

## Características bioquímicas y calidad nutracéutica de cinco variedades de jamaica cultivadas en México\*

### Biochemical characteristics and quality nutraceutical five varieties of jamaica grown in Mexico

Rafael Ariza Flores<sup>1§</sup>, Víctor Serrano Altamirano<sup>1</sup>, Alejandro Casimiro Michel Aceves<sup>2</sup>, Aristeo Barrios Ayala<sup>1</sup>, Marco Antonio Otero Sánchez<sup>2</sup>, Carlos Hugo Avendaño Arrazate<sup>3</sup> y David H. Noriega Cantú<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Campo Experimental Iguala-INIFAP. Iguala, Guerrero. <sup>2</sup>Colegio Superior Agropecuario del Estado de Guerrero. Iguala, Guerrero. <sup>3</sup>Campo Experimental Rosario Izapa-INIFAP. Carretera Tapachula-Cacahoatán, km 18. Tapachula, Chiapas, México. CP. 30870. <sup>§</sup>Autor para correspondencia: ariza.rafael@inifap.gob.mx.

#### Resumen

Se determinaron las características bioquímicas, fitoquímicas y antioxidantes de las nuevas variedades de jamaica *Hibiscus sabdariffa*: Alma Blanca (VAB), Cotzaltzin (VC), Rosalíz (VR) y Tecoanapa (VT), comparadas con la variedad Sudán (VS), para impulsar el uso alimenticio y nutricional de los cálices de la flor. Se realizó el análisis proximal de los cálices de las flores de las variedades de jamaica, así como los contenidos de aminoácidos, compuestos fenólicos y ácidos fenólicos. Mostraron diferencias estadísticas entre las variedades y para los contenidos de proteína, carbohidratos, lípidos, cenizas y fibra, así como los aminoácidos, fenoles totales y ácidos fenólicos, para las cinco variedades. Los lípidos varían de 17.7 a 22.8% y son mayores en VT y VS; las proteínas son altas en VT (5.8%) y VS (6%); de fibra contienen más VAB (43.9%) y Rosalíz (40.1%) y cenizas en VAB (9%) y VC (8.3%); en carbohidratos es mayor para la VC (37.5%). Se encontraron seis aminoácidos esenciales, la isoleucina y treonina pasan los requerimientos mínimos necesarios para los niños de la infancia y de preescolar y los adultos en todas las variedades; la VT presentan más lisina y las VAB, VC, VR y VS contienen más metionina + cisteína. Las variedades VAB, VC, VR y VT mostraron aproximadamente 50% de

#### Abstract

Biochemical characteristics, phytochemicals and antioxidants were determined of new varieties of jamaica *Jamaica sabdariffa*: Alma Blanca (VAB), Cotzaltzin (VC), Rosalíz (VR) and Tecoanapa (VT), compared with the variety Sudan (VS) to promote the nutritional and nutritional use of flower buds. The proximal analysis were performed of the calyces of the flowers of the jamaica varieties, as well as the contents of aminoacids, phenolic compounds and phenolic acids. They showed statistical differences between the varieties and for the contents of protein, carbohydrates, lipids, ashes and fiber, as well as aminoacids, total phenols and phenolic acids, for the five varieties. The lipids range from 17.7 to 22.8% and are higher in VT and VS; the proteins are high in VT (5.8%) and VS (6%); of fiber contain more VAB (43.9%) and Rosalíz (40.1%) and ashes in VAB (9%) and VC (8.3%); in carbohydrates is higher for VC (37.5%). The six essential aminoacids were found, isoleucine and threonine pass the minimum requirements necessary for children from childhood and preschool and adults in all varieties; the VT present more lysine and the VAB, VC, VR and VS contain more methionine + cysteine. The VAB, VC, VR and VT showed approximately 50% of

\* Recibido: octubre de 2016  
Aceptado: enero de 2017

fenoles totales en comparación con VS; la VAB presentó menor contenido de taninos (65.5 mgEC/100 g); la VS es más alta en antocianinas. El ácido vanillico es abundante en las VR y VT y el ácido 4-hidroxibenzoico en VC; los ácidos salicílico y clorogénico son altos en la VAB; mientras que, el ácido protocatecuico es alto en las VR y VT, considerado con propiedades anticancerígenas. Las nuevas variedades de jamaica representan una alternativa para el consumo humano, por las características bioquímicas y nutraceuticas.

**Palabras clave:** *Hibiscus sabdariffa* L., ácidos fenólicos, aminoácidos, bromatología, compuestos fenólicos,

## Introducción

La jamaica *Hibiscus sabdariffa* L. es originaria de la región Tropical de África, desde Egipto y Sudán hasta Senegal, incluye a Malawi, Mozambique, Zambia, Zimbabwe. Por sus propiedades medicinales, nutraceuticas y rusticidad de la planta se ha distribuido a otras regiones tropicales del mundo, como son: México, América Central, América del Sur y el Sureste Asiático; en estos lugares ha alcanzado gran importancia económica. Al Continente Americano fue traída por los esclavos negros, en el siglo XVII llegó a Brasil y al país de Jamaica en el año de 1707; se cree que la entrada a México fue en la época de la colonia (Morton, 1987). De acuerdo con Augstburger *et al.* (2000), los principales países productores de jamaica son: Egipto, Sudán, México, Tailandia y China; pero China y Tailandia son los exportadores más grandes y controlan el suministro (FAO, 2010).

En México, el nombre de jamaica se conoce a la planta y cálices secos de *H. sabdariffa* L. Durante 2010, se cosecharon 18 416 hectáreas (ha) que produjeron 4 878 toneladas (t) de cálices (SAGARPA, 2013). Los estados productores son Guerrero y Oaxaca, ya que se obtiene 85% de la producción nacional (SAGARPA, 2013). Posiblemente, se domesticó en Sudán desde hace 6 000 años, al inicio fue por sus semillas y después se hizo para la producción de hojas y cálices. Aparentemente, las plantas silvestres de *Hibiscus sabdariffa* L., se han colectado en Ghana, Níger, Nigeria y Angola (Shamsuddin y Van Der Vossen, 2003).

Los cálices de la jamaica han tomado importancia principalmente por las propiedades medicinales, ya que se atribuyen como diurético (Márquez *et al.*, 2007), para reducir el colesterol (Agpreyo *et al.*, 2008), para controlar la

total phenols compared to VS; the VAB presented lower tannin content (65.5 mgEC/100 g); the VS is higher in anthocyanins. The vanillic acid is abundant in VR and VT and 4-hydroxybenzoic acid in VC; Salicylic and chlorogenic acids are high in VAB; whereas, protocatecuic acid is high in VR and VT, considered with anticancer properties. The new varieties of jamaica represent an excellent alternative for human consumption, because they present important biochemical and nutraceutical characteristics.

**Keywords:** *Hibiscus sabdariffa* L, aminoacids, phenolic acids, bromatology, phenolic compounds.

## Introduction

The jamaica *Hibiscus sabdariffa* L. is native to tropical Africa, from Egypt and Sudan to Senegal, including Malawi, Mozambique, Zambia, Zimbabwe. For its medicinal properties, nutraceuticas and rusticidad of the plant has been distributed to other tropical regions of the world, as they are: Mexico, Central America, South America and Southeast Asia; in these places has reached great economic importance. To the American Continent was brought by black slaves, in the seventeenth century arrived in Brazil and the country of Jamaica in the year 1707; it is believed that the entrance to Mexico was at the time of the colony (Morton, 1987). According to Augstburger *et al.* (2000), the main producing countries of jamaica are: Egypt, Sudan, Mexico, Thailand and China; but China and Thailand are the largest exporters and control supply (FAO, 2010).

In Mexico, the jamaica name is known to the plant and dry calyxes of *H. sabdariffa* L. During 2010 were harvested, 18 416 (ha) that produced 4 878 (t) of calyxes (SAGARPA, 2013). The producing states are Guerrero and Oaxaca, since 85% of the national production is obtained (SAGARPA, 2013). Possibly, it was domesticated in Sudan for 6 000 years, at first it was for its seeds and later it was made for the production of leaves and calyxes. Apparently wild plants *Hibiscus sabdariffa* L., were collected in Ghana, Niger, Nigeria and Angola (Shamsuddin and Van Der Vossen, 2003).

The calyxes of jamaica have become important mainly for the medicinal properties, and attributed as a diuretic (Márquez *et al.*, 2007), to lower cholesterol (Agpreyo *et al.*, 2008), to control blood pressure (Ojeda *et al.*, 2009),

presión arterial (Ojeda *et al.*, 2009), antibacterial (Olaleye, 2007); para regenerar los tejidos afectados por enfermedades degenerativas (Liang-Chih *et al.*, 2009); para reducir la obesidad (Alarcón *et al.*, 2007), tiene efecto antiviral (Omilabu *et al.*, 2010), disminuye la litiasis o cálculos (Woottisin *et al.*, 2011) y es purificante del agua (Yongabi *et al.*, 2011).

Algunas plantas sintetizan a las saponinas, alcaloides, glucósidos y taninos, las cuales se han documentado por exhibir varias actividades biológicas, como son antiinflamatorio, antiarteroescleróticos, antitumores, antimutagénico, anticarcinogénico, antibacterial y antivirales (Mbaebie *et al.*, 2012). Sin embargo, la mayoría de las plantas no se han investigado por su potencial antioxidante. La jamaica *H. sabdariffa* L. de la familia Malvaceae, es una planta que mide 2 m de altura, es arbustiva, con los tallos de color verde a rojizos, las hojas son verdes y con las nervaduras rojas y verdes; la diferencia está en el color de los cálices de las flores, que son amarillos, rosa y rojo (Serrano *et al.*, 2011; Alarcón *et al.*, 2012).

La producción depende de un genotipo criollo con bajo rendimiento; la planta presenta mayor sensibilidad al fotoperiodo y se cultiva durante los meses de julio a diciembre, su producción se concentra en el mes de diciembre y ocasiona un bajo precio de venta. El desconocimiento de los genotipos y sus propiedades intrínsecas hacen poco factible su aprovechamiento por los consumidores y el consumo per cápita es bajo (Serrano *et al.*, 2011). La producción de los cálices deshidratados de la planta se destina para preparar una bebida refrescante. En las semillas se han realizado estudios de los contenidos y propiedades nutricionales con 25% de proteína y 21% de aceites (Abu-Tarboush *et al.*, 1997); sin embargo, los estudios del cáliz de la flor son escasos.

La importancia de la jamaica no se limita solo al aspecto medicinal; también, se ha explorado el uso de los cálices en la alimentación de pollos (Onibi and Osho, 2007); la semilla se usa como sustituto en dietas de borregos (Beshir y Babikers, 2009), tilapia (Fagbenro *et al.*, 2004) y pollos de engorda (Jínez *et al.*, 1998). La semilla es una excelente fuente de proteínas (30%) y aceites (22%) (Abu-Tarboush *et al.*, 1997, Yagoub *et al.*, 2004), por lo que se usa como alimento cocido y fermentado en países africanos. En México, se ha estado distribuyendo la variedad Sudán, la cual fue introducida por el mercado internacional: ésta es de cálices grandes y de color rojo; sin embargo, los rendimientos obtenidos no rebasan a tres variedades de reciente generación (Serrano *et al.*, 2011).

antibacterial (Olaleye, 2007); to regenerate tissues affected by degenerative diseases (Liang-Chih *et al.*, 2009); to reduce obesity (Alarcón *et al.*, 2007), has antiviral effect (Omilabu *et al.*, 2010), decreases calculi or stones (Woottisin *et al.*, 2011) and is purifying water (Yongabi *et al.*, 2011).

Some plants synthesized saponins, alkaloids, glycosides and tannins, which have been documented to exhibit various biological activities, such as anti-inflammatory, antiarteroescleróticos, antitumor, antimutagenic, anticarcinogenic, antibacterial and antiviral (Mbaebie *et al.*, 2012). However, most plants have not been investigated for their antioxidant potential. The Jamaica *H. sabdariffa* L., of the Malvaceae family, is a plant that measures 2.0 m in height, is shrubby, stems from green to red, the leaves are green and red and green ribs; the difference is in the color of the calyx of flowers, which are yellow, pink and red (Serrano *et al.*, 2011; Alarcón *et al.*, 2012).

The production depends on a criollo genotype with low yield; the plant is more sensitive to photoperiod and is grown during the months of July to December, its production is concentrated in the month of December and causes a low sale price. Ignorance of genotypes and their intrinsic properties make their use impractical for consumers and per capita consumption is low (Serrano *et al.*, 2011). The production of the dehydrated calyxes of the plant is mainly intended to prepare a refreshing beverage. In seeds they have been no studies of content and nutritional properties 25% protein and 21% oil (Abu-Tarboush *et al.*, 1997); however, studies of the flower's calyx are scarce.

The importance of jamaica is not only limited to the medicinal aspect; also, the use of calyxes in the feeding of chickens has been explored (Onibi and Osho, 2007); the seed is used as a substitute in diets of sheep (Beshir and Babikers, 2009), tilapia (Fagbenro *et al.*, 2004) and broilers (Jínez *et al.*, 1998), mainly. The seed is an excellent source of protein (30%) and oil (22%) (Abu-Tarboush *et al.*, 1997; Yagoub *et al.*, 2004), which is used as cooked food and fermented in African countries. In Mexico, the Sudan variety has been distributed, which was introduced by the international market: this is of large calyxes and red; however, the yields obtained do not exceed three varieties recent generation (Serrano *et al.*, 2011).

La jamaica tiene un gran potencial económico por su valor nutritivo y diversos usos para el consumidor. Asimismo, la mayoría de los subproductos se elaboran al pasar a través de un proceso de cocción, por eso no se mantiene las propiedades bioquímicas y las propiedades nutraceuticas podrán disminuir en los consumidores; por lo tanto, se requiere mejorar los procesos de elaboración de los subproductos para ser aprovechados por la población e incrementar el consumo per cápita (Serrano *et al.*, 2011). En México, se han registrado cuatro nuevas variedades de jamaica: Alma Blanca (VAB), Cotzaltzin (VC), Rosalíz (VR) y Tecoaapa (VT) (Serrano *et al.*, 2011), que para impulsar el uso alimenticio y nutricional de los cálices de flores, se consideró conocer las características fitoquímicas y antioxidantes de estas nuevas variedades y su comparación con la variedad Sudán (VS), la cual es de importación.

