

EFFECTO DE GENOTIPO Y AMBIENTE EN LA CALIDAD FISICOQUÍMICA DE VARIEDADES MEXICANAS DE *Hibiscus sabdariffa* L.

GENOTYPE AND ENVIRONMENTAL EFFECTS ON PHYSICAL AND CHEMICAL QUALITIES OF MEXICAN VARIETIES OF *Hibiscus sabdariffa* L. FLOWERS

César Sánchez-Feria¹, Víctor A. González-Hernández^{1*}, Yolanda Salinas-Moreno², Nicacio Cruz-Huerta¹

¹Posgrado en Recursos Genéticos y Productividad, Fisiología Vegetal, Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, km 36.5 carretera México-Texcoco, 56230, Montecillo, Estado de México. (vagh@colpos.mx). ²Laboratorio de Calidad de Cultivos para Uso Humano y Pecuário, Campo Experimental Centro Altos de Jalisco, INIFAP, km 8 Carretera Tepatitlán – Lagos de Moreno, 47600, Tepatitlán de Morelos, Jalisco.

RESUMEN

En este estudio se evaluaron 53 genotipos de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.), con coloración roja contrastante en sus cálices deshidratados, cada uno de ellos crecidos en una región productora de Colima, Guerrero, Nayarit, Oaxaca y Puebla, estados con tradición en el cultivo de jamaica en México. El objetivo fue cuantificar los efectos de los factores genotipo, ambiente y su interacción G×A, en las variables de color (luminosidad, tonalidad y saturación), contenido total de antocianinas (CTA), fenoles solubles totales (FST), pH y acidez titulable (AT), en cálices deshidratados y extractos acuosos. Los tres factores tuvieron efectos significativos ($p \leq 0.01$) en la calidad de los cálices y extractos de jamaica, pero el efecto del genotipo fue más determinante en las variables de color (60 a 81 %), CTA (72 %) y FST (44 %), y la tonalidad de los cálices fue explicada en 62 % por la interacción G×A. El pH y la AT fueron afectados en mayor proporción por la localidad (56 y 52 %) y por la interacción G×A (22 y 24 %). De los genotipos, 19 se clasificaron por cálices de color rojo oscuro, por mayor contenido de antocianinas y fenoles solubles totales, variables que tuvieron mayor expresión en la localidad de Nayarit. Los 34 genotipos restantes, de cálices color rojo claro, sobresalieron por su alta acidez, que fue mayor cuando crecieron en Nayarit. Aunque los efectos de los factores genotipo, ambiente y su interacción G×A tuvieron efectos significativos en la variación de la calidad de los cálices, el genotipo fue el factor más importante en el CTA y FST, mientras que el efecto de ambiente fue el principal responsable de la variación en AT y pH de los extractos acuosos.

ABSTRACT

This study evaluated 53 red color-contrasting genotypes of *Hibiscus sabdariffa* L. of dehydrated calyces grown in a traditionally producing regions of Colima, Guerrero, Nayarit, Oaxaca and Puebla states in Mexico. The objective was to quantify the effects of genotype (G), environment (A, location) and interaction (G×A) on color variables (luminosity, hue and saturation), total anthocyanin content (CTA), total soluble phenols (FST), pH and titratable acidity (AT) in dehydrated calyces and aqueous extracts. The three factors had significant effects ($p \leq 0.01$) on calyx quality and extracts. But the genotype factor influenced more calyx color (60 to 81 %), CTA (72 %) and FST (44 %), while calyx color tone was mostly explained (62 %) by the interaction G×A. pH and AT were affected more by location (56 and 52 %) and by the G×A interaction (22 y 24 %). Nineteen genotypes were classified as dark red calyces, which contained higher total soluble anthocyanins and phenols levels; these variables showed higher expression at the Nayarit location. The remaining light-red calyx genotypes (34) were highly acidic, and the acidity increased when grown in Nayarit. Although the three effects of genotype, location (environment) as well as their interaction G×A had significant effects on the quality of hibiscus calyces, the genotype factor was the most relevant to CTA and FST, whereas the environment factor explained most of the variation of AT and pH of aqueous extracts.

Key words: *Hibiscus sabdariffa*, calyx, color, total anthocyanin content, total soluble phenolic compounds, titratable acidity.

INTRODUCCIÓN

Roselle or jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) (Malvaceae) is a plant species native to Africa. During the colonial period, it dispersed to

*Autor responsable ❖ Author for correspondence.
Recibido: julio, 2016. Aprobado: abril, 2017.

Publicado como ARTÍCULO en *Agrociencia* 51: 525-541. 2017.

Palabras clave: Jamaica, cálices, color, contenido total de antocianinas, compuestos fenólicos solubles totales, acidez titulable.

INTRODUCCIÓN

H*ibiscus sabdariffa* L. (Malvaceae) es una especie vegetal originaria de África, que durante la época colonial se dispersó a otras regiones tropicales y subtropicales aptas para su cultivo (Morton, 1987). En México se adaptó en una extensión territorial amplia para su cultivo comercial, y la producción nacional anual de cálices deshidratados es 6950 t cosechados principalmente en los estados de Guerrero, Michoacán, Oaxaca, Puebla y Nayarit (SIAP, 2014).

Los cálices son la estructura vegetal más valorada de *H. sabdariffa*, porque en ellos se acumulan antioxidantes, pigmentos y ácidos orgánicos, compuestos que en gran medida determinan su valor comercial (Patel, 2014). En México el principal uso de los cálices es la elaboración de extractos (fríos, infusiones y decocciones) para preparar bebidas refrescantes, debido a sus atractivas características de color, palatabilidad (Fasoyiro *et al.*, 2005), efectos antioxidantes (Tsai *et al.*, 2002; Prenesti *et al.*, 2007) y propiedades medicinales (Reyes-Luengas *et al.*, 2015; Herrera-Arellano *et al.*, 2007).

Los compuestos fitoquímicos que sobresalen en jamaica son las antocianinas, ácidos orgánicos y otros flavonoides (Sindi *et al.*, 2014; Fernández-Arrollo *et al.*, 2011), cuyas propiedades antioxidantes se evaluaron *in vitro* e *in vivo* (Ojeda *et al.*, 2010; Herrera-Arellano *et al.*, 2004). Las industrias alimentaria, farmacéutica y cosmética tienen interés en genotipos de *H. sabdariffa* con características específicas de calidad en color, acidez y contenido de fitoquímicos (Patel, 2014).

Por ser una especie introducida al país, el estudio de su variación genética se ha limitado principalmente a describir el desempeño de variedades en las regiones donde son cultivadas. Pero ante el interés creciente de tener variedades sobresalientes en color y sabor, se han creado programas de mejoramiento genético para generar genotipos con mayor rendimiento y características sobresalientes en calidad de sus cálices deshidratados y extractos acuosos (Borrás-Linares *et al.*, 2015; Salinas-Moreno *et al.*, 2012).

Al respecto, Borrás-Linares *et al.* (2015) y Christian y Jackson (2009) reportaron que el factor

other tropical and subtropical regions suitable for its cultivation (Morton, 1987). In Mexico, it adapted to a wide territorial extension, where it is commercially grown. The national annual production of dehydrated calyces is 6950 t mostly harvested in the states of Guerrero, Michoacán, Oaxaca, Puebla and Nayarit (SIAP, 2014).

Roselle calyces are the most valued elements of *H. sabdariffa* because of their antioxidant, pigment and organic acid content; these compounds largely determine its commercial value (Patel, 2014). In Mexico, calyces are mainly used for production of refreshing beverages by extraction (cold, infusions and decoctions) due to its attractive color, palatability (Fasoyiro *et al.*, 2005), antioxidant effects (Tsai *et al.*, 2002; Prenesti *et al.*, 2007), and medicinal properties (Reyes-Luengas *et al.*, 2006; Herrera-Arellano *et al.*, 2007).

Jamaica calyces contain high levels of anthocyanins, organic acids and other flavonoids (Sindi *et al.*, 2014; Fernández-Arrollo *et al.*, 2011), and their antioxidant properties were tested *in vitro* and *in vivo* (Ojeda *et al.*, 2010; Herrera-Arellano *et al.*, 2004). Also, the food, pharmaceutical and cosmetic industries are interested in *H. sabdariffa* genotypes with specific characteristics of color, acidity and phytochemicals content (Patel, 2014).

As an introduced plant species, genetic variation studies mainly describe variety performance in each cultivation region; however, growing interest in outstanding varieties for color and flavor has promoted the creation of breeding programs. These programs focus on generation of new higher-yielding jamaica genotypes of better quality traits, both in dehydrated calyces and in aqueous extracts (Borrás-Linares *et al.*, 2015; Salinas-Moreno *et al.*, 2012).

Borrás-Linares *et al.* (2015) and Christian and Jackson (2009) reported that the genotype factor influences color characteristics, phytochemical content and antioxidant activity of the calyces. Juliani *et al.* (2009) also showed that the phytochemicals content in jamaica calyces is affected by the production site. However, in studies performed in Mexico the genotype×environment interaction has not been elucidated, as Ottai *et al.* (2004) did with jamaica varieties and locations in Africa; they measured quality traits such as anthocyanin content, total acidity, pH, total soluble solids, amino acids and sugars. These authors showed that production site

genotipo influye en las características de color, contenido de fitoquímicos y actividad antioxidante de los cálices, mientras que Juliani *et al.* (2009) mostraron que el contenido de fitoquímicos en jamaica es afectado por el sitio de producción. Sin embargo, en los estudios hechos en México no se elucidó la interacción genotipo×ambiente, como la determinaron Ottai *et al.* (2004) en variedades y sitios de África, mediante variables de calidad como antocianinas, acidez total, pH, sólidos solubles totales, aminoácidos y azúcares, y mostraron que el ambiente de producción afecta la calidad de los cálices en una magnitud que difiere entre genotipos; es decir, demostraron la importancia de la interacción genotipo×ambiente en el rendimiento y calidad de la jamaica.

El objetivo de esta investigación fue caracterizar 53 genotipos de jamaica cultivados en cinco localidades mexicanas de los estados con mayor superficie en producción, considerando características de color (luminosidad, tonalidad y saturación de color), contenidos de antocianinas, fenoles solubles totales, pH y acidez titulable, para cálices deshidratados, y para sus extractos acuosos, con el fin de cuantificar la magnitud de los efectos de genotipo y ambiente, y la interacción genotipo×ambiente. Al respecto, se postula que con los resultados se podrán identificar variedades de jamaica sobresalientes en calidad, los ambientes que la mejoran y las combinaciones sobresalientes de genotipo y ambiente.

MATERIALES Y MÉTODOS

Primero se cosecharon cálices deshidratados de 53 genotipos de jamaica, contrastantes en color de cáliz (rojo claro y rojo oscuro), todos ellos crecidos y cosechados en cinco localidades representativas de los estados de mayor producción en el país, conforme a sus métodos locales: Ayutla de Libres, Guerrero (16° 57' 57" N y 99° 05' 38" O; 400 m; 28.0 °C de temperatura media anual; 1400 mm de lluvia anual), Los Limones, San Miguel Chimalapa, Oaxaca (16° 01' 34.27" N y 97° 29' 34.95" O; 280 m; 26.8 °C de temperatura media anual; 1150 mm de lluvia anual), Chiautla de Tapia, Puebla (18° 17' 57" N y 98° 36' 10" O; 900 m; 24.8 °C de temperatura media anual; 900 mm de lluvia anual), Comala, Colima (19° 18' 19.36" N y 103° 45' 12.03" O; 610 m; 26.4 °C de temperatura media anual; 1118 mm de lluvia anual), y Xalisco, Nayarit (21° 27' 2.71" N y 104° 53' 55.94" O; 960 m; 23.0 °C de temperatura media anual; 1232 mm de lluvia anual). Los datos climáticos fueron tomados

affects calyx quality at different levels of magnitude among genotypes and demonstrated the importance of the genotype×environment interaction on roselle quality.

The objective of this research was to characterize 53 Mexican jamaica genotypes grown in five Mexican sites located at the top-producing states. The measured variables were color characteristics (luminosity, hue and saturation of color), anthocyanins content, total soluble phenols content, pH, and titratable acidity in dehydrated calyces and aqueous extracts. The data allowed for quantification of the magnitude of the effects of genotype, environment, and the genotype x environment interaction. We postulated this method would allow identification of outstanding-quality jamaica varieties, optimal environments that improve quality, and the best genotype×environment combinations.

MATERIALS AND METHODS

Dehydrated calyces were harvested from 53 jamaica genotypes contrasting in calyx color (light red and dark red) at five locations representative of the top producing jamaica states in the country, grown according to local methods. The five locations were: Ayutla de Libres, Guerrero (16° 57' 57" N and 99 ° 05' 38" W, 400 masl, 28.0 °C annual mean temperature, 1400 mm annual rainfall); Los Limones, San Miguel Chimalapa, Oaxaca (16° 01' 34.27" N and 97° 29' 34.95" W; 280 masl; 26.8 °C annual mean temperature; 1150 mm annual rainfall); Chiautla de Tapia, Puebla (18° 17' 57" N and 98° 36' 10" W; 900 masl; 24.8 °C annual mean temperature; 900 mm annual rainfall); Comala, Colima (19° 18' 19.36" N and 103° 45' 12.03" W, 610 masl, 26.4 °C annual mean temperature, 1118 mm of annual rainfall); and Xalisco, Nayarit (21° 27' 2.71" N and 104° 53' 55.94" W, 960 masl, 23.0 °C annual mean temperature, 1232 mm annual rainfall). Weather data were taken from the National Meteorological Service at the CONAGUA website (http://smn1.conagua.gob.mx/index.php?option=com_content&view=article&id=42&Itemid=28). The environmental variation studied here included climatic, edaphic, pre-harvest, and post-harvest differences.

Preparation of the aqueous extracts

The extraction for each sample was done according to the method established by Galicia-Flores *et al.* (2008): 2.5 g of dried calyces were placed in a 600 mL beaker and 100 mL of distilled water were added; the mixture was boiled 15 min, and

del sitio de CONAGUA del Servicio Meteorológico Nacional (http://smn1.conagua.gob.mx/index.php?option=com_content&view=article&id=42&Itemid=28). La variación ambiental estudiada incluyó diferencias climáticas, edáficas, y de manejo pre-cosecha y pos-cosecha.

Preparación de los extractos acuosos

En cada muestra la extracción se hizo conforme al método establecido por Galicia-Flores *et al.* (2008); se colocaron 2.5 g de cálices en base seca en un vaso de precipitados de 600 mL, al que se adicionaron 100 mL de agua destilada, la mezcla se llevó a ebullición por 15 min, y el extracto se separó de los cálices por decantación. El procedimiento de extracción se repitió una vez bajo las mismas condiciones, y al final se mezclaron los dos extractos; el volumen acumulado se aforó a 200 mL con agua destilada y se filtró con papel Whatman No. 4; con los extractos acuosos preparados se hicieron las determinaciones fitoquímicas, de color y químicas.

Color

En la superficie de los cálices deshidratados se midió directamente con un colorímetro Hunter Lab MiniScan XE Plus (modelo 45/0-L) en la escala CIE $L^*a^*b^*$, con iluminante D65 y un ángulo 10° , en cinco repeticiones. Previo a la medición, los cálices fueron introducidos en una bolsa plástica negra para evitar la interferencia de luz. Con los valores de a^* y b^* se calcularon los valores de tonalidad (hue) y de saturación de color (croma) (McGuire, 1992). En los extractos acuosos el color se midió en cuatro repeticiones, cada una en 50 mL depositados en una copa de cristal (accesorio No. 04-7209-00), a la que se introdujo un aro negro que en su parte superior sostenía un disco blanco con 90 % de reflectancia (accesorio No. 02-4579-00), la copa de cristal fue cubierta con una trampa de luz (accesorio No. 04-7209-00), y se tomó la lectura con el colorímetro Hunter Lab MiniScan XE Plus, una calibración de iluminante D65 y un ángulo 10° ; el cálculo de tonalidad y saturación de color se realizaron de la misma forma que para los cálices deshidratados.

Contenido total de antocianinas (CTA)

En cuatro repeticiones de los extractos acuosos se midió CTA mediante la absorbancia registrada en un espectrofotómetro de placas modelo Epoch (BioTek Instrument®) con microplacas (Costar®) de 96 pozos, modificado de Galicia-Flores *et al.* (2008), para usar 300 μ L del extracto diluido y leer su absorbancia a 510 nm. El CTA se calculó con una ecuación de regresión lineal obtenida de la curva patrón de cianidina 3-glucósido

the extract was removed from the calyces by decantation. The extraction procedure was repeated under the same conditions, and the two resulting extracts were mixed. Distilled water was added to the extract to complete 200 mL total volume. This mixture was filtered with Whatman No. 4 filter paper. All color, phytochemical and chemical determinations were done on the prepared aqueous extracts.

Color

Sample color was measured directly on the surface of the dehydrated calyces in five repetitions with a Hunter Lab MiniScan XE Plus (model 45/0-L) in the CIE scale L^* , a^* and b^* , with D65 illuminant and a 10° angle. Prior to each measurement, calyces were introduced into a black plastic bag to prevent light interference. With the values of a^* and b^* , the values of hue (hue) and color saturation (chroma) were calculated as described by McGuire (1992). In the aqueous extracts color was measured in four repetitions of 50 mL in a glass beaker (accessory No. 04-7209-00) containing a black ring that held a 90 % reflectance white disk (accessory No. 02-4579-00) at the top. Then the glass cup was covered with a light trap (accessory No. 04-7209-00), and the reading was taken with the Hunter Lab MiniScan XE Plus colorimeter with a D65 illuminant calibration and a 10° angle. Calculations of hue and color saturation were performed in the same way as for dehydrated calyces.

Total anthocyanins content (CTA)

CTA was measured in four repetitions of the aqueous extracts by the absorbance recorded on an Epoch plate spectrophotometer (BioTek Instrument®) fitted with 96-well microplates (Costar®). The method proposed by Galicia-Flores *et al.* (2008) was modified to use 300 μ L of the diluted extract and its absorbance read at 510 nm. CTA was calculated using a linear regression equation obtained from the cyanidin 3-glucoside (Polyphenols®, Nw) standard curve. CTA was expressed in equivalent mg of cyanidin 3-glucoside per 100 g of dry sample ($\text{mg EC3G } 100 \text{ g}^{-1} \text{ MS}$).

Total soluble phenols (FST)

FST were quantified in four repetitions using a modified Folin-Ciocalteu method (Singleton and Rossi, 1965) to adapt color measurements on microplates. The method is described below: 15 μ L of the extract to be analyzed were added to 240 μ L of distilled water and 15 μ L of Folin-Ciocalteu reagent (Sigma Aldrich®) 0.25 N. The mixture was allowed to react for 3 min in the dark; then neutralized with 30 μ L of 1 N sodium

(Polyphenols®, Nw), empleada como estándar para su cuantificación. El CTA fue expresado en mg equivalentes de cianidina 3-glucósido por 100 g de muestra seca (mg EC3G 100 g⁻¹ MS).

Fenoles solubles totales (FST)

En cuatro repeticiones se cuantificó con el método de Folin-Ciocalteu (Singleton y Rossi, 1965), con modificaciones para realizar el desarrollo de color en microplacas como se describe a continuación: a 240 µL de agua destilada se adicionaron 15 µL del extracto a analizar y 15 µL del reactivo Folin-Ciocalteu (Sigma Aldrich®) 0.25 N, se dejó reaccionar por 3 min en oscuridad y se neutralizó con 30 µL de carbonato de sodio 1 N (Na₂CO₃, J. T. Baker®). La muestra se dejó en reposo a temperatura de cuarto por 2 h en oscuridad, y se midió la absorbancia en el espectrofotómetro de placas a 765 nm. Ácido gálico se utilizó como estándar, a partir del cual se elaboró una curva patrón para cuantificar el contenido de FST expresado en mg equivalentes de ácido gálico por 100 g de muestra seca (mg EAG 100 g⁻¹ MS).

Acidez titulable (AT) y pH

La AT se determinó por duplicado con el método de la AOAC (1984), en una alícuota de 10 mL depositada en un vaso de precipitados de 600 mL al que se adicionaron 200 mL de agua destilada para diluir la coloración de la muestra y observar el viraje de la fenoltaleína. La titulación se hizo con NaOH 0.1 N (J. T. Baker®). La AT se calculó en miliequivalentes del ácido cítrico (0.064). El pH se determinó por duplicado, con un potenciómetro Denver Instrument UB10, calibrado con amortiguadores (J. T. Baker®) de pH 4 y 7 para mediciones en medios ácidos.

