



**BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE  
PUEBLA**

**FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS**



**TESIS PRESENTADA PARA OBTENER EL GRADO DE LICENCIATURA EN  
QUÍMICO FARMACOBIOLOGO**

Producción y caracterización (físicoquímica, microbiológica, polifenoles totales y actividad antioxidante) de un vino de flor de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L)

**Presenta**

pQ.F.B. Dulce María García Pineda

**Director**

D. C. Sandra Luz Cabrera Hilerio

**Codirector**

D. C. Rocío Aguilar Sánchez

Marzo, 2023



## “HUP, 50 años de enseñanza y salud”

OFICIO C.Q./CT 029P/2022

**C. Dulce María García Pineda  
PRESENTE**

Toda vez que se cuenta con la aprobación del Coordinador del Área de Química Analítica, le comunico que su anteproyecto de Tesis denominado:

**“Producción y caracterización (físicoquímica, microbiológica, polifenoles totales y actividad antioxidante) de un vino de flor de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.)”**

ha sido autorizado, siendo:

**D.C. Sandra Luz Cabrera Hilerio, Director de Tesis**  
**D.C. Rocío Aