

COLOR EN CÁLCICES DE JAMAICA (*Hibiscus sabdariffa* L.) Y SU RELACIÓN CON CARACTERÍSTICAS FISICOQUÍMICAS DE SUS EXTRACTOS ACUOSOS

Yolanda Salinas-Moreno^{1*}; Araceli Rosa Elena Zúñiga-Hernández²;
Luis Bartolomé Jiménez-De la Torre²; Victor Serrano-Altamirano³; César Sánchez-Feria¹

¹ Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Laboratorios de Calidad. km 38.5 Carretera México-Texcoco. Chapingo, Estado de México, MÉXICO. C. P. 56230. Correo-e: yolysamx@yahoo.com (*Autor para correspondencia)

² Universidad Autónoma Chapingo. Departamento de Ingeniería Agroindustrial. km 38.5 Carretera México-Texcoco. Chapingo, Estado de México, MÉXICO. C.P. 56230.

³ Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Campo Experimental Valles Centrales de Oaxaca, Santo Domingo Barrio Bajo, Etla, Oaxaca. MÉXICO. C. P. 58200.

RESUMEN

El color de los cálices de la jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) es un criterio de calidad considerado por el consumidor y se relaciona con la concentración de ciertos fitoquímicos. No se tiene información sobre la relación de este parámetro con las características fisicoquímicas de los extractos acuosos en variedades de *Hibiscus* cultivadas en México, por lo que el objetivo del presente trabajo fue determinar el color de cálices de ocho variedades de jamaica y establecer su relación con algunas variables químicas de los extractos acuosos obtenidos. Para ello se midió el color de los cálices (enteros y molidos) y el de los extractos con ayuda de un colorímetro Hunter-Lab. En los extractos se determinó el contenido de antocianinas totales (ANT), ácido ascórbico (AA), acidez titulable (AT), pH y °Brix. Se encontró que el color de los cálices y de los extractos influyó en el contenido de antocianinas y ácido ascórbico. Las variedades de cálices oscuros presentaron entre cinco y siete veces más antocianinas que las de cálices claros, mientras que la variedad de cálices blancos tuvo el mayor contenido de ácido ascórbico. De los parámetros de color, la luminosidad de los cálices molidos puede usarse como estimador del contenido de antocianinas totales, por la elevada correlación negativa entre estas variables.

PALABRAS CLAVE: Antocianinas, ácido ascórbico, acidez titulable.

COLOR IN CALYXES OF ROSELLE (*Hibiscus sabdariffa* L.) AND THEIR RELATIONSHIP WITH PHYSICOCHEMICAL CHARACTERISTICS OF THEIR AQUEOUS EXTRACTS

ABSTRACT

The color of the calyxes of Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) is a quality parameter that is considered by consumers and it is related with the concentration of some phytochemicals. There is not information on the relationship between this parameter and some physicochemical characteristics of the aqueous extracts in *Hibiscus* varieties grown in Mexico. The aim of the present work was to determine the color of calyxes of eight different Roselle varieties and to establish the relationship with chemical parameters of the aqueous extracts. The color of the calyxes (whole and ground) and the extracts was measured with a Hunter-Lab colorimeter. Total anthocyanin content (ANT), ascorbic acid (AA), titratable acidity, pH and °Brix were determined. The color of the calyxes and extracts was related to anthocyanin and AA contents. Varieties with dark red calyxes contained five to seven times higher ANT content than varieties with light red calyxes. The variety with white calyxes had the highest AA content. In the case of color parameters, ground calyx brightness could be used to estimate ANT content due to the high and negative correlation observed between these two variables.

ADDITIONAL KEYWORDS: Anthocyanins, ascorbic acid, titratable acidity.

INTRODUCCIÓN

El color es un atributo de calidad que tiene un papel importante en la selección de los alimentos. En flores y frutos con tonalidades desde rosa hasta azul y morado, el color se debe a la presencia de antocianinas, que representan uno de los principales grupos de pigmentos solubles en agua. Las antocianinas pueden encontrarse en otras estructuras de la planta, como hojas y tallo, o en las estructuras florales como los cálices. Esto ocurre en *Hibiscus sabdariffa* L., mejor conocida en México como jamaica o “flor de jamaica”. Los cálices deshidratados de esta planta se utilizan ampliamente para elaborar extractos con los cuales se preparan bebidas refrescantes. En éstos se ha identificado una diversidad de fitoquímicos, dentro de los que se encuentran: antocianinas, ácidos carboxílicos, ácidos fenólicos y otros flavonoides (Rodríguez-Medina *et al.*, 2009). Varios de estos compuestos se asocian con las acciones farmacológicas reportadas para *Hibiscus*: antihipertensiva (Herrera-Arellano *et al.*, 2004), cardioprotectora (Chen *et al.*, 2003), antihipercolesterolemia (Herrera-Arellano *et al.*, 2004), entre otras.

El color de los cálices de *Hibiscus* varía desde verde-amarillento hasta rojo intenso, y se encuentra relacionado con el contenido de los compuestos fitoquímicos encontrados en las variedades de jamaica (Babalola *et al.*, 2001). Así, los cálices oscuros poseen mayor contenido de antocianinas que los cálices claros (Christian y Jackson, 2009). Las variedades de cálices blancos tienen alto contenido de vitamina C (Babalola *et al.*, 2001). Sin embargo, el ambiente de producción tiene un efecto elevado en la concentración de los principales fenoles presentes en los cálices. La concentración de antocianinas puede incluso duplicarse en algunas variedades, de acuerdo al sitio de producción (Juliani *et al.*, 2009), por lo que este factor debe considerarse al definir la composición química de un cultivar.

En México los principales estados productores de *Hibiscus* son Guerrero y Oaxaca, en donde se cultivan variedades de cálices claros y oscuros, con predominio de las primeras. La composición química de los extractos obtenidos de cálices de diferentes colores se ha informado para cultivares de otros países (Babalola *et al.*, 2001; Christian y Jackson, 2009; Juliani *et al.*, 2009), pero se desconocen estos aspectos en las variedades que se cultivan en México.

Los objetivos del presente trabajo fueron determinar el color de los cálices (enteros y molidos) y de los extractos acuosos de variedades de jamaica mexicana, y determinar su relación con algunas variables fisicoquímicas de los extractos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material de estudio

Se trabajó con los cálices deshidratados de ocho cultivares de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.), que correspon-

INTRODUCTION

Color is a quality attribute that has an important role in the selection of food. In the case of flowers and fruits with pink to blue and purple tone, the color is due to the presence of anthocyanins, which represent one of the main groups of water-soluble pigments. Anthocyanins are found in other plant structures such as leaves and stems, or floral structures as calyxes. This occurs in *Hibiscus sabdariffa* L., known in Mexico as Roselle (jamaica in spanish) or Rose-lle flower (flor de jamaica in spanish). The dried calyxes of this plant are widely used to prepare extracts used to make flavored drinks. These have shown a variety of phytochemicals, among which are: anthocyanins, carboxylic acids, phenolic acids and others flavonoids (Rodríguez-Medina *et al.*, 2009). Several of these compounds are associated with the pharmacological actions reported for *Hibiscus*: antihypertensive (Herrera-Arellano *et al.*, 2004), cardioprotective (Chen *et al.*, 2003), antihypercholesterolemia (Herrera-Arellano *et al.*, 2004), among others.

The color of the *Hibiscus* calyxes varies from green-yellow to deep red, and it is related to the content of phytochemicals found in Roselle varieties (Babalola *et al.*, 2001). Dark calyxes have more anthocyanin content than light calyxes (Christian and Jackson, 2009). White calyxes varieties have high content of vitamin C (Babalola *et al.*, 2001). However, the production environment has a large effect on the concentration of phenols present in calyxes. The concentration of anthocyanins may even double in some varieties, according to the production site (Juliani *et al.*, 2009), so this factor should be considered when defining the chemical composition of a cultivar.