## Materiales y métodos

El material vegetal. Los cálices de jamaica de las variedades nuevas Alma Blanca, Cotzaltzin, Rosalíz y Tecoaapa, y la variedad Sudán introducida en México, fueron obtenidos del Banco de Germoplasma del Campo Experimental Valles Centrales de Oaxaca del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP). Los colores de los cálices deshidratados son de Alma Blanca (amarillos), Rosalíz (rosas), Cotzaltzin, Tecoaapa y Sudán (rojos). Los cálices fueron deshidratados a 38 °C por tres días.

Análisis proximal. El análisis proximal se determinó siguiendo los métodos de la AOAC (2000). Las proteínas se cuantificaron a través del contenido de nitrógeno (960.52), el extracto etéreo (920.85) y las cenizas (923.03). El factor de conversión para la proteína total fue de 6.25 (N\*6.25). La fibra dietaria se determinó de acuerdo al método de Prosky *et al.* (1998). El porcentaje de los carbohidratos se obtuvo por diferencia. Las evaluaciones se hicieron por cuadruplicado.

Aminoácidos. El contenido de aminoácidos se obtuvo mediante el uso de la metodología de la AOAC (2000). La muestra fue hidrolizada en un medio ácido (HCl 6N y fenol, 1g L<sup>-1</sup> HCl y agua 1:1, v/v) por 24 y 48 h, ambas muestras se hicieron por separado para liberar los aminoácidos. La metionina y cisteína se determinaron de una muestra tomada por separado, la cual se realizó mediante oxidación con ácido per fórmico. El contenido de los aminoácidos se obtuvieron mediante una mezcla en cromatografía líquida de alta resolución en fase reversible

The jamaica has great economic potential for its nutritional value and various uses for the consumer. Likewise, most by-products are made by passing through a cooking process, so that their biochemical properties are not maintained and their nutraceutical properties may decrease in consumers; therefore it requires improving manufacturing processes of the products to be used by the population and increasing per capita consumption (Serrano *et al.*, 2011). In Mexico, there have been four new varieties of jamaica: Alma Blanca (VAB), Cotzaltzin (VC), Rosalíz (VR) and Tecoaapa (VT) (Serrano *et al.*, 2011), to drive the food and nutritional use the calyces of flowers, it was considered important to know the phytochemical and antioxidant characteristics of these new varieties and their comparison with the Sudan (VS) variety, which is of import.

## Materials and methods

The plant material. The hubiscus calyces of the new varieties Alma Blanca, Cotzaltzin, Rosalíz and Tecoaapa, and the Sudan variety introduced in Mexico were obtained from the Germplasm Bank of the Central Vales Experimental Field of Oaxaca of the National Institute of Forestry, Agriculture and Livestock Research (INIFAP). The colors of the dehydrated calyxs are of Alma Blanca (yellow), Rosalíz (roses), Cotzaltzin, Tecoaapa and Sudan (red). The calyces were dehydrated at 38 °C for three days.

Proximal analysis. The proximal analysis was determined following the AOAC (2000) methods. Proteins were quantified through nitrogen content (960.52), ethereal extract (920.85) and ash (923.03). The conversion factor for total protein was 6.25 (N\*6.25). The dietary fiber was determined according to the method of Prosky *et al.* (1998). The percentage of carbohydrates was obtained by difference. The evaluations were done in quadruplicate.

Aminoacids. The aminoacid content was obtained using of the methodology AOAC (2000). The sample was hydrolyzed in an acid medium (HCl 6N and phenol, 1g L<sup>-1</sup> HCl and water 1:1, v/v) for 24 and 48 hours, both samples were made separately to free aminoacids. The methionine and cysteine were determined from a separate sample, which was performed by oxidation with performic acid. The content of the amino acids was obtained by mixing in reversed phase high performance liquid chromatography (HPLC),



(HPLC), comparados por su tiempo de retención y espectro; se tomó una muestra de 2 mL min<sup>-1</sup> y fue puesta en el flujo del HPLC (Agilent Technologies), con una columna Zorbax Eclipse AAA (4.6 x 75 mm, 3.5 μm, PN 966400-902) y fase móvil A de 40 mM Na<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, NaOH 10 N y agua a pH 7.8. Las evaluaciones se realizaron de cuatro repeticiones.

Contenido de fenoles totales. El contenido de fenoles totales fueron obtenidos por el método de Folin-Ciocalteu, descrito por Singleton *et al.* (1999). Las evaluaciones se realizaron de cuatro repeticiones.

Determinación de taninos. A 200 mg de cálices deshidratados se les añadieron 10 ml de metanol, se agitó por 20 min, se centrifugó y se recuperó el sobrenadante (Deshpande y Cheryan, 1985). A 1 mL del sobrenadante se adicionó 5 mL de reactivo de vainillina recién preparado, que consiste en vainillina al 1% en metanol y HCl al 8% en metanol en la proporción 1:1. La muestra se dejó reposar por 20 min a 30 °C y se leyó en un espectrofotómetro (6405 UV/Vis, JENWAY) a 500 nm. Para determinar el contenido de taninos se preparó una curva de calibración con (+) catequina; la concentración final se expresa como miligramos equivalentes de (+) catequina/100 g de muestra (mg EC/100 g). Las evaluaciones se hicieron con cuatro repeticiones.

Determinación de antocianinas. El contenido de antocianinas en cada variedad se obtuvo mediante el método desarrollado por Abdel y Hucl (1999). El contenido de antocianinas totales se expresó en mg kg<sup>-1</sup> y se determinó como cianidina 3-glucósido; de acuerdo a la ecuación:

$$C = (A/\epsilon) * (\text{vol}/1000) * PM * (1/\text{peso de la muestra}) * 10^6$$

Donde: C= concentración de antocianinas totales (mg kg<sup>-1</sup>); A= absorbancia máxima; ε= absorptividad molar de cianidina 3-glucósido (25,965 cm<sup>-1</sup> M<sup>-1</sup>); vol= volumen total del extracto de antocianinas; PM= peso molecular de cianidina 3-glucósido de 449. Las evaluaciones se hicieron con cuatro repeticiones.

Determinación de los fenoles simples. El método empleado se basó en el reporte de Ramamurthy *et al.* (1992). La identificación y cuantificación de los compuestos fenólicos simples se realizaron a través de la comparación con el tiempo de retención, espectros de absorción de estándares comerciales y curvas de calibración de los mismos. Las evaluaciones se hicieron con cuatro repeticiones.

compared by their retention time and spectrum; a sample of 2 mL min<sup>-1</sup> was taken and placed in the HPLC flow (Agilent Technologies), with a Zorbax Eclipse AAA column (4.6 x 75 mm, 3.5 μm, PN 966400-902) and mobile phase A of 40 mM Na<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, NaOH 10 N to pH 7.8 water. The evaluations were performed on four replicates.

Total phenol content. The total phenolic content were obtained by the Folin-Ciocalteu described by Singleton *et al.* (1999). The evaluations were performed on four replicates.

