

Artículo Científico

# Compuestos fenólicos y capacidad antioxidante de extractos de cálices de variedades de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) de diferentes orígenes

Phenolic compounds and antioxidant capacity of extracts from calyces of (*Hibiscus sabdariffa* L.) varieties of different origins

Yolanda Salinas-Moreno<sup>1</sup>, César Sánchez-Feria<sup>2</sup>, Miguel Ángel Martínez-Ortiz<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), Campo Experimental Centro Altos de Jalisco, C.P. 47600, Tepatitlán de Morelos, Jalisco, México.

<sup>2</sup> Tecnológico Nacional de México/Instituto Tecnológico de Tepic, CP 63175, Tepic, Nayarit, México.

\*Correspondencia: [martinez.miguel@inifap.gob.mx](mailto:martinez.miguel@inifap.gob.mx) (Miguel Ángel Martínez-Ortiz)

DOI: <https://doi.org/10.54167/tch.v18i4.1594>

Recibido: 31 de julio de 2024; Aceptado: 19 de noviembre de 2024

Publicado por la Universidad Autónoma de Chihuahua, a través de la Dirección de Investigación y Posgrado.

Editora de Sección: Dra. Luz Araceli Ochoa-Martínez

## Resumen

Los cálices de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) son fuente de bioactivos con aplicación en las industrias alimentaria, farmacéutica y cosmética. El objetivo del estudio fue analizar el contenido de antocianinas (CAT), las fracciones de ácidos fenólicos (AF), y determinar la capacidad antioxidante (CA) en extractos de cálices de jamaica. Se emplearon tres variedades de jamaica, dos de origen nacional (cálices claros) y una de importación (cálices oscuros). Se utilizaron dos solventes de forma individual: agua (~95 °C) y metanol acidificado (a temperatura ambiente). El CAT y los AF fraccionados (libres, glucosilados y esterificados) se cuantificaron por espectrofotometría y se analizaron por HPLC. La CA se determinó mediante el radical estable DPPH (2,2-difenil-1-picrihidrazilo). El extracto acuoso presentó 51 % de CAT, en comparación con el 63.7 % en el extracto metanólico. El perfil de antocianinas no se modificó por el procedimiento de extracción. En el extracto acuoso, la fracción de AF esterificados fue la más importante, mientras la menor fue la de AF libres. Los ácidos fenólicos más abundantes fueron el clorogénico y el cafeico. Asimismo, la mayor CA fue en el extracto acuoso de la jamaica China, debido a su elevado CAT. Sin embargo, en el análisis de las muestras estandarizadas en CAT a 100 µg/mL, el extracto de jamaica China presentó la menor CA. La extracción de bioactivos de los cálices de jamaica es mayor en metanol que en extracto acuoso. La jamaica de importación presenta un mayor contenido de antocianinas en comparación de las jamaicas nacionales.

**Palabras clave:** *Hibiscus sabdariffa* L., solvente, ácido clorogénico, antocianinas.

## Abstract

*Hibiscus sabdariffa* L. calyces are a source of bioactive compounds with applications in the food, pharmaceutical, and cosmetic industries. This study aimed to analyze the content of anthocyanins (CAT) and fractions of phenolic acids (PA) in hibiscus calyx extracts and to determine their antioxidant capacity (AC). Three hibiscus varieties were used: two of national origin with light-colored calyces and one imported (dark-colored calyces). Two solvents were used individually: water (~95 °C) and acidified methanol (at room temperature). CAT and fractionated phenolic acids (free, glycosylated, and esterified) were quantified using spectrophotometry and analyzed by HPLC. AC was determined using the DPPH (2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) radical assay. The aqueous extract showed 51 % AC, compared to 63.7 % in the methanolic extract. However, the anthocyanin profile remained unchanged across extraction methods. In the aqueous extracts, esterified phenolic acids were the most prominent, while free phenolic acids were the least. Chlorogenic and caffeic acids were the most abundant phenolic acids identified. Furthermore, the highest AC was found in the aqueous extract of Chinese roselle, due to its high CAT. However, in the analysis of the samples standardized to 100 µg/mL CAT, the Chinese roselle extract presented the lowest AC. The bioactive yield of hibiscus calyces is influenced by both the extraction method and the variety used. The extraction of bioactives from hibiscus calyces is higher in methanol than in aqueous extract. Imported hibiscus has a higher anthocyanin content compared to domestic hibiscus.

**Keywords:** *Hibiscus sabdariffa* L., solvent, chlorogenic acid, anthocyanins.

## 1. Introducción

La jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) es una planta herbácea, de la familia de las Malváceas, oriunda de India, de donde se distribuyó a África y a diferentes partes del mundo, incluido el continente americano, que es cultivada en las regiones tropicales y subtropicales del mundo (Riaz y Chopra, 2018). Los cálices de su flor son aprovechados para la elaboración de diversos productos de consumo humano, entre los que destacan las bebidas, que se consumen tanto calientes como frías (Cid-Ortega *et al.*, 2015). Debido a la diversa composición fitoquímica que poseen sus cálices (Chisomo-Chatempa *et al.*, 2023), se le atribuyen efectos terapéuticos en la medicina tradicional para tratar afecciones como resfriados, fiebre, presión arterial, problemas renales, hígado graso, entre otras (Carvajal-Zarrabal *et al.*, 2012).

Los principales grupos de compuestos fenólicos en los cálices de jamaica son las antocianinas y los ácidos fenólicos (Reyes-Luengas *et al.*, 2015; Piovesana y Noreña, 2019; Li *et al.* 2023), que se han asociado con actividades biológicas como antioxidante (Galicia-Flores *et al.*, 2008), antiinflamatoria (Zhang *et al.*, 2024), anti hipercolesterolémica (Yang *et al.*, 2010) y despigmentante (Yagi *et al.*, 2023). Estos hallazgos posicionan a los cálices de jamaica como fuente importante de bioactivos para las industrias de alimentos, farmacéutica y cosmética. Las principales antocianinas presentes en los cálices de jamaica son delfinidina 3-sambubiósido y cianidina 3-sambubiósido, que representan en promedio el 65 y 30 % del total de las antocianinas, respectivamente. En cuanto a los ácidos fenólicos, el más abundante es el ácido clorogénico, reconocido por sus importantes actividades biológicas asociadas con beneficios a la salud (Reyes-Luengas *et al.*, 2015; Piovesana y Noreña, 2019).

El contenido de los principales grupos de compuestos fenólicos en los cálices de jamaica varía ampliamente. Por ejemplo, el contenido de antocianinas varía significativamente dependiendo del color de los cálices: rojo claro, rojo oscuro y blanco (Salinas-Moreno *et al.*, 2012), y también se presentan diferencias en el contenido de los ácidos fenólicos (Reyes-Luengas *et al.*, 2015). Por otro lado, los métodos de extracción aplicados para obtener los bioactivos de los cálices, influyen de manera importante en la cantidad que se recupera (Chisomo-Chatepa *et al.*, 2023). Entre los factores que se involucran en el método de extracción, el tipo de solvente utilizado desempeña un papel relevante (Morales-Cabrera *et al.*, 2013), pues, debido a que la polaridad del solvente impacta en la solubilidad y la estabilidad, este influye en el rendimiento y la calidad del extracto. Se ha demostrado que los compuestos fenólicos y antocianinas se extraen mejor con solventes como agua, metanol o etanol (Abou-Arab *et al.*, 2011). Además, se ha documentado que ciertas condiciones aportan mayor estabilidad, como es el caso de las antocianinas, donde un pH inferior a 2 permite mayor estabilidad del ión flavilio (Abou-Arab *et al.*, 2011; Escobar-Ortiz *et al.*, 2021) mientras que al aumentar el pH (7.00) se propicia la formación de otras estructuras como *cis* y *trans* chalcona (Maciel *et al.*, 2018). El principal solvente para la preparación de extractos de jamaica es el agua, mientras que, para realizar análisis de compuestos y mejores condiciones de extracción el metanol acidificado es el solvente reconocido.

En México, los cálices de jamaica que se comercializan provienen de la producción nacional y de importación, con predominio de la jamaica importada, misma que se vende a menor precio que la nacional. Además, los estudios publicados sobre las características de composición fenólica y propiedades antioxidantes de la jamaica nacional e importada, que puedan orientar al consumidor sobre los beneficios de consumir una u otra son escasos. Tal efecto ha hecho que la producción nacional y su economía se vean afectadas, con este tipo de análisis de compuestos fenólicos y antioxidantes, se busca caracterizar las variedades nacionales para impulsar su consumo.

Con base en lo anterior, los objetivos del presente trabajo fueron analizar en cálices de jamaica nacional e importados las antocianinas y ácidos fenólicos en extractos de cálices de jamaica obtenidos mediante dos procedimientos de extracción y determinar su capacidad antioxidante.