In Mexico, the main producing states of *Hibiscus* are Guerrero and Oaxaca, where light and dark calyx varieties are grown, with a predominance of the first variety mentioned. The chemical composition of the extracts obtained from calyxes of different color have been informed for cultivars from other countries (Babalola *et al.*, 2001, Christian and Jackson, 2009; Juliani *et al.*, 2009), but these aspects are unknown for varieties grown in Mexico.

The objectives of this study were to determine the color of calyxes (whole and ground) and aqueous extracts of Mexican Roselle varieties, and determine their relationship with physicochemical variables of the extracts.

MATERIALS AND METHODS

Study material

Dried calyxes collected from eight Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) cultivars were used. Colima 3, Colima 5, Sudán, Coneja, Colima 6, Colima 7, Alma Blanca and China were the varieties used in the present study. The first seven varieties were grown in 2008 in the coastal region of the State of Oaxaca. The calyxes were harvested manually and dehydrated in the sun. A total of 2 kg of sample was

den a las variedades Colima 3, Colima 5, Sudán, Coneja, Colima 6, Colima 7, Alma Blanca y China. Las siete primeras fueron cultivadas durante 2008 en la región costa del estado de Oaxaca. Los cálices se cosecharon manualmente y se deshidrataron al sol. De cada variedad se obtuvieron 2 kg de muestra, la cual se subdividió en tres partes, que se manejaron como repeticiones biológicas por cada variedad. La muestra denominada "China" se obtuvo en la Central de Abasto de la Ciudad de México.

Variables determinadas en los cálices deshidratados

Humedad

El porcentaje de humedad se determinó de acuerdo con lo establecido en el método 10.004 de la AOAC (Anónimo, 1980).

Color en cálices enteros

Se empleó un colorímetro Hunter Lab Mini Scan XE Plus (modelo 45/0-L en la escala CIE $L^*a^*b^*$, con iluminante D/65 y un ángulo 10°). Se obtuvieron los parámetros L^* , que es la luminosidad de las muestras; a^* , la coordenada que tiende al rojo (valores positivos) o hacia el verde (valores negativos), y b^* , la coordenada que tiende al amarillo (valores positivos) o hacia el azul (valores negativos). A partir de los parámetros a^* y b^* se calcularon el ángulo de tono (HUE) y el índice de saturación del color (Croma), de acuerdo con lo descrito por McGuire (1992).

Para medir el color de los cálices enteros se colocó el colorímetro dentro de la bolsa de plástico negro que contenía una muestra de 200 g, aproximadamente, para evitar errores por la difusión del haz de luz emitido por el aparato a través de los espacios vacíos que se forman entre los cálices.

Color en cálices molidos (Harina)

Para obtener la harina se molieron 15 g de cada muestra de cálices secos en un molino marca IKA modelo MF 10, equipado con una malla de 0.5 mm. La muestra molida se colocó en un recipiente de plástico blanco de aproximadamente 5 cm de diámetro y de 1 cm de profundidad, se compactó y eliminó el exceso de muestra. Posteriormente se realizó la medición con el colorímetro Hunter-Lab sobre la superficie compactada.

Preparación de los extractos acuosos

Para establecer la relación entre el color de los cálices y el de los extractos acuosos obtenidos bajo condiciones estandarizadas, se prepararon extractos por duplicado de cada una de las muestras. Se pesaron 2.5 g de cálices enteros base seca en un vaso de precipitados de 500 ml y se agregaron 100 ml de agua destilada. La mezcla se puso a ebullición plena durante 15 minutos en un digestor de fibra cruda modificado. El líquido se separó de los cálices y se colocó en un recipiente aparte; se repitió la extracción bajo las mismas condiciones. Se juntaron los dos extractos

obtenidos de cada variedad; esta muestra se dividió en tres partes, las cuales se manejaron como repeticiones biológicas para cada variedad. La muestra denominada "China" se obtuvo en la Central de Abasto (principal mercado mayorista) en México City.

Varieties determined in dried calyces

Moisture

Moisture content was determined in accordance with the method 10.004 of AOAC (Anonymous, 1980).

Color in whole calyces

A Hunter Lab Mini Scan XE Plus colorimeter (model 45/0-L CIE $L^*a^*b^*$ scale, with illuminant D/65 and a 10° angle) was used. The L^* parameters were obtained, which means brightness of the samples; a^* , the coordinate that tends to the red color (positive values) or to the green color (negative values), and b^* , the coordinate that tends to the yellow color (positive values) or to the blue color (negative values). Hue angle and color saturation index (Chroma) were obtained from the parameters a^* and b^* , according to that described by McGuire (1992).

The colorimeter was placed inside the black plastic bag containing a sample of 200 g, approximately, to prevent errors by the diffusion of the light beam emitted by the device through the empty spaces formed between the calyces in order to measure the color of the whole calyces.

Color of ground calyces (meal)

A total of 15 g of each sample of dried calyces were ground using an IKA grinder model MF 10, equipped with a 0.5 mm mesh to obtain meal. The ground sample was placed in a white plastic container (about 5 cm diameter and 1 cm depth), the sample was compacted and the excess was removed. Then, the measurement was made on the compacted surface using the Hunter-Lab colorimeter.

Preparing the aqueous extracts

Extracts in duplicate were prepared for each sample to establish the relationship between the color of the calyces and the aqueous extracts obtained under standardized conditions. A total of 2.5 g whole calyces (dried) were weighed in a 500 ml beaker and 100 ml distilled water were added. The mixture was put to boil for 15 minutes in a modified crude fiber digester. The liquid was separated from the calyces and it was placed in a separate container; the extraction was repeated under the same conditions. The two extracts were mixed and diluted to 200 ml with distilled water. All determinations, both physical and chemical were conducted from this volumetric sample.

A total of 50 ml of the extract were placed on the Hunter Lab's glass capsule, which is special for liquids, to measure the color of the extracts. The color reading is conducted on the basis of the capsule, and the distance between the capsule and the light emission point of the equipment is

y se aforó a 200 ml con agua destilada. A partir de esta muestra aforada se realizaron todas las determinaciones, tanto físicas como químicas.

Para medir el color de los extractos, se colocaron 50 ml en la cápsula de vidrio del Hunter Lab, que es especial para líquidos. De esta manera la lectura de color se toma sobre la base de la cápsula, y la distancia entre ésta y el punto de emisión de luz del equipo está estandarizada. Se cubrió la cápsula con un cilindro de papel negro para evitar la incidencia de luz sobre el líquido.

Variables físico-químicas determinadas en los extractos

Sólidos solubles totales (°Brix)

Se utilizó un refractómetro digital marca ATAGO (escala de 0 a 93 %). Una gota del extracto se colocó en la cámara de lectura del equipo. El resultado se obtuvo como porcentaje de sólidos solubles totales.

pH en extractos acuosos

Se midió empleando un potenciómetro Denver Instrument UB10. La prueba se realizó por duplicado, tomando dos lecturas en cada repetición.

Acidez titulable en extractos acuosos

La acidez titulable (AT) se determinó de acuerdo a la AOAC (Anónimo, 1980). Las muestras se prepararon según las indicaciones para soluciones ligeramente coloreadas. La titulación se realizó con NaOH 0.089 N con el pH de vire de la fenolftaleína (8.2-8.3) como punto final de la titulación. El análisis se realizó en 10 ml de extracto diluido en 50 ml de agua destilada para cálices claros y en 300 ml de agua destilada para cálices oscuros. El resultado se expresó en función del ácido cítrico y como porcentaje. Las determinaciones se realizaron por cuadruplicado.

Antocianinas totales

Se midió la absorbancia de los extractos acuosos obtenidos a una longitud de onda de 530 nm utilizando un espectrofotómetro Perkin Elmer Lambda 25 UV/Vis de acuerdo a lo descrito por Galicia-Flores *et al.* (2008).

El contenido de antocianinas totales se obtuvo al sustituir el promedio de los dos valores de absorbancia de cada muestra en la ecuación obtenida a partir de la curva estándar de cianidina 3-glucósido. Los datos se expresaron como mg de cianidina 3-glucósido·100 g⁻¹ de muestra seca.