Determination of tannins. To 200 mg of dehydrated calyxes were added 10 ml of methanol, stirred for 20 min, centrifuged and the supernatant recovered (Deshpande and Cheryan, 1985). To 1 mL of the supernatant was added 5 mL of freshly prepared vanillin reagent consisting of 1% vanillin in methanol and 8% HCl in methanol in the ratio 1:1. The sample was allowed to stand for 20 min at 30 °C and read in a spectrophotometer (6405 UV/Vis, JENWAY) at 500 nm. To determine the tannin content a calibration curve was prepared with (+) catechin; The final concentration is expressed as equivalent milligrams of (+) catechin/100 g of sample (mg EC/100 g). The evaluations were done with four replicates.

Determination of anthocyanins. The content of anthocyanins in each variety was obtained by the method developed by Abdel and Hucl (1999). The total anthocyanins content was expressed in mg kg<sup>-1</sup> and was determined as cyanidin 3-glucoside; according to the equation:

$$C = (A/\epsilon) * (\text{vol}/1000) * PM * (1/\text{weight of the sample}) * 10^6$$

Where: C= concentration of total anthocyanins (mg kg<sup>-1</sup>); A= maximum absorbance; ε= molar absorptivity of cyanidin 3-glucoside (25 965 cm<sup>-1</sup> M<sup>-1</sup>); Vol= total volume of the anthocyanin extract; PM= cyanidin 3-glucoside molecular weight of 449. The evaluations were done with four replicates.

Determination of simple phenols. The method used was based on the report Ramamurthy *et al.* (1992). The identification and quantification of the simple phenolic compounds were performed through comparison with the retention time, commercial standard absorption spectra and calibration curves thereof. The evaluations were done with four replicates.

Análisis estadístico. Los datos fueron analizados con el programa SAS (2004), mediante el análisis de la varianza y comparación de medias de Tukey ( $p < 0.05$ ); son expresados como promedios y su desviación estándar.

## Resultados

### Análisis proximal

Se encontró diferencias estadísticas entre las variedades para los contenidos de proteína, carbohidratos, lípidos, cenizas y fibra (Cuadro 1). El cáliz de la flor de la jamaica tiene alto contenido de lípidos de 17.7 a 22.8% de las variedades; fueron menores en las VAB, VC y VR, y fueron mayores en las VT y VS. El contenido de proteína es mayor en la VT (5.8%) y es estadísticamente igual a la VS (6%), es intermedia en la VAB (4.2%) y son menores en la VR (3.6%) y la VC (3.4%). Las VAB y VR tienen un alto contenido en fibra con 43.9% y 40.1%, respectivamente, la intermedia es VS (38.5%) y son menores en las VT (34%) y VC (33.1%). También, presentan alto contenido de cenizas, siendo mayor en las VAB y VC, le siguen las VR, VS y VT, los valores variaron de 9% a 6.2%. En carbohidratos es mayor para la VC (37.5%), son intermedias y similares en las VR y VT con 31.2% y son bajas en VS y VAB.

**Cuadro 1. Composición bioquímica (%)<sup>a</sup> de extractos de cáliz de cinco variedades de jamaica.**  
**Table 1. Biochemical composition (%)<sup>a</sup> extracts of calyxes of five varieties of jamaica.**

Componente	Alma Blanca	Cotzaltzin	Rosaliz	Tecoanapa	Sudán
Proteína	4.2 ± 0.27 b	3.4 ± 0.43 c	3.6 ± 0.59 c	5.8 ± 0.1 a	6 ± 0.09 a
Lípidos	17.7 ± 0.12 b	17.7 ± 0.24 b	18 ± 0.28 b	22.8 ± 1.35 a	20.9 ± 1.19 a
Fibra	43.9 ± 2.7 a	33.1 ± 1.2 c	40.1 ± 2.4 a	34 ± 2.8 bc	38.5 ± 1.7 ab
Ceniza	9 ± 0.18 a	8.3 ± 0.15 b	7.1 ± 0.23 cd	6.2 ± 0.2 e	6.8 ± 0.53 de
Carbohidratos	25.2 ± 0.82 d	37.5 ± 0.51 a	31.2 ± 0.88 b	31.2 ± 1.12 b	27.8 ± 0.88 c

<sup>a</sup>= Los datos son expresados como promedios ± desviación estándar (n= 4). Promedios con letras iguales en el mismo renglón son estadísticamente iguales (Tukey,  $p < 0.05$ ).

Contenido de aminoácidos. El contenido de aminoácidos esenciales y no esenciales de los cáliz de la flor de jamaica con se presenta en el Cuadro 2. Se demuestra diferencias estadísticamente para las variedades de jamaica en el contenido de aminoácidos. Se detectaron a seis de los diez aminoácidos esenciales en la flor de la jamaica, éstos son: isoleucina, leucina, lisina, treonina y metionina + cisteína. El contenido de isoleucina y treonina en todas las variedades fueron mayores, que el requerimiento mínimo necesario diario definido por la FAO/WHO/UNO (1985).

Statistic analysis. The data were statistically analyzed using SAS (2004), by analysis of variance and mean comparison Tukey ( $p < 0.05$ ); are expressed as averages and their standard deviation.

## Results

### Proximal analysis

Statistical differences were found among varieties for protein, carbohydrate, lipid, ash and fiber contents (Table 1). The calyx of the jamaica flower has a high lipid content of 17.7 to 22.8% of the varieties; were lower in the VAB, VC and VR, and were higher in the VT and VS. The protein content is higher in the VT (5.8%) and is statistically equal to the VS (6%), intermediate in the VAB (4.2%) and lower in the VR (3.6%) and VC (3.4%). The VAB and VR have a high fiber content with 43.9% and 40.1%, respectively, the intermediate is VS (38.5%) and are lower in VT (34%) and VC (33.1%). Also, they present high ash content, being higher in the VAB and VC, followed by the VR, VS and VT, values ranged from 9% to 6.2%. In carbohydrates are higher for VC (37.5%), intermediate and similar in VR and VT with 31.2% and are low in VS and VAB.

Aminoacid content. The essential and non-essential aminoacid content of the calyxes of the jamaica flower with is presented in Table 2. We demonstrate statistically differences for jamaica varieties in the amino acid content. Six of the ten essential amino acids were detected in the jamaica flower, these are: isoleucine, leucine, lysine, threonine and methionine + cysteine. The content of isoleucine and threonine in all varieties were greater than the minimum daily requirement defined by FAO/WHO/UNO (1985).