## 2. Materiales y métodos

### 2.1 Reactivos y material de estudio

#### 2.1.1 Reactivos

Los reactivos utilizados fueron: ácido trifluoroacético (J.T. Baker, México), cianidina 3-glucósido (Polyphenols AS, Sandnes, Noruega), ácido trifluoroacético grado HPLC (Sigma-Aldrich, MN, USA), metanol (Sigma-Aldrich, MN, USA), ácido fórmico (Merck, Toluca, México), ácido clorhídrico HCl, Hidróxido de sodio NaOH (J.T. Baker, México), acetato de etilo (AE), reactivo de Folin-Ciocalteu (Sigma-Aldrich, MN, USA), los siguientes ácidos fenólicos: caféico, clorogénico, ferúlico, gálico, protocatecuico, p-cumárico, p-hidroxibenzóico, sinápico, salicílico, siríngico y vanílico (Sigma, St. Louis, MO), 2,2-difenil-1-picrihidrazilo (DPPH) (Sigma-Aldrich, Toluca, MX), acrodisco PVDF 0.45  $\mu\text{m}$  (Millipore Corporation, MA, USA), membranas de nylon de 0.45  $\mu\text{m}$  (Sigma-Aldrich, Toluca, MX).

### 2.1.2 Material de estudio

Se emplearon tres muestras de cálices deshidratados de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.). Dos de origen nacional; Tecoaapa (Guerrero) y Huajicori (Nayarit), de cálices rojo claro proporcionadas por productores, y una tercera muestra correspondiente a una jamaica de importación de origen chino, de cálices rojo oscuro, que se adquirió en un mercado local de la ciudad de México.

## 2.2 Métodos

### 2.2.1 Obtención de extractos

Dos métodos de extracción fueron probados: extracción acuosa y extracción metanólica. Para la extracción acuosa: se colocaron 10 g de cálices de jamaica enteros y deshidratados en vasos de precipitados de 500 mL, y se agregaron 150 mL de agua destilada; la muestra se llevó a ebullición durante 15 min en un digestor de fibra cruda modificado. Se realizaron tres extracciones en las mismas condiciones para cada muestra, se mezcló y midió el volumen final total.

La extracción metanólica se realizó a partir de 1 g de muestra molida (malla de 0.5 mm), a la que se agregaron 20 mL de metanol acidificado con 1 % de ácido trifluoroacético (TFA), manteniéndose en refrigeración durante 24 horas. El sobrenadante se separó mediante centrifugación (Universal 32, Hettich Zentrifugen, Germany) a 2200 xg durante 10 min. Al residuo se le realizaron dos extracciones adicionales sucesivas empleando como disolvente metanol: ácido acético: agua (10:1:9 v/v/v). En este caso, las muestras se mantuvieron en agitación orbital (model G10®, New Brunswick, NJ, USA) por 24 horas a temperatura ambiente. Cada una de las extracciones por tratamiento fue colectada y se midió su volumen total.

Cada extracto se manejó por separado. El extracto de metanol TFA se empleó para el análisis de antocianinas por HPLC ya que el TFA preserva mejor la estructura de las antocianinas que el ácido acético (Maciel *et al.*, 2018). También se cuantificó en cada uno de estos extractos el contenido de antocianinas totales.

### 2.2.2 Cuantificación de antocianinas totales

Se midió la absorbancia de los extractos en metanol y agua utilizando un espectrofotómetro PerkinElmer (Lambda 25 UV/Vis) de acuerdo a lo descrito por Salinas-Moreno *et al.* (2005). Se elaboró una curva estándar con cianidina 3-glucósido en un rango de 0 a 30 ppm para expresar el contenido total de antocianinas en función de este compuesto. La concentración de antocianinas totales (CAT) se expresó en mg equivalentes de cianidina 3-glucósido por kg de muestra seca (mg ECG kg<sup>-1</sup> MS).

### 2.2.3 Análisis de antocianinas por Cromatografía líquida de alta resolución (HPLC)

Este análisis se realizó a partir del extracto de antocianinas con metanol acidificado con 1 % de ácido trifluoroacético (TFA) del que se tomó una alícuota de 10 mL y se purificó de acuerdo a lo descrito por Salinas-Moreno *et al.* (2005) en una columna con Amberlita XAD-7. La muestra purificada se filtró en un acrodisco Millipore PVDF 0.45  $\mu\text{m}$  y se depositó en viales ámbar a temperatura de congelación hasta su análisis por el HPLC. El cromatógrafo fue un PerkinElmer serie 200, integrado con una bomba cuaternaria con desgasificador, detector de UV/Vis con arreglo de diodos y automuestreador. La columna fue una C18 Hypersil ODS (200 x 4.6 mm, 5 micras). El método de análisis fue el descrito por Fossen *et al.* (2001) que emplea un sistema de gradientes con dos disolventes: A, que fue ácido fórmico:agua (1:9 v/v) y el B fue ácido fórmico:agua:metanol (1:4:5 v/v/v). Todos los solventes empleados fueron grado HPLC y antes de utilizarse se filtraron a través de membranas de nylon de 0.45  $\mu\text{m}$  con ayuda de una bomba de vacío. El volumen de muestra inyectado fue de 20  $\mu\text{L}$  y el tiempo de análisis de 21 min. La detección de las antocianinas se realizó a 525 nm, manteniendo una temperatura en la columna de 25 °C y una velocidad de flujo de 1.2 mL•min<sup>-1</sup>. La identidad de las antocianinas del extracto de jamaica se efectuó mediante la comparación del perfil obtenido con los reportados en estudios previos (Sukwattanasinit *et al.*, 2007; Segura-Carretero *et al.*, 2008), ya que no se contaba con los estándares de antocianinas reportados en los cálices de esta especie.

### 2.2.4 Fraccionamiento de ácidos fenólicos y cuantificación

Las fracciones de ácidos fenólicos obtenidas fueron libres, glucosilados y esterificados de acuerdo con el método descrito por Bakan *et al.* (2003). La hidrólisis ácida o alcalina facilita la liberación de los ácidos a su forma libre, que es fácil de analizar por HPLC. Brevemente, del extracto final se tomaron 20 mL (apartado 2.2.1). Para los ácidos fenólicos libres, la alícuota se ajustó a pH de 2 con HCl 2 N. Se realizaron dos extracciones líquido-líquido con acetato de etilo (AE), las cuales se mezclaron y concentraron a sequedad en un rotaevaporador (Heidolph instruments, mod. Laborata 4010 digital), el residuo se resuspendió en 1 mL de metanol grado HPLC y se almacenó a temperatura de congelación para su posterior análisis.

La fase acuosa restante proveniente de las extracciones líquido-líquido fue medida y aforada con agua destilada a un volumen de 20 mL que se dividió en dos volúmenes iguales. A uno de ellos se agregaron 10 mL de HCl para la hidrólisis de ácidos fenólicos glucosilados (a temperatura de refrigeración por 1 h), mientras que a la otra fracción se le adicionaron 10 mL de NaOH 2N para la hidrólisis de ácidos fenólicos esterificados (en oscuridad durante 3 h a temperatura ambiente), las extracciones líquido-líquido se realizaron según lo descrito para la fracción de ácidos fenólicos libres. Cada fracción de ácidos fenólicos se concentró a sequedad en el rotaevaporador, el residuo se resuspendió en un mL de metanol grado HPLC. A partir de esta muestra se analizaron los compuestos fenólicos solubles totales mediante el método de Folin-Ciocalteu (Singleton *et al.*, 1999) y se realizó el análisis de ácidos fenólicos por HPLC.

### 2.2.5 Análisis de ácidos fenólicos por HPLC

El análisis de las fracciones de ácidos fenólicos (libres, glucosilados y esterificados) se realizó según el método de Głowniak *et al.* (1996). Se utilizó el cromatógrafo descrito en la sección de análisis de antocianinas, y una columna analítica Hypersil ODS.2 (250 x 46 mm) con tamaño de partícula de 5 µm. La fase móvil fue una mezcla de metanol: ácido acético:agua (25:1:75 v/v/v) a un flujo de 1 mL•min<sup>-1</sup>. El tiempo de análisis fue de 22 min. La detección de ácidos fenólicos se realizó a 254 y 320 nm, manteniendo la columna a 30 °C. Se prepararon curvas patrón de los ácidos: caféico, clorogénico, ferúlico, gálico, protocatecuico, p-cumárico, p-hidroxibenzóico, sinápico, salicílico, siríngico y vanílico, utilizando como disolvente la solución de fase móvil. La identificación de ácidos fenólicos en los extractos acuosos de jamaica se realizó mediante la comparación de su tiempo de retención con el de estándares comerciales, y con el espectro en UV-visible obtenido con el detector de arreglo de diodos, además del apoyo con literatura publicada al respecto (Amaya-Cruz *et al.*, 2019; Yagi *et al.*, 2023).