Ácido ascórbico

El ácido ascórbico se determinó en la harina de cálices deshidratados de las diferentes variedades de Jamaica y en los extractos acuosos obtenidos en caliente, bajo las condiciones descritas en párrafos anteriores. Se utilizó el método 967.21 del 2,6 diclorofenol indofenol (Anónimo, 2000). Una alícuota de la muestra se tituló con una solu-

standardized. The capsule was covered with a black paper (cylinder-shaped) to prevent the incidence of light on the fluid.

Physicochemical variables determined in extracts

Total soluble solids (°Brix)

An ATAGO digital refractometer (scale of 0 to 93 %) was used. A drop of the extract was placed on the reading chamber of the equipment. The result was obtained as a percentage of total soluble solids.

pH in aqueous extracts

It was measured using a Denver Instrument UltraBasic Benchtop pH Meters (UB10). The test was performed in duplicate, taking two readings per each replication.

Titratable acidity in aqueous extracts

Titratable acidity (TA) was determined according to AOAC (Anonymous, 1980). Samples were prepared following the indications for slightly colored solutions. Titration was performed with 0.089 N with pH of phenolphthalein (8.2-8.3) as the end point of the titration. The analysis was performed in 10 ml of extracted diluted in 50 ml of distilled water to clear calyces in 300 ml of distilled water for dark calyces. The result was expressed in terms of citric acid and as a percentage. Determinations were performed in quadruplicate.

Total anthocyanins

The absorbance of the aqueous extracts obtained was measured at a wavelength of 530 nm using a Perkin Elmer Lambda 25 UV/Vis according to that described by Galicia Flores *et al.* (2008).

The total anthocyanin content was obtained by substituting the average of the two values of absorbance of each sample obtained from the equation of cyaniding 3-glucoside. Data was expressed as mg of cyaniding 3-glucoside·100 g⁻¹ dry sample.

Ascorbic acid

Ascorbic acid was determined in dried calyx meal of different varieties of Roselle and in aqueous extracts obtained in hot, under the conditions described above. The method 967.21 of 2,6 dichlorophenol indophenol was used (Anonymous, 2000). An aliquot of the sample was titrated with a standard solution of 2.6 dichlorophenol indophenol until the pink color was permanent. The content was calculated by reference with ascorbic acid solutions of known concentration and it was expressed in mg per 100 g of ascorbic acid.

Statistical Analysis

The data obtained was analyzed under a completely randomized design. An analysis of variance and mean

ción estandarizada de 2.6 diclorofenol indofenol hasta que el color rosa fue permanente. El contenido se calculó por referencia con soluciones de ácido ascórbico de concentración conocida y se expresó en mg por 100 g de ácido ascórbico.

Análisis estadístico

Los datos obtenidos se analizaron bajo un diseño completamente al azar. Para determinar el efecto de tratamiento (variedades) sobre las variables analizadas, se realizaron análisis de varianza y pruebas de comparación de medias mediante el procedimiento de Tukey ($P = 0.05$). También se realizó un análisis de correlación entre las diferentes variables medidas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Humedad y Color

En los productos agrícolas el color es un parámetro que permite al consumidor seleccionar de manera rápida dentro de una variedad de opciones al momento de comprar. Este atributo es importante en los gustos y preferencias de las amas de casa al momento de elegir la jamaica que usan para preparar el agua fresca. La humedad de los productos, sin embargo, es un factor que va a afectar los parámetros que definen el color. En pimienta morrón se ha observado que la luminosidad es mayor en la medida en que aumenta la humedad de la muestra (Romano *et al.*, 2012).

La humedad de los cálices varió de 14 a 16 % de humedad, por lo que la influencia de este factor en los resultados sobre color se consideró insignificante, dado el rango de sólo dos unidades.

Las diferentes variedades de jamaica se pueden agrupar de acuerdo con el color visual de sus cálices. Se tienen cálices oscuros, claros y blancos (Babalola *et al.*, 2001; Christian y Jackson, 2009). A los cálices blancos también se les denomina verdes, y al deshidratarse adquieren una coloración verdosa-amarillenta, que fue la que se observó en los de la variedad Alma Blanca analizada en este estudio.

Las variedades Colima 6, China y Sudán de color rojo intenso, conformaron el grupo de cálices oscuros. Colima 3, Colima 5, Coneja y Colima 7 de color rojo claro, se incorporaron al grupo de cálices claros, y Alma Blanca, cuyos cálices carecen de pigmento rojo, fue incluida en el grupo de cálices de color blanco (Figura 1).

En el Cuadro 1 se presentan los valores de los diferentes parámetros usados para describir el color de los cálices tanto enteros como molidos, y los extractos acuosos. Para cálices enteros, los valores de L^* , asociados con la luz reflejada por la muestra, fueron más bajos en los cultivares de cálices oscuros con respecto a los de cálices claros. El valor más alto correspondió a la variedad Alma Blanca ($L=32.4$ %), de cálices blancos. El ángulo de tono (HUE) no presentó diferencia significativa entre las mues-

comparison tests by Tukey's procedure ($\alpha = 0.05$) were conducted to determine the effect of treatment (varieties) on the variables analyzed. A correlation analysis between the different variables measured was also performed.

RESULTS AND DISCUSSION

Moisture and Color

In agricultural products, color is a parameter that allows consumers to quickly select from a variety of options when buying a product. This attribute is important in tastes and preferences of the housewives when choosing Roselle that will be used for flavored water. Product moisture, however, is a factor which will affect the parameters defining the color. Bell pepper has shown that the brightness is greater as the moisture of the sample increases (Romano *et al.*, 2012).

The moisture content of calyces varied from 14 to 16% moisture, therefore the influence of this factor on color results were considered insignificant, given the range of only two units.

Different varieties of Roselle can be grouped according to visual color of their calyces. There exist dark calyces, light calyces and white calyces (Babalola *et al.*, 2001, Christian and Jackson, 2009). White calyces are also known as green calyces, when these calyces dehydrated they acquire a greenish-yellow color, which was observed in the Alma Blanca variety analyzed in this study.

Colima 6, China and Sudán with bright red color formed the group of dark calyces. Colima 3, Colima 5, Coneja and Colima 7 with light red color, joined the group of light calyces, and Alma White, whose calyces don't have red pigment, was included in the group of white calyces (Figure 1).

Table 1 shows the values of the different parameters used to describe the color of the calyces both whole and ground, and the aqueous extracts. For whole calyces, the values of L^* , associated with the light reflected by the sample, were lower in the dark calyces cultivars with respect to light calyces. The highest value corresponded to the variety Alma Blanca ($L=32.4$ %) of white calyces. The hue angle (HUE) did not show significant differences between colorful samples, but between them and white calyx samples (Alma Blanca) significant differences were shown, the HUE value was 62.9° . The low reproducibility of the readings taken in the same sample probably contributed to no statistical differences. The chroma values showed greater variability among samples: dark calyces showed lower values and were statistically different from light calyces. However, this variable did not differentiate the variety of white calyces from light calyces. A low chroma value is associated with a matte color and low purity, which is what characterizes the calyces from the varieties Sudán, Colima 6 and China.

In the case of ground calyces, L^* values were higher than those obtained for whole calyces. Dark calyces showed values between 31.7 and 36.1%, while light ca-

tras coloridas, pero sí entre éstas y la muestra de cálices blancos (Alma Blanca), cuyo valor de HUE fue de 62.9°. La baja reproducibilidad de las lecturas tomadas en una misma muestra probablemente contribuyó a que no se presentaran diferencias estadísticas. Los valores de croma mostraron mayor variabilidad entre las muestras: las de cálices oscuros tuvieron valores menores y estadísticamente diferentes a las de cálices claros. Sin embargo, esta variable no diferenció la variedad de cálices blancos con las de cálices claros. Un bajo valor de croma se asocia con

lyxes showed a variation of 52.1 to 57.2 %. However, these values do not match the brightness of samples, and these values are high. According Wrolstad and Smith (2009), by grinding the sample air is incorporated and this increases the values of L* and color data is obtained which no longer correspond with the sample of interest.

HUE values were smaller and more homogeneous than those observed in whole calyces. Reproducibility among readings of the same sample caused small numeri-



FIGURA 1. Apariencia de cálices de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) de variedades cultivadas en México.