Análisis estadísticos

Con datos de cada variable se realizó un análisis combinado a través de ambientes para cuantificar los efectos de varianza de genotipo (G), de ambiente (A) y su interacción (G×A). Además las medias se compararon (Tukey, $p \leq 0.05$) entre genotipos y localidades para identificar las más sobresalientes. Los análisis estadísticos univariados se hicieron con SAS System Versión 9.0. Con los promedios de las variables se usaron análisis de componentes principales (ACP) y de conglomerados (AC) por el método de enlace completo, empleando distancias euclidianas para agrupar los 53 genotipos en función de sus características de color. Después se agruparon los genotipos en función de su contenido de CTA, FST, AT y pH, para identificar los genotipos sobresalientes. En los análisis multivariados se utilizó Minitab® 17.1.0.

carbonate (Na₂CO₃, J. T. Baker®). The sample was allowed to stand at room temperature for 2 h in the dark, and absorbance was measured in the plate spectrophotometer at 765 nm. Gallic acid was used as standard, from which a standard curve for the quantification of the FST content expressed in mg equivalents of gallic acid per 100 g of dry sample (mg EAG 100 g⁻¹ MS) was created.

Titrate acidity (AT) and pH

AT was determined twice by the AOAC method (1984). The method required a 10 mL aliquot in a 600 mL beaker; 200 mL of distilled water were then added to dilute the sample color to allow identification of the phenolphthalein change. Titration was done with 0.1 N NaOH (J. T. Baker®). The calculated percent of AT (AT) was expressed in milliequivalents of citric acid (0.064). pH was determined twice with a Denver Instrument UB10® potentiometer, calibrated with buffer solutions (J. T. Baker®) at pH 4 and 7.

Statistical analyses

A combined analysis through environments was performed with data of each variable, to quantify the effects of genotype (G), environment (A) and the interaction (G×A). In addition, genotypes and locations were submitted to mean tests (Tukey, $p \leq 0.05$) to identify the most outstanding ones. Univariate statistical analyzes were done with SAS System Version 9.0. Principal component analysis (PCA) and cluster analysis (AC) techniques were applied on variable means by the full bond method using Euclidean distances, to group the 53 genotypes according to their color characteristics, followed by CTA, FST, PAT and pH values to identify outstanding genotypes. Minitab® 17.1.0 was used for multivariate analyzes.

RESULTS AND DISCUSSION

All the variables changed significantly ($p \leq 0.01$) as a result of genotype (G), environment (A) and interaction (G×A) effects (Table 1). It is notable that the contents of antioxidant compounds, CTA and FST in the calyx were influenced by genotype: this factor explained 72 and 44 % of the variation due to treatments, respectively. The interaction G×A caused 19 and 29 % of the total variation in the same variables, so that this interaction stands out as the second most important factor in the accumulation of these phytochemicals in jamaica

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Todas las variables cambiaron significativamente ($p \leq 0.01$) por efecto del genotipo (G), del ambiente (A) y por la interacción ($G \times A$), (Cuadro 1). Los contenidos de compuestos antioxidantes, CTA y FST en cálices fueron influenciados por el genotipo, el cual explicó 72 y 44 % de la variación debida a tratamientos, respectivamente. La interacción $G \times A$ representó 19 y 29 % de la variación total en las mismas variables, por lo cual fue el segundo factor importante en la acumulación de estos fitoquímicos en los cálices deshidratados. El efecto de ambiente representó 9 y 27 % de la variación.

Ottai *et al.* (2004) reportaron fuerte dependencia del genotipo (94 %) en el CTA y el 6 % restante dependió del ambiente de producción (A) y de la interacción $G \times A$. Esta marcada dependencia del genotipo pudiera deberse a que este estudio se hizo con tres genotipos, dos de cálices rojos (uno claro y uno oscuro) y uno de cálices blancos (carente de antocianinas), y posiblemente en ambientes poco contrastantes. Para FST no se encontró información que relacione su concentración con los factores genotipo, ambiente o su interacción $G \times A$.

En cambio, las variables asociadas con el sabor o palatabilidad, pH y AT, fueron afectadas por el

calyces. Environmental effect alone only represented 9 and 27 % of the treatment variation.

Ottai *et al.* (2004) reported a much stronger effect of genotype (94 %) on CTA, while the remaining 6 % depended on the environment (A) and the interaction $G \times A$. Such a high dependence on genotype could be attributed to few genotypes in the study (three genotypes: a light red, a dark red and a white one lacking anthocyanins) possibly grown at scarcely contrasting environments. For FST, no published information was found relating its concentration to the genotype, environment and the $G \times A$ interaction.

In contrast, variables related to flavor or palatability, pH and AT were mainly affected by the growing environment (represented here by five locations) in magnitudes of 56 and 52 %, respectively (Table 1). The genotype and the $G \times A$ interaction affected in similar proportions these two traits. That is, the two variables related to acidity and taste are characteristics more dependent on the environment and the interaction than on the genotype. The results obtained by Ottai *et al.* (2004) do not agree with the present study regarding pH; these authors reported a greater dependence on genotype (53 %) than on production site (40 %). The difference between results in the two studies could be explained by the lesser number of genotypes and environments evaluated in

Cuadro 1. Sumas de cuadrados estimadas mediante análisis estadísticos combinados de 53 genotipos de *Hibiscus sabdariffa* L., cultivados en cinco ambientes (localidades). Los porcentajes se calcularon con respecto a la suma de cuadrados de tratamientos.

Table 1. Estimated sum of squares by combined statistical analysis of 53 genotypes of *Hibiscus sabdariffa* L. grown in five environments (locations). The percentages were calculated with respect to the treatments sum of squares.

Variable	Genotipo (G)		Ambiente (A)		Interacción $G \times A$	
	$gl=52$	%	$gl=4$	%	$gl=208$	%
CTA	33417920**	72	4086368**	9	9000434**	19
FST	175107729**	44	106542954**	27	117319721**	29
pH	6**	22	15**	56	6**	22
AT	2114**	24	4592**	52	2141**	24
Luminosidad cálices	8724**	60	1052**	7	4694**	32
Tonalidad cálices	3353**	21	2593**	16	9895**	62
SDC cálices	24749**	73	2274**	7	6790**	20
Luminosidad extractos	34291**	81	1104**	3	7061**	17
Tonalidad extractos	32219**	80	1610**	4	6563**	16
SDC extractos	56089**	74	7143**	9	12657**	17

** $p \leq 0.01$. CTA: contenido total de antocianinas; FST: fenoles solubles totales; AT: acidez titulable; SDC: saturación de color ♦ ** $p \leq 0.01$. CTA: total anthocyanins content; FST: total soluble phenols; AT: titrable acidity; SDC: color saturation.

ambiente de producción (las cinco localidades) en 56 y 52 %, respectivamente (Cuadro 1). En conjunto, el genotipo y la interacción $G \times A$ afectaron en proporciones semejantes a estas dos variables. Es decir, la acidez y al sabor son características con mayor dependencia del ambiente y la interacción, que del genotipo. Estos resultados difieren de los obtenidos por Ottai *et al.* (2004) en pH, porque ellos reportaron mayor dependencia del genotipo (53 %) que de la localidad (40 %). Tal diferencia se puede deber a que el número de genotipos y ambientes evaluados fue menor en África que en México, pero sí concuerdan con AT considerando que el efecto del ambiente fue el más importante en la variación de AT.

En los extractos acuosos el factor genotipo tuvo un efecto de 74 a 81 % en luminosidad, tonalidad y saturación del color (Cuadro 1). En los cálices deshidratados los valores de luminosidad y saturación de color variaron de 72 a 76 %, por efecto del genotipo, pero la tonalidad fue más dependiente de la interacción $G \times A$ (62 %). Es decir, en las variables de color predominó el efecto del genotipo, y las características de color son altamente heredables y serían estables a través de ambientes.

Esta información sugiere que si la finalidad de los cálices de jamaica es para obtener fitoquímicos, la mayor ganancia se logra al seleccionar genotipos rojo oscuro, considerando que sean sobresalientes en la síntesis y acumulación de CTA y FST. Para obtener cálices con mayor acidez titulable será conveniente producirlos en ambientes donde los genotipos expresen mayor síntesis de ácidos orgánicos.

Variación en color de cálices deshidratados y de extractos acuosos

El ACP y el AC permitieron clasificar a los 53 genotipos en dos grupos con base en la coloración rojo oscuro y rojo claro (Figura 1), los cuales correspondieron con la clasificación visual por color de cálices. Borrás-Linares *et al.* (2015) clasificaron en cinco grupos a los cálices de *H. sabdariffa* en función del contenido de antocianinas. La clasificación de los genotipos en función de la coloración de cálices es común, pero muchas veces se realiza de manera visual ubicándolos en dos categorías, rojo oscuro y rojo claro. En menor proporción están los

África than in Mexico. Instead, the results do agree for AT considering that the environment effect was the most important on AT variation.

In the aqueous extracts the genotype factor represented effects ranging from 74 to 81 % in color luminosity, hue and saturation (Table 1). In the dehydrated calyces, the genotype effect on the percentages of luminosity and color saturation ranged from 72 to 76 %, while tone values were more dependent on the interaction $G \times A$ (62 %). That is, in color traits the genotype effect is highly dominant, meaning that color characteristics are highly heritable and stable through environments.

The former information suggests that for extracting phytochemicals from jamaica calyces, a greater gain may be achieved by selecting the darker red genotypes, taking into account that they are outstanding in synthesis and accumulation of both CTA and FST. In order to obtain calyces with the highest titratable acidity, it is more convenient to produce them in environments where the genotypes express a higher synthesis of organic acids.

Color variation in dehydrated calyces and aqueous extracts

Both the principal components analysis (ACP) and cluster analysis (CA) allowed to classify the 53 genotypes into two contrasting color groups: dark red and light red (Figure 1). The groups corresponded exactly with visual color classification of calyces. Borrás-Linares *et al.* (2015) classified calyces of *H. sabdariffa* into five groups according to their anthocyanin content. It is more common to classify genotypes depending on calyx colors, and frequently calyces are classified visually into three color categories: dark red, light red and green-yellow. However, genotypes with green-yellow calyces are less frequent than red ones (Juliani *et al.*, 2009; Christian and Jackson, 2009; Babalola *et al.*, 2001). The close relationship between anthocyanin content and flower color in jamaica was evidenced by Wrolstad (2004).