### 2.2.6 Capacidad antioxidante

Esta variable se determinó únicamente en los extractos acuosos debido a que en la preparación de las bebidas refrescantes a partir de cálices de jamaica se utiliza agua como solvente. Se empleó el método de DPPH, el cual consiste en la reducción del radical 2,2-difenil-1-picrihidrazilo (DPPH) (Prior *et al.*, 2005). Los extractos acuosos de los cálices fueron los utilizados en esta prueba. Se prepararon soluciones a partir de un volumen conocido del extracto (500 µL) al que se añadió un volumen igual de agua destilada para tener 1 mL. Con el fin de evaluar los extractos a una concentración estandarizada de antocianinas en las tres variedades analizadas (siendo las antocianinas los principales compuestos antioxidantes del extracto), se probaron soluciones a una concentración ajustada de 100 µg de antocianinas por mL de cada extracto. Se preparó una solución 200 µM de DPPH en metanol al 80 %, de la cual se tomaron 2900 µL y 100 µL del extracto. Para la absorbancia de referencia, en lugar de muestra, se emplearon 100 µL de agua. Se midió la absorbancia de la muestra cada 30 s durante 60 min a 515 nm, en un espectrofotómetro PerkinElmer, Lambda 25 UV/Vis, utilizando como blanco metanol al 80 %. Los cálculos para obtener el porcentaje de DPPH reducido se realizaron con la expresión: % DPPH =  $(A_0 - A_n)100 / A_0$ ; donde  $A_0$  y  $A_n$  fueron las absorbancias de referencia y muestra, respectivamente.

### 2.2.7 Diseño experimental y análisis de datos

Cada análisis se realizó por triplicado y los resultados se expresaron como la media de estos. Los datos sobre contenido de antocianinas y ácidos fenólicos se sometieron a un análisis de varianza (ANOVA) bajo un diseño completamente al azar. Se realizaron comparaciones de medias, cuando fue necesario, mediante la prueba de Tukey ( $\alpha=0.05$ ). Se utilizó el software estadístico SAS system, versión 9.0.

### 3. Resultados y discusión

#### 3.1 Compuestos fenólicos

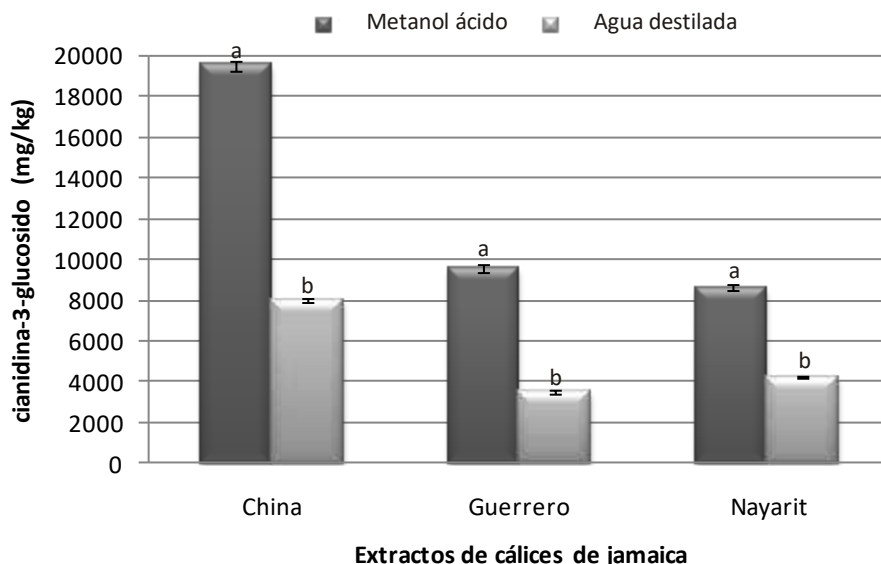
Los dos grupos de compuestos fenólicos más importantes en los cálices de jamaica son antocianinas y ácidos fenólicos (Reyes-Luengas *et al.*, 2015; Piovesana y Noreña, 2019), que presentan máximos de absorción a diferentes longitudes de onda. El primer grupo conformado por ácidos fenólicos absorben entre 200 y 400 nm; mientras que el segundo, correspondiente a las antocianinas, donde su espectro de absorción se ubicó en el rango de 515 a 520 nm.

#### 3.2 Cuantificación y análisis de Antocianinas

La cantidad de antocianinas totales extraída con cada procedimiento de extracción aplicado fue diferente. Cuando se utilizó muestra molida y metanol acidificado como solvente, se obtuvo mayor CAT ( $P \leq 0.05$ ). Bajo este protocolo, la muestra de China mostró una concentración de  $19,543.2 \pm 248.3$  mg ECG  $\text{kg}^{-1}$  de muestra. Sin embargo, cuando se empleó agua como disolvente y la muestra en cálices enteros, la concentración disminuyó hasta el 41 %. En el caso de las muestras de Guerrero y Nayarit las concentraciones obtenidas con metanol acidificado como solvente fueron de  $9546.5 \pm 199.4$  y  $8639.8 \pm 108.2$  mg ECG  $\text{kg}^{-1}$ , respectivamente, en tanto que, cuando se empleó agua destilada las concentraciones disminuyeron hasta 36 % y 48 % respectivamente. Al emplear cálices enteros y agua como disolvente, se extrajeron entre un 51 y 63.7 % menos antocianinas que cuando se empleó la muestra de cálices molida y metanol acidificado como disolvente (Fig. 1).

Para una misma variedad, las diferencias en CAT observadas en los extractos de las variedades de jamaica se deben a la condición de la muestra y al solvente empleado. En parte, la recuperación de metabolitos está asociado a la afinidad de los solventes y condiciones de extracción, donde factores como temperatura, pH, favorecen la recuperación de metabolitos. También se ha documentado que, el uso de agua o etanol al 12 % como solventes no arroja diferencias significativas en la cantidad de antocianinas extraídas (Prenesti *et al.*, 2007).

La menor concentración de antocianinas en el extracto acuoso de los cálices de las variedades de jamaica coincide con lo reportado por Chisomo-Chatepa *et al.* (2023), quienes reportaron 45.5 % menos antocianinas en el extracto acuoso en relación al extracto metanólico, con el empleo de cálices molidos para ambos disolventes. Según estos autores, la mayoría de los metabolitos de los cálices de jamaica son de naturaleza polar, y el metanol acidificado es más polar que el agua. Otro factor a considerar es el pH del solvente de extracción. El pH del metanol ácido se ubicó en alrededor de 1.0, en tanto que el pH de extractos acuosos de jamaica varía entre 2.16 y 2.8 (Galicia-Flores *et al.*, 2008). Mientras menor sea el pH mayor es la predominancia de la forma química catión flavilium de la antocianina (Brouillard, 1982), que absorbe fuertemente a la longitud de onda a la cual se cuantifican las antocianinas.



**Figura 1.** Concentración de antocianinas en los extractos de cálices de *Hibiscus sabdariffa* L. obtenidos con diferentes disolventes. La comparación de concentración de antocianinas se realizó entre solventes de extracción, para cada variedad de hibiscus analizada.

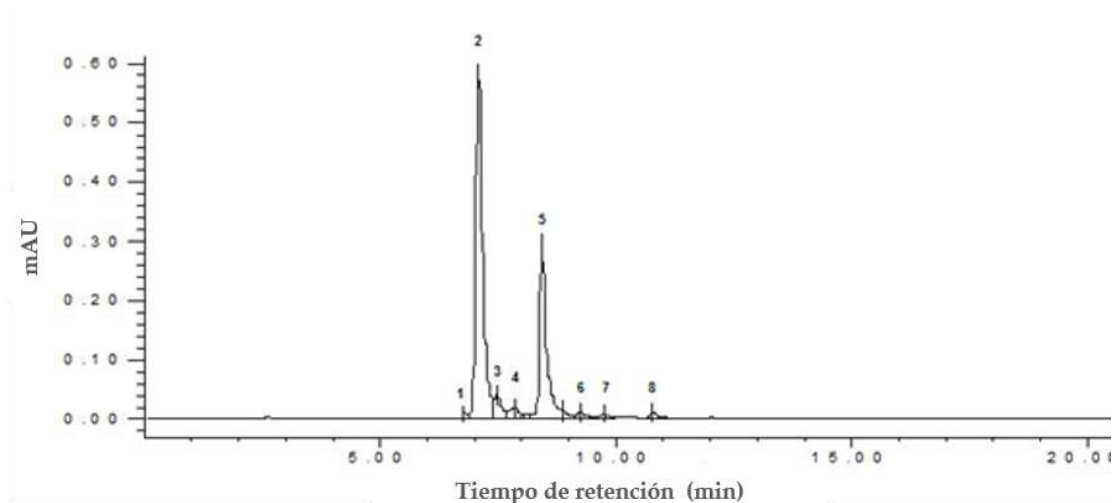
**Figure 1.** Concentration of anthocyanins in extracts of *Hibiscus sabdariffa* L. calyces obtained with different solvents. The comparison of anthocyanins concentration was between solvents for each hibiscus variety analyzed.

La temperatura de ebullición (~92 °C) aplicada en la extracción acuosa de los cálices también pudo influir en el menor CAT de estos extractos, pues las antocianinas son inestables a temperaturas por arriba de los 60 °C (Enaru *et al.*, 2021).

Los valores reportados para la concentración de antocianinas en cálices de jamaica varían en función del tipo de cálices empleada; por ejemplo, los de color rojo claro tienen menos antocianinas que los de color rojo oscuro (Salinas-Moreno *et al.*, 2012). Además, el procedimiento de extracción, que incluye factores como el tipo de solvente, condición de la muestra (molida o entera), interfieren en la recuperación y obtención de compuestos bioactivos a analizar. Así también, la aplicación de tecnologías no convencionales como ultrasonido (Sahin *et al.*, 2020), microondas (Cassol *et al.*, 2019), y pulsos eléctricos (Sridhar *et al.*, 2021), para la extracción de compuestos bioactivos, han evidenciado mayores recuperaciones de los mismos, en este contexto, se recomienda para futuras investigaciones la aplicación de estas tecnologías.