FIGURE 1. Appearance of Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) calyces of varieties grown in Mexico.

un color mate y de baja pureza, que es lo que caracteriza a los cálices de las variedades Sudán, Colima 6 y China.

En los cálices molidos, los valores de L* fueron mayores que los obtenidos para cálices enteros. Las de cálices oscuros presentaron valores entre 31.7 y 36.1 %, en tanto que las de cálices claros mostraron una variación de 52.1 a 57.2 %. Sin embargo, estos valores no se corresponden con la brillantez de las muestras y resultan elevados. Según Wrolstad y Smith (2009), al moler la muestra se incorpora aire que eleva los valores de L*, y se obtienen datos de color que ya no corresponden con el de las muestras de interés.

Los valores de HUE fueron menores y más homogéneos que los observados en cálices enteros. La reproducibilidad

cal differences between means would lead to statistical differences. The variable chroma in ground calyces showed more uniform and higher values than in whole calyces.

In color measurement in solid samples, the uniformity of the surface is a key factor for the reproducibility of the determinations (Jha, 2010); therefore in the cases that it is possible, it is recommended to grind the sample. However, it should be revised if the color data in ground sample match the visual color that is appreciated. In calyces of *H. sabdariffa* L. this practice favored the reproducibility of the readings. Values of L*, HUE and chroma for the varieties of dark calyces were clearly different from those obtained for light calyces, but the values of L and chroma in ground calyces did not reflect the true color of the samples.

bilidad entre lecturas de una misma muestra provocó que diferencias numéricas pequeñas entre medias condujeran a diferencias estadísticas. La variable croma en cálices molidos mostró valores más uniformes y elevados que en cálices enteros.

En la medición de color en muestras sólidas, la uniformidad de la superficie es un factor clave para la reproducibilidad de las determinaciones (Jha, 2010), por lo que en los casos en que sea posible se recomienda moler la muestra. No obstante, conviene que se revise si los datos de color en muestra molida corresponden con el color visual que se aprecia. En los cálices de *H. sabdariffa* L. esta práctica favoreció la reproducibilidad de las lecturas y los valores de L^* , HUE y croma para las variedades de cálices oscuros fueron claramente distintos de los obtenidos para las de cálices claros, pero los valores de L y croma en cálices molidos no reflejan el verdadero color de las muestras.

Los extractos acuosos se caracterizaron por presentar valores de L^* más bajos que los observados para los cálices enteros y molidos, lo que denota una mayor absorción de luz por parte de la muestra. Los valores más bajos se presentaron en los extractos de cálices oscuros y el más elevado en la de cálices blancos. Los valores de HUE en los extractos fueron completamente diferentes de los de las muestras sólidas (cálices enteros y molidos), en las cuales el tinte o tono de color se ubicó en el primer cuadrante del plano de color, entre los colores rojo y amarillo ($+a^*$ y $+b^*$).

Los valores de HUE en los extractos de las muestras Colima 3, Colima 5, Sudán, Colima 6 y China, se asocian con un tinte rojo-morado, en tanto que los de Coneja y Colima 7 con un tono rojo brillante. El HUE del extracto de Alma Blanca se asocia con un tono amarillo-verdoso. Los valores de croma fueron muy bajos con respecto a los observados en cálices enteros y molidos. Se presentaron diferencias estadísticas para esta variable entre los extractos de cálices claros (valores más altos) y los de cálices oscuros (valores más bajos), lo que indica un color mate y con mayor presencia de grises en los extractos de cálices oscuros (Cuadro 1).

Aunque comúnmente el color se discute en función de las variables L^* , HUE y croma (McGuire, 1992), en ocasiones los valores de a^* y b^* complementan la interpretación. Por esto se graficaron los valores de estas variables en cálices enteros, molidos y en los respectivos extractos acuosos. Para cálices enteros se apreció una clara separación de los tres tipos de variedades: cálices oscuros, claros y blancos (Figura 2a). Tal agrupamiento no se observa al graficar estas mismas variables obtenidas a partir de los cálices molidos, pues únicamente se aprecian dos grupos, el de la muestra sin pigmento rojo y el de los cálices coloridos (Figura 2b). La distribución espacial en el plano a^*b^* de los extractos acuosos fue parecida a la que se obtuvo para los cálices enteros (Figura 2c).

De acuerdo con estos resultados, el color de los cá-

Aqueous extracts were characterized by showing L^* values lower than those observed for whole and ground calyces, which shows a higher light absorption by the sample. The lowest values were shown in dark calyces extracts and the highest value in white calyces. HUE values in extracts were completely different from those of solid samples (whole and ground calyces), in which the HUE was placed in the first quadrant of the color plane, between the red and yellow color ($+a^*$ and $+b^*$).

HUE values in extracts from the samples Colima 3, Colima 5, Sudán, Colima 6 and China, are associated with a red-purple dye, while those extracts from Coneja and Colima 7 are associated with a bright red hue. The extract HUE of the variety Alma Blanca is associated with a yellow-green color. The chroma values were very low compared to those observed in whole and ground calyces. Statistical differences for this variable among extracts from light calyces (higher values) and dark calyx (the lowest level) were shown, indicating a matte color and greater presence of gray color in extracts from dark calyces (Table 1).

Commonly the color is discussed in terms of the variables L^* , Hue and chroma (McGuire, 1992), sometimes the values of a^* and b^* complement the interpretation. Therefore the values of these variables in whole calyces, ground calyces and respective aqueous extracts were graphed. Whole calyces showed a clear separation of the three types of varieties: dark calyces, clear calyces and white calyces (Figure 2a). Such clustering is not observed by graphing these variables obtained from ground calyces, because only two groups are seen, the sample without red pigment and the colorful calyces (Figure 2b). The spatial distribution in the plane a^*b^* of the aqueous extracts was similar to that obtained for whole calyces (Figure 2c).

According to these results, the color of the whole calyces can be used to estimate the color of the aqueous extracts. In a breeding program, we can choose to characterize varieties per color in whole calyces, and to have an approximation of color concentrates. However, it should be considered that the calyces/water ratio affects the final color of the concentrate.

Physicochemical characterization of aqueous extracts

The variables evaluated in the extracts were: Brix degrees ($^{\circ}\text{Bx}$), pH and titratable acidity; results are shown in Table 2. Brix degrees showed little variation between the aqueous extracts. The highest value was occurred in Colima 3 and the lowest in Colima 7 and Alma blanca. This variable is related to the amount of soluble solids in the extract. In the case of fruits, it is associated with the presence of sugars and organic acids. The value of $^{\circ}\text{BX}$ in extracts will depend on factors such as the calyces: water ratio that will be used, humidity of calyces, variety of Roselle used, among others. Ramírez-Rodríguez *et al.* (2011) used a calyces:water ratio of 1:40 and the values of $^{\circ}\text{Bx}$ that were

CUADRO 1. Parámetros de color en cálices enteros, molidos y extractos acuosos de variedades de jamaica.
TABLE 1. Color parameters in whole calyces, ground calyces and aqueous extracts of Roselle varieties.

VARIEDAD / VARIETY	CÁLICES ENTEROS / WHOLE CALYXES			CÁLICES MOLIDOS / GROUND CALYXES			EXTRACTOS / EXTRACTS		
	*L	HUE	CROMA/ CHROMA	*L	HUE	CROMA/ CHROMA	*L	HUE	CROMA/ CHROMA
Colima 3	21.5 b ^z	22.1 b	25.2 a	54.6 b	13.8 e	30.3 c	3.6 b	355.7 a	2.4 abc
Colima 5	21.3 b	33.8 b	19.1 b	53.7 c	20.3 b	26.1 h	4.1 b	349.7 a	2.8 ab
Sudán	12.2 e	37.3 b	5.1 d	31.7 h	10.7 g	28.1 d	2.1 c	329.2 b	0.9 d
Coneja	16.6 cd	23.3 b	14.4 c	57.2 e	13.7 e	31.7 b	3.8 b	4.1 d	2.7 ab
Colima 6	14.0 de	22.2 b	7.2 d	32.6 g	11.5 f	34.6 a	2.5 c	340.4 ab	1.2 dc
Colima 7	20.3 cb	23.6 b	21.2 ab	52.1 d	18.3 c	27.8 e	3.7 b	4.0 d	3.2 a
Alma Blanca	32.4 a	62.9 a	24.9 a	68.1 a	73.6 a	26.8 g	7.4 a	107.2 c	1.7 bcd
China	11.3 e	20.2 b	7.4 d	36.1 f	16.0 d	27.3 f	2.6 c	348.7 a	1.6 bcd
DMS/ HSD	4.25	17.48	4.39	0.33	0.328	0.19	0.678	16.99	1.367

^z Medias con la misma letra, dentro de columnas, no son diferentes de acuerdo con la prueba de Tukey a una $P \leq 0.05$.
DMS: Diferencia mínima significativa honesta.