**Cuadro 2. Contenido de aminoácidos (mg 100 g<sup>-1</sup> de proteína)<sup>a</sup> de extractos de cálices de cinco variedades de jamaica.**  
**Table 2. Amino acid content (mg 100 g<sup>-1</sup> of protein)<sup>a</sup> extracts calyxes five varieties of jamaica.**

Aminoácido	Alma Blanca	Cotzaltzin	Rosalíz	Tecoanapa	Sudán	FAO/WHO
<b>Esenciales</b>						
Leucina	5.7 ± 0.05 b	6.3 ± 0.51 a	4.1 ± 0.01 d	5.2 ± 0.05 c	5.3 ± 0.15 c	6.5
Isoleucina	5.6 ± 0.38 b	6.2 ± 1.4 a	4.7 ± 0.52 c	7.1 ± 1.4 a	4.7 ± 0.93 b	3.5
Lisina	4.6 ± 0.81 b	5.5 ± 0.54 a	3.1 ± 0.09 c	6.1 ± 0.64 a	4.8 ± 0.52 b	5
Metionina + cisteína	2.2 ± 0.21 a	2.1 ± 0.12 a	1.9 ± 0.15 b	1.4 ± 0.08 c	1.9 ± 0.14 b	2.5
Treonina	3.9 ± 0.22 b	4.4 ± 0.11 a	3.4 ± 0.16 c	4.6 ± 0.26 a	3.9 ± 0.42 bc	2.5
<b>No esenciales</b>						
Alanina	14.6 ± 0.63	14.7 ± 2.2	9.6 ± 1.1	17.4 ± 1.8	11.5 ± 1.4	nd
Arginina	16.2 ± 1.3 a	13.6 ± 1.1 b	10.3 ± 0.2 c	15.8 ± 1.7 a	12.9 ± 1.1 b	nd
Glicina	25.5 ± 0.74 a	24.9 ± 0.35 b	15.9 ± 1 c	27.1 ± 2.4 a	25.8 ± 1.4 ab	nd
Ácido glutámico	27.1 ± 1.1 a	17.2 ± 0.7 c	19.9 ± 1.2 b	27.8 ± 2.9 a	25.9 ± 2.3 a	nd
Ácido aspártico	2.4 ± 0.2 b	2.1 ± 0.4 d	2.2 ± 0.5 c	2.6 ± 0.8 ab	2.8 ± 0.7 a	nd
Prolina	3.1 ± 0.44 b	3.7 ± 0.55 a	3.7 ± 0.57 a	3.2 ± 0.36 b	3.6 ± 0.34 a	nd
Tirosina	11.3 ± 0.4 b	9.8 ± 0.6 c	8.5 ± 0.4 d	15.5 ± 0.6 a	11.2 ± 0.5 b	nd

nd= no determinado; FAO/QHO= requerimiento mínimo necesario diario definido por estos organismos públicos de la salud; <sup>a</sup>= los datos son expresados como promedios ± desviación estándar (n= 4). Promedios con letras iguales en el mismo renglón son estadísticamente iguales (Tukey, *p*< 0.05).

Los valores de isoleucina en todas las variedades pasan los requerimientos mínimos necesarios por los infantes, niños de preescolar y adultos, así como de treonina para niños de preescolar y adultos. La VT presenta mayor contenido de lisina, sin embargo no rebasan los requeridos por preescolares y adultos recomendados por la FAO/WHO/UNO (1985).

La metionina + cisteína rebasa los requerimientos para los adultos en las VAB, VC, VR y VS, mientras que es menor en la VT. Los contenidos de leucina no rebasan los requeridos por los niños de la infancia y preescolares en las cinco variedades; sin embargo, todas presentan los valores requeridos por los adultos. En los cálices de la flor de la jamaica no se detectaron los aminoácidos esenciales fenilalanina + triptofano, histidina y valina, así como los aminoácidos no esenciales asparagina, glutamina y serina.

Fenoles totales. En el Cuadro 3, se presentan los valores de contenido de taninos, fenoles totales y antocianinas. Se encontró diferencias estadísticas entre medias las variedades. Con respecto a los fenoles totales, todas las variedades mostraron 50% menos en comparación con la VS. Por otra parte, la VAB presentó el menor contenido de taninos (65.5 mgEC/100 g), con respecto al resto de las variedades. Se reporta, que los taninos confieren el color en las plantas; las VC y VT presentaron casi el doble del contenido de taninos que la VS, por la alta capacidad antioxidante atribuida a los taninos.

The isoleucine values in all varieties pass the minimum requirements required by infants, pre-school and adult children, as well as threonine for pre-school and adult children. The VT has a higher lysine content, however, they do not exceed those required by preschoolers and adults recommended by FAO/WHO/UNO (1985).

The methionine + cysteine exceeds the requirements for adults in the VAB, VC, VR and VS, while it is lower in the VT. The contents of leucine do not exceed those required by children of infancy and preschoolers in the five varieties; however, they all have the values required by adults. Were not detected in the calyxes of the jamaica flower the essential amino acids phenylalanine + tryptophan, histidine and valine, as well as the non-essential amino acids asparagine, glutamine and serine.

Total phenols. In the Table 3 shows the content values of tannins, total phenols and anthocyanins. Statistical differences were found between the varieties. With respect to total phenols, all varieties showed approximately 50% less compared to VS. On the other hand, the VAB presented the lowest tannin content (65.5 mgEC/100 g), with respect to the rest of the varieties. It is reported that tannins confer color on plants; the VC and VT presented almost twice the tannin content, than the VS; this is interesting because of the high antioxidant capacity attributed to the tannins.

Con respecto al contenido de antocianinas, VS presenta mayor contenido al ser comparada con las cuatro nuevas variedades. Probablemente, la menor concentración de taninos en esta variedad esté compensada con la síntesis de antocianinas.

Regarding the content of anthocyanins, VS presents the highest content, when compared to the four new varieties. Probably, the lowest concentration of tannins in this variety is compensated by the synthesis of anthocyanins.

**Cuadro 3. Contenido de compuestos fenólicos en base seca de extractos de cálices de cinco variedades de jamaica.**  
**Table 3. Contents of phenolic compounds of dry basis of extracts of calyxes of five jamaica varieties.**

Componente	Alma Blanca <sup>d</sup>	Cotzaltzin	Rosaliz	Tecoanapa	Sudán
Fenoles solubles (mg EAG 100 g <sup>-1</sup> ) <sup>a</sup>	2.54 ± 0.1 c	2.58 ± 0.1 b	2.54 ± 0.2 c	2.24 ± 0.1 d	5.09 ± 0.1 a
Taninos (mg EC 100 g <sup>-1</sup> ) <sup>b</sup>	65.5 ± 5.1 e	1481.2 ± 36.5 a	380.6 ± 20.4 d	1159.3 ± 25.9 b	729.5 ± 16.3 c
Antocianinas (mg EC3G 100 g <sup>-1</sup> ) <sup>c</sup>	0.1 ± 0.01 e	3.0 ± 0.17 b	0.7 ± 0.04 d	2.3 ± 0.13 c	20.6 ± 0.61 a

<sup>a</sup>= equivalentes de ácido gálico; <sup>b</sup>= equivalentes de catequina; <sup>c</sup>= equivalentes de cianidin 3 glucosido. <sup>d</sup>= los datos son expresados como promedios ± desviación estándar (n=4). Promedios con letras iguales en el mismo renglón son estadísticamente iguales (Tukey, *p*<0.05).

