *	10.53 ± 0.24 **

Las letras indican la diferencia estadísticamente significativas entre las variedades; N=9
 *, ** y *** Indican las diferencias estadísticamente significativas entre los disolventes por cada variedad; n=3
 Media ± DE. (Tukey, p ≤ 0.05)

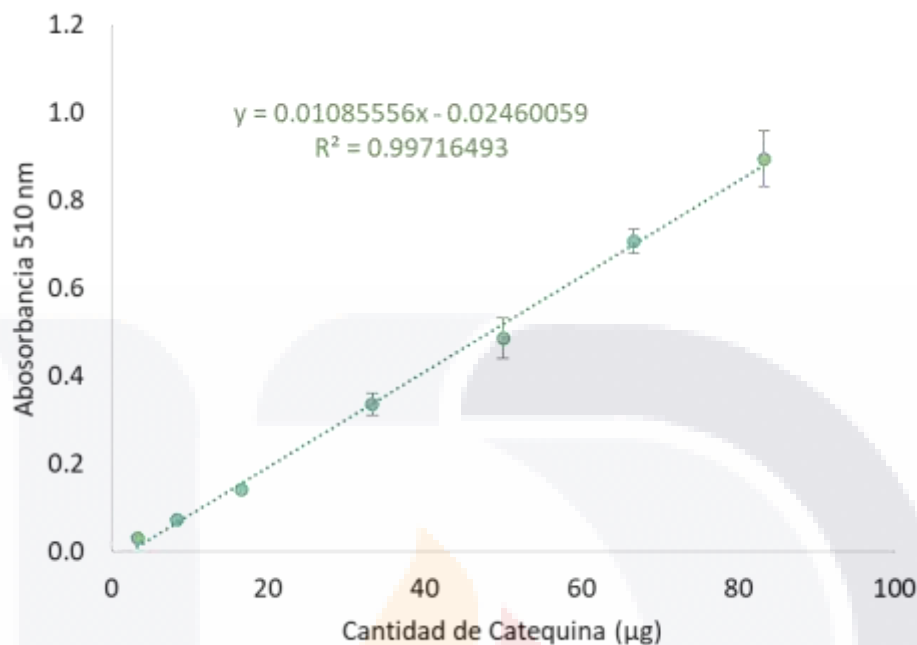


Figura 22. Curva de calibración de catequina.
Medias ± desviación estándar; n=3.

Tabla 14. Cantidad de flavonoides (mg EC/g bs).

Variedad	Agua	Etanol	Metanol
C^b	10.10 ± 0.39 ***	7.19 ± 0.27 *	8.26 ± 0.13 **
FR^{ab}	10.14 ± 0.71 *	10.04 ± 0.14 *	10.61 ± 0.29 *
FM^a	12.91 ± 0.19 *	12.22 ± 1.16 *	11.43 ± 0.53 *
FRX^{ab}	7.61 ± 0.37 *	11.16 ± 0.25 **	12.13 ± 0.58 **
FB^{ab}	7.25 ± 0.30 *	10.68 ± 1.02 **	11.77 ± 0.62 **
FN^b	10.04 ± 0.25 **	9.89 ± 2.12 *	10.84 ± 0.23 **
SG^a	13.51 ± 0.76 **	8.97 ± 0.26 *	12.13 ± 0.25 **
ABG^{ab}	9.91 ± 0.24 **	5.50 ± 1.66 *	13.77 ± 0.56 ***
CTG^{ab}	8.33 ± 0.25 *	9.12 ± 0.78 *	11.04 ± 0.49 **

Las letras indican la diferencia estadísticamente significativas entre las variedades; N=9
*, ** y *** Indican las diferencias estadísticamente significativas entre los disolventes por cada variedad; n=3
Media ± DE. (Tukey, p ≤ 0.05)

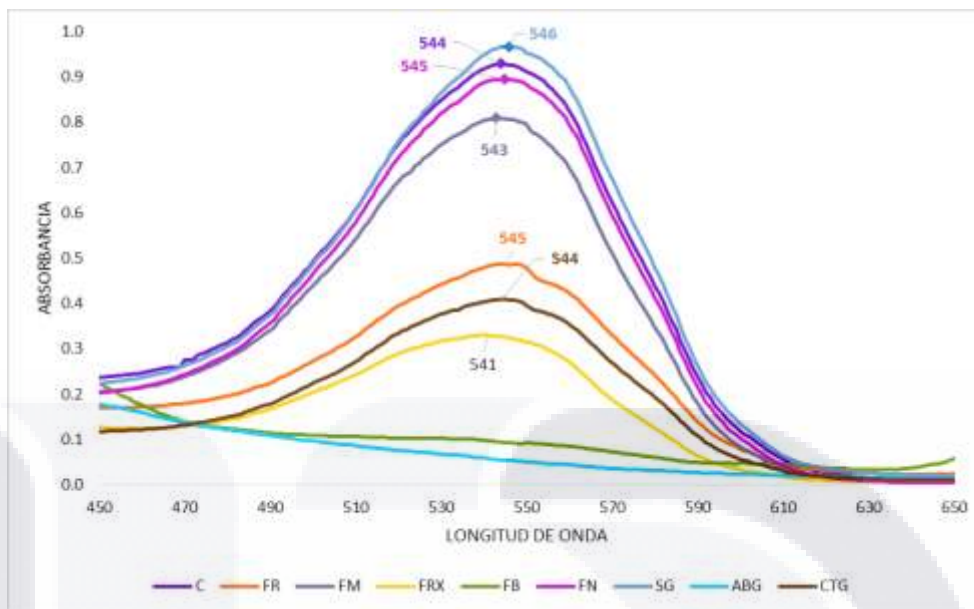
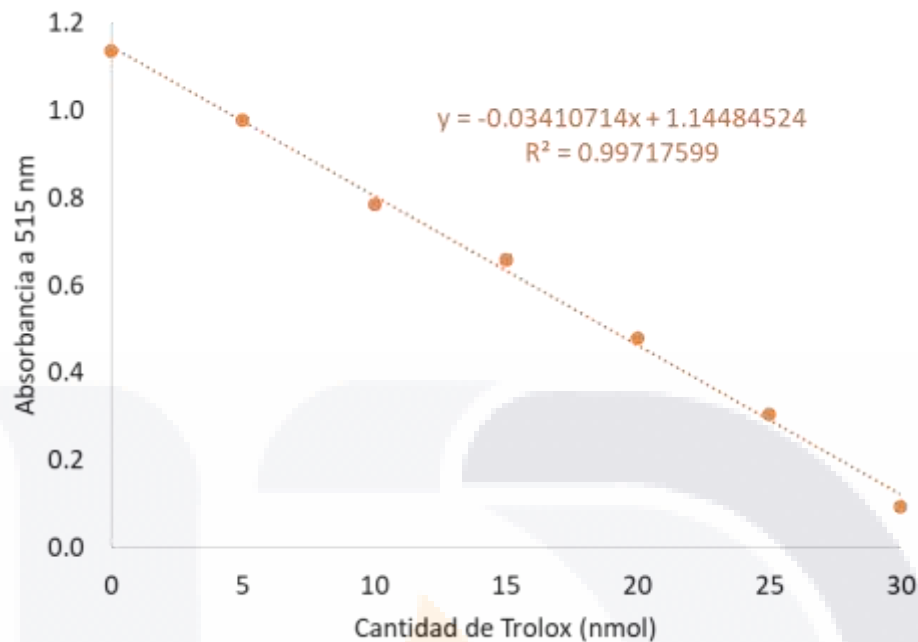


Figura 23. Espectros de absorción de antocianinas totales en diversas variedades de flor de Jamaica.

Tabla 15. Antocianinas totales en cálices de Jamaica.

Variedad	mg EC3G/100 g (bs)	Longitud de onda (nm)
C	1026.32 ± 42.97 b	544
FR	396.46 ± 45.39 cd	545
FM	620.95 ± 40.88 c	543
FRX	122.55 ± 5.02 de	541
FB	7.47 ± 1.03 e	535
FN	2114.68 ± 166.26 a	545
SG	2217.35 ± 301.71 a	546
ABG	23.55 ± 8.17 e	535
CTG	437.26 ± 19.93 cd	544

Las letra indican las diferencias estadísticamente significativas entre las variedades Media ± DE, n=3. (Tukey, p ≤ 0.05)

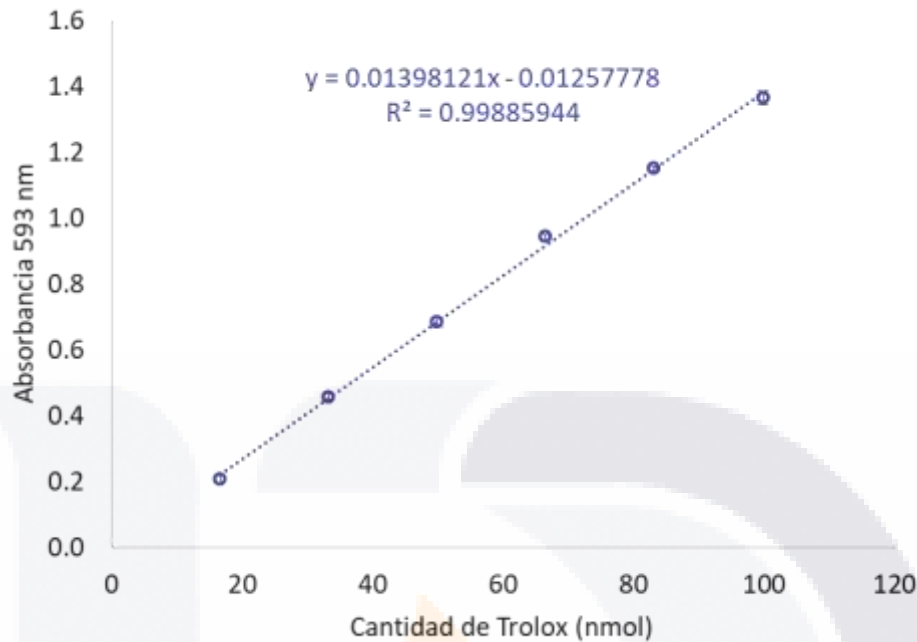


**Figura 24. Curva de calibración de capacidad antioxidante (TEAC-DPPH).
Media ± desviación estándar; n=3.**

Tabla 16. Actividad antioxidante (TEAC-DPPH) polifenoles extraíbles (µmol ET/g bs).

Variedad	Agua	Etanol	Metanol
C^b	96.63 ± 4.87**	47.07 ± 2.38 *	109.61 ± 2.43 ***
FR^b	104.27 ± 0.91***	37.26 ± 1.49*	81.81 ± 1.31**
FM^b	116.98 ± 5.32***	35.96 ± 1.29*	94.04 ± 5.95**
FRX^c	68.74 ± 0.29**	35.06 ± 1.05*	67.55 ± 2.20**
FB^c	76.05 ± 7.16**	28.24 ± 0.78 *	69.70 ± 1.53**
FN^a	142.78 ± 3.70***	53.99 ± 1.05*	126.26 ± 1.26**
SG^a	162.21 ± 1.93***	57.62 ± 2.17*	132.17 ± 2.40**
ABG^b	95.35 ± 4.57**	41.59 ± 0.71*	86.07 ± 1.90**
CTG^{bc}	97.07 ± 2.29***	38.37 ± 1.58*	74.22 ± 0.86**

Las letras indican la diferencia estadísticamente significativas entre las variedades; N=9
 *, ** y *** Indican las diferencias estadísticamente significativas entre los disolventes por cada variedad; n=3
 Media ± DE. (Tukey, p ≤ 0.05)



**Figura 25. Curva de calibración de capacidad antioxidante (FRAP).
Media ± desviación estándar; n=3.**

Tabla 17. Actividad antioxidante (FRAP) polifenoles extraíbles (µmol ET/g bs).

Variedad	Agua	Etanol	Metanol
C ^{bc}	222.65 ± 6.05**	60.36 ± 1.69*	221.77 ± 11.27**
FR ^{cd}	165.69 ± 1.08**	68.36 ± 3.97*	159.96 ± 3.35**
FM ^{bc}	224.90 ± 3.64***	95.90 ± 3.61*	187.23 ± 11.88**
FRX ^d	132.06 ± 4.03**	72.71 ± 0.68*	130.21 ± 3.61**
FB ^d	129.65 ± 1.77**	52.94 ± 0.44*	158.00 ± 1.35**
FN ^b	259.84 ± 12.9**	91.41 ± 3.32*	258.91 ± 8.33**
SG ^a	362.84 ± 35.17**	123.00 ± 2.46*	335.90 ± 5.30**
ABG ^{cd}	161.48 ± 7.39**	71.40 ± 1.10*	163.35 ± 6.90**
CTG ^{cd}	179.83 ± 1.26***	86.28 ± 1.10*	168.28 ± 4.09**

Las letras indican la diferencia estadísticamente significativas entre las variedades; N=9
 *, ** y *** Indican las diferencias estadísticamente significativas entre los disolventes por cada variedad; n=3
 Media ± DE. (Tukey, p ≤ 0.05)