^z Means with the same letter within columns are not different according to the Tukey test at $P \leq 0.05$.
HSD: Honestly significant difference.

lices enteros se puede emplear para estimar el color que tendrán los extractos acuosos. En un programa de mejoramiento genético se puede optar por caracterizar las variedades por color en cálices enteros, y tener con esta información una aproximación del color de los concentrados. Sin embargo, debe considerarse que la relación cálices/agua afecta el color final del concentrado.

Caracterización físico-química de los extractos acuosos

Las variables evaluadas en los extractos fueron grados Brix (°Bx), pH y acidez titulable, cuyos resultados se muestran en el Cuadro 2. Los grados Brix mostraron poca variación entre los extractos acuosos. El valor más alto se presentó en Colima 3 y el más bajo en Colima 7 y Alma blanca. Esta variable se relaciona con la cantidad de sólidos solubles en el extracto, y en el caso de frutos se asocia con la presencia de azúcares y ácidos orgánicos. El valor de °Bx en los extractos dependerá de factores tales como la relación cálices:agua con la cual se preparen, la humedad de los cálices, la variedad de jamaica que se use, entre otros. Ramírez-Rodríguez *et al.* (2011) utilizaron una relación cálices:agua de 1:40 y los valores de °Bx que informan son superiores a los del presente trabajo, en el que se usó una relación 1:80.

Los valores de pH observados en los extractos acuo-

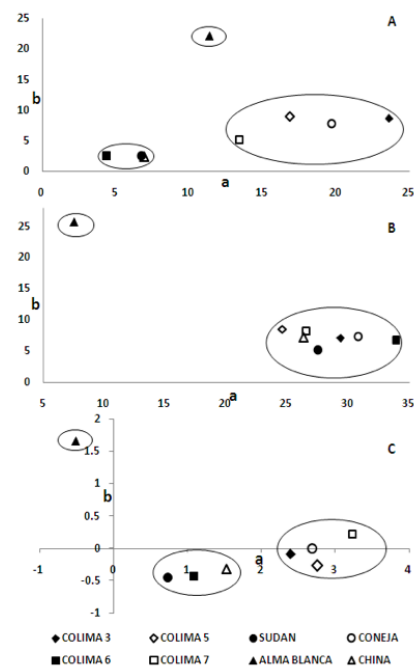


FIGURA 2. Valores de a^* y b^* en cálices deshidratados de jamaica enteros (A), molidos (B) y en sus extractos acuosos (C).

FIGURE 2. Values of a^* and b^* in dehydrated calyces of Roselle: whole (A), ground (B) and aqueous extracts (C).

CUADRO 2. Grados Brix, pH y acidez titulable en extractos acuosos de *Hibiscus sabdariffa* L.

TABLE 2. Brix degrees, pH and titratable acidity in aqueous extracts of *Hibiscus sabdariffa* L.

GENOTIPO / GENOTYPE	BRIX (%)	pH	ACIDEZ TITULABLE / TITRATABLE ACIDITY (%)
Colima 3	0.85 a ^z	2.53 bc	18.6 b
Colima 5	0.81 ab	2.51 c	18.4 b
Sudán	0.75 ab	2.64 a	16.9 b
Coneja	0.71 ab	2.5 c	22.7 a
Colima 6	0.83 ab	2.57 b	23.7 a
Colima 7	0.70 b	2.64 a	19.3 b
Alma Blanca	0.70 b	2.54 bc	17.3 b
China	0.80 ab	2.55 bc	18.6 b
DMS/ HSD	0.15	0.048	3.00

^z Medias con la misma letra, dentro de columnas, son iguales de acuerdo con la prueba de Tukey a una $P \leq 0.05$.

^z Means with the same letter within columns are equal according to the Tukey test at $P \leq 0.05$.

DMS: diferencia mínima significativa. / LSD: Least significant difference.

Los extractos de jamaica variaron de 2.4 a 2.65. El extracto de la variedad Coneja presentó el valor más bajo, en tanto que los mayores correspondieron a las variedades Sudán y Colima 6. El pH del extracto es un factor fundamental en la estabilidad del color, pues determina la estructura química de la antocianina. En la jamaica es importante que la estructura predominante sea la del catión flavilio, que confiere el color rojo brillante a los extractos, y se favorece a pH menor de 3 (Prenesti *et al.*, 2007). Cuando este valor sobrepasa 5, la estructura de este catión cambia a su base quinoidal (Brouillard, 1982) y en los extractos de jamaica muy diluidos con agua se aprecia una coloración azul/morada, las antocianinas son inestables.

Bajo estas condiciones de pH, todos los extractos mostraron un color rojo brillante, a excepción de la variedad Alma Blanca, que aunque de pH ácido (2.54), presentó una coloración amarilla clara, atribuida a la carencia de pigmento rojo. No obstante su falta de color rojo, el aroma del extracto de Alma Blanca fue el característico de la jamaica, que está conformado por más de 37 compuestos diferentes agrupados en derivados de ácidos grasos, azúcares, fenoles y algunos terpenoides (Chen *et al.*, 1998).

La acidez de los extractos está directamente relacionada con la cantidad de ácidos presentes, y en jamaica los dominantes son el oxálico y el succínico (Fasoyiro *et al.*, 2005), aunque pueden encontrarse también cítrico, ascórbico, málico y esteárico (Hirunpanich *et al.*, 2005). En trabajos recientes se menciona la presencia importante del ácido hibiscus en sus formas libre y glucosilada (Ramírez-Rodríguez *et al.*, 2011).

Los extractos más ácidos provinieron de Colima 6 y Coneja, cuyos valores de acidez fueron estadísticamente diferentes de los demás extractos. Galicia-Flores *et al.*

reported are higher than those of the present study, where a 1:80 ratio was used.

The values of pH observed in the aqueous extracts of Roselle ranged from 2.4 to 2.65. The extract from the Coneja variety had the lowest values, while the highest values obtained came from Sudán and Colima 6 varieties. The pH of the extract is an important factor in the stability of the color, because it determines the chemical structure of the anthocyanin. In Roselle is important that the favylum cation structure becomes the predominant structure, which gives the bright red color to the extracts, and it is favored at a pH lower than 3 (Prenesti *et al.*, 2007). When this value exceeds 5, the structure of the cation transformed to its quinoid base. (Brouillar, 1982) and in the Roselle extracts very diluted with water we can see a blue/purple color, anthocyanins are unstable.

Under these conditions of pH, all extracts showed a bright red color, except for the Alma Blanca variety, that despite of having an acidic pH (2.54), it showed a dull yellow color, attributed to the lack of red pigment. Despite the lack of red color, the smell of the extract obtained from the Alma Blanca variety was the distinctive smell of Roselle, which is made up of over 37 different compounds grouped in derivatives of fatty acids, sugars, phenols and some terpenoids (Chen *et al.*, 1998).

The acidity of the extract is directly related to the amount of acids present; oxalic and succinic were dominant in Roselle (Fasoyiro *et al.*, 2005); but citric acid, ascorbic acid, malic acid and stearic acid can also be found (Hirunpanich *et al.*, 2005). Recent work indicates the important presence of hibiscus acid in free and glycosylated forms (Ramírez-Rodríguez *et al.*, 2011). The most acidic extracts came from Colima 6 and Coneja, whose acidity values were statistically different from the other extracts. Galicia-Flores *et al.* (2008) compared the acidity of Roselle extracts from different origins and found that the Sudán sample had the lowest acidity value (13.8 %) with respect to the values of the China samples (20.3%) and Guerrero sample (18.9%).