The dark red group (GCRO) included the following 19 jamaica genotypes (Figure 1): Tempranilla Negra, Jersey Aciriollada, Negra UAN, Criolla Morada, Negra Quiviquinta, China, Morada $\times$ Roja, UAN 5, UAN 12-1, UAN 16 2, UAN 17, UAN 18, UAN 21, UAN 23, UAN 29, UAN 31,

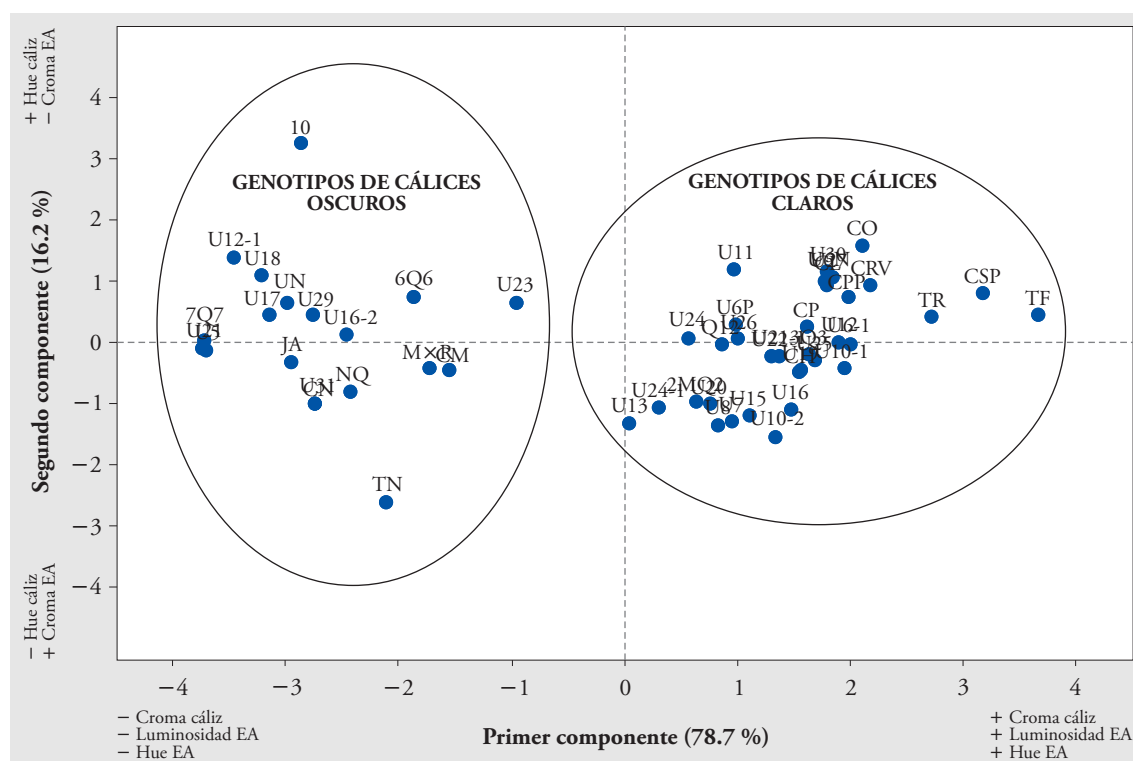


Figura 1. Agrupamiento de 53 genotipos de *Hibiscus sabdariffa* L. de acuerdo con sus valores de luminosidad, tonalidad y saturación de color en cálices deshidratados y extractos acuosos.

Figure 1. Grouping of 53 *Hibiscus sabdariffa* L. genotypes according to luminosity, hue and color saturation values both in dehydrated calyces and in aqueous extracts.

genotipos con cálices de color verde-amarillo (Juliani *et al.*, 2009; Christian and Jackson, 2009; Babalola *et al.*, 2001). Resalta la estrecha relación entre el contenido de antocianinas y el color de los cálices (Wrolstad, 2004).

El grupo de color rojo oscuro (GCRO) quedó integrado por 19 genotipos (Figura 1) (Tempranilla Negra, Jersey Acriollada, Negra UAN, Criolla Morada, Negra Quiviquinta, China, Morada×Roja, UAN 5, UAN 12-1, UAN 16-2, UAN 17, UAN 18, UAN 21, UAN 23, UAN 29, UAN 31, 6Q6, 7Q7 y 10), caracterizado por un intervalo de luminosidad en sus cálices deshidratados de 12.5 a 14.8 %, y 13.7 % en promedio. Los valores de tonalidad oscilaron de 17.6 a 26.2°, y 21.5° en promedio. La saturación de color varió de 6.3 a 10.4 unidades, y 8.3, en promedio. En los extractos, la variación en luminosidad fue muy similar a la de en cálices deshidratados.

Los 34 genotipos de color rojo claro (GCRC) fueron: 2MQ2, 3Q3, Colima, Coneja, Criolla Huajicori, Criolla Precoz, Criolla Puebla Precoz, Criolla Roja Violeta, Criolla Súper Precoz, Q12, Tempranilla

6Q6, 7Q7 and 10. This group is characterized by having a luminosity interval of 12.5 to 14.8 % in their dehydrated calyces, with an average value of 13.7 %. The tonality values oscillated between 17.6 to 26.2°, with an average value of 21.5°. Color saturation ranged from 6.3 to 10.4 units, with an average of 8.3 units. In their extracts, the variation in luminosity was very similar to that observed in the dehydrated calyces.

The 34 jamaica genotypes included in the light red group (GCRC) were: 2MQ2, 3Q3, Colima, Coneja, Criolla Huajicori, Criolla Precoz, Criolla Precoz Puebla, Criolla Roja Violeta, Criolla Super Precoz, Q12, Tempranilla Flor, Tempranilla Roja, UAN 10 -1, UAN 10-2, UAN 11, UAN 12, UAN 13, UAN 15, UAN 16, UAN 19, UAN 20, UAN 21-1, UAN 22, UAN 24, UAN 24-1, UAN 25, UAN 26, UAN 27, UAN 30, UAN 6 Novillero, UAN 6 Puga, UAN 6-1, UAN 7 and UAN 8 (Figure 1). In this group, the luminosity in dehydrated calyces varied from 15.7 to 22.2 %, with an average of 18.5 %. The tonality ranged from 19.9 to 24.9°,

Flor, Tempranilla Roja, UAN 10-1, UAN 10-2, UAN 11, UAN 12, UAN 13, UAN 15, UAN 16, UAN 19, UAN 20, UAN 21-1, UAN 22, UAN 24, UAN 24-1, UAN 25, UAN 26, UAN 27, UAN 30, UAN 6 Novillero, UAN 6 Puga, UAN 6-1, UAN 7 y UAN 8 (Figura 1). En este grupo la luminosidad en cálices deshidratados fue de 15.7 a 22.2 %, y 18.5 % en promedio. La tonalidad varió de 19.9 a 24.9°, y 22.2° en promedio; y saturación de color de 11.5 a 23.2 unidades, y 16.3 en promedio. Los extractos acuosos mostraron rangos similares de valores en luminosidad, tonalidad y saturación.

Aunque el número de genotipos fue inferior en el grupo de cálices color rojo oscuro, la amplia dispersión de valores mostró que la variación genética entre genotipos fue mayor a la observada en los genotipos de color rojo claro con relación a la tonalidad de sus cálices deshidratados y saturación de color en extractos acuosos. Esto es de interés en los programas de mejoramiento genético, por la expresión de mayor variabilidad genética y variedad de tonalidades en los cálices y extractos.

El efecto del ambiente en los descriptores de color de cálices deshidratados y extractos acuosos fue significativo ($p \leq 0.01$) (Cuadro 2). La luminosidad de cálices deshidratados mostró los valores más bajos en genotipos cultivados en Nayarit (15.0 ± 3.0 %), comparados con las otras cuatro localidades. En los extractos acuosos hubo diferencias en luminosidad entre los cinco ambientes evaluados; los de Colima (21.9 ± 7.0 %) fueron los genotipos más luminosos, en contraste a los de Guerrero que fueron los más oscuros (19.1 ± 7.0 %).

with an average of 22.2°; and a color saturation oscillating from 11.5 to 23.2 units, with an average value of 16.3. The aqueous extracts showed similar ranges of values in luminosity, hue and saturation.

Although there were less genotypes in the group of dark red calyces, the dispersion in Figure 1 shows that the variation between genotypes was greater than that observed in the light red genotypes, in terms of the tonality of their dehydrated calyces and color saturation in aqueous extracts. This is interesting for breeding programs since these genotypes could express a larger genetic variability since they have a greater diversity of color tones in the calyces and in extracts.

The significant effect ($p \leq 0.01$) of the environment on the color descriptors of dehydrated calyces and aqueous extracts of Hs, is shown in Table 2. The luminosity of dehydrated calyces showed the lowest values for genotypes grown in Nayarit (15.0 ± 3.0 %), compared to the other four localities. In the aqueous extracts, we detected differences in luminosity between the five environments evaluated, and those from Colima variety (21.9 ± 7.0 %) were the most luminous, in contrast to varieties from the State of Guerrero that were the darkest (19.1 ± 7.0 %).

The jamaica calyces produced at the Nayarit, Oaxaca and Puebla (20.4 ± 4.0 to $21.1 \pm 4.6^\circ$) had a more defined red tonality, compared to those from Colima and Guerrero (23.6 ± 4.6 and 23.6 ± 4.0 , respectively). Color saturation of calyces and extracts was higher in Oaxaca (15.0 ± 5.1), followed by Colima (14.3 ± 5.8) and Puebla (13.9 ± 5.4), while in Nayarit

Cuadro 2. Efecto del ambiente en los valores de luminosidad (L), tonalidad (T) y saturación de color (SDC) en cálices deshidratados y extractos acuosos de 53 genotipos de *Hibiscus sabdariffa* L., cada uno crecido en cinco localidades.

Table 2. Environment effect on luminosity (L), tonality (T) and color saturation (SDC) of dehydrated calyces and aqueous extracts of 53 *Hibiscus sabdariffa* L. genotypes, each grown in five locations.