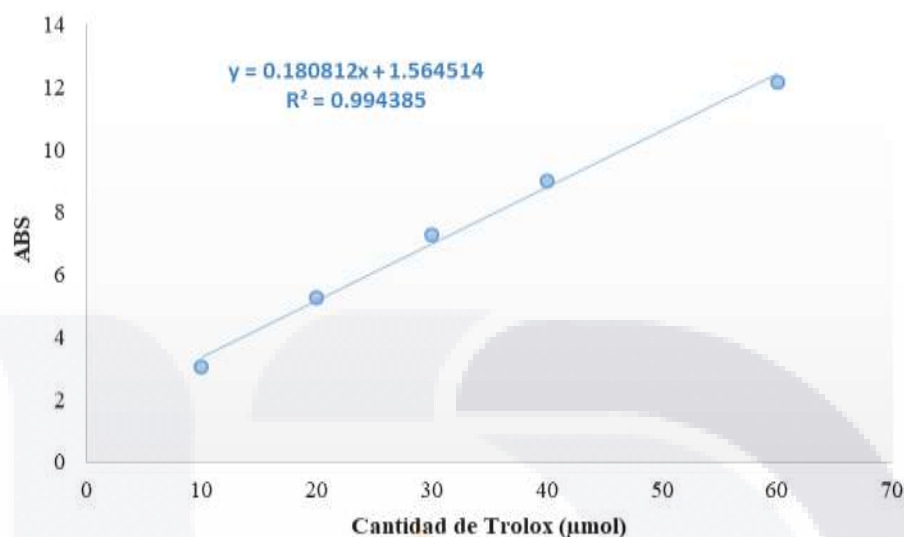


Figura 26. Curva de calibración de capacidad antioxidante (ORAC).

Tabla 18. Actividad antioxidante (ORAC) de extracto de cáliz de Jamaica (µmol ET/g bs).

Variedad	Metanol:Acetona (50:50 v/v)
C	678.91 ± 17.70 de
FR	515.72 ± 0.055 f
FM	602.20 ± 35.21 def
FRX	576.55 ± 6.34 ef
FB	629.72 ± 24.10 def
FN	1135.10 ± 7.40 b
SG	1303.31 ± 83.02 a
ABG	869.10 ± 11.52 c
CTG	715.70 ± 1.29 d

Las letras indican la diferencia estadísticamente significativas entre las variedades

Medias ± DE; n=3 (Tukey, $p \leq 0.05$)

Tabla 19. Taninos condensados en residuos (mg EPA/g bs).

Variedad	Agua	Metanol	Etanol
C ^{cd}	100.70 ± 5.21**	138.25 ± 4.83***	69.51 ± 2.16*
FR ^{cd}	59.41 ± 4.02**	93.45 ± 9.21***	38.74 ± 2.34*
FM ^c	106.24 ± 8.62**	145.02 ± 2.07***	74.25 ± 3.06*
FRX ^d	72.14 ± 3.33**	76.90 ± 5.51*	27.16 ± 0.69**
FB ^d	52.22 ± 4.55**	105.71 ± 7.06***	14.81 ± 1.22*
FN ^b	165.79 ± 11.75**	213.07 ± 14.18***	106.48 ± 7.38*
SG ^a	370.02 ± 18.88 ***	318.92 ± 26.11***	132.49 ± 11.90*
ABG ^{cd}	61.21 ± 5.63**	155.02 ± 13.97***	30.65 ± 1.35*
CTG ^{cd}	78.68 ± 3.10**	102.85 ± 9.03***	51.08 ± 4.14*

Las letras indican la diferencia estadísticamente significativas entre las variedades; N=9
 *, ** y *** Indican las diferencias estadísticamente significativas entre los disolventes por cada variedad; n=3
 Media ± DE. (Tukey, p ≤ 0.05)

Tabla 20. Actividad antioxidante de taninos condensados-FRAP (µmol ET/g bs).

Variedad	Agua	Metanol	Etanol
C ^c	126.99 ± 8.03*	113.91 ± 7.09*	195.01 ± 10.94**
FR ^c	188.51 ± 0.97**	114.83 ± 8.54*	116.02 ± 3.01*
FM ^{bc}	128.71 ± 5.77*	167.40 ± 11.29**	188.43 ± 11.84**
FRX ^c	154.05 ± 7.53**	98.43 ± 6.48*	139.09 ± 12.52**
FB ^{bc}	168.46 ± 10.36**	170.86 ± 16.95**	135.57 ± 7.23*
FN ^b	182.38 ± 18.15*	161.32 ± 1.84*	248.00 ± 24.50**
SG ^a	213.70 ± 16.04*	221.24 ± 16.55*	332.42 ± 17.65**
ABG ^{bc}	166.38 ± 13.99*	201.13 ± 5.60**	168.28 ± 10.24* y **
CTG ^c	161.76 ± 13.01**	127.36 ± 4.34*	139.35 ± 11.46*

Las letras indican la diferencia estadísticamente significativas entre las variedades; N=9
 *, ** y *** Indican las diferencias estadísticamente significativas entre los disolventes por cada variedad; n=3
 Media ± DE. (Tukey, p ≤ 0.05)

Tabla 21. Taninos hidrolizables en residuos (mg EAG/g bs).

Variedad	Agua	Metanol	Etanol
C ^{bc}	20.62 ± 2.00**	16.44 ± 0.92*/**	12.93 ± 0.50*
FR ^b	21.68 ± 1.89**	19.55 ± 1.48**	13.43 ± 1.19*
FM ^b	24.89 ± 2.41**	21.99 ± 2.01**	14.65 ± 0.89*
FRX ^{bc}	25.49 ± 2.16***	18.02 ± 1.33**	8.17 ± 0.62*
FB ^{cd}	17.67 ± 0.40**	16.09 ± 0.82**	8.80 ± 0.66*
FN ^b	18.75 ± 1.50*	19.41 ± 0.57*	20.13 ± 0.95*
SG ^a	30.46 ± 2.91**	25.72 ± 2.17**	20.11 ± 0.88*
ABG ^{bc}	18.69 ± 1.28**	21.35 ± 1.360**	11.64 ± 0.46*
CTG ^d	16.06 ± 1.37***	12.55 ± 1.13**	7.27 ± 0.57*

Las letras indican la diferencia estadísticamente significativas entre las variedades; N=9
 *, ** y *** Indican las diferencias estadísticamente significativas entre los disolventes por cada variedad; n=3
 Media ± DE. (Tukey, p ≤ 0.05)

Tabla 22. Actividad antioxidante taninos hidrolizables-DPPH (µmol ET/g bs).