The acidity has an antibacterial effect and contributes to the absorption of metal ions in human body. Particularly it acts against the formation of salts of low solubility. It is likely that the fresh feeling that we get when we have a cool drink made with Roselle is related to this property (Prenesti *et al.*, 2007). Acidity can be reduced with the addition of sugar, but for people sensitive to acid this might not be enough. For these individuals may be better to prepare their extract with Roselle from the Sudan type mixed with any type of Roselle with light calyxes. Since the three physicochemical variables considered in Table 2 are modified by the way of making the extracts, in terms of the number of calyxes and the volume of water, the comparison of the results obtained with other published work is not possible. However, there are similarities regarding acid pH and high acidity values.

(2008) al comparar la acidez de extractos de jamaicas de diferentes orígenes, encontraron que el de la muestra Sudán era la de menor acidez (13.8 %), con respecto a los valores de los extractos de muestras de China (20.3 %) y Guerrero (18.9 %).

La acidez tiene un efecto antibacterial y contribuye a la absorción de iones metálicos en el cuerpo humano. Particularmente actúa contra la formación de sales de baja solubilidad. Es probable que la sensación de frescura que se percibe al tomar una bebida fría de jamaica esté relacionada con esta característica (Prenesti *et al.*, 2007). La acidez puede reducirse con la adición de azúcar, pero para las personas muy sensibles al ácido podría no resultar suficiente. Para estas personas puede ser mejor preparar sus extractos con jamaicas del tipo Sudán en mezcla con extracto de alguna de las jamaicas de cálices claros.

Dado que las tres variables fisicoquímicas consideradas en el Cuadro 2 son modificadas por la forma de preparación de los extractos, en cuanto a la cantidad de cálices y el volumen de agua, la comparación de los resultados obtenidos con los de otros trabajos publicados no es posible. Sin embargo, existen coincidencias en cuanto al pH ácido y los valores de acidez elevados.

Antocianinas totales

El contenido de antocianinas en los extractos de las muestras analizadas fue contrastante entre las variedades de cálices claros (Colima 3, Colima 5, Colima 7 y Coneja), oscuros (Colima 6, Sudán y China) y blancos (Alma Blanca). En las de cálices oscuros el contenido fue entre cinco y siete veces más alto que en las de cálices claros. Dentro de las variedades de cálices oscuros, Sudán sobresalió con un contenido de 1,488.0 mg, seguida por Colima 6 con 1,250.7 mg y finalmente China con 746.2 mg de cianidina 3-glucosido $\cdot 100 \text{ g}^{-1}$ de cálices secos. La variedad Alma Blanca, de cálices blancos y carentes de color rojo, prácticamente no tiene antocianinas (Figura 3).

Christian y Jackson (2009) encontraron tendencias similares a los del presente trabajo al evaluar el contenido de antocianinas en variedades de cálices de los tres grupos formados con base en la intensidad del color visual, aunque sus contenidos de antocianinas fueron más bajos.

Las antocianinas le confieren a los extractos de jamaica su color rojo característico y la propiedad de ser una fuente natural de antioxidantes. Estos compuestos contribuyen con el 51 % de la actividad antioxidante total reportada para jamaica (Tsai *et al.*, 2002), por lo que su consumo en forma de “aguas frescas” a partir de los extractos es altamente recomendable si se considera la relación que existe entre una dieta rica en antioxidantes y la menor incidencia de enfermedades crónico-degenerativas.

Es necesario señalar que la variedad Sudán del presente trabajo no es la misma que mencionan Galicia-Flores *et al.* (2008), pues la usada en este estudio fue cultivada en

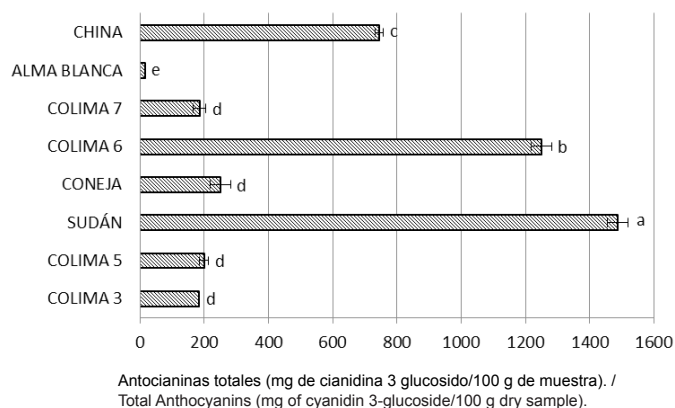


FIGURA 3. Contenido de antocianinas en cálices deshidratados de variedades de jamaica.

FIGURE 3. Anthocyanin content in dried calyces of hibiscus varieties.

Total Anthocyanins

The content of anthocyanins in extracts of the samples assessed was contrasting between varieties of light calyces (Colima 3, Colima 5, Colima 7 and Coneja), dark calyces (Colima 6, Sudán and China) and white calyces (Alma Blanca). The content in dark calyces was between five and seven times higher than in the clear calyces. Among the varieties of dark calyces, Sudán excelled containing 1488.0 mg, followed by Colima 6 with 1250.7 mg and finally China with 746.2 mg of cyanidin 3-glucoside $\cdot 100 \text{ g}^{-1}$ dry calyces. The variety Alma Blanca of white calyces (lacking of red color) have practically no anthocyanins (Figure 3). Christian and Jackson (2009) found similar trends to those of the present study by evaluating the content of anthocyanins in varieties of calyces of the three groups formed based on visual color intensity, although its anthocyanin contents were lower.

Anthocyanins give to the Roselle extracts its characteristic red color and the property of being a natural source of antioxidants. These compounds contribute to 51% of the total antioxidant activity reported for Roselle (Tsai *et al.*, 2002), so its consumption as “flavored water” from the extracts is highly recommended when considering the relationship between a diet rich in antioxidants and the lowest incidence of chronic degenerative diseases. It should be noted that the Sudán variety of this present study is not the same variety mentioned by Galicia-Flores *et al.* (2008), the variety used in this study was grown in the coast of Oaxaca, along with other varieties, while the variety mentioned by the authors came from imports, and it is known that the production environment is crucial in phytochemical composition of Roselle calyces (Juliani *et al.*, 2009).

Ascorbic acid (vitamin C)

High variation was seen in the content of ascorbic acid (vitamin C) among the Roselle varieties evaluated. Alma

la zona costa de Oaxaca, junto con las demás variedades, en tanto que a la que hacen referencia los autores provenía de importación, y se sabe que el ambiente de producción es determinante en la composición fitoquímica de los cálices de jamaica (Juliani *et al.*, 2009).

Ácido ascórbico (vitamina C)

Se presentó elevada variación en el contenido de ácido ascórbico (vitamina C) entre las variedades de jamaica analizadas. Alma Blanca fue la de mayor contenido con $90.2 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ de materia seca, mientras que el menor se observó en la variedad Colima 6, con $33.2 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ de materia seca (Figura 4). Los resultados son comparables con los informados por otros autores en cuanto a los valores obtenidos y la mayor presencia de esta vitamina en variedades de cálices blancos (Babalola *et al.*, 2001).

La vitamina C es sensible a la temperatura, por lo que la cocción de los cálices a 92°C por 15 min provocó una reducción del contenido de vitamina C desde 27.2 % para Colima 6, hasta 72.4 % en Colima 5 (Figura 4).

El tratamiento térmico empleado para preparar los extractos fue el mismo para todas las muestras. Sin embargo, el porcentaje de pérdida de vitamina C fue diferente. La termosensibilidad de este compuesto se encuentra bien documentada (Munyaka *et al.*, 2010), pero la magnitud de la pérdida depende de factores como pH y presencia de algunos flavonoides (Marín *et al.*, 2002).