**Cuadro 4. Contenido de ácidos fenólicos en base seca de extractos de cálices de cinco variedades de jamaica.**  
**Table 4. Content of phenolic acids on a dry basis of extracts calyxes five varieties of jamaica.**

Ácidos fenólicos	Alma Blanca	Cotzaltzin	Rosaliz	Tecoanapa	Sudán
Gálico	9.11 ± 0.07 c	11.62 ± 0.02 b	15.28 ± 0.74 a	16.34 ± 0.13 a	16.58 ± 0.6 a
Benzóico	22.22 ± 0.3 c	23.63 ± 0.53 c	nd	29.83 ± 0.18 b	33.7 ± 0.66 a
Cafeico	nd	nd	12.77 ± 0.33	nd	nd
Clorogénico	43.34 ± 0.83 b	nd	nd	nd	78.81 ± 1.39 a
Coumárico	13.95 ± 0.07 d	19.84 ± 1 b	nd	15.64 ± 2.45 c	28.13 ± 1.18 a
Ferúlico	20.37 ± 0.09 c	41.16 ± 1.42 b	nd	40.79 ± 0.54 b	86.43 ± 4.37 a
4-hidroxibenzóico	61.25 ± 1.7 b	70.25 ± 1.41 a	50.41 ± 2.57 c	49.57 ± 2.03 c	nd
4-Hidroxi-3-benzóico	27.72 ± 1.2 b	nd	nd	nd	573.7 ± 32.9 a
Salicílico	49.76 ± 4.9 a	31.41 ± 1.62 b	nd	32.90 ± 0.52 b	29.86 ± 1.32 b
Siringico	±	40.83 ± 1.03 a	±	42.15 ± 3.57 a	±
Porotocatecuico	19.77 ± 0.11 b	17.63 ± 0.07 c	28.53 ± 0.32 a	28.50 ± 0.35 a	17.05 ± 0.88 c
Vanillico	255.52 ± 7.28 b	237.05 ± 0.78 c	276.64 ± 1.05 a	206.04 ± 4.24 d	nd
Otros ácidos simples					
Vainillina	6.39 ± 1.27 c	5.96 ± 0.12 d	nd	18.17 ± 0.66 a	10.23 ± 0.99 b

nd= no detectado; <sup>a</sup>= los datos son expresados como promedios ± desviación estándar (n=4). Promedios con letras iguales en el mismo renglón son estadísticamente iguales (Tukey, *p*<0.05).

Ácidos fenólicos. Se detectaron 12 ácidos fenólicos (Cuadro 4), así como la vainillina. Se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre variedades para el contenido de los ácidos fenólicos y mostraron diferencias entre medias, para cada una de las variedades.

El ácido vanillico fue el más abundante en las VR y VT con 276.64 a 206.04 mg 100 g<sup>-1</sup>, respectivamente; sin embargo, este ácido no se detectó en la VS. El ácido 4-hidroxibenzoico es mayor en la VC con 70.25 mg 100 g<sup>-1</sup>, menor en la VT con 49.5 mg 100 g<sup>-1</sup> y no se detectó en la VS.

Phenolic acids. Twelve phenolic acids were detected (Table 4), as well as vanillin. The statistically significant differences were found between varieties for the content of phenolic acids and showed differences between means, for each of the varieties.

The vanillic acid was the most abundant in VR and VT with 276.64 to 206.04 mg 100 g<sup>-1</sup>, respectively; however, this acid was not detected in the VS. The 4-hydroxybenzoic acid is higher in VC with 70.25 mg 100 g<sup>-1</sup>, lower in VT with 49.5 mg 100 g<sup>-1</sup> and was not detected in VS.



## Discusión

El contenido de proteína del cáliz de la flor es bajo; mientras que Abu-Tarboush *et al.* (1997) reportan que la semilla presenta 26.48% de proteína, 20.1% de aceite crudo, 43.21% de carbohidratos y 4.83% de ceniza. El contenido de fibra en la jamaica se considera importante en la producción de mermeladas y otros subproductos, ya que se utiliza el cáliz como producto. Por tal motivo, las variedades VAB, VC y VR demostraron mayor contenido de cenizas, que indican la presencia de altos contenidos de minerales. La variación en el contenido de carbohidratos de las cuatro nuevas variedades y la VS fueron relativamente bajos.

En semilla de la flor de jamaica, Abu-Tarboush *et al.* (1997), reportan bajos contenidos de estos aminoácidos, comparado con los reportados en este estudio de los cálices de la flor de las cinco variedades. Desde el punto de vista nutricional, los aminoácidos presentes en los productos derivados de la flor de jamaica, como son refrescos y mermeladas, éstos podrán contribuir en la salud humana. También se detectaron siete de los once aminoácidos no esenciales en la flor de Jamaica, que desde un punto de vista nutricional no son importantes; así como, ocurre con los aminoácidos esenciales, ya que el humano los puede sintetizar y contribuyen a mantener una mejor la salud.

Los compuestos fenólicos son conocidos por su capacidad antioxidante. La presencia de estos como son taninos, flavonoides, antocianinas y fenoles del extracto del cáliz de la jamaica, pueden dar credibilidad en el uso focalizado para el manejo del estrés oxidativo inducido por alimentos. Los taninos se han usado para el tratamiento de diarreas, hemorragias y desintoxicación (Afolayan y Mahebie, 2010). La actividad antioxidante de las antocianinas demuestra ser 50 veces mayor que la vitamina C y 20 veces más que la vitamina E (Majo *et al.*, 2008), las antocianinas han demostrado que ayudan a proteger daños a los tejidos, previenen riesgos de cáncer y taponamientos de la circulación sanguínea en los vasos capilares, arterias y venas (Letelier *et al.*, 2011). Por lo tanto, la concentración de estos compuestos contribuye sinérgicamente a potenciar la capacidad antioxidante de esta planta para los tratamientos y usos locales relacionados con las enfermedades.

Respecto al contenido de los ácidos fenólicos, se encontró que el ácido protocatecuico es alto en las VR y VT, comparado con la VS; a este ácido se le atribuye propiedad anticancerígena en los consumidores, como se presenta en

## Discussion

The content of protein in the flower's calyx is low; whereas, Abu-Tarboush *et al.* (1997) report that the seed has 26.48% protein, 20.1% crude oil, 43.21% carbohydrates and 4.83% ash. The fiber content in jamaica is considered important in the production of jams and other by-products, since the calyx is used as the main product. For this reason, the VAB, VC and VR varieties showed higher ash content, indicating the presence of high mineral content. The variation in carbohydrate content of the four new varieties and the VS were relatively low.

The seed flower jamaica, Abu-Tarboush *et al.* (1997), report lower contents of these amino acids, compared to those reported in this study of flower buds of the five varieties. From the nutritional point of view, the amino acids present in products derived from the jamaica flower, such as soft drinks and jams, these can contribute to human health. Also, seven of the eleven non-essential amino acids in the jamaica flower were detected, which from a nutritional point of view are not important; as it happens with the essential amino acids, since the human can synthesize them and contribute to maintain a better health.

The phenolic compounds are known for their antioxidant capacity. The presence of these compounds, such as tannins, flavonoids, anthocyanins and phenols of jamaica calyx extract, can give credibility in the focused use for the management of food-induced oxidative stress. The tannins have been used for the treatment of diarrhea, bleeding and detoxification (Afolayan and Mahebie, 2010). The antioxidant activity of anthocyanins proves to be 50 times greater than vitamin C and 20 times more than vitamin E (Majo *et al.*, 2008), anthocyanins have been shown to help protect against tissue damage, prevent risks cancer and clogging of blood circulation in the capillaries, arteries and veins (Letelier *et al.*, 2011). Therefore, the concentration of these compounds contributes synergistically to enhance the antioxidant capacity of this plant for treatments and local uses related to diseases.