Variedad	Agua	Metanol	Etanol
C ^{ab}	1938.59 ± 55.50***	1203.04 ± 76.93**	965.53 ± 21.19*
FR ^b	1966.88 ± 38.80***	1173.21 ± 99.31**	641.51 ± 41.40*
FM ^b	1812.05 ± 9.45***	1233.89 ± 26.29**	762.88 ± 9.25*
FRX ^a	1761.44 ± 74.88**	1990.31 ± 56.83***	1069.35 ± 10.92*
FB ^b	1566.14 ± 37.52***	1172.55 ± 45.76**	923.78 ± 24.51*
FN ^b	1498.26 ± 40.70***	1259.00 ± 35.09**	1033.10 ± 83.15*
SG ^{ab}	1951.54 ± 34.46***	1269.48 ± 33.28**	1027.01 ± 34.50*
ABG ^b	1416.26 ± 15.73***	1146.57 ± 10.47**	953.17 ± 62.13*
CTG ^{ab}	1912.39 ± 20.81***	1180.13 ± 13.34**	1097.43 ± 13.47*

Las letras indican la diferencia estadísticamente significativas entre las variedades; N=9
 *, ** y *** Indican las diferencias estadísticamente significativas entre los disolventes por cada variedad; n=3
 Media ± DE. (Tukey, p ≤ 0.05)

Tabla 23. Actividad antioxidante taninos hidrolizables-FRAP ($\mu\text{mol ET/g bs}$).

Variedad	Agua	Metanol	Etanol
C^{bc}	183.06 \pm 15.48*	175.41 \pm 14.92*	171.00 \pm 9.32*
FR^{bc}	215.13 \pm 3.46**	153.82 \pm 12.19*	133.78 \pm 12.59*
FM^{ab}	234.70 \pm 8.94**	200.25 \pm 12.13*/**	176.72 \pm 13.31*
FRX^{bc}	211.06 \pm 15.05**	190.16 \pm 17.18*/**	147.33 \pm 9.70*
FB^c	168.48 \pm 2.52**	144.26 \pm 1.68*	134.82 \pm 7.09*
FN^{bc}	167.36 \pm 8.14**	124.02 \pm 9.45*	235.56 \pm 22.82***
SG^a	273.96 \pm 18.89**	143.59 \pm 1.46*	291.52 \pm 26.05**
ABG^{abc}	196.34 \pm 3.74*	215.14 \pm 3.93*	186.87 \pm 17.60*
CTG^{bc}	210.26 \pm 13.41**	135.36 \pm 8.68*	174.52 \pm 15.08*/**

Las letras indican la diferencia estadísticamente significativas entre las variedades; N=9
 *, ** y *** Indican las diferencias estadísticamente significativas entre los disolventes
 por cada variedad; n=3
 Media \pm DE. (Tukey, $p \leq 0.05$)

Tabla 24. Correlación de Pearson de PE y PNE.

	Color	Fenoles A	Fenoles M	Fenoles E
Fenoles A	0.790 0.011			
Fenoles M	0.133 0.734	0.248 0.520		
Fenoles E	0.913 0.001	0.817 0.007	0.448 0.226	
Flavonoides A	0.597 0.090	0.834 0.005	0.477 0.195	0.739 0.023
Flavonoides M	-0.377 0.318	-0.235 0.542	0.314 0.410	-0.349 0.357
Flavonoides E	-0.624 0.072	-0.068 0.863	0.095 0.808	-0.430 0.248
Cenizas	-0.027 0.946	-0.392 0.296	0.093 0.813	0.020 0.958
Humedad	0.198 0.610	-0.142 0.715	-0.128 0.743	0.205 0.597
Antocianinas	0.880 0.002	0.881 0.002	0.256 0.506	0.873 0.002
DPPH A	0.777 0.014	0.982 0.000	0.222 0.565	0.798 0.010
DPPH E	0.817 0.007	0.796 0.010	0.259 0.501	0.857 0.003
DPPH M	0.868 0.002	0.863 0.003	0.327 0.391	0.937 0.000
FRAP A	0.824 0.006	0.950 0.000	0.472 0.200	0.916 0.001

FRAP E	0.525 0.147	0.889 0.001	0.341 0.370	0.607 0.083
FRAP M	0.819 0.007	0.895 0.001	0.458 0.215	0.906 0.001
ORAC	0.555 0.121	0.770 0.015	0.275 0.474	0.666 0.050
CMB S. aureus M	0.247 0.521	0.493 0.177	0.522 0.149	0.494 0.177
CMB S. typhi M	0.125 0.749	0.572 0.107	0.060 0.878	0.174 0.654
CMB A. baumannii	-0.000 1.000	0.342 0.367	0.036 0.927	0.017 0.965
CMB S. aureus A	0.403 0.282	0.217 0.575	0.300 0.433	0.284 0.459
CMB S. typhi A	0.112 0.775	0.397 0.290	0.455 0.219	0.198 0.610
CMB A. baumannii	0.157 0.687	0.288 0.452	0.621 0.074	0.244 0.528
S. aureus M	-0.060 0.878	0.396 0.292	0.285 0.458	0.220 0.569
S. typhi M	0.191 0.622	-0.096 0.806	-0.402 0.283	0.028 0.942
A. baumannii M	-0.051 0.895	-0.060 0.878	0.120 0.759	0.206 0.595
S. aureus A	-0.212 0.584	-0.302 0.429	0.224 0.562	-0.116 0.766
S. typhi A	-0.051 0.895	-0.060 0.878	0.120 0.759	0.206 0.595

A. baumannii A	-0.570 0.109	-0.326 0.392	-0.479 0.192	-0.589 0.095
Ac. Gálico	-0.048 0.903	-0.415 0.267	-0.225 0.561	-0.205 0.596
Ac. Benzoico	0.814 0.008	0.884 0.002	0.396 0.291	0.851 0.004
Ac. Clorogénico	0.103 0.793	0.165 0.671	-0.400 0.286	-0.104 0.790
Ac. Cumárico	0.579 0.102	0.406 0.278	-0.361 0.340	0.409 0.274
Ac. Ferúlico	-0.094 0.809	0.234 0.545	0.685 0.042	0.197 0.612
Taninos C A	0.647 0.059	0.854 0.003	0.601 0.087	0.775 0.014
Taninos C E	0.871 0.002	0.957 0.000	0.336 0.377	0.914 0.001
Taninos C M	0.637 0.065	0.874 0.002	0.493 0.178	0.797 0.010
Frap TC A	0.178 0.646	0.440 0.236	0.071 0.855	0.114 0.770
Frap TC E	0.701 0.035	0.866 0.003	0.543 0.131	0.866 0.003
Frap TC M	0.089 0.819	0.552 0.124	0.380 0.313	0.344 0.365
Taninos H A	0.251 0.515	0.465 0.207	0.805 0.009	0.439 0.237
Taninos H E	0.747 0.021	0.865 0.003	0.249 0.519	0.788 0.012