Las variedades Alma Blanca y Colima 5 fueron las de mayor contenido de vitamina C, pero a la vez presentaron los mayores porcentajes de pérdidas durante la preparación del extracto. Estas dos muestras tienen en común un bajo contenido de antocianinas y de acidez, con respecto a las muestras Coneja y Colima 6, que fueron las de menores porcentajes de pérdidas de vitamina C y sus extractos se caracterizaron por una elevada acidez, y en el caso de Colima 6, también un elevado contenido de antocianinas. Dado que un pH bajo protege la oxidación del ácido ascórbico, es posible que este factor haya contribuido a preservar una mayor cantidad en las muestras Coneja y Colima 6. Al respecto, Marín *et al.* (2002) señalan que la presencia de flavonoides como miricetina y quercetina, flavonoides presentes en extractos acuosos de *Hibiscus* protegen al ácido ascórbico de su oxidación (Rodríguez-Medina *et al.*, 2009).

Correlación entre color de cálices y variables fisicoquímicas

De las variables analizadas en el extracto acuoso de los cálices de jamaica, el contenido de antocianinas totales (ANT) fue la que mayor número de correlaciones significativas presentó con los diferentes parámetros de color en cálices enteros, molidos y en el extracto (Cuadro 3). Esta variable estuvo altamente correlacionada de forma negativa con la luminosidad (L^*) en los cálices y el extracto.

Los datos de ANT y L^* en cálices molidos transformados a logaritmo natural presentaron un alto coeficiente

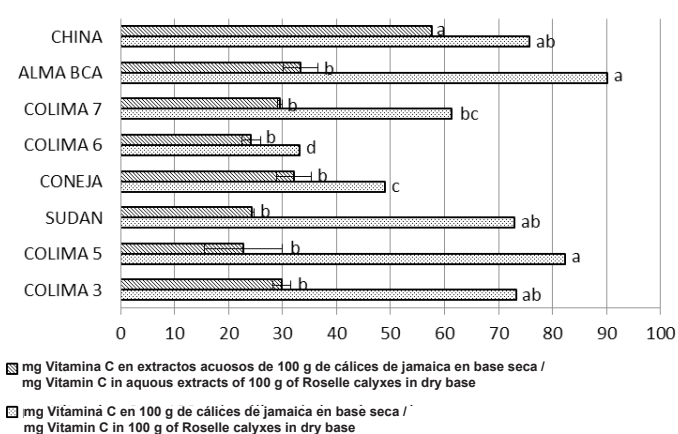


FIGURA 4. Contenido de ácido ascórbico en cálices de jamaica y en sus extractos acuosos obtenidos en caliente.

FIGURE 4. Ascorbic acid content in Roselle calyces and the aqueous extracts obtained in hot.

Blanca had the highest content with $90.2 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ dry matter, the lowest content was observed in the variety Colima 6 with $33.2 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ dry matter (Figure 4). The results are comparable to those reported by other authors regarding the values obtained and the highest presence of this vitamin in varieties of white calyces (Babalola *et al.*, 2001). Vitamin C is sensitive to temperature, whereby cooking the calyces at 92°C for 15 min provoked a reduction of the content of vitamin C from 27.2 % for Colima 6, to 72.4 % for Colima 5 (Figure 4). The heat treatment used to prepare the extracts was the same for all samples. However, the percentage of loss of vitamin C was different. The heat sensitivity of this compound is well documented (Munyaka *et al.*, 2010), but the magnitude of the loss depends on factors such as pH and the presence of some flavonoids (Marín *et al.*, 2002). Alma Blanca and Colima 5 were the varieties with highest content of vitamin C, but these varieties also had the highest percentage of losses during extract preparation. These two samples have in common a low content of anthocyanin and acidity, with respect to the samples Coneja and Colima 6, which were the varieties with the lowest percentage of loss of vitamin C and their extracts were characterized by a high acidity, and in the case of Colima 6, a high anthocyanin content. Since a low pH protects the oxidation of ascorbic acid, this factor may have contributed to preserve a higher amount in Colima 6 and Coneja. In this regard, Marín *et al.* (2002) indicates that the presence of flavonoids such as myricetin and quercetin, flavonoids present in aqueous extracts of *Hibiscus* protect ascorbic acid from oxidation (Rodríguez-Medina *et al.*, 2009).

Correlation between calyces color and physicochemical variables

The content of total anthocyanins (ANT) had the highest number of significant correlations with different color parameters in whole calyces, ground calyces and in the extract (Table 3) from the variables analyzed in the aqueous

CUADRO 3. Correlaciones entre variables de color en cálices y extractos y el contenido de antocianinas (ANT), acidez titulable (AT) y ácido ascórbico (AA).

TABLE 3. Correlations among color in calyx and extracts and the content of anthocyanins (ANT), titratable acidity (TA) and ascorbic acid (AA).

	Calices enteros / Whole calyces			Calices molidos / Ground calyces			Extractos / Extracts		
	L*	h°	C	L*	h°	C	L*	h°	C
ANT	-0.75*		-0.897*	-0.909*			-0.732*		-0.799*
AT			0.846*						
AA						-0.905*			

*: Significativo a una P ≤ 0.05. / *: Significant at P≤ 0.05.

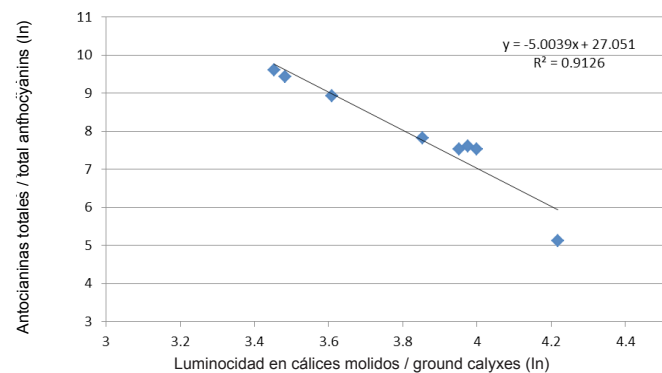


FIGURA 5. Valores de contenido de antocianinas totales y Luminosidad en cálices de jamaica en un modelo lineal.

FIGURE 5. Values of total anthocyanin content and Brightness in Roselle calyces in a linear model.

de determinación ($R^2 = 0.91$) al ser ajustados a un modelo lineal, por lo que L^* podría ser un estimador del contenido de antocianinas (Figura 5). Determinar el valor de L^* en cálices molidos resulta más simple y económico que cuantificar el contenido de antocianinas, por lo que esta variable puede ser útil en programas de mejoramiento genético.

La correlación positiva y altamente significativa entre AT y el valor de croma en cálices enteros significa que aquellas muestras con menor índice de saturación de color, posiblemente de cálices claros, tendrán mayor acidez. El contenido de ácido ascórbico (AA) mostró una elevada correlación negativa con el croma de cálices molidos, por lo que el contenido de esta vitamina será mayor en las variedades de cálices blancos y claros.

No se observó correlación significativa de $^{\circ}Bx$ y pH con los parámetros de color en cálices y extractos atribuido a la poca variabilidad observada en estas variables en las variedades analizadas.

CONCLUSIONES

Las variables de color luminosidad y croma permiten diferenciar las variedades de cálices claros y oscuros, tan-

extract of the Roselle calyces. This variable was highly negatively correlated with the luminosity (L^*) in calyces and extract. ANT and L^* data in ground calyces transformed into natural logarithm showed high determination coefficient ($R^2 = 0.91$) when they were adjusted to a linear model, therefore L^* may be an estimator of the content of anthocyanins (Figure 5). To determine the value of L^* in ground calyces is simpler and cheaper than quantify the content of anthocyanin, so this variable can be useful in breeding programs.

The highly significant and positive correlation between AT and the chroma value in whole calyces means that those samples with lower saturation index color, possibly from light calyces, would have higher acidity. The content of ascorbic acid (AA) showed a high negative correlation with the chroma of ground calyces, so that the content of this vitamin would be higher in varieties of white and light calyces. No significant correlation was observed between $^{\circ}Bx$ and pH with the color parameters in calyces and extracts attributed to the low variability observed in these variables in the analyzed varieties.