El análisis por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC por sus siglas en inglés) del extracto de los cálices reveló ocho picos, de los cuales los más prominentes fueron 2 y 5 que corresponden a delfinidina 3-sambubiósido y cianidina 3-sambubiósido (Alañón *et al.*, 2020). La Fig. 2 ilustra el perfil de antocianinas de la jamaica de China, perfil que fue similar en las muestras de Guerrero y Nayarit.





**Figura 2.** Perfil de antocianinas por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC por sus siglas en inglés) del extracto metanólico de jamaica China. La identidad de los picos se encuentra en la Tabla 1.

**Figure 2.** Anthocyanin profile by high-performance liquid chromatography (HPLC) of the methanolic extract of Chinese hibiscus. The identity of the peaks is shown in Table 1.

Las antocianinas minoritarias presentes en los cálices de jamaica corresponden a delfinidina 3-glucósido (pico 1), cianidina 3-rutinósido (pico 6) y cianidina 3-diglucósido (pico 7) (Segura-Carretero *et al.*, 2008). El número de antocianinas identificadas en los cálices de jamaica se incrementa cuando se utilizan herramientas de análisis más sensibles, como es la espectroscopía de masas en la modalidad QTOF-MS (quadrupole time of flight mass spectrometry), así, Amaya-Cruz *et al.* (2019) reportaron 13 antocianinas en los cálices de una variedad de jamaica obtenida en Guerrero, en las que además de los derivados de delfinidina y cianidina ya reportados, identificaron un derivado de pelargonidina. Por su parte, Debelo *et al.* (2023), mediante espectroscopía de masas identificaron derivados de petunidina en cálices de jamaica cultivada en Senegal. En este contexto, el uso de técnicas analíticas más sofisticadas mejora significativamente la identificación de compuestos minoritarios presentes en los extractos analizados, lo cual aporta una elucidación más amplia y puntual de los metabolitos presentes en extractos vegetales.

El porcentaje relativo de las antocianinas predominantes en los cálices de las variedades de China y Nayarit fue similar, y ligeramente inferior al de la variedad de Guerrero (Tabla 1). Los porcentajes relativos de área obtenidos para las antocianinas predominantes en los cálices de jamaica son parecidos a los informados por otros autores (Ifie *et al.*, 2018), aunque estos porcentajes pueden variar de acuerdo con la variedad y las condiciones de cultivo.

**Tabla 1.** Porcentaje relativo de área de las antocianinas contenidas en extractos de cálices de tres variedades diferentes de jamaica.

**Table 1.** Relative percentage of area of the anthocyanins contained in extracts of calyces from three different hibiscus varieties.

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

\*Valores expresados en porcentaje relativo de área (%).

NI: No identificado.

ND: No detectado.

<sup>+</sup>: Según Sukwattanasinit *et al.* (2007).

<sup>#</sup>: Según Segura-Carretero *et al.* (2008).

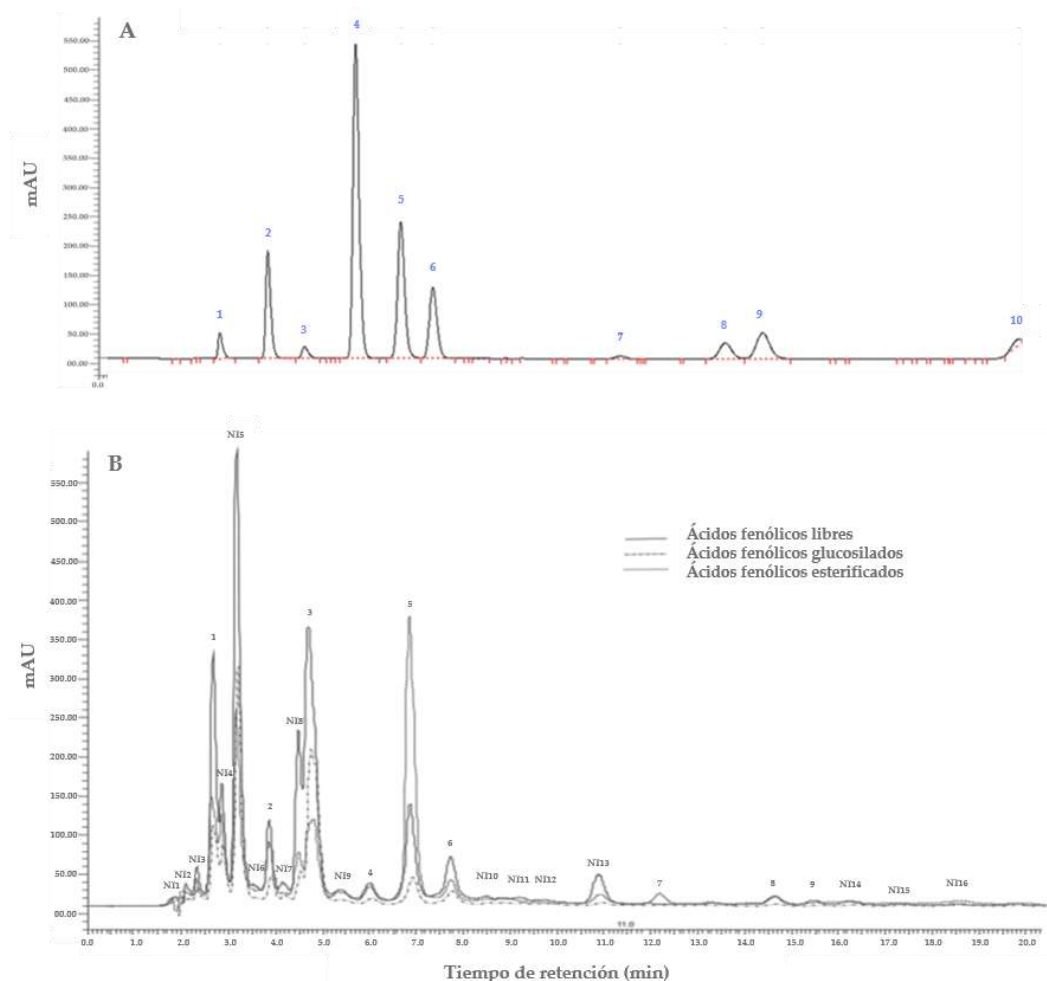
### 3.3 Ácidos fenólicos

La Fig. 3 muestra el cromatograma de los estándares de ácidos fenólicos utilizados (Fig. 3A), y de las tres fracciones de ácidos fenólicos (Fig. 3B). Bajo el protocolo de análisis empleado se observó buena resolución de la mezcla de estándares. En las muestras la resolución fue adecuada, con excepción del pico 3, correspondiente al ácido clorogénico, que mostró una señal inmediata no identificada. No obstante, bajo estas condiciones fue posible cuantificar el ácido clorogénico.

El análisis fraccionado de los ácidos fenólicos de los extractos acuosos de cálices de jamaica de las variedades examinadas mostró que, del total de compuestos fenólicos solubles en el extracto de jamaica China, 27.3 % fueron fenoles libres, 31.0 % glucosilados y 41.7 % esterificados; el de Guerrero presentó 25.2 % de libres, 28.6 % de glucosilados y un 46.2 % de esterificados, en tanto que el de Nayarit tuvo 22.1 % de fenoles libres, 25.6 % de glucosilados y un 52.3 % de esterificados. La fracción más abundante (compuestos fenólicos esterificados) corresponden a aquellos no ligados a los componentes de la pared celular, y que están unidos a su estructura mediante un enlace éster (Reyes-Luengas *et al.*, 2015), que es sensible a condiciones de pH alcalino. En cambio, la fracción menos abundante correspondió a la de los ácidos fenólicos libres (Fig. 4).

Solo una pequeña cantidad de ácidos fenólicos se localiza en forma libre, la mayoría de estos compuestos se encuentran unidos mediante enlaces ésteres o éteres a otros compuestos como antocianinas (co-pigmentación) u otras moléculas orgánicas como glucosa o ácidos quínico, málico y tartárico, o bien a otros productos naturales como terpenos (Marques y Farah, 2009). La unión entre antocianinas se denomina autoasociación, mientras que, con otros, como los compuestos fenólicos,

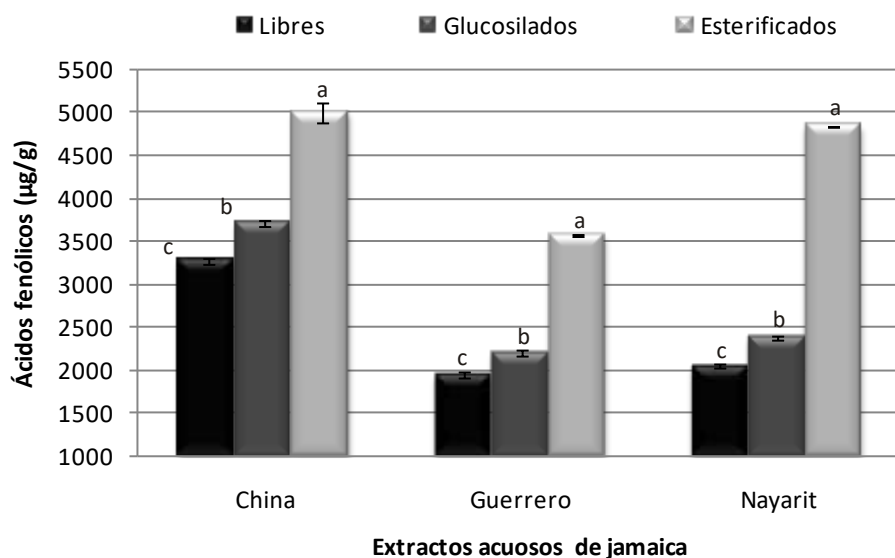
copigmentación intramolecular (Mejía *et al.*, 2023). La asociación intramolecular en el caso de las antocianinas se favorece por un mayor grado de glicosilación y acilación (Maciel *et al.*, 2018). La estructura y grupos funcionales de estos compuestos permiten una interacción y enlaces con otras macromoléculas presentes en los tejidos vegetales, mejorando su estabilidad y funciones biológicas propias del tejido del que proceden (Maciel *et al.*, 2018; Babenko *et al.*, 2019).



**Figura 3.** Cromatograma de estándares de ácidos fenólicos a 254 nm (A) y de las fracciones de ácidos fenólicos de los cálices de la variedad de jamaica de China (B). La identidad de los picos es: 1= Gálico, 2= Protocatecuico, 3= Clorogénico, 4= *p*-Hidroxibenzoico, 5= Vanílico y Caféico, 6= Siríngico, 7= *p*-Cumárico, 8= Ferúlico, 9= Salicílico y 10= Sinápico.

**Figure 3.** Chromatogram of phenolic acid standards at 254 nm (A) and phenolic acid fractions from the Chinese hibiscus variety calyces (B). The peak identities are: 1= Gallic, 2= Protocatechuic, 3= Chlorogenic, 4= *p*-Hydroxybenzoic, 5= Vanillic and Caffeic, 6= Syringic, 7= *p*-Coumaric, 8= Ferulic, 9= Salicylic, and 10= Sinapic.

La suma de estos tres tipos de ácidos fenólicos representa el contenido total de ácidos fenólicos solubles en los extractos y fue mayor en el extracto de jamaica China, con una concentración de  $11977.3 \pm 76.4 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  de muestra, seguido del extracto de jamaica de Nayarit con  $9259.3 \pm 35.0 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  de muestra, y finalmente el extracto de Guerrero, con una concentración de  $7713.5 \pm 37.5 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  de muestra. Valores similares fueron informados por Reyes-Luengas *et al.* (2015) para variedades de jamaica con cálices de diferentes colores. Si no se realiza el fraccionamiento de ácidos fenólicos, los valores reportados son menores. Li *et al.* (2024) reportaron valores entre 4500 y 7230  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  en cálices de jamaica de diferentes orígenes.



**Figura 4.** Contenido de las fracciones de ácidos fenólicos presentes en tres muestras de extractos de cálices de jamaica.

**Figure 4.** Content of phenolic acid fractions present in three samples of hibiscus calyx extracts.

Se separaron 25 diferentes compuestos de los cuales se identificaron 10 ácidos fenólicos, con el apoyo de los tiempos de retención de los estándares y sus respectivos espectros en UV (Tabla 2). Entre los picos no identificados (NI) abundaron compuestos con espectros en UV similares a varios de los ácidos fenólicos reportados en extractos acuosos de cálices de jamaica, como son los ácidos: gálico, protocatecuico, clorogénico, p-cumárico, y salicílico (Reyes-Luengas *et al.*, 2015) por lo cual se asocia la presencia de estos compuestos en el extracto. En el trabajo de Li *et al.* (2024) se señala la presencia de diferentes isómeros y derivados de los principales ácidos fenólicos de los cálices de jamaica.

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

**Table 2.** Identification of phenolic acids of commercial standards, retention times, and UV spectra in aqueous extracts of Chinese hibiscus.

No. Pico	Ácidos fenólicos	$\lambda_{\max}$ (nm)	Tiempos de retención (min)				Espectro similar a
			Estándares	FL	FG	FE	
NI1				1.87	1.86	1.78	Á. gálico
NI2				2.15	2	2.02	Á. gálico
NI3				2.32	2.29	2.3	Á. gálico
1	Gálico	272.9	2.73	2.66	2.63	2.64	
NI4				2.85	2.85	2.85	Á. gálico
NI5				3.16	3.16	3.18	Á. protocatecuico
NI6				3.52	3.54	3.64	Á. protocatecuico
2	Protocatecuico	259.7	3.88	3.85	3.85	3.87	
NI7				4.14	4.15	4.2	Á. clorogénico
NI8				4.47	4.49	4.49	Á. clorogénico
3	Clorogénico	330.1	4.77	4.68	4.71	4.81	
NI9				5.37	5.39	5.34	Á. clorogénico
4	<i>p</i> -Hidroxibenzoico	255	5.99	6	6.01	6.01	
5	Vanílico	260.9	7.07	6.85	6.87	6.87	
5	Caféico	327.1	7.07	6.85	6.87	6.87	
6	Sirínico	273.7	7.84	7.72	7.72	7.74	
NI10				8.43	8.84	8.81	Á. <i>p</i> -cumárico
NI11				9.15	9.18	9.6	Á. <i>p</i> -cumárico
NI12				13.34	9.85	10.21	Á. <i>p</i> -cumárico
NI13				10.86	10.91	10.92	Á. protocatecuico
7	<i>p</i> -Cumárico	310.1	12.33	12.41	12.35	12.18	
NI14				16.26	16.17	13.26	Á. <i>p</i> -cumárico
8	Ferúlico	323.8	14.85	14.63	14.64	14.64	
9	Salicílico	303.2	15.75	15.43	15.81	15.9	
NI15				17.32	17.3	17.06	Á. salicílico
NI16				18.52	18.58		Á. salicílico

**$\lambda_{\max}$ :** Máximo de absorción; **FL:** Compuestos fenólicos libres; **FG:** Compuestos fenólicos glucosilados; **FE:** Compuestos fenólicos esterificados.

El contenido de ácidos fenólicos en cada una de las fracciones analizadas en los extractos acuosos de jamaica se muestra en la Tabla 3. En las tres fracciones de ácidos fenólicos los ácidos más abundantes fueron clorogénico y cafeico, en tanto que los de menor presencia fueron los ácidos *p*-hidroxibenzoico y ferúlico. El ácido vanílico se encontró en todas las fracciones de la jamaica China, pero no en las fracciones de ácidos fenólicos libres y glucosilados de las jamaicas de Guerrero y Nayarit. Aunque en esta última jamaica si se observó en la fracción de ácidos esterificados.

**Tabla 3.** Contenido de ácidos fenólicos libres, glucosilados y esterificados ( $\mu\text{g/g}$ ) en los extractos de cálices de tres variedades de jamaica.**Table 3.** Content of free, glycosylated, and esterified phenolic acids ( $\mu\text{g/g}$ ) in extracts of calyces from three hibiscus varieties.

Fenoles	G	P	Cl	p-H	V	Ca	Si	p-C	F	Sa
<b>Libres</b>										
China	281.2	<sup>a</sup> 155.1	<sup>a</sup> 1309.4	<sup>a</sup> 10.6	<sup>a</sup> 825.3	412.6	<sup>a</sup> 93.1	<sup>a</sup> 45.7	<sup>b</sup> 24.2	<sup>a</sup> 112.1
Guerrero	329.2	<sup>a</sup> 88.7	<sup>c</sup> 1069.8	<sup>b</sup> 9.8	<sup>a</sup> ND	198.2	<sup>c</sup> 75.0	<sup>b</sup> 84.0	<sup>a</sup> 11.2	<sup>b</sup> 78.1
Nayarit	188.2	<sup>b</sup> 133.6	<sup>b</sup> 1319.8	<sup>a</sup> 2.4	<sup>b</sup> ND	236.2	<sup>b</sup> 60.6	<sup>c</sup> 53.0	<sup>b</sup> 3.5	<sup>c</sup> 45.5
<b>Glucosilados</b>										
China	362.5	<sup>a</sup> 158.3	<sup>a</sup> 1883.7	<sup>a</sup> 10.1	<sup>a</sup> 928.4	243.1	<sup>a</sup> 41.2	<sup>a</sup> 32.9	<sup>c</sup> 1.0	<sup>a</sup> 48.8
Guerrero	228.8	<sup>b</sup> 86.9	<sup>c</sup> 1517.1	<sup>c</sup> 4.1	<sup>b</sup> ND	194.3	<sup>b</sup> 38.8	<sup>a</sup> 73.1	<sup>a</sup> 1.1	<sup>a</sup> 60.1
Nayarit	164.6	<sup>c</sup> 117.3	<sup>b</sup> 1779.2	<sup>b</sup> 1.5	<sup>c</sup> ND	206.7	<sup>b</sup> 38.4	<sup>a</sup> 42.9	<sup>b</sup> 0.0	<sup>b</sup> 23.6
<b>Esterificados</b>										
China	462.2	<sup>a</sup> 183.5	<sup>a</sup> 1245.8	<sup>b</sup> 16.1	<sup>a</sup> 664.7	2101.0	<sup>a</sup> 75.5	<sup>c</sup> 108.1	<sup>a</sup> 40.6	<sup>b</sup> 100.4
Guerrero	388.3	<sup>b</sup> 131.4	<sup>c</sup> 1221.0	<sup>b</sup> 13.3	<sup>b</sup> ND	1459.0	<sup>c</sup> 119.9	<sup>a</sup> 76.6	<sup>b</sup> 54.1	<sup>a</sup> 101.9
Nayarit	259.1	<sup>c</sup> 156.4	<sup>b</sup> 1493.9	<sup>a</sup> 14.0	<sup>b</sup> 834.4	1825.1	<sup>b</sup> 110.3	<sup>b</sup> 82.0	<sup>b</sup> 20.9	<sup>c</sup> 46.5