Taninos H M	0.230 0.552	0.602 0.086	0.582 0.100	0.453 0.220
Frap Th A	0.208 0.592	0.546 0.128	0.595 0.091	0.334 0.380
Frap Th E	0.648 0.059	0.879 0.002	0.390 0.299	0.779 0.013
Frap Th M	-0.484 0.186	-0.377 0.318	0.285 0.458	-0.228 0.555
DPPH Th A	0.438 0.239	0.244 0.526	0.303 0.428	0.323 0.396
DPPH Th E	0.076 0.845	0.044 0.910	0.093 0.812	0.157 0.687
DPPH Th M	-0.315 0.410	-0.334 0.380	0.236 0.542	-0.267 0.487
	Flavonoides A	Flavonoides M	Flavonoides E	Cenizas
Flavonoides M	-0.015 0.970			
Flavonoides E	-0.006 0.987	0.043 0.913		
Cenizas	-0.281 0.464	-0.160 0.681	-0.422 0.257	
Humedad	-0.219 0.570	-0.794 0.011	-0.179 0.645	0.221 0.568
Antocianinas	0.619 0.075	-0.429 0.249	-0.259 0.501	-0.219 0.572
DPPH A	0.809 0.008	-0.344 0.364	-0.023 0.953	-0.354 0.350
DPPH E	0.600 0.087	-0.636 0.066	-0.156 0.689	-0.194 0.617

DPPH M	0.723 0.028	-0.525 0.146	-0.244 0.528	-0.072 0.854
FRAP A	0.817 0.007	-0.261 0.498	-0.130 0.739	-0.251 0.515
FRAP E	0.752 0.019	-0.024 0.951	0.231 0.550	-0.695 0.038
FRAP M	0.702 0.035	-0.370 0.327	-0.148 0.704	-0.104 0.790
ORAC	0.490 0.180	-0.585 0.098	0.228 0.555	-0.247 0.521
CMB S. aureus M	0.386 0.304	-0.320 0.402	0.340 0.370	0.023 0.952
CMB S. typhi M	0.344 0.365	-0.171 0.659	0.595 0.091	-0.768 0.016
CMB A. baumannii	0.531 0.142	0.175 0.653	0.372 0.324	-0.578 0.103
CMB S. aureus A	0.118 0.763	0.449 0.226	-0.544 0.130	0.130 0.738
CMB S. typhi A	0.323 0.396	0.266 0.489	0.237 0.539	0.035 0.928
CMB A. baumannii	0.331 0.384	0.494 0.177	-0.035 0.930	0.072 0.853
S. aureus M	0.511 0.160	-0.367 0.331	0.697 0.037	-0.160 0.682
S. typhi M	-0.192 0.621	-0.246 0.523	-0.477 0.195	0.463 0.209
A. baumannii M	0.077 0.843	-0.476 0.195	0.140 0.719	0.268 0.486

S. aureus A	0.014 0.972	0.340 0.370	-0.056 0.887	-0.257 0.504
S. typhi A	0.077 0.843	-0.476 0.195	0.140 0.719	0.268 0.486
A. baumannii A	-0.577 0.104	-0.050 0.898	0.554 0.122	-0.355 0.348
Ac. Gálico	-0.446 0.229	0.076 0.846	-0.370 0.327	-0.212 0.583
Ac. Benzoico	0.657 0.055	-0.364 0.336	-0.136 0.727	-0.222 0.565
Ac. Clorogénico	0.239 0.536	-0.094 0.810	-0.017 0.965	-0.020 0.959
Ac. Cumárico	0.071 0.855	-0.628 0.070	-0.336 0.377	-0.014 0.972
Ac. Ferúlico	0.467 0.205	0.375 0.319	0.345 0.363	0.066 0.866
Taninos C A	0.696 0.037	-0.148 0.704	0.067 0.863	-0.310 0.416
Taninos C E	0.768 0.016	-0.314 0.411	-0.198 0.609	-0.325 0.394
Taninos C M	0.731 0.025	-0.383 0.309	0.144 0.712	-0.200 0.606
Frap TC A	0.184 0.636	-0.220 0.570	0.375 0.320	-0.286 0.455
Frap TC E	0.718 0.030	-0.352 0.353	0.026 0.948	-0.211 0.585
Frap TC M	0.542 0.132	-0.249 0.518	0.576 0.104	-0.050 0.897

Taninos H A	0.653 0.056	0.380 0.314	0.141 0.717	-0.409 0.275
Taninos H E	0.771 0.015	-0.413 0.269	-0.090 0.818	-0.208 0.592
Taninos H M	0.805 0.009	-0.040 0.918	0.405 0.279	-0.318 0.405
Frap Th A	0.699 0.036	0.431 0.247	0.257 0.504	-0.552 0.123
Frap Th E	0.671 0.048	-0.437 0.240	0.157 0.687	-0.354 0.351
Frap Th M	0.124 0.751	0.176 0.651	0.330 0.386	0.021 0.957
DPPH Th A	0.320 0.402	0.485 0.186	-0.544 0.130	-0.105 0.788
DPPH Th E	-0.301 0.431	-0.358 0.344	0.127 0.744	-0.154 0.693
DPPH Th M	-0.311 0.415	0.321 0.400	0.169 0.664	-0.432 0.245
	Humedad	Antocianinas	DPPH A	DPPH E
Antocianinas	0.153 0.695			
DPPH A	-0.061 0.877	0.908 0.001		
DPPH E	0.454 0.220	0.911 0.001	0.843 0.004	
DPPH M	0.254 0.510	0.951 0.000	0.898 0.001	0.936 0.000
FRAP A	0.006 0.988	0.919 0.000	0.940 0.000	0.877 0.002

FRAP E	-0.223 0.565	0.704 0.034	0.845 0.004	0.660 0.053
FRAP M	0.092 0.813	0.943 0.000	0.911 0.001	0.898 0.001
ORAC	0.258 0.503	0.824 0.006	0.825 0.006	0.870 0.002
CMB S. aureus M	0.157 0.686	0.415 0.267	0.493 0.177	0.560 0.117
CMB S. typhi M	-0.054 0.891	0.393 0.296	0.567 0.111	0.471 0.201
CMB A. baumannii	-0.240 0.533	-0.043 0.913	0.302 0.430	0.111 0.777
CMB S. aureus A	-0.447 0.228	0.367 0.331	0.194 0.616	0.041 0.917
CMB S. typhi A	-0.491 0.180	0.207 0.594	0.376 0.319	0.140 0.720
CMB A. baumannii	-0.593 0.092	0.331 0.385	0.296 0.440	0.044 0.911
S. aureus M	0.074 0.849	0.196 0.613	0.446 0.229	0.368 0.330
S. typhi M	0.035 0.929	0.135 0.729	-0.028 0.943	-0.076 0.845
A. baumannii M	0.539 0.134	-0.087 0.823	-0.076 0.845	0.170 0.662
S. aureus A	0.092 0.813	-0.235 0.542	-0.341 0.370	-0.214 0.580
S. typhi A	0.539 0.134	-0.087 0.823	-0.076 0.845	0.170 0.662