Localidad	Cálices deshidratados			Extractos acuosos		
	L (%)	T (°)	SDC	L (%)	T (°)	SDC
Colima	17.0 $\pm$ 3.9b	23.6 $\pm$ 4.6a	14.3 $\pm$ 5.8b	21.9 $\pm$ 7.0a	35.8 $\pm$ 6.3a	54.2 $\pm$ 7.8c
Guerrero	17.4 $\pm$ 3.9a	23.6 $\pm$ 4.0a	12.6 $\pm$ 4.4d	19.1 $\pm$ 7.0e	32.4 $\pm$ 7.6c	49.4 $\pm$ 9.5e
Nayarit	15.0 $\pm$ 3.0c	21.1 $\pm$ 4.6b	11.3 $\pm$ 4.6e	21.0 $\pm$ 4.8b	35.3 $\pm$ 4.8a	57.1 $\pm$ 6.9a
Oaxaca	17.3 $\pm$ 3.7ab	20.4 $\pm$ 4.0c	15.0 $\pm$ 5.1a	19.4 $\pm$ 6.2d	34.4 $\pm$ 6.2b	53.1 $\pm$ 7.9d
Puebla	17.2 $\pm$ 2.8ab	21.0 $\pm$ 3.6bc	13.9 $\pm$ 5.4c	20.5 $\pm$ 6.2c	35.5 $\pm$ 6.8a	55.4 $\pm$ 8.5b
DMS	0.4	0.7	0.4	0.2	0.6	0.4

Valores con diferente letra en una columna son estadísticamente diferentes ($p \leq 0.05$). DMS: Diferencia mínima significativa ❖ Values with different letter in a column are statistically different ($p \leq 0.05$). DMS: Least significant difference.

Los cálices producidos en Nayarit, Oaxaca y Puebla (20.4 ± 4.0 a $21.1 \pm 4.6^\circ$) tuvieron una tonalidad roja más definida comparados con los de Colima y Guerrero (23.6 ± 4.6 y 23.6 ± 4.0 , respectivamente). La saturación de color de cálices y extractos fue mayor en Oaxaca (15.0 ± 5.1), seguida de Colima (14.3 ± 5.8) y Puebla (13.9 ± 5.4), y los valores más bajos fueron en Nayarit (11.3 ± 4.6). En los extractos acuosos la tonalidad fue más definida en los genotipos cultivados en Oaxaca (34.4 ± 6.2) y Guerrero (32.4 ± 7.6).

Características fitoquímicas

Los genotipos con mayor contenido total de antocianinas (CTA) fueron de color rojo oscuro (Cuadro 3): UAN 18, Negra UAN, UAN 17, UAN 21, UAN 12-1, UAN 29, UAN 5 y 10, con una variación de 608 ± 206 a 757 ± 178 mg EC3G 100 g⁻¹ MS. Las variedades UAN 30, UAN 25, UAN 15, UAN 19, UAN 27, Tempranilla Roja, UAN 6-1, UAN 6 Novillero, Tempranilla Flor y Criolla Súper Precoz, de cálices claros, registraron el contenido más bajo en esta fracción fenólica (163 ± 51 a 228 ± 74 mg EC3G 100 g⁻¹ MS). Valores semejantes están reportados para variedades de *H. sabdariffa* provenientes de Guerrero y Oaxaca (Salinas-Moreno *et al.*, 2012; Galicia-Flores *et al.*, 2008).

Los genotipos UAN 21, Jersey Acriollada, UAN 12-1, UAN 17, UAN 18, UAN 5, 10, 7Q7, Negra Quiviquinta, UAN 16-2, Criolla Morada, UAN 31, China y UAN 29 de cálices rojo oscuro, destacaron por su alto contenido de fenoles solubles totales (FST) (3640 ± 828 a 2871 ± 362 mg EAG 100 g⁻¹ MS) (Cuadro 3). En especial Jersey Acriollada (3639 mg EAG 100 g⁻¹ MS) y UAN 21 (3640 mg EAG 100 g⁻¹ MS) tuvo contenidos semejantes al del genotipo Sudán (3650 mg EAG 100 g⁻¹ MS), valorado en México por su alto contenido de antioxidantes (Reyes-Luengas *et al.*, 2015).

Los genotipos con menor contenido de FST fueron los de cálices rojo claro, en especial Criolla Huajicori, Criolla Roja Violeta, UAN 21-1, UAN 6-1, UAN 6 Novillero, 3Q3, Colima, Tempranilla Flor, Tempranilla Roja y Criolla Súper Precoz (2220 ± 321 - 1647 ± 259 mg EAG 100 g⁻¹ MS). Los genotipos superiores en CTA no necesariamente destacaron en FST, y viceversa, como también lo reportan Christian y Jackson (2009). Lo anterior sugiere que genotipos

the lowest values were recorded (11.3 ± 4.6). In the aqueous extracts, the tonality was more defined in the genotypes cultivated in Oaxaca (34.4 ± 6.2) and Guerrero (32.4 ± 7.6).

Phytochemical characteristics

Genotypes with the highest total anthocyanin content (CTA) were dark red colored (Table 3): UAN 18, Negra UAN, UAN 17, UAN 21, UAN 12-1, UAN 29, UAN 5 and 10, with a variation of 608 ± 206 to 757 ± 178 mg EC3G 100 g⁻¹ MS. Varieties UAN 30, UAN 25, UAN 15, UAN 19, UAN 27, Tempranilla Roja, UAN 6-1, UAN 6 Novillero, Tempranilla Flor and Criolla Super Precoz, with clear calyces, were the ones that registered the lowest content in this phenolic fraction (163 ± 51 to 228 ± 74 mg EC3G 100 g⁻¹ DM). Similar values were reported in national varieties of Hs from Guerrero and Oaxaca (Salinas-Moreno *et al.*, 2012; Galicia-Flores *et al.*, 2008).

The genotypes UAN 21, Jersey Acriollada, UAN 12-1, UAN 17, UAN 18, UAN 5, 10, 7Q7, Negra Quiviquinta, UAN 16-2, Criolla Morada, UAN 31, China and UAN 29 (Table 3), outstand in this study because of their high content of total soluble phenols (FST) (3640 ± 828 to 2871 ± 362 mg EAG 100 g⁻¹ MS). Particularly, the Jersey Acriollada and UAN 21 varieties showed contents similar to those reported for the Sudan genotype (3650 mg EAG 100 g⁻¹ DM) which is acknowledged in Mexico for its high accumulation of antioxidants (Reyes-Luengas *et al.*, 2015).

The light-red calyx jamaica genotypes had the lowest FST contents, especially Criolla Huajicori, Criolla Roja Violeta, UAN 21-1, UAN 6-1, UAN 6 Novillero, 3Q3, Colima, Tempranilla Flor, Tempranilla Roja and Criolla Super Precoz (2220 ± 321 - 1647 ± 259 mg EAG 100 g⁻¹ DM). The top genotypes in CTA content are not necessarily the highest in FST, and vice versa, as was also reported by Christian and Jackson (2009). These results show that genotypes that do not stand out in CTA content, could do so in FST. But there are also genotypes that are high in both antioxidants, such as UAN 21, Jersey Acriollada, UAN 12-1, UAN 17, UAN 18, UAN 5, 10, 7Q7 and Negra Quiviquinta.

The FST contents in the 53 Mexican jamaica genotypes evaluated here are similar to other previously reported (Reyes-Luengas *et al.*, 2015)

Cuadro 3. Contenido promedio de antocianinas, fenoles solubles totales, pH y acidez titulable en extractos acuosos de 53 genotipos de *Hibiscus sabdariffa* de cálices color rojo crecidas en cinco ambientes (localidades). En cada columna las negritas marcan los valores máximos de cada variable, y en subrayado los valores mínimos.

Table 3. Average content of anthocyanins, total soluble phenolics, pH and titratable acidity in aqueous extracts of 53 *Hibiscus sabdariffa* genotypes of red calyces grown in five environments (locations). In each column, the bold numbers mark the maximum values of each variable, while the minimum values are underlined.