With regard to the content of phenolic acids, protocatechuic acid was found to be high in VR and VT, compared to VS; this acid is attributed anticancer property consumers as occurs in some citrus (Sawsen *et al.*, 2012). The salicylic acid is high in VAB; the chlorogenic acid is high in the VAB and VS, similarly as presented in citrus (Sawsen *et al.*, 2012). The 4-Hydroxy-3-benzoic acid is very high in VS, followed by VAB. Other phenolic acids detected in all varieties are

algunos cítricos (Sawsen *et al.*, 2012). El ácido salicílico es alto en la VAB; el ácido cloragénico es alto en las VAB y VS, similar a como se presenta en los cítricos (Sawsen *et al.*, 2012). El ácido 4-hidroxi-3-benzoico es muy alto en la VS, seguido por la VAB. Otros ácidos fenólicos detectados en todas las variedades son el ferúlico, cumárico, gálico y cafeico; estos ácidos se reportan con capacidad antioxidante en varios alimentos (Zavaleta *et al.*, 2005). La VAB presentó más tipos de ácidos fenólicos y en cantidades diversas, que la hace muy adecuada para el consumo humano.

La actividad antioxidante de los extractos de los cálices de la jamaica son significativamente altos, comparado con los presentados en las drogas. El estudio demuestra un alto contenido de ácidos fenólicos y compuestos fenólicos del extracto; sin embargo, estos compuestos desprendidos de los cálices son buenos donadores de electrones y pueden terminar la reacción del cambio radical y convertirse en radicales libres de más productos estables (Mbaebie *et al.*, 2012). A este tipo de compuestos se les atribuyen propiedades medicinales anticancerígenas, antioxidantes y en la prevención de enfermedades del corazón (Agpreyo *et al.*, 2008; Ojeda *et al.*, 2009), entre otras.

## Conclusiones

Los cálices de las cuatro nuevas variedades de jamaica tienen alto contenido de proteína, así como de lípidos y fibra, principalmente. Los aminoácidos son altos y algunas variedades rebasan los requerimientos mínimos nutrimentales para los humanos de edades diferentes. Solo, tres de las nuevas variedades presentan antocianinas, pero todas tienen alto contenido de taninos, que les dan la capacidad antioxidante. Las variedades tienen alto contenido de ácidos fenólicos, destacando la variedad Alma Blanca con el ácido salicílico, mientras que las variedades Rosalíz y Teconoapa con el ácido protocatecuico, compuesto al que se le atribuye propiedades anticancerígenas. Por lo tanto, se demuestra que el extracto de los cálices de jamaica, exhiben una alta capacidad antioxidante natural, para el uso terapéutico y de medicina tradicional por los componentes fitoquímicos, ya que puede ser usada para el tratamiento de las enfermedades relacionadas con los radicales libres y enfermedades asociadas a la edad. Sin embargo, se requieren de estudios para conocer los componentes fenólicos, para establecer sus propiedades farmacológicas y que sirvan de ensayos modelo.

ferulic, cumaric, gallic and caffeic; these acids are reported with antioxidant capacity in various foods (Zavaleta *et al.*, 2005). The VAB presented more types of phenolic acids and in different amounts, which makes it very suitable for human consumption.

The antioxidant activity of extracts from jamaica calyces are significantly high, compared to those presented in the drugs. The study demonstrates a high content of phenolic acids and phenolic compounds of the extract; however, these compounds are detached from the calyces good electron donors may terminate the reaction and the radical change and become more stable free radical products (Mbaebie *et al.*, 2012). This type of compounds are attributed anti-cancer, anti-oxidants and the prevention of heart disease medicinal properties (Agpreyo *et al.*, 2008; Ojeda *et al.*, 2009), among others.

## Conclusions

The calyces of the four new varieties of jamaica are high in protein, as well as lipids and fiber, mainly. The aminoacids are high and some varieties exceed minimum nutritional requirements for humans of different ages. Alone, three of the new varieties present anthocyanins, but all have a high content of tannins, which give them antioxidant capacity. The varieties are high in phenolic acids, highlighting the variety Alma Blanca with salicylic acid, while Rosalíz and Teconoapa varieties with protocatecuic acid, a compound that is attributed anticancer properties. Thus, it is shown that jamaica calyx extract exhibits a high natural antioxidant capacity, for therapeutic and traditional medicine use by phytochemical components, as it can be used for the treatment of radical-related diseases free and age-related diseases. However, studies are required to know the phenolic components, to establish their pharmacological properties and to serve as model trials.

*End of the English version*



## Literatura citada

- Abdel, A. E. S. M. and Hucl, P. A. 1999. Rapid method for quantifying total anthocyanins in blue aleurone and purple pericarp wheat. *Cereal Chem.* 76:350-354.