A. baumannii A	-0.015 0.969	-0.375 0.321	-0.346 0.362	-0.366 0.333
Ac. Gálico	0.380 0.313	-0.157 0.687	-0.431 0.247	-0.135 0.730
Ac. Benzoico	0.103 0.791	0.973 0.000	0.918 0.000	0.912 0.001
Ac. Clorogénico	-0.234 0.544	0.061 0.876	0.258 0.502	0.003 0.994
Ac. Cumárico	0.316 0.407	0.674 0.047	0.493 0.178	0.544 0.130
Ac. Ferúlico	-0.398 0.289	-0.066 0.866	0.160 0.682	-0.009 0.981
Taninos C A	-0.052 0.894	0.851 0.004	0.858 0.003	0.806 0.009
Taninos C E	0.050 0.898	0.958 0.000	0.944 0.000	0.891 0.001
Taninos C M	0.063 0.872	0.859 0.003	0.906 0.001	0.859 0.003
Frap TC A	-0.092 0.814	0.463 0.209	0.543 0.131	0.440 0.236
Frap TC E	0.113 0.773	0.900 0.001	0.879 0.002	0.881 0.002
Frap TC M	-0.171 0.660	0.371 0.326	0.588 0.096	0.396 0.292
Taninos H A	-0.260 0.499	0.422 0.257	0.446 0.228	0.365 0.334
Taninos H E	0.050 0.899	0.904 0.001	0.924 0.000	0.824 0.006

Taninos H M	-0.158 0.685	0.490 0.180	0.657 0.054	0.499 0.171
Frap Th A	-0.413 0.269	0.278 0.469	0.483 0.188	0.288 0.453
Frap Th E	0.155 0.691	0.864 0.003	0.896 0.001	0.896 0.001
Frap Th M	0.121 0.756	-0.513 0.158	-0.392 0.297	-0.305 0.425
DPPH Th A	-0.262 0.497	0.164 0.673	0.152 0.697	0.106 0.787
DPPH Th E	0.487 0.184	0.222 0.566	0.021 0.957	0.337 0.375
DPPH Th M	0.118 0.763	-0.145 0.710	-0.345 0.363	-0.150 0.700
	DPPH M	FRAP A	FRAP E	FRAP M
FRAP A	0.924 0.000			
FRAP E	0.642 0.062	0.841 0.004		
FRAP M	0.944 0.000	0.973 0.000	0.738 0.023	
ORAC	0.818 0.007	0.818 0.007	0.716 0.030	0.874 0.002
CMB <i>S. aureus</i> M	0.492 0.178	0.614 0.079	0.532 0.140	0.658 0.054
CMB <i>S. typhi</i> M	0.302 0.430	0.496 0.174	0.813 0.008	0.434 0.244
CMB <i>A. baumannii</i>	0.001 0.998	0.226 0.559	0.532 0.141	0.051 0.896

CMB S. aureus A	0.205 0.596	0.270 0.482	0.076 0.846	0.303 0.429
CMB S. typhi A	0.162 0.677	0.428 0.251	0.424 0.256	0.449 0.225
CMB A. baumannii	0.245 0.525	0.360 0.341	0.239 0.535	0.391 0.298
S. aureus M	0.368 0.330	0.384 0.307	0.449 0.225	0.371 0.326
S. typhi M	0.133 0.734	-0.158 0.686	-0.457 0.217	-0.049 0.901
A. baumannii M	0.151 0.699	0.026 0.947	-0.077 0.845	0.033 0.933
S. aureus A	-0.201 0.604	-0.241 0.532	-0.117 0.764	-0.354 0.350
S. typhi A	0.151 0.699	0.026 0.947	-0.077 0.845	0.033 0.933
A. baumannii A	-0.480 0.191	-0.451 0.223	-0.079 0.841	-0.434 0.243
Ac. Gálico	-0.268 0.486	-0.362 0.339	-0.292 0.445	-0.393 0.295
Ac. Benzoico	0.929 0.000	0.950 0.000	0.753 0.019	0.976 0.000
Ac. Clorogénico	0.070 0.858	-0.006 0.988	-0.040 0.920	-0.018 0.964
Ac. Cumárico	0.605 0.084	0.352 0.353	0.123 0.753	0.447 0.227
Ac. Ferúlico	0.050 0.899	0.309 0.418	0.357 0.345	0.248 0.520

Taninos C A	0.808 0.008	0.941 0.000	0.848 0.004	0.937 0.000
Taninos C E	0.938 0.000	0.977 0.000	0.837 0.005	0.945 0.000
Taninos C M	0.889 0.001	0.935 0.000	0.791 0.011	0.954 0.000
Frap TC A	0.338 0.374	0.421 0.259	0.453 0.221	0.492 0.178
Frap TC E	0.919 0.000	0.954 0.000	0.791 0.011	0.965 0.000
Frap TC M	0.477 0.195	0.543 0.131	0.529 0.143	0.570 0.109
Taninos H A	0.402 0.283	0.577 0.104	0.622 0.074	0.485 0.186
Taninos H E	0.930 0.000	0.856 0.003	0.659 0.053	0.857 0.003
Taninos H M	0.581 0.101	0.629 0.069	0.626 0.071	0.572 0.107
Frap Th A	0.255 0.508	0.562 0.116	0.758 0.018	0.414 0.268
Frap Th E	0.866 0.003	0.925 0.000	0.855 0.003	0.924 0.000
Frap Th M	-0.297 0.438	-0.320 0.401	-0.210 0.587	-0.421 0.259
DPPH Th A	0.086 0.826	0.299 0.435	0.256 0.506	0.195 0.615
DPPH Th E	0.143 0.714	0.167 0.668	0.208 0.591	0.237 0.539
DPPH Th M	-0.276	-0.231	-0.010	-0.266

	0.473	0.550	0.980	0.489
	ORAC	CMB S. aureus M	CMB S. typhi M	CMB A. baumannii
CMB S. aureus M	0.764 0.017			
CMB S. typhi M	0.680 0.044	0.571 0.109		
CMB A. baumannii	0.071 0.856	0.194 0.617	0.575 0.105	
CMB S. aureus A	-0.061 0.877	-0.237 0.539	-0.306 0.423	-0.360 0.341
CMB S. typhi A	0.372 0.324	0.649 0.059	0.392 0.297	0.301 0.431
CMB A. baumannii	0.142 0.716	0.078 0.843	-0.090 0.817	-0.200 0.605
S. aureus M	0.600 0.087	0.682 0.043	0.542 0.132	0.406 0.278
S. typhi M	-0.159 0.682	-0.527 0.145	-0.630 0.069	-0.680 0.044
A. baumannii M	0.183 0.637	0.433 0.244	-0.017 0.965	-0.045 0.909
S. aureus A	-0.433 0.244	-0.495 0.176	-0.269 0.484	-0.011 0.979
S. typhi A	0.183 0.637	0.433 0.244	-0.017 0.965	-0.045 0.909
A. baumannii A	-0.033 0.933	-0.021 0.957	0.367 0.331	-0.094 0.809
Ac. Gálico	-0.413 0.270	-0.622 0.074	-0.260 0.499	-0.257 0.504