Genotipo	ID	CTA (mg EC3G 100 g ⁻¹ MS)	FST (mg EAG 100 g ⁻¹ MS)	pH	AT (% AC)
TN ¹	TN	456±48gk	2352±210gm	2.70±0.12ad	16.7±3.2ad
TF ²	TF	176±54op	2022±811ln	2.49±0.12ad	20.4±4.0ad
Colima	CL	302±92lp	2130±318kn	2.42±0.14cd	23.2±3.3a
JA ³	JA	578±140dg	3639±1408a	2.72±0.24ad	16.2±4.2bd
CRV ⁴	CRV	266±81lp	2216±437kn	2.50±0.19ad	21.5±4.5ac
CH ⁵	CH	314±66ko	2220±321kn	2.40±0.18d	22.3±2.9ab
UN ⁶	UN	746±180ab	2651±427ck	2.57±0.21ad	19.1±3.5ad
CM ⁷	CM	396±132hl	2924±965bh	2.77±0.28ad	<u>14.2±4.3d</u>
UAN 5	U5	641±120ae	3152±794ad	2.73±0.18ad	15.7±2.3bd
CSP ⁸	CSP	163±51p	1647±259n	2.53±0.22ad	20.6±3.7ad
CPP ⁹	CPP	340±169jn	2320±258hm	2.54±0.11ad	19.5±2.5ad
CP ¹⁰	CP	264±81lp	2328±323gm	2.53±0.20ad	19.8±4.4ad
NQ ¹¹	NQ	573±81dg	2948±397bg	2.67±0.23ad	16.8±4.4ad
China	CN	548±179eg	2917±300bi	2.58±0.18ad	17.3±3.4ad
U6P ¹²	U6P	296±87lp	2502±222em	2.54±0.22ad	18.7±3.8ad
UAN 31	U31	511±273ei	2922±376bi	2.67±0.23ad	16.5±3.7ad
UAN 6-1	U6-1	194±84np	2161±232kn	2.55±0.21ad	19.1±5.0ad
UAN 16-2	U16-2	586±178cg	2946±522bg	2.75±0.19ad	17.2±2.9ad
U6N ¹³	U6N	183±101op	2159±383kn	2.71±0.27ad	17.5±4.9ad
MxR ¹⁴	MxR	531±132eh	2587±258dl	2.70±0.23ad	16.8±3.9ad
UAN 25	U25	226±67np	2302±321im	2.68±0.24ad	19.1±4.5ad
UAN 7	U7	283±110lp	2541±455dm	2.70±0.25ad	18.1±3.4ad
TR ¹⁵	TR	198±54np	1962±277nm	2.55±0.22ad	19.8±4.1ad
UAN 23	U23	379±96im	2716±199bk	2.54±0.21ad	19.4±4.2ad
UAN 11	U11	<u>273±73lp</u>	2728±291bk	2.74±0.30ad	16.9±4.3ad
UAN 24	U24	<u>280±96lp</u>	2411±371fm	2.76±0.25ad	15.7±4.2bd
UAN 21	U21	731±146ac	3640±828a	2.77±0.21ad	15.8±3.3bd
UAN 8	U8	277±53lp	2576±179dm	2.62±0.21ad	18.2±4.1ad
UAN 13	U13	257±102lp	2433±437fm	2.68±0.21ad	16.2±3.3bd
UAN 17	U17	734±99ac	3245±369ac	2.65±0.19ad	18.7±2.3ad
UAN 26	U26	271±88lp	2627±659cl	2.75±0.26ad	16.9±3.8ad
UAN 27	U27	205±47np	2409±327fm	2.75±0.19ad	18.3±3.1ad
UAN 12-1	U12-1	710±238ad	3278±739ab	2.81±0.22ab	16.2±4.4bd
UAN 15	U15	220±54np	2311±216hm	2.79±0.34ac	15.6±5.7bd
UAN 24-1	U24-1	305±144lp	2610±560dl	2.76±0.26ad	15.3±4.5cd
UAN 12	U12	241±83mp	2244±566kn	2.58±0.18ad	18.3±4.2ad
UAN 20	U20	307±91lp	2594±519dl	2.61±0.17ad	17.4±2.4ad
UAN 22	U22	267±63lp	2354±291gm	2.63±0.22ad	18.4±4.7ad
UAN 10-1	U10-1	240±37mp	2430±297fm	2.56±0.15ad	19.1±3.0ad
UAN 29	U29	698±88ad	2871±362bj	2.59±0.21ad	18.6±2.8ad
UAN 19	U19	207±46np	2348±249gm	2.72±0.17ad	16.8±3.1ad
UAN 30	U30	228±74np	2311±312hm	2.54±0.23ad	18.3±4.9ad
UAN 16	U16	246±73mp	2272±423jm	2.61±0.20ad	18.3±4.0ad
UAN 18	U18	757±178a	3156±354ad	2.63±0.24ad	20.0±4.3ad
UAN 21-1	U21-1	333±181jn	2194±371kn	2.60±0.25ad	18.9±4.0ad
UAN 10-2	U10-2	257±35lp	2386±355fm	2.55±0.18ad	21.5±5.0ac
2MQ2	2MQ2	318±73ko	2623±763dl	2.48±0.11ad	21.3±2.7ac
3Q3	3Q3	275±44lp	2152±380kn	2.47±0.20bd	20.3±3.1ad
6Q6	6Q6	470±155fj	2691±564bk	2.71±0.21ad	17.0±2.1ad
7Q7	7Q7	575±118dg	2981±396bf	2.80±0.26ac	15.4±3.4bd

Cuadro 3. Continuación.

Genotipo	ID	CTA (mg EC3G 100 g ⁻¹ MS)	FST (mg EAG 100 g ⁻¹ MS)	pH	AT (% AC)
10	10	608±206bf	3085±482ae	2.86±0.26a	16.0±3.4bd
CONEJA	CO	236±50mp	2294±357jm	2.61±0.13ad	18.8±0.7ad
Q12	Q12	333±48jn	2264±415jn	2.51±0.16ad	22.0±4.2ac
DMS	148	148	620	0.39	6.9

Valores con diferente letra en una columna son estadísticamente diferentes ($p \leq 0.05$). DMS: Diferencia mínima significativa. CTA: contenido total de antocianinas; FST: fenoles solubles totales; AT: acidez titulable; AC: ácido cítrico. ¹Tempranilla Negra; ²Tempranilla Flor; ³Jersey Acriollada; ⁴Criolla Roja Violeta; ⁵Criolla Huajicori; ⁶Negra UAN; ⁷Criolla Morada; ⁸Criolla Súper Precoz; ⁹Criolla Puebla Precoz; ¹⁰Criolla Precoz; ¹¹Negra Quiviquinta; ¹²UAN 6 Puga; ¹³UAN 6 Novillero; ¹⁴Morada×Roja; ¹⁵Tempranilla Roja. Values with different letter in a column are statistically different ($p \leq 0.05$). DMS: Least significant difference. CTA: total anthocyanins content; FST: total soluble phenols; AT: titratable acidity; AC: citric acid. ¹Tempranilla Negra; ²Tempranilla Flor; ³Jersey Acriollada; ⁴Criolla Roja Violeta; ⁵Criolla Huajicori; ⁶Negra UAN; ⁷Criolla Morada; ⁸Criolla Súper Precoz; ⁹Criolla Puebla Precoz; ¹⁰Criolla Precoz; ¹¹Negra Quiviquinta; ¹²UAN 6 Puga; ¹³UAN 6 Novillero; ¹⁴Morada×Roja; ¹⁵Tempranilla Roja.

que no destacan por su contenido en CTA lo pueden hacer en FST. Pero también hay genotipos con contenidos altos de ambos antioxidantes, como UAN 21, Jersey Acriollada, UAN 12-1, UAN 17, UAN 18, UAN 5, 10, 7Q7 y Negra Quiviquinta.

Los contenidos de FST en los 53 genotipos mexicanos evaluados fueron semejantes a los reportados para genotipos nacionales (Reyes-Luengas *et al.*, 2015) y para genotipos cultivados en Jamaica (Christian y Jackson, 2009). Entre los de color rojo oscuro, el genotipo Jersey Acriollado fue el más inestable como lo demuestra su alta desviación estándar a través de ambientes (± 1408 mg EAG 100 g⁻¹ MS), en contraste con los genotipos China, Morada×Roja, Tempranilla Negra y UAN 23 que mostraron desviaciones estándar moderadas de ± 199 a 300 mg EAG 100 g⁻¹ MS, por lo cual fueron más estables. La variación en los genotipos claros fue de ± 179 a ± 811 mg EAG 100 g⁻¹ MS, donde Tempranilla Flor, 2MQ2 y UAN 26 fueron los genotipos más inestables a través de localidades. Estos resultados muestran que los cálces de color rojo oscuro contienen más fitoquímicos antioxidantes que los de color rojo claro, equivalente a 2.3 veces más CTA y 1.3 veces en FST.

Las dos variables importantes en la palatabilidad de los extractos acuosos de los cálces fueron pH y acidez titulable con diferencias significativas ($p \leq 0.05$) entre genotipos (Cuadro 3). Esta fluctuación del pH (2.40 ± 0.18 a 2.86 ± 0.26) es conveniente para preservar la estabilidad estructural del catión flavilio en las antocianinas, las cuales confieren la tonalidad

and also to genotypes grown in Jamaica (Christian and Jackson, 2009). The cultivar Acriollada Jersey was the most variable through out locations (± 1408 mg EAG 100 g⁻¹ DM), in contrast to the Chinese, Morada×Roja, Tempranilla Negra and UAN 23 genotypes, which varied between ± 199 and ± 300 mg EAG 100 g⁻¹ DM, and thus were more stable. The variation in the clear genotypes was from ± 179 to ± 811 mg EAG 100 g⁻¹ DM, where Tempranilla Flor, 2MQ2 and UAN 26 were the most unstable genotypes across locations. These results show that the dark red genotypes contain more antioxidant phytochemicals than the light red ones, with 2.3 times more CTA and 1.3 times more FST.

The two important palatability variables in aqueous extracts of jamaica calyces, pH and titratable acidity, were significantly different ($p \leq 0.05$) among genotypes (Table 3). pH values fluctuated from 2.40 ± 0.18 to 2.86 ± 0.26 , which are convenient values for preserving the structural stability of the cation flavilium in anthocyanins and confer the bright red hue in aqueous extracts (Prenesti *et al.*, 2007; Wrolstad, 2004). Extracts of the genotypes UAN 10, UAN 12-1, 7Q7, UAN 15, Criolla Morada, UAN 24-1, UAN 24, UAN 26 and UAN 11 were the most affected by environment, since changes in standard deviation of pH values from ± 0.34 to ± 0.22 sometimes caused pH of 3.0 or higher, which reduced the stability of the bright red color in aqueous extracts.

The genotypic variation in AT expressed as percent of citric acid fluctuated from 14.2 ± 4.3

roja brillante característica de los extractos acuosos (Prenesti *et al.*, 2007; Wrolstad, 2004). Los extractos de los genotipos UAN 10, UAN 12-1, 7Q7, UAN 15, Criolla Morada, UAN 24-1, UAN 24, UAN 26 y UAN 11 fueron los más afectados por el ambiente, ya que cambios en la desviación estándar de su pH desde ± 0.34 a ± 0.22 a veces causó pH de 3.0 o superiores, que redujeron la estabilidad de la coloración roja brillante en los extractos acuosos.

La variación de AT expresada como porcentaje de ácido cítrico entre genotipos fue de 14.2 ± 4.3 a 23.2 ± 3.3 % (Cuadro 3). Los de mayor porcentaje y por ende más palatables fueron Colima, Criolla Huajicori, Q12, Criolla Roja Violeta, UAN 10-2, 2MQ2, Criolla Súper Precoz, Tempranilla Flor y 3Q3, con valores de 20.3 ± 3.13 y 23.2 ± 3.26 %. Los genotipos con los porcentajes más bajos en AT fueron 10, UAN 21, UAN 5, UAN 24, UAN 15, 7Q7, UAN 24-1 y Criolla Morada (16.0 ± 3.4 - 14.2 ± 4.3 %). Los valores promedio de AT de las variedades rojo oscuro (17.0 %) y las de rojo claro (18.9 %) fueron muy cercanos. Los valores de desviación estándar en AT mostraron que el efecto del ambiente de producción fue mayor en esta variable, ya que a través de localidades varió de ± 0.68 a ± 5.71 % de ácido cítrico. En esta variable UAN 15 y UAN 6-1 fueron los más inestables por una variación grande de ± 5.0 a ± 5.71 %; en contraste, el genotipo Coneja fue más estable a través de ambientes con desviación estándar de ± 0.7 %.