Los valores son medias expresadas en  $\mu\text{g/g}$  de muestra seca. Letras iguales en la misma columna y fracción no son significativamente diferentes ( $P < 0.05$ ). **G:** Gálico; **P:** Protocatecuico; **Cl:** Clorogénico; **p-H:** *p*-Hidroxibenzoico; **V:** Vanílico; **Ca:** Cafeico; **Si:** Siríngico; **p-C:** *p*-Cumárico; **F:** Ferúlico; **Sa:** Salicílico. **ND:** no detectado.

El ácido clorogénico se encontró mayormente en forma glucosilada y esterificada, que concuerda con otras investigaciones que señalan este compuesto como un ácido fenólico, altamente presente en los extractos vegetales (Reyes-Luengas *et al.*, 2015; Li *et al.*, 2024). En el extracto acuoso de jamaica China, este ácido representó 37.1 % del total, en el de Guerrero 49.4 % y en el de Nayarit 49.6 %, en relación con cada una de sus respectivas muestras. El contenido de ácido clorogénico al sumar las tres fracciones reportó 4,438.9  $\mu\text{g/g}$ , que es un valor inferior al informado por Debelo *et al.* (2023), en cálices de jamaica (9354.0  $\mu\text{g/g}$ ). La diferencia se puede atribuir a la variedad de jamaica utilizada en cada caso y al método de extracción aplicado. Debelo *et al.* (2023) emplearon muestra molida, metanol acidificado como solvente y sonicaron la muestra, factores que favorecen considerablemente la extracción de los compuestos fenólicos. La importancia de este ácido radica en que presenta efectos de actividad biológica importante, entre los que se encuentran: actividad antiinflamatoria, antioxidante, así como efectos en los procesos metabólicos de lípidos y glucosa (Galicia-Flores *et al.*, 2008; Yang *et al.*, 2010; Zhang *et al.*, 2024).

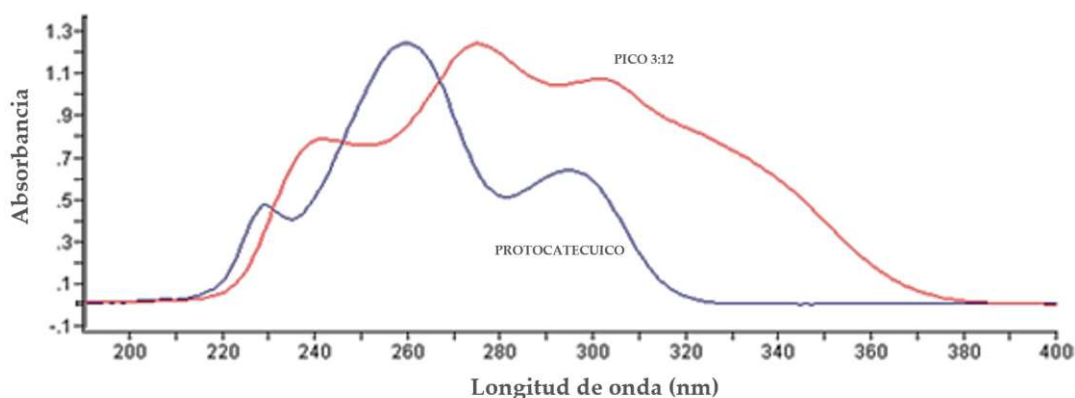
Los porcentajes relativos de ácido caféico encontrados en las muestras fueron de 24.5 % en el extracto de jamaica de Nayarit, 24.0 % en el de Guerrero y 23 % en el de China. Estos valores son similares al 19.9 % reportado por Yang *et al.* (2010). El elevado contenido de ácido cafeico en la fracción de fenoles esterificados podría provenir de la hidrólisis del enlace éster de este ácido, con el ácido quínico, que constituye el ácido clorogénico. Lo que no queda claro es por qué no se hidrolizó todo el ácido clorogénico de la fracción de ácidos fenólicos esterificada con el tratamiento de álcali aplicado.

Otro ácido fenólico que se encontró en cantidad importante fue vanílico, que en el extracto de jamaica China representó 20.2 % del total de ácidos fenólicos encontrados en las tres fracciones, en el extracto

de Nayarit solo se detectó en la fracción de ácidos esterificados. Sin embargo, este ácido fenólico contribuyó con el 9 % de la concentración total de estos compuestos en su extracto. En el extracto de Guerrero no se detectó. El ácido vanílico bajo el protocolo de análisis por HPLC aplicado en el presente estudio, co-eluye con el ácido cafeico, por lo que su cuantificación se dificulta. Su presencia en cantidades moderadas (102-208  $\mu\text{g/g}$ ) se ha reportado en extractos tanto acuosos como metanólicos de cálices de jamaica (Yagi *et al.*, 2023).

Otros ácidos presentes en los extractos de jamaica analizados fueron: gálico (6.6 a 12.3 %), *p*-hidroxibenzoico (0.2 a 0.4 %), siríngico (1.8 a 3.0 %), ferúlico (0.3 a 0.9 %) y salicílico (1.2 a 3.1 %). Huang *et al.* (2009), mencionan como ácido predominante en la jamaica al protocatecuico (23.2 %). Sin embargo, el porcentaje promedio de este ácido en los extractos acuosos de jamaica analizados fue de 4.2 %, encontrándose en mayor proporción en el extracto de jamaica de Nayarit (4.4 %).

En los cromatogramas de ácidos fenólicos solubles (libres, glucosilados y esterificados) se observó un compuesto con tiempo de retención de 3.12 min, que es muy cercano al del estándar de ácido protocatecuico (3.85 min), pero con un espectro en UV ligeramente diferente (Fig. 5, obtenido con el detector UV/vis con arreglo de diodos), por lo que es posible que se trate de un derivado de este ácido. El porcentaje relativo de este compuesto ( $T_r=3.12$  min) en las tres fracciones de ácidos fenólicos analizados fue mayor que el del ácido clorogénico, particularmente en la fracción de ácidos libres.



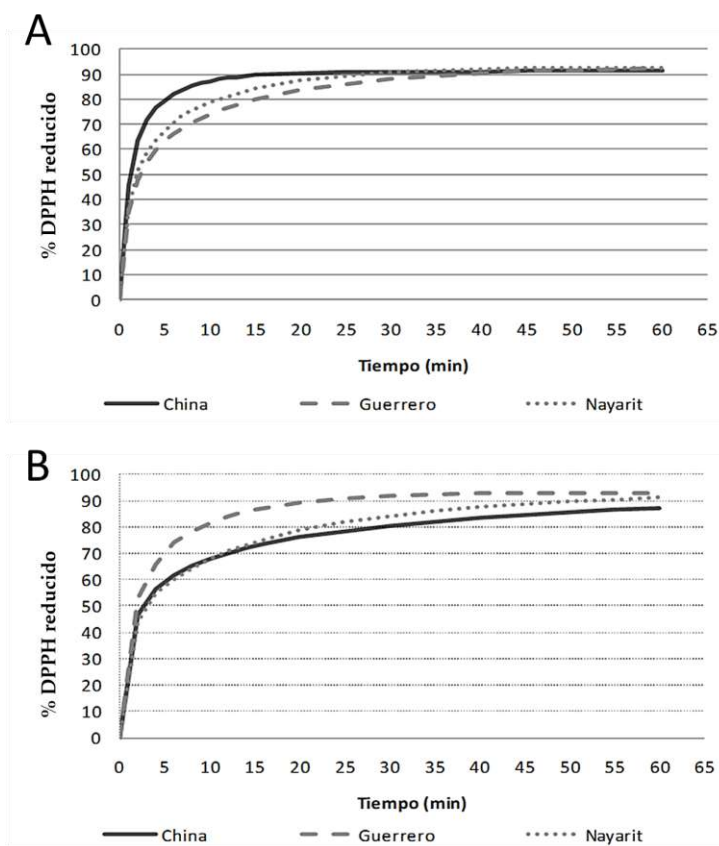
**Figura 5.** Espectro en UV del ácido protocatecuico y del compuesto con tiempo de retención de 3.12 min observado en el extracto acuoso de cálices de la variedad de jamaica China.