Ac. Benzoico	0.869 0.002	0.547 0.127	0.475 0.196	0.052 0.894
Ac. Clorogénico	-0.079 0.840	-0.359 0.343	-0.070 0.858	0.317 0.405
Ac. Cumárico	0.463 0.209	-0.141 0.718	-0.001 0.997	-0.457 0.216
Ac. Ferúlico	0.162 0.677	0.669 0.049	0.254 0.510	0.439 0.237
Taninos C A	0.848 0.004	0.696 0.037	0.603 0.086	0.202 0.602
Taninos C E	0.802 0.009	0.494 0.177	0.488 0.183	0.165 0.672
Taninos C M	0.935 0.000	0.758 0.018	0.580 0.101	0.168 0.665
Frap TC A	0.629 0.069	0.403 0.282	0.604 0.085	0.212 0.584
Frap TC E	0.905 0.001	0.704 0.034	0.517 0.154	0.073 0.851
Frap TC M	0.706 0.033	0.775 0.014	0.520 0.151	0.231 0.549
Taninos H A	0.303 0.428	0.249 0.519	0.308 0.421	0.317 0.405
Taninos H E	0.750 0.020	0.316 0.408	0.325 0.393	0.087 0.824
Taninos H M	0.541 0.132	0.386 0.305	0.402 0.283	0.397 0.289
Frap Th A	0.275 0.473	0.394 0.295	0.571 0.108	0.745 0.021
Frap Th E	0.960	0.753	0.704	0.220

	0.000	0.019	0.034	0.569
Frap Th M	-0.374 0.321	-0.088 0.822	-0.197 0.611	0.286 0.456
DPPH Th A	-0.187 0.630	-0.070 0.857	-0.050 0.898	0.355 0.349
DPPH Th E	0.473 0.198	0.518 0.153	0.433 0.244	-0.268 0.486
DPPH Th M	-0.179 0.646	-0.277 0.470	0.078 0.843	-0.157 0.686
	CMB S. aureus A	CMB S. typhi A	CMB A. baumannii	S. aureus M
CMB S. typhi A	0.279 0.467			
CMB A. baumannii	0.804 0.009	0.521 0.150		
S. aureus M	-0.585 0.098	0.289 0.450	-0.065 0.868	
S. typhi M	0.368 0.330	-0.415 0.266	0.161 0.679	-0.344 0.364
A. baumannii M	-0.713 0.031	-0.272 0.479	-0.548 0.127	0.534 0.139
S. aureus A	-0.013 0.973	-0.654 0.056	-0.031 0.938	-0.218 0.574
S. typhi A	-0.713 0.031	-0.272 0.479	-0.548 0.127	0.534 0.139
A. baumannii A	-0.494 0.177	-0.193 0.619	-0.440 0.236	0.093 0.811
Ac. Gálico	0.106 0.786	-0.729 0.026	-0.280 0.465	-0.678 0.045

Ac. Benzoico	0.361 0.340	0.383 0.309	0.416 0.266	0.290 0.449
Ac. Clorogénico	0.118 0.763	0.064 0.871	0.116 0.766	0.044 0.911
Ac. Cumárico	0.245 0.525	-0.331 0.384	0.043 0.912	-0.087 0.824
Ac. Ferúlico	-0.088 0.822	0.726 0.027	0.297 0.438	0.520 0.151
Taninos C A	0.311 0.416	0.571 0.109	0.493 0.177	0.402 0.284
Taninos C E	0.275 0.474	0.271 0.480	0.284 0.459	0.296 0.439
Taninos C M	0.106 0.786	0.489 0.182	0.360 0.342	0.613 0.079
Frap TC A	0.176 0.651	0.594 0.092	0.362 0.338	0.304 0.426
Frap TC E	0.176 0.651	0.377 0.317	0.365 0.334	0.503 0.167
Frap TC M	-0.237 0.539	0.580 0.102	0.262 0.496	0.893 0.001
Taninos H A	0.385 0.306	0.309 0.419	0.639 0.064	0.209 0.589
Taninos H E	0.254 0.509	0.147 0.705	0.375 0.320	0.409 0.274
Taninos H M	0.030 0.938	0.288 0.453	0.476 0.196	0.687 0.041
Frap Th A	0.151 0.698	0.571 0.109	0.378 0.316	0.308 0.420
Frap Th E	0.001	0.393	0.189	0.579

	0.998	0.296	0.627	0.103
Frap Th M	-0.534 0.138	-0.361 0.339	-0.250 0.516	0.354 0.350
DPPH Th A	0.552 0.124	0.326 0.392	0.275 0.474	-0.485 0.186
DPPH Th E	-0.243 0.528	0.003 0.994	-0.295 0.440	0.073 0.851
DPPH Th M	0.104 0.790	-0.379 0.315	0.090 0.818	-0.303 0.427
	S. typhi M	A. baumannii M	S. aureus A	S. typhi A
A. baumannii M	-0.167 0.668			
S. aureus A	-0.062 0.875	0.105 0.788		
S. typhi A	-0.167 0.668	1.000 *	0.105 0.788	
A. baumannii A	-0.151 0.699	0.160 0.682	-0.069 0.861	0.160 0.682
Ac. Gálico	0.090 0.818	-0.152 0.697	0.687 0.041	-0.152 0.697
Ac. Benzoico	-0.020 0.959	-0.116 0.766	-0.292 0.445	-0.116 0.766
Ac. Clorogénico	0.387 0.303	-0.489 0.182	-0.277 0.471	-0.489 0.182
Ac. Cumárico	0.708 0.033	-0.130 0.740	-0.182 0.639	-0.130 0.740
Ac. Ferúlico	-0.631 0.068	0.262 0.496	-0.184 0.636	0.262 0.496

Taninos C A	-0.304 0.427	-0.087 0.824	-0.253 0.512	-0.087 0.824
Taninos C E	-0.056 0.885	0.008 0.983	-0.179 0.646	0.008 0.983
Taninos C M	-0.172 0.658	0.128 0.743	-0.348 0.359	0.128 0.743
Frap TC A	-0.144 0.711	-0.488 0.183	-0.579 0.103	-0.488 0.183
Frap TC E	-0.148 0.704	0.158 0.684	-0.204 0.599	0.158 0.684
Frap TC M	-0.210 0.588	0.315 0.410	-0.472 0.199	0.315 0.410
Taninos H A	-0.402 0.284	-0.227 0.556	0.401 0.285	-0.227 0.556
Taninos H E	0.232 0.549	-0.053 0.893	-0.152 0.696	-0.053 0.893
Taninos H M	-0.192 0.621	0.017 0.966	0.118 0.762	0.017 0.966
Frap Th A	-0.715 0.030	-0.225 0.560	0.091 0.816	-0.225 0.560
Frap Th E	-0.271 0.481	0.173 0.656	-0.301 0.431	0.173 0.656
Frap Th M	-0.304 0.427	0.548 0.127	0.664 0.051	0.548 0.127
DPPH Th A	-0.311 0.415	-0.454 0.220	0.090 0.818	-0.454 0.220
DPPH Th E	-0.359 0.342	0.374 0.321	-0.109 0.780	0.374 0.321
DPPH Th M	-0.256	-0.171	0.732	-0.171