- Abu, T. H. M.; Ahmed, S. A. B. and Al, K. H. Á. 1997. Some nutritional and functional properties of karkade (*Hibiscus sabdariffa*) seed products. *Cereal Chem.* 74 (3):352-355.
- Afolayan, A. J. and Mahebie, B. O. 2010. Ethnobotanical study of medicinal plants used as anti-obesity remedies in Nkonkobe Municipality of South Africa. *Pharmacogn J.* 2(11):368-373.
- Agpreyo, F. O.; Agoreyo, B. O. and Onuorah, M. N. 2008. Effect of aqueous extracts of *Hibiscus sabdariffa* and *Zingiber officinale* on blood cholesterol and glucose levels of rats. *Afr. J. Biotechnol.* 7(21):3949-3951.
- Alarcón, C. N.; Ariza F. R.; Barrios, A. A.; Noriega, C. D. H.; Legaria, S. Y. D. P. 2012. Exploración y caracterización de poblaciones de la jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) en Guerrero, México. *Rev. Mex. Cienc. Agríc.* 3(3):601-609.
- Alarcón, F. J.; Zamilpa, M. D. A.; Pérez, G. J. C.; Almanza, P. E.; Romero, N. E. A.; Campos, S. L. I.; Vázquez, C. and Román, R. R. 2007. Effect of *Hibiscus sabdariffa* on obesity in MSG mice. *J. Ethnopharmacol.* 114:66-71.
- AOAC (Official Methods of Analysis). 2000. Association of official Analytical Chemist. EUA. 11 p.
- Augstburger, F.; Berger, J.; Censkowsky, U.; Heid, P.; Milz, J. and Streit, C. 2000. Producción ecológica de hibisco. Asociación Naturland. Primera edición. Berlín, Alemania. 13 p.
- Beshir, A. A. and Babikers, A. 2009. Performance of sudanese desert lambs fed graded levels of roselle (*Hibiscus sabdariffa*) seeds instead of groundnut cake. *Pak. J. Nutr.* 8(9):1442-1445.
- Deshpande, S. S. and Cheryan, M. 1985. Evaluation of vanillin assay for tannin analysis of dry beans. *J. Food Sci.* (50):905-102.
- Fagbenro, O. A.; Akande, T. T.; Fapohunda, O. O. and Akegbejo, S. Y. 2004. Comparative assessment of roselle (*Hibiscus sabdariffa* var. *sabdariffa*) seed meal and kenaf (*Hibiscus sabdariffa* var. *altissima*) seed meal as replacement for soybean meal in practical diets for fingerlings of Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. In: 6th International Symposium on Tilapia in Aquaculture, 2004. Manila, Philippines. 277-287 pp.
- FAO (Food And Agriculture Organization Of The United Nations). 2010. Post-production management for improved market. Access for herbs and spices-hibiscus. [http://www.fao.org/inpho/content/compend/toc\\_main.htm](http://www.fao.org/inpho/content/compend/toc_main.htm).
- FAO/WHO/UNU. 1985. Energy and protein requirements. Technical Report Series Num. 724. WHO: Geneva.
- Jínez, M. T.; Cortés, C. A.; Ávila, G. E.; Casaubon, M. T. y Salcedo, Y. E. R. 1998. Efecto de niveles elevados de semilla de jamaica (*Hibiscus sabdariffa*) en dietas para pollos sobre el comportamiento productivo y funcionamiento hepático. *Rev. Veterinaria Mex.* 29(1):35-40.
- Letelier, M. E.; Rodríguez, R. C.; Sánchez, J. S. and Aracena, P. P. 2011. Surfactant and antioxidant properties of an extract from *Chenopodium quinoa* wild seed coast. *J. Cereal Sci.* 53(2):239-243.
- Liang, Ch. L.; Chau, J. L. W.; Ching, Ch.; Sheng, Ch. C.; Huei, L. H.; Jen, D. L. and Huei, J. 2009. Aqueous extract of *Hibiscus sabdariffa* L. decelerates acetaminophen-induced acute liver damage by reducing cell death and oxidative stress in mouse experimental models. *J. Sci. Agric.* (90):329-337.
- Majo, D. D.; La Guardia, S.; Giammance, M.; La Neve, I. and Giammanco, M. 2008. The antioxidant capacity of red wine in relationship with its polyphenolic constituents. *Food Chem.* 111:45-49.
- Márquez, V. R. L.; De La Rosa, T. C.; Rivero, C. A. and Medina, Y. M. M. 2007. Actividad diurética del extracto total acuoso de los cálices de *Hibiscus sabdariffa* L. administrado en ratas albinas variedad Wistar. *Scientia Et Technic.* 13(33):377-381.
- Mbaebie, B. O.; Edeoga, H. O. and Afolayan, A. J. 2012. Phytochemical analysis and antioxidants activities of aqueous stem bark extract of *Schotia latifolia* Jacq. *Asian Pacific J. Trop. Bio.* 2(2):118-124.
- Morton, J. R. 1987. Roselle. In: fruits of warm climates. Julia F. Morton, Miami, FL. 281-286 p.
- Ojeda, D. E.; Jiménez, F.; Zamilpa, A.; Herrera, A. A.; Tortoriello, J. and Álvarez, L. 2009. Inhibition of angiotensin convertin enzyme (ACE) activity by the anthocyanins delphinidin- and cyanidin-3-O-sambubiosides from *Hibiscus sabdariffa*. *J. Ethnopharmacol.* 127:7-10.
- Olaleye, M. T. 2007. Cytotoxicity and antibacterial activity of methanolic extract of *Hibiscus sabdariffa*. *J. Medicinal Plants Res.* 1(1):009-013.
- Omilabu, A. S.; Bankole, A. M.; Oyefolu, O. A.; Adesanya, B. S. and Badaru, O. 2010. Antiviral effect of *Hibiscus sabdariffa* and *Celosia argentea* on measles virus. *Afr. J. Microbiol. Res.* 4(4):293-296.
- Onibi, G. E. and Osho, I. B. 2007. Oxidative stability and bacteriological assessment of meat from broiler chickens fed diets containing *Hibiscus sabdariffa* calyces. *Afr. J. Biotechnol.* 6(23):2721-2726.
- Prosky, L.; Asp, N. G.; Schweizer, T. F.; Devries, J. W. and Furda, I. 1998. Determination of insoluble, soluble, and total dietary fiber in foods and food products. *J. AOAC Inter.* 71:1017-23.
- Ramamuthy, M. S.; Maiti, Y. B.; Thomas, P. and Nair, M. 1992. High performance liquid chromatography determination of phenolic acids in potato tubers (*Solanum tuberosum*) during wound healing. *J. Agric. Food Chem.* 40:569-72.
- SAGARPA. 2013. Anuario agropecuario 2013. Versión electrónica. Sistema de Información Agropecuaria y Pesquera, SAGARPA. México.
- SAS (Statistical Analysis System). 2004. User's Guide: Statistics. SAS Institute. Cary, NC, EUA.
- Sawson, S.; Navarro, P.; Monteverde, A.; Benabda, J. and Salvador, A. 2012. Effect of postharvest degreening followed by a cold-quarantine treatment on vitamin C, phenolic compounds and antioxidant activity of early-season citrus fruit. *Postharvest Biology and Technology.* 65:13-21.
- Serrano, A. V.; Navarro, G. S.; Guzmán, M. S. H.; Ariza, F. R. y Herrera, H. G. 2011. Descripción varietal de: Alma Blanca, Cotzaltzin, Rosalíz y Tecuanapa, primeras variedades de jamaica registradas en México. INIFAP, CIRPAS, Campo Experimental Valles Centrales de Oaxaca. Folleto técnico Núm. 35. Santo Domingo Barrio Bajo, Etla, Oaxaca. 36 p.
- Shamsuddin, A. and Van Der Vossen, H. A. M. 2003. *Hibiscus sabdariffa* L. In: Brink, M. and Escobin, R. P. (Ed.). Plant resources of South-East Asia No 17. Fiber plants. Backhuys Publishers, Leiden, Netherlands. 162-167 pp.
- Singleton, V. L.; Orthofer, R. R. M. and Lamuela, R. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of the Folin-Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology.* 299:152-178.

- Wootisin, S. R.; Hossain, C.; Yachantha, P.; Sriboonlue, Y. and Ogawa, S. and Saito, Z. 2011. Effects of *Orthosiphon grandiflorus*, *Hibiscus sabdariffa* and *Phyllanthus amarus* extracts on risk factors for urinary calcium oxalate stones in rats. *The J. Urol.* 185:323-328.
- Yagoub, A. E. A.; Mohamed, B. E.; and Ahmed, A. H. R. 2004. Study on forundu, a traditional Sudanese fermented roselle seed: effect on in vitro protein digestibility, chemical composition and functional properties of the total proteins. *J. Agric. Food Chem.* 52:6143-6150.
- Yongabi, K. A.; Lewis, D. M. and Harris, L. 2011. Application of phytodisinfectants in water purification in zone rural Cameroon. *African Journal Microbiologic Research.* 5(6):628-635.
- Zavaleta, J.; Muñoz, A. M.; Blanco, C. T.; Alvarado, O. and Loja, Y. B. 2005. Capacidad antioxidante y principales ácidos fenólicos y flavonoides de algunos alimentos. [www.usmp.edu.pe/medicina/horizonte/2005.../art4\\_n2.pdf](http://www.usmp.edu.pe/medicina/horizonte/2005.../art4_n2.pdf).