CONCLUSIONS

The variables of color brightness and chroma differentiate varieties of light and dark calyces, both whole and ground samples. However, the values obtained in whole calyces reflect better the color of the sample.

The color of the calyces and extracts was related to the content of anthocyanins and ascorbic acid. The varieties of dark calyces showed between five and seven times more anthocyanins than the light calyces. White calyces had the highest content of ascorbic acid.

In the case of the color parameters, the brightness of ground calyces was highly correlated with total anthocyanin content, so it could be used as an estimator of this variable.

End of English Version

to en muestra entera como molida. Sin embargo, los valores obtenidos en cálices enteros reflejan mejor el color de la muestra.

El color de los cálices y de los extractos estuvo relacionado con el contenido de antocianinas y ácido ascórbico. Las variedades de cálices oscuros presentaron entre cinco y siete veces más antocianinas que las de cálices claros. La de cálices blancos tuvo el mayor contenido de ácido ascórbico.

De los parámetros de color, la luminosidad de los cálices molidos resultó altamente correlacionada con el contenido de antocianinas totales, por lo que podría usarse como un estimador de esta variable.

LITERATURA CITADA

- ANÓNIMO. 1980. Official Methods of Analysis. ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC). 13a Ed. St. Paul Minnesota, USA.
- ANÓNIMO. 2000. Official Methods of Analysis. ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC). 17a Ed. St. Paul Minnesota, USA.
- BABALOLA, S. O.; BABALOLA, A. O.; AWORTH, O. C. 2001. Composition attributes of the calyces of roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.). The Journal of Food Technology in Africa 6: 133-134. <http://hdl.handle.net/1807/3404>.
- BROUILLARD, R. 1982. Chemical structure of anthocyanins, pp. 1-38. In: Anthocyanins as food colors. P. Markakis (Ed.), New York: Academic Press. DOI: 10.1016/S0308-8146(96)00222-1
- CHEN, C. C.; HSU, J. D.; WANG, S. F. 2003. *Hibiscus sabdariffa* extract inhibits the development of atherosclerosis in cholesterol-fed rabbits. Journal of Agricultural and Food Chemistry 51: 5472-5477. DOI: 10.1021/jf030065w
- CHEN, S.-H.; HUANG, T.-C.; HO, C.-T.; TSAI, P.-J. 1998. Extraction, analysis, and study on the volatiles in roselle tea. Journal of Agricultural and Food Chemistry 46: 1101-1106. DOI: 10.1021/jf970720y
- CHRISTIAN, R. K.; JACKSON, J. C. 2009. Changes in total phenolic and monomeric anthocyanin composition and antioxidant activity of three varieties of sorrel (*Hibiscus sabdariffa*) during maturity. Journal of Food Composition and Analysis 22: 663-667. DOI: 10.1016/j.jfca.2009.05.007
- FASOYIRO, S. B.; ASHAYE, O. A.; ADEOLA, A.; SAMUEL, F. O. 2005. Chemical and storability of fruit-flavoured (*Hibiscus sabdariffa*) drinks. World Journal of Agricultural Sciences 1(2): 165-168. <http://www.idosi.org/wjas/wjas1%282%29/11.pdf>
- GALICIA-FLORES, L. A.; SALINAS, M. Y.; ESPINOSA-GARCÍA, B. M.; SÁNCHEZ-FERIA, C. 2008. Caracterización físico-química y actividad antioxidante de extractos de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) nacional e importada. Revista Chapingo Serie Horticultura 14(2): 121-129. www.chapingo.mx/revistas/revistas/articulos/doc/abe2f9c3ec926a671fddfb-d99e82d1ef.pdf
- HERRERA-ARELLANO, A.; FLORES-ROMERO, S.; CHÁVEZ SOTO, M. A.; TORTORIELLO, J. 2004. Effectiveness and tolerability of a standardized extract from *Hibiscus sabdariffa* in patients with mild to moderate hypertension: a controlled and randomized clinical trial. Phytomedicine 11: 375-382. DOI: 10.1016/j.phymed.2004.04.001
- HIRUNPANICH, V.; UTAIPAT, A.; MORALES, N. P.; BUNYAPRAPHATSAEA, N.; SATO, H.; HERUNSALEE, A.; SUTHINSANG, C. 2005. Antioxidant effect of aqueous extracts from dried calyx of *Hibiscus sabdariffa* Linn. (Roselle) *in vitro* using rat low-density lipoprotein (LDL). Biological and Pharmaceutical Bulletin 28(3): 481-484. DOI: 10.1248/bpb.28.481.
- JHA N, S. 2010. Color measurement and modeling. In: Nondestructive Evaluation of Food Quality. S N Jha (ed). Springer-Verlag. Berlin, Heidelberg. pp:17-40.
- JULIANI, H. R.; WELCH, C. R.; WU, Q.; DIOUF, B.; MALAINY, D.; SIMON, J. E. 2009. Chemistry and quality of *Hibiscus sabdariffa* for developing of natural-product industry in Senegal. Journal of Food Science 74:113-121. DOI: 10.1111/j.1750-3841.2009.01076.x
- MARÍN, F. R.; FRUTOS, M. J.; PÉREZ-ÁLVAREZ, J. A.; MARTÍNEZ-SÁNCHEZ, F.; DEL RÍO, J. A. 2002. Flavonoids as nutraceuticals: Structural related antioxidant properties and their role on ascorbic acid preservation. Studies in Natural Products Chemistry 26 (Part G): 741-778. DOI: 10.1016/S1572-5995(02)80018-7
- MUNYAKA, W. A.; INDRAWATI, O.; LOEY, A. V.; HENDRICKX, M. 2010. Application of thermal inactivation of enzymes during vitamin C analysis to study the influence of acidification, crushing and blanching on vitamin C stability in broccoli (*Brassica oleracea* L. var. Italica). Food Chemistry 120:591-598. DOI: 10.1016/j.foodchem.2009.10.029
- MCGUIRE, R. G. 1992. Reporting of objecting color measurements. HortScience 27(12): 1254-1255. <http://hortsci.ashspublications.org/content/27/12/1254.full.pdf+html>
- PRENESTI, 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. DOI: 10.1016/j.foodchem.2005.09.063
- RAMÍREZ-RODRÍGUEZ, M. M.; PLAZA, M. L.; AZEREDO, A.; BALABAN, M. O.; MARSHALL, M. R. 2011. Physicochemical and phytochemical properties of cold and hot water extraction from *Hibiscus sabdariffa*. Journal of Food Science 76(3): C428-C435. DOI: 10.1111/j.1750-3841.2011.02091.x
- RODRÍGUEZ-MEDINA, I. C.; BELTRÁN-DEBON, R.; MOLINA, V. M.; ALONSO VILLAYERDE, C.; JOVEN, J.; MENÉNDEZ, J. A.; SEGURA-CARRETERO, A.; FERNÁNDEZ-GUTIÉRREZ, A. 2009. Direct characterization of aqueous extracts of *Hibiscus sabdariffa* using HPLC with diode array detection coupled to ESI and ion trap MS. Journal of Separation Science 32(20): 3441-3448. DOI: 10.1002/jssc.200900298
- ROMANO, G.; ARGYROPOULOS, D.; NAGLE, M.; KHAN, M. T.; MULLER, J. 2012. Combination of digital images and laser light to predict moisture content and color of bell pepper simultaneously during drying. Journal of Food Engineering 109(3): 438-448. DOI: 10.1016/j.jfoodeng.2011.10.037
- TSAI, P. J.; MCINTOSH, J.; PEARCE, P.; CAMDEN, B.; JORDAN, B. R. 2002. Anthocyanin and antioxidant capacity in Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) extract. Food Research International 35(4): 351-356. DOI: 10.1016/S0963-9969(01)00129-6
- WROLSTAD, R. E.; SMITH, E. D. 2009. Color analysis. pp: 575-586. In: Food Analysis. 4th edition. E. S. Nielsen (ed). Springer. Purdue University, West Lafayette, IN, USA.