	0.507	0.661	0.025	0.661
	A. baumannii A	Ac. Gálico	Ac. Benzoico	Ac. Clorogénico
Ac. Gálico	0.112 0.773			
Ac. Benzoico	-0.412 0.271	-0.264 0.492		
Ac. Clorogénico	-0.341 0.369	-0.270 0.483	0.056 0.886	
Ac. Cumárico	-0.054 0.890	0.127 0.744	0.530 0.142	0.284 0.460
Ac. Ferúlico	-0.193 0.620	-0.665 0.051	0.100 0.798	-0.252 0.513
Taninos C A	-0.344 0.364	-0.361 0.339	0.938 0.000	-0.098 0.802
Taninos C E	-0.375 0.320	-0.229 0.553	0.944 0.000	-0.006 0.987
Taninos C M	-0.298 0.435	-0.519 0.152	0.925 0.000	-0.010 0.981
Frap TC A	-0.036 0.927	-0.390 0.299	0.585 0.098	0.411 0.272
Frap TC E	-0.315 0.408	-0.363 0.337	0.940 0.000	-0.150 0.700
Frap TC M	0.022 0.956	-0.864 0.003	0.476 0.195	0.050 0.898
Taninos H A	-0.469 0.203	-0.016 0.968	0.530 0.143	-0.095 0.808
Taninos H E	-0.459 0.214	-0.314 0.410	0.884 0.002	0.331 0.385

Taninos H M	-0.402 0.283	-0.425 0.254	0.585 0.098	0.261 0.497
Frap Th A	-0.330 0.385	-0.251 0.516	0.419 0.261	0.015 0.969
Frap Th E	-0.152 0.697	-0.382 0.310	0.910 0.001	-0.115 0.769
Frap Th M	-0.044 0.910	0.093 0.812	-0.481 0.190	-0.170 0.662
DPPH Th A	-0.599 0.088	0.186 0.632	0.210 0.588	0.039 0.920
DPPH Th E	0.505 0.165	0.212 0.584	0.226 0.559	-0.783 0.013
DPPH Th M	0.263 0.494	0.745 0.021	-0.138 0.723	-0.475 0.196
	Ac. Cumárico	Ac. Ferúlico	Taninos C A	Taninos C E
Ac. Ferúlico	-0.696 0.037			
Taninos C A	0.231 0.550	0.386 0.305		
Taninos C E	0.489 0.182	0.134 0.730	0.887 0.001	
Taninos C M	0.348 0.359	0.360 0.341	0.940 0.000	0.886 0.001
Frap TC A	0.266 0.489	0.042 0.914	0.590 0.095	0.364 0.336
Frap TC E	0.382 0.310	0.302 0.430	0.946 0.000	0.928 0.000
Frap TC M	0.016 0.967	0.605 0.085	0.589 0.095	0.439 0.237

Taninos H A	-0.167 0.667	0.419 0.262	0.687 0.041	0.509 0.161
Taninos H E	0.648 0.059	-0.020 0.960	0.758 0.018	0.877 0.002
Taninos H M	0.068 0.862	0.396 0.291	0.663 0.051	0.554 0.121
Frap Th A	-0.434 0.243	0.645 0.061	0.643 0.062	0.465 0.207
Frap Th E	0.361 0.340	0.278 0.469	0.925 0.000	0.907 0.001
Frap Th M	-0.557 0.119	0.309 0.418	-0.343 0.366	-0.374 0.322
DPPH Th A	-0.293 0.445	0.233 0.545	0.270 0.482	0.259 0.501
DPPH Th E	0.086 0.825	-0.021 0.958	0.280 0.466	0.200 0.605
DPPH Th M	-0.133 0.734	-0.253 0.512	-0.045 0.909	-0.176 0.651
	Taninos C M	Frap TC A	Frap TC E	Frap TC M
Frap TC A	0.565 0.113			
Frap TC E	0.976 0.000	0.436 0.241		
Frap TC M	0.758 0.018	0.466 0.206	0.644 0.061	
Taninos H A	0.522 0.149	0.255 0.507	0.573 0.107	0.248 0.520
Taninos H E	0.847	0.456	0.842	0.516

	0.004	0.218	0.004	0.155
Taninos H M	0.718	0.425	0.670	0.669
	0.029	0.255	0.048	0.049
Frap Th A	0.477	0.331	0.456	0.331
	0.194	0.385	0.217	0.384
Frap Th E	0.968	0.529	0.963	0.674
	0.000	0.143	0.000	0.046
Frap Th M	-0.268	-0.551	-0.251	0.014
	0.485	0.124	0.515	0.971
DPPH Th A	0.011	-0.014	0.067	-0.380
	0.978	0.971	0.865	0.313
DPPH Th E	0.243	0.070	0.322	0.075
	0.529	0.858	0.398	0.847
DPPH Th M	-0.244	-0.117	-0.116	-0.437
	0.527	0.764	0.765	0.240
	Taninos H A	Taninos H E	Taninos H M	Frap Th A
Taninos H E	0.469			
	0.203			
Taninos H M	0.763	0.734		
	0.017	0.024		
Frap Th A	0.810	0.299	0.623	
	0.008	0.434	0.073	
Frap Th E	0.473	0.792	0.622	0.475
	0.199	0.011	0.073	0.196
Frap Th M	0.198	-0.269	0.264	0.128
	0.610	0.483	0.493	0.743
DPPH Th A	0.433	0.008	-0.036	0.588
	0.244	0.984	0.927	0.096

DPPH Th E	-0.086 0.827	-0.109 0.781	-0.262 0.496	-0.106 0.786
DPPH Th M	0.413 0.270	-0.256 0.507	-0.016 0.967	0.112 0.775
	Frap Th E	Frap Th M	DPPH Th A	DPPH Th E
Frap Th M	-0.287 0.453			
DPPH Th A	0.012 0.975	-0.179 0.644		
DPPH Th E	0.404 0.280	-0.230 0.552	-0.201 0.603	
DPPH Th M	-0.145 0.710	0.241 0.532	0.040 0.919	0.350 0.356

Cell Contents: Pearson correlation
P-Value