**Figure 5.** UV spectrum of protocatechuic acid and the compound with a retention time of 3.12 min observed in the aqueous extract of calyces from the Chinese hibiscus variety.

### 3.4 Capacidad antioxidante de compuestos fenólicos de extractos de jamaica

La Fig. 6 presenta el comportamiento de la capacidad antioxidante (CA) de los diferentes extractos de jamaica. En la Fig. 6A se muestran los resultados de esta variable para los extractos diluidos en proporciones 1:1 con agua, a partir del extracto original. La Fig. 6B ilustra los resultados obtenidos cuando los extractos se estandarizaron a una concentración de antocianinas (100  $\mu\text{g/mL}$ ). En el primer caso (Fig. 6A) se apreció que el extracto de jamaica China, presentó 89.6 % de capacidad antioxidante del DPPH en 15 min y en 30 min la reducción alcanzó 91.0 %.

El extracto de jamaica de Nayarit redujo 84.1 % del DPPH en 15 min, e incrementó a 90.7 % en 30 min. El extracto de Guerrero redujo en 15 min 79.7 % del DPPH y llegó a 88.0 % a los 30 min. Después de 30 min no se percibieron cambios significativos en la reducción del DPPH por los extractos, la reducción final de DPPH a los 60 min de los extractos de jamaica China y Nayarit fue similar (91.0 y 90.7 % respectivamente), lo que hace suponer que otros compuestos además de las antocianinas y ácidos fenólicos contribuyen en la CA de este extracto. El extracto de Guerrero fue el que logró menor reducción del DPPH al final de la prueba (88.2 % del DPPH en 60 min), atribuido posiblemente a sus bajos niveles de antocianinas y ácidos fenólicos.



**Figura 6.** Capacidad antioxidante de extractos de jamaica diluidos 1:1 con agua destilada a partir de la concentración original del extracto (A) y extractos ajustados a una concentración estandarizada de antocianinas (B).

**Figura 6.** Antioxidant capacity of hibiscus extracts diluted 1:1 with distilled water from the original extract concentration (A) and extracts adjusted to a standardized anthocyanin concentration (B).

De acuerdo con los resultados obtenidos, mayor concentración de antocianinas y ácidos fenólicos implica mayor velocidad en la reducción del DPPH por los extractos.

En el segundo ensayo (Fig. 6B), el extracto de jamaica China presentó la capacidad antioxidante más baja, posiblemente como resultado de la dilución por el ajuste de la concentración de antocianinas,



el extracto redujo 72.8 % del DPPH en 15 min, 80.5 % en 30 min y en 60 min un 87.2 %. Por otra parte, los extractos de jamaicas nacionales tuvieron una dilución menor para ajustar la cantidad de antocianinas debido a su bajo contenido de estos pigmentos, lo que permitió que el resto de los constituyentes del extracto se diluyeran en menor proporción que en la jamaica China. El extracto de jamaica de Nayarit alcanzó 74.5 % de reducción del radical DPPH en 15 min, 84.3 % en 30 min y 91.2 % en 60 min, mientras el extracto de jamaica de Guerrero presentó mayor capacidad antioxidante que los extractos de China y Nayarit, ya que redujo 86.7 % del radical en 15 min, a los 30 alcanzó 91.9 % y a los 60 min la reducción fue de 93.0 %.

De acuerdo con lo informado por Yagi *et al.* (2023), cuando se evalúa la CA mediante el método de DPPH, el ácido clorogénico y flavonoides del tipo kaemferol tienen una elevada participación, incluso mayor que las antocianinas características de la jamaica, lo que podría explicar porque la jamaica China, al estandarizar los extractos por contenido de antocianinas, mostró menor CA que las otras dos jamaicas, con contenidos moderados de estos flavonoides.

La composición fitoquímica de los cálices de jamaica es amplia y diversa, y sin duda la presencia de otros compuestos distintos a antocianinas contribuye a su CA. Compuestos fenólicos como el epigallocatequin-galato, catequina, epigallocatequina, quercetina, kaemferol, ácido hidroxícitrico y  $\beta$ -caroteno, presentes en los cálices de jamaica, poseen una destacada capacidad antioxidante (Riaz y Chopra, 2018).

## 4. Conclusiones

La extracción acuosa presentó menor recuperación de compuestos bioactivos en comparación con la extracción metanólica. Independientemente del procedimiento de extracción aplicado, la jamaica China contiene mayor cantidad de ácidos fenólicos y antocianinas que las jamaicas nacionales, y todas las jamaicas analizadas mostraron el mismo perfil de antocianinas. La fracción más abundante de compuestos fenólicos en los extractos acuosos fue la de ácidos fenólicos esterificados, con los ácidos clorogénico y cafeico como los principales; el primero abundó en la fracción de fenoles glucosilados, mientras que el segundo en el de esterificados. Adicionalmente, la capacidad antioxidante de los extractos estuvo ligada con su contenido de antocianinas y ácidos fenólicos. Sin embargo, otros compuestos diferentes a estos flavonoides coloridos presentes en los cálices, poseen capacidad antioxidante relevante. A pesar de su alto contenido de antocianinas, los extractos de la jamaica China presentaron menor capacidad antioxidante al estandarizar su concentración con base en estos flavonoides.

## Conflicto de interés

Los autores declaran que no existen conflictos de interés para la publicación de estos resultados.

## Nomenclatura

CA: Capacidad antioxidante.

AE: Acetato de etilo.

AF: Ácidos fenólicos.  
ANOVA: Análisis de varianza.  
Ca: Caféico.  
CAT: Contenido de antocianinas.  
Cl: Clorogénico  
DPPH: 2,2-difenil-1-picrihidrazilo.  
F: Ferúlico.  
FE: Compuestos fenólicos esterificados.  
FG: Compuestos fenólicos glucosilados.  
FL: Compuestos fenólicos libres.  
G: Gálico.  
HCl: Ácido clorhídrico.  
HPLC (siglas en ingles): Cromatografía líquida de alta resolución.  
mg ECG/kg MS: Miligramos equivalentes de cianidina 3-glucósido por kg de muestra seca.  
N: Solución Normal.  
NaOH: Hidróxido de sodio.  
ND: No detectado.  
NI: Picos no identificados.  
nm: Nanómetro.  
P: Protocatecuico.  
*p*-C: *p*-Cumárico.  
*p*-H: *p*-Hidroxibenzoico.  
Sa: Salicílico.  
Si: Siríngico.  
TFA: Ácido trifluoroacético.  
UV/Vis: Espectroscopia ultravioleta-visible.  
v/v/v: Relación volumen volumen volumen.  
V: Vanílico.  
 $\lambda_{max}$ : Máximo de absorción.

## 5. Referencias

- 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 subdariffa*). *Journal of American Science* 7(7): 445-456. <http://www.americanscience.org/>
- Alañón, M. E., Ivanović, M., Pimentel-Mora, S., Borrás-Linares, I., Arráez-Román, D., & Segura-Carretero, A. (2020). A novel sustainable approach for the extraction of value-added compounds from *Hibiscus sabdariffa* L. calyces by natural deep eutectic solvents. *Food Research International*, 137: 109646. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109646>
- Amaya-Cruz, D., Pérez-Ramírez, I. F., Pérez-Jiménez, J., Nava, G. M., & Reynoso-Camacho, R. (2019). Comparison of the bioactive potential of Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) calyx and its by-product: Phenolic characterization by UPLC-QTOF MSE and their anti-obesity effect in vivo. *Food Research International*, 126: 108589. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108589>