Clasificación integral de genotipos por calidad fisicoquímica

Al agrupar a los 53 genotipos en función de sus características antioxidantes y acidez mediante la aplicación de ACP para CTA, FST, pH y AT, se obtuvo que los dos primeros componentes explicaron 94.0 % de la varianza detectada en los extractos acuosos. El primer componente (CP1), constituido por FST y AT, explicó 68.8 % de la varianza total; el CP2 aportó 25.2 % de la varianza restante debido al CTA y pH. Con el análisis de conglomerados los 53 genotipos de *H. sabdariffa* se clasificaron en seis categorías (Figura 2).

Los conglomerados 3 (Negra UAN, China, UAN 17, UAN 19 y UAN 18) y 6 (Jersey Acriollada, UAN 5, UAN 21, UAN 12-1, 7Q7 y 10) agruparon a los genotipos con mayor contenido de CTA y FST, pero

to 23.2 ± 3.3 % (Table 3). Genotypes with the highest percentages and thus the most palatable, were Colima, Criolla Huajicori, Q12, Criolla Roja Violeta, UAN 10-2, 2MQ2, Criolla Super Precoz, Tempranilla Flor and 3Q3, with values ranging from 20.3 ± 3.13 and 23.2 ± 3.26 %. The varieties with the lowest percentages of AT were 10, UAN 21, UAN 5, UAN 24, UAN 15, 7Q7, UAN 24-1 and Criolla Morada (16.0 ± 3.4 - 14.2 ± 4.3 % citric acid). The average AT values of the dark red (17.0 %) and light red (18.9 %) varieties showed close averages. The higher values of standard deviation observed in AT show that the environmental effect was higher in this variable, with variation across locations from ± 0.68 to ± 5.71 % of citric acid. In this variable, genotypes UAN 15 and UAN 6-1 were the most unstable, showing high standard variations (± 5.0 and ± 5.71 %); in contrast, genotype Coneja was the most stable throughout environments since the standard deviation of acidity was ± 0.7 %.

Genotype classification by physicochemical quality

When the 53 genotypes were grouped according to their antioxidant and acidity characteristics by application of ACP for CTA, FST, pH and AT, it was found that the first two components explained 94.0 % of the variance detected in the aqueous extracts. The first component (CP1), constituted by FST and AT, explained 68.8 % of the total variance; CP2 contributed 25.2 % of the remaining variance due to CTA and pH. With conglomerate analysis, the 53 genotypes of *H. sabdariffa* were classified into six categories (Figure 2).

Cluster 3 (Negra UAN, China, UAN 17, UAN 19 and UAN 18) and Cluster 6 (Jersey Acriollada, UAN 5, UAN 21, UAN 12-1, 7Q7 and 10) grouped genotypes with higher CTA and FST content. But genotypes of cluster 3 had greater AT than cluster 6 (Table 4). On the other hand, genotypes in group 1 (Tempranilla Flor, Colima, Criolla Violeta, Criolla Huajicori, Criolla Super Precoz, Tempranilla Roja, UAN 10-2, 2MQ2, 3Q3 and Q12) recorded the highest TA, although their CTA and FST were the lowest among the 53 genotypes. Most genotypes grouped in cluster 2 (Criolla Puebla Precoz, Criollo Precoz, UAN 6 Puga, UAN 6-1, UAN 6 Novillero, UAN 25, UAN 7, UAN 23, UAN 8, UAN 27, UAN

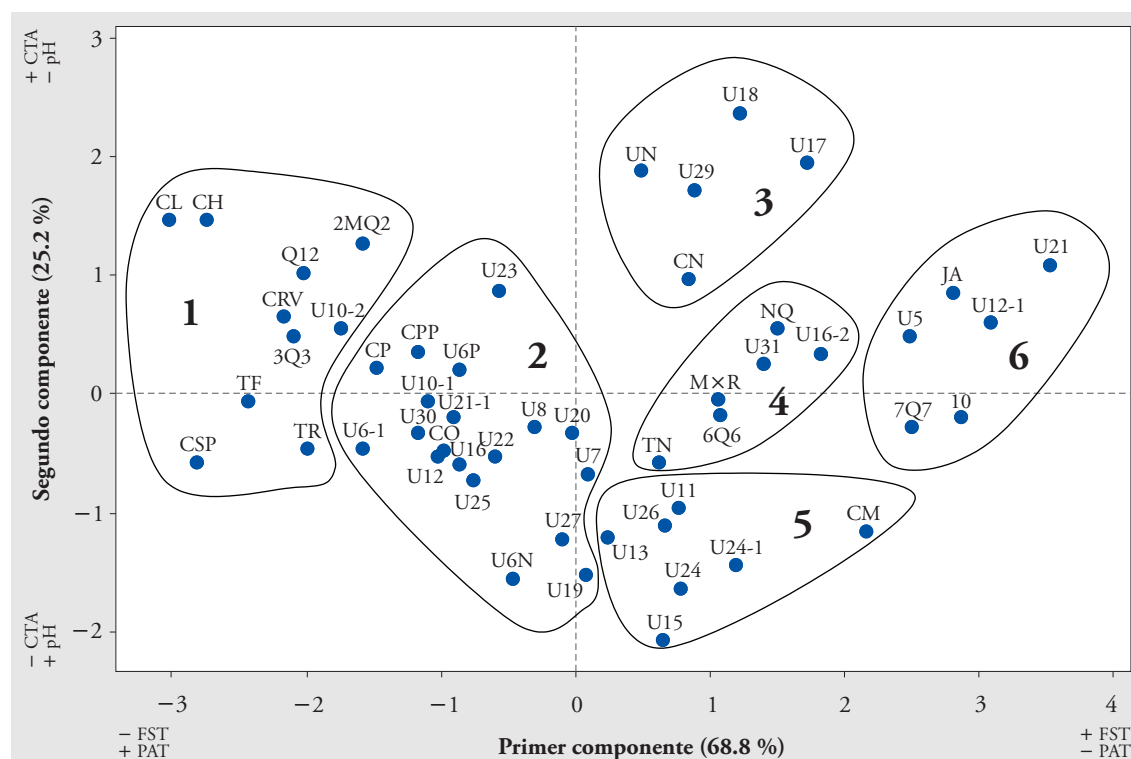


Figura 2. Agrupamiento de 53 genotipos de *Hibiscus sabdariffa* L. de acuerdo con su contenido total de antocianinas, fenólos solubles totales, pH y acidez titulable.

Figure 2. Grouping of 53 genotypes of *Hibiscus sabdariffa* L. according to total content of anthocyanins, total soluble phenols, pH and titratable acidity.

los genotipos del conglomerado 3 tuvieron una AT mayor que los del grupo 6 (Cuadro 4). En cambio, los del grupo 1 (Tempranilla Flor, Colima, Criolla Roja Violeta, Criolla Huajicori, Criolla Súper Precoz, Tempranilla Roja, UAN 10-2, 2MQ2, 3Q3 y Q12) registraron mayor AT, aunque sus contenidos de CTA y FST fueron los más bajos de los 53 genotipos. El conglomerado 2 que agrupó a la mayor cantidad de genotipos (Criolla Puebla Precoz, Criolla Precoz, UAN 6 Puga, UAN 6-1, UAN 6 Novillero, UAN 25, UAN 7, UAN 23, UAN 8, UAN 27, UAN 12, UAN 20, UAN 22, UAN 10-1, UAN 19, UAN 30, UAN 16, UAN 21-1 y Coneja), mostró un bajo contenido de CTA y FST, y valores intermedios de AT.

El conglomerado 4 (Tempranilla Negra, Negra Quiviquinta, UAN 31, UAN 16-2, Morada×Roja y 6Q6) tuvo valores intermedios de CTA y FST con porcentajes bajos de acidez, mientras que los genotipos en el conglomerado 5 (Criolla Morada, UAN 11, UAN 24, UAN 13, UAN 26, UAN 15 y UAN 24-1) tuvieron valores bajos en CTA y AT, pero intermedios en FST.

12, UAN 20, UAN 22, UAN 10-1, UAN 19, UAN 30, UAN 16, UAN 21-1 and Coneja) showed low content of CTA and FST and intermediate values of AT.

Cluster 4 (Tempranilla Negra, Negra Quiviquinta, UAN 31, UAN 16-2, Morada×Roja y 6Q6) had intermediate values of CTA and FST, with low acidity percentages. The genotypes included in Cluster 5 (Criolla Morada, UAN 11, UAN 24, UAN 13, UAN 26, UAN 15 and UAN 24-1) had low values in CTA and AT but intermediate FST values.

Among locations (environments), Nayarit was noted to induce the highest accumulation of CTA (492 ± 224 mg EC3G 100 g^{-1} DM) and FST (3114 ± 747 mg EAG 100 g^{-1} DM), compared to the other locations (Table 5). The lowest CTA contents were obtained in Colima and Guerrero (327 ± 180 and 322 ± 172 mg EC3G 100 g^{-1} DM), and the lowest FST occurred in Colima and Puebla (2296 ± 551 and 2281 ± 476 EAG 100 g^{-1} DM, respectively).

pH and AT were the variables most strongly affected by the production environment ($p \leq 0.01$)

Cuadro 4. Comparación del contenido total de antocianinas (CTA), fenoles solubles totales (FST), pH y acidez titulable (AT), en seis grupos de genotipos de *Hibiscus sabdariffa* L.**Table 4. Comparison of total anthocyanins content (CTA), total soluble phenols (FST), pH and titratable acidity (AT) in six groups of *Hibiscus sabdariffa* L.**

Grupo	No. de genotipos	CTA (mg EC3G 100 g ⁻¹ MS)	FST (mg EAG 100 g ⁻¹ MS)	pH	AT (% A. cítrico)
1	10	260±61c	2162±259e	2.49±0.05c	21.3±1.0a
2	19	261±53c	2371±154de	2.61±0.07b	18.5±0.8b
3	5	697±86a	2968±237ab	2.60±0.03b	18.7±1.0b
4	6	521±53b	2741±243bc	2.70±0.03a	16.8±0.2c
5	7	286±55c	2578±210cd	2.75±0.03a	15.8±1.0c
6	6	641±67a	3296±283a	2.78±0.05a	15.9±0.3c
DMS		93	339	0.09	1.3

Valores con diferente letra en una columna son estadísticamente diferentes ($p \leq 0.05$). DMS: Diferencia mínima significativa ❖
 Values with different letter in a column are statistically different ($p \leq 0.05$). DMS: Minimum significant difference.