- Babenko, L. M., Smirnov, O. E., Romanenko, K. O., Trunova, O. K., & Kosakivska, I. V. (2019). Phenolic compounds in plants: Biogenesis and functions. *Ukr. Biochem. J*, 91(3): 5-18. <https://doi.org/10.15407/ubj91.03.005>
- Bakan, B., Bily, A. C., Melcion, D., Cahagnier, B., Regnault-Roger, C., Philogène, B. J., & Richard-Molard, D. (2003). Possible role of plant phenolics in the production of trichothecenes by *Fusarium graminearum* strains on different fractions of maize kernels. *Journal of agricultural food chemistry*, 51(9): 2826-2831. <https://doi.org/10.1021/jf020957g>
- Brouillard, R. (1982). Chemical structure of anthocyanins. In: Markakis P, editor. Anthocyanins as food colors. New York: Academic Press. p. 1–40. <https://www.sciepub.com/reference/160959>
- Carvajal-Zarrabal, O., Barradas-Dermitz, D. M., Orta-Flores, Z., Hayward-Jones, P. M., Nolasco-Hipólito, C., Aguilar-Uscanga, M. G., Miranda-Medina, A., & Bujang, K. B. (2012). *Hibiscus sabdariffa* L., roselle calyx, from ethnobotany to pharmacology. *Journal of experimental pharmacology*, 4: 25-39. <https://doi.org/https://doi.org/10.2147/JEP.S27974>
- Cassol, L., Rodrigues, E., & Zapata-Noreña, C. P. (2019). Extracting phenolic compounds from *Hibiscus sabdariffa* L. calyx using microwave assisted extraction. *Industrial crops products*, 133: 168-188. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.03.023>
- Chisomo-Chatempa, L. E., Masamba, K. G., Sanudi, T., Ngwira, A., Tanganyika, J., & Chamera, F. (2023). Effects of aqueous and methanolic solvent systems on phytochemical and antioxidant extraction from two varieties of Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) var. sabdariffa plant from Central Malawi. *Food and Humanity*, 1: 1172-1179. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foohum.2023.09.006>
- Cid-Ortega, S., & Guerrero-Beltrán, J. (2015). Roselle calyces (*Hibiscus sabdariffa*), an alternative to the food and beverages industries: a review. *Journal of Food Science Technology*, 52(11): 6859-6869. <http://dx.doi.org/10.1007/s13197-015-1800-9>
- Debelo, H., Fiecke, C., Terekhov, A., Reuhs, B., Hamaker, B., & Ferruzzi, M. G. (2023). Compositional analysis of phytochemicals and polysaccharides from Senegalese plant ingredients: *Adansonia digitata* (baobab), *Moringa oleifera* (moringa) and *Hibiscus sabdariffa* (hibiscus). *NFS Journal*, 32: 100144. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.nfs.2023.100144>
- Escobar-Ortiz, A., Castaño-Tostado, E., Rocha-Guzmán, N. E., Gallegos-Infante, J. A., & Reynoso-Camacho, R. (2021). Anthocyanins extraction from *Hibiscus sabdariffa* and identification of phenolic compounds associated with their stability. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 101(1): 110-119. <https://doi.org/10.1002/jsfa.10620>
- Enaru, B., Drețcanu, G., Pop, T. D., Stănilă, A., & Diaconeasa, Z. (2021). Anthocyanins: Factors affecting their stability and degradation. *Antioxidants*, 10(12): 1967. <https://doi.org/10.3390/antiox10121967>
- Fossen, T., Slimestad, R., & Andersen, Ø. M. (2001). Anthocyanins from Maize (*Zea mays*) and Reed Canarygrass (*Phalaris arundinacea*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(5): 2318-2321. <https://doi.org/10.1021/jf001399d>
- Galicia-Flores, L. A., Salinas-Moreno, Y., Espinoza-García, B. M., & Sánchez-Feria, C. (2008). Caracterización fisicoquímica y actividad antioxidante de extractos de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) nacional e importada. *Revista Chapingo. Serie horticultura*, 14(2): 121-129. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=60911556003>

- Głowniak, K., Zgórk, G., & Kozyra, M. (1996). Solid-phase extraction and reversed-phase high-performance liquid chromatography of free phenolic acids in some *Echinacea* species. *Journal of Chromatography A*, 730(1-2): 25-29. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0021-9673\(95\)00877-2](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0021-9673(95)00877-2)
- Huang, C.-N., Chan, K.-C., Lin, W.-T., Su, S.-L., Wang, C.-J., & Peng, C.-H. (2009). *Hibiscus sabdariffa* Inhibits Vascular Smooth Muscle Cell Proliferation and Migration Induced by High Glucose—A Mechanism Involves Connective Tissue Growth Factor Signals. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(8): 3073-3079. <https://doi.org/10.1021/jf803911n>
- Ifie, I., Ifie, B. E., Ibitoye, D. O., Marshall, L. J., & Williamson, G. (2018). Seasonal variation in *Hibiscus sabdariffa* (Roselle) calyx phytochemical profile, soluble solids and  $\alpha$ -glucosidase inhibition. *Food Chemistry*, 261: 164-168. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.04.052>
- Li, N., Simon, J. E., & Wu, Q. (2024). Determination of anthocyanins, organic acids and phenolic acids in hibiscus market products using LC/UV/MS. *Journal of Food Science*, 89(2): 1098-1113. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.16909>
- Maciel, L. G., do Carmo, M. A. V., Azevedo, L., Daguer, H., Molognoni, L., de Almeida, M. M., ... & Rosso, N. D. (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>
- Mejía, J. J., Sierra, L. J., Ceballos, J. G., Martínez, J. R., & Stashenko, E. E. (2023). Color, antioxidant capacity and flavonoid composition in *Hibiscus rosa-sinensis* cultivars. *Molecules*, 28(4): 1779. <https://doi.org/10.3390/molecules28041779>
- Marques, V., & Farah, A. (2009). Chlorogenic acids and related compounds in medicinal plants and infusions. *Food Chemistry*, 113(4): 1370-1376. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.08.086>
- Morales-Cabrera, M., Hernández-Morales, J., Leyva-Rúelas, G., Salinas-Moreno, Y., Soto-Rojas, L., & Castro-Rosas, J. (2013). Influence of variety and extraction solvent on antibacterial activity of roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) calyxes. *Journal of Medicinal Plants Research*, 7(31): 2319-2322. <https://doi.org/10.5897/JMPR12.1242>
- Piovesana, A., & Zapata-Noreña, C. P. (2019). Study of acidified aqueous extraction of phenolic compounds from . calyxes. *The Open Food Science Journal*, 11: 25-34. <https://benthamopenarchives.com/abstract.php?ArticleCode=TOFSJ-11-25>
- Prenci, E., Berto, S., Daniele, P. G., & Toso, S. (2007). Antioxidant power quantification of decoction and cold infusions of *Hibiscus sabdariffa* flowers. *Food Chemistry*, 100(2): 433-438. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.09.063>
- Prior, R. L., Wu, X., & Schaich, K. (2005). Standardized Methods for the Determination of Antioxidant Capacity and Phenolics in Foods and Dietary Supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(10): 4290-4302. <https://doi.org/10.1021/jf0502698>
- Reyes-Luengas, A., Salinas-Moreno, Y., Ovando-Cruz, M. E., Arteaga-Garibay, R. I., & Martínez-Peña, M. D. (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. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=30238027004>
- Riaz, G., & Chopra, R. (2018). A review on phytochemistry and therapeutic uses of *Hibiscus sabdariffa* L. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 102: 575-586. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.03.023>

- Şahin, S., Pekel, A. G., & Toprakçı, İ. (2020). Sonication-assisted extraction of *Hibiscus sabdariffa* for the polyphenols recovery: application of a specially designed deep eutectic solvent. *Biomass Conversion Biorefinery*, 12: 4959–4969. <https://doi.org/10.1007/s13399-020-00837-4>
- Salinas-Moreno, Y., Salas-Sánchez, G., Rubio-Hernández, D., & Ramos-Lobato, N. (2005). Characterization of anthocyanin extracts from maize kernels. *Journal of Chromatographic Science*, 43(9): 483-487. <https://doi.org/10.1093/chromsci/43.9.483>
- Salinas-Moreno, Y., Zúñiga-Hernández, A. R. E., Jiménez-De la Torre, L. B., 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://www.redalyc.org/articulo.oa?id=60926213012>
- Segura-Carretero, A., Puertas-Mejía, M. A., Cortacero-Ramírez, S., Beltrán, R., Alonso-Villaverde, C., Joven, J., Dinelli, G., & Fernández-Gutiérrez, A. (2008). Selective extraction, separation, and identification of anthocyanins from *Hibiscus sabdariffa* L. using solid phase extraction-capillary electrophoresis-mass spectrometry (time-of-flight/ion trap). *Electrophoresis*, 29(13): 2852-2861. <https://doi.org/10.1002/elps.200700819>
- Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventós, R. M. (1999). [14] Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. In L. Packer (Ed.) *Methods in Enzymology* (Vol. 299, pp. 152-178). Academic Press. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(99\)99017-1](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99017-1)
- Sridhar, A., Ponnuchamy, M., Kumar, P. S., Kapoor, A., Vo, D.-V. N., & Prabhakar, S. (2021). Techniques and modeling of polyphenol extraction from food: a review. *Environmental Chemistry Letters*, 19(4): 3409-3443. <https://doi.org/10.1007/s10311-021-01217-8>
- Sukwattanasinit, T., Burana-Osot, J., & Sotanaphun, U. (2007). Spectrophotometric method for quantitative determination of total anthocyanins and quality characteristics of roselle (*Hibiscus sabdariffa*). *Planta medica*, 73(14): 1517-1522. <https://doi.org/10.1055/s-2007-990262>
- Yagi, S., Uba, A. I., Sinan, K. I., Piatti, D., Sagratini, G., Eltigani, S. M., Caprioli, G., Lazarova, I., & Zengin, G. (2023). Comparative Study on the Chemical Profile, Antioxidant Activity, and Enzyme Inhibition Capacity of Red and White *Hibiscus sabdariffa* Variety Calyces. *ACS Omega*, 8(45): 42511-42521. <https://doi.org/10.1021/acsomega.3c05217>
- Yang, M.-Y., Peng, C.-H., Chan, K.-C., Yang, Y.-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 food chemistry*, 58(2): 850-859. <https://doi.org/10.1021/jf903209w>
- Zhang, W., Lin, M., Jia, D., Zhang, Q., Zhang, D., Gu, Y., Peng, Q., & Zheng, S. (2024). Inhibition of TNF- $\alpha$ /IFN- $\gamma$ -induced inflammation in HaCaT Cell by roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) extractions. *Food Bioscience*, 60: 104432. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.fbio.2024.104432>

2024 TECNOCENCIA CHIHUAHUA.

Esta obra está bajo la Licencia Creative Commons Atribución No Comercial 4.0 Internacional.



<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>