Entre localidades (ambientes), los genotipos crecidos en Nayarit destacaron por inducir la mayor acumulación de CTA (492 ± 224 mg EC3G 100 g⁻¹ MS) y de FST (3114 ± 747 mg EAG 100 g⁻¹ MS), en comparación con las demás localidades (Cuadro 5). Los contenidos más bajos en CTA se encontraron en Colima y Guerrero (327 ± 180 y 322 ± 172 mg EC3G 100 g⁻¹ MS), y los más bajos en FST ocurrieron en Colima y Puebla (2296 ± 451 y 2282 ± 476 mg EAG 100 g⁻¹ MS), respectivamente.

El pH y la AT fueron las variables más influenciadas por el ambiente o localidad de producción ($p \leq 0.01$) (Cuadro 5). La variación de pH a través de ambientes fue de 2.31 ± 0.11 a 2.76 ± 0.19 , en Nayarit y Colima respectivamente. La AT varió 15.7 ± 3.2 % en Guerrero hasta 24.0 ± 2.9 % en Nayarit. A diferencia de las variables fitoquímicas, la variación del

(Table 5). At pH, the variation across environments was from 2.31 ± 0.11 to 2.76 ± 0.19 , in Nayarit and Colima, respectively. AT varied from 15.7 ± 3.2 % in Guerrero to 24.0 ± 2.9 % in Nayarit. Unlike phytochemical variables, pH variation was higher in Colima, followed by Guerrero and Puebla. In AT, the highest variation was in Guerrero, and the lowest in Oaxaca.

CONCLUSIONS

Among the 53 evaluated varieties of jamaica, var. UAN 21 stands for its high soluble phenol content and total anthocyanins, which are antioxidant compounds, and low titratable acidity. With high titratable acidity and high contents of anthocyanins and FST, genotypes with dark-colored calyces have

Cuadro 5. Efecto del ambiente (localidad) en el contenido total de antocianinas (CTA), fenoles solubles totales (FST), pH y acidez titulable (AT) en 53 genotipos de *Hibiscus sabdariffa* L.**Table 5. Effect of environment (location) on total anthocyanin (CTA), total soluble phenols (FST), pH and titratable acidity (AT) on 53 *Hibiscus sabdariffa* L. genotypes.**

Localidad	CTA (mg EC3G 100 g ⁻¹ MS)	FST (mg EAG 100 g ⁻¹ MS)	pH	AT (% ácido cítrico)
Colima	327±180d	2296±451d	2.76±0.19a	16.8±2.9d
Guerrero	322±172d	2714±560b	2.73±0.18c	15.7±3.2e
Nayarit	492±224a	3114±747a	2.31±0.11e	24.0±2.9a
Oaxaca	357±220c	2404±391c	2.75±0.10b	17.1±2.0c
Puebla	389±205b	2282±476d	2.62±0.17d	17.5±3.2b
DMS	6	36	0.2	0.6

Valores con diferente letra en una columna son estadísticamente diferentes ($p \leq 0.05$). DMS: Diferencia mínima significativa ❖
 Values with different letter in a column are statistically different ($p \leq 0.05$). DMS: Minimum significant difference.

pH fue mayor en Colima, seguida de Guerrero y Puebla. En AT la mayor variación fue en Guerrero y la menor en Oaxaca.

CONCLUSIONES

Entre los 53 genotipos evaluados de *H. sabdariffa*, destacó UAN 21 por altos contenidos de fenoles solubles totales y antocianinas totales, que son compuestos antioxidantes, combinada con una baja acidez titulable. Con acidez titulable alta y contenidos altos de antocianinas y de FST destacan los genotipos con cálices de color oscuro que tuvieron contenido mayor de fitoquímicos que los de cálices rojo claro, mientras que estos últimos mostraron mayor porcentaje de acidez titulable. Entre ambientes de producción destacaron los genotipos procedentes de Xalisco, Nayarit, por sus cálices con los valores más altos de CTA, FST y AT, en comparación con los demás sitios evaluados. El genotipo, el ambiente y su interacción G×A tienen efectos significativos en la variación de la calidad de los cálices de *H. sabdariffa*, donde el genotipo fue el factor más importante en CTA y FST, mientras que el efecto de ambiente (localidad) fue el principal responsable de la variación en la acidez de los extractos acuosos.

LITERATURA CITADA

- Association of Official Analytical Chemist Inc. (AOAC). 1984. Official Methods of Analysis. 14th ed. St Paul Minnesota, USA.
- Babalola, S. O., A. O. Babalola, and O. C. Aworh. 2001. Compositional attributes of the calyces of roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.). J. Food Technol. Africa 6: 133-134.
- Borrás-Linares, I., S. Fernández-Arroyo, D. Arráez-Roman, P. A. Palmeros-Suárez, R. Del Val-Díaz, I. Andrade-González, A. Fernández-Gutiérrez, J. F. Gómez-Leyva, and A. Segura-Carretero. 2015. Characterization of phenolic compounds, anthocyanidin, antioxidant and antimicrobial activity of 25 varieties of Mexican Roselle (*Hibiscus sabdariffa*). Indus. Crops Prod. 69: 385-394.
- Christian, K. R., and J. C. Jackson. 2009. Changes in total phenolic and monomeric anthocyanin composition and antioxidant activity of three varieties of sorrel (*Hibiscus sabdariffa*) during maturity. J. Food Comp. Anal. 22: 663-667.
- Fasoyiro, S. B., O. A. Ashaye, A. Adeola, and F. O. Samuel. 2005. Chemical and storability of fruit-flavoured (*Hibiscus sabdariffa*) drinks. World J. Agric. Sci. 1: 165-168.
- Fernández-Arrollo, S., I. C. Rodríguez-Medina, R. Beltrán-Debón, F. Pasini, J. Joven, V. Micol, A. Segura-Carretero, and A. Fernández-Gutiérrez. 2011. Quantification of the polyphenolic fraction and *in vitro* antioxidant and *in vivo* anti-hyperlipemic activities of *Hibiscus sabdariffa* aqueous extract. Food Res. Int. 44: 1490-1495.
- Galicia-Flores, L. A., Y. Salinas-Moreno, B. M. Espinoza-García, y C. Sánchez-Feria. 2008. Caracterización fisicoquímica y actividad antioxidante de extractos de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) nacional e importada. Rev. Chapingo Serie Hortic. 14: 121-129.
- Herrera Arellano, A., S. Flores Romero, M. A. Chávez-Soto, and J. Tortoriello. 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.
- Herrera-Arellano, A., J. Miranda-Sánchez, P. Ávila-Castro, S. Herrera-Álvarez, J. E. Jiménez-Ferrer, A. Zamilpa, R. Roman-Ramos, H. Ponce-Monter, and J. Tortoriello. 2007. Clinical effects produced by a standardized herbal medicinal product of *Hibiscus sabdariffa* on patients with hypertension. A randomized, doubleblind, lisinopril-controlled clinical trial. Planta Med. 73: 6-12.
- Juliani, H. R., C. R. Welch, Q. Wu, B. Diouf, D. Malaini, and J. E. Simon. 2009. Chemistry and quality of Hibiscus (*Hibiscus sabdariffa*) for developing the natural-product industry in Senegal. J. Food Sci. 74: S113-121.
- McGuire, R. G. 1992. Reporting of objective color measurement. HortScience 27: 1254-1255.
- Morton, J. F. 1987. Roselle. In: Fruits of Warm Climates. Published by J. F. Morton. Miami, FLA, USA. pp: 281-286.
- Ojeda, D., E. Jiménez-Ferrer, A. Zamilpa, A. Herrera-Arellano, J. Tortoriello, and L. Alvarez. 2010. Inhibition of angiotensin convertin enzyme (ACE) activity by the anthocyanins delphinidin- and cyanidin-3-O-sambubiosides from *Hibiscus sabdariffa*. J. Ethnopharmacol. 127: 7-10.
- Ottai, M., A. Abdel-Moniem, and R. El-Mergawi. 2004. Effect of variety and location on growth and yield components of roselle, *Hibiscus sabdariffa* L. and its infestation with the spiny bollworm *Earias insulana* (Boisd). Arch. Phytopathol. Plant Prot. 37: 215-231.

—End of the English version—



- Patel, S. 2014. *Hibiscus sabdariffa*: An ideal yet under-exploited candidate for nutraceutical applications. Biomed. Prev. Nutr. 4: 23-27.
- Prenesti, E., S. Berto, P. G. Daniele, and S. Toso. 2007. Antioxidant power quantification of decoction and cold infusions of *Hibiscus sabdariffa* flowers. Food Chem. 100: 433-438.
- Reyes-Luengas, A., Y. Salinas-Moreno, M. E. Ovando-Cruz, R. I. Arteaga-Garibay, y M. D. Martínez-Peña. 2015. Análisis de ácidos fenólicos y actividad antioxidante de extractos de variedades de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) con cálices de diversos colores. Agrociencia 49: 277-290.
- Salinas-Moreno, Y., A. R. E. Zuñiga-Hernández, L. B. Jiménez-De la Torre, V. Serrano-Altamirano, y C. Sánchez-Feria. 2012. Color en cálices de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) y su relación con características físicoquímicas de sus extractos acuosos. Rev. Chapingo Serie Hortíc. 18: 395-407.
- Sindi, H. A., L. J. Marshall, and R. A. Morgan. 2014. Comparative chemical and biochemical analysis of extracts of *Hibiscus sabdariffa*. Food Chem. 164: 23-29.
- Singleton, V. L., and J. A. Rossi. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagent. Am. J. Enol. Viticul. 16: 144-158.
- SIAP, Sistema de Información Agroalimentaria y Pesquera. 2015. Cierre de la producción agrícola por estado. <http://www.siap.gob.mx/cierre-de-la-produccion-agricola-por-estado/> (Consulta: Enero 2016).
- Tsai, P. J., J. McIntosh, P. Pearce, B. Camden, and B. R. Jordan. 2002. Anthocyanin and antioxidant capacity in roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) extract. Food Res. Inter. 35: 351-356.
- Wrolstad, R. E. 2004. Anthocyanins pigments-bioactivity and coloring properties. J. Food Sci. 69: 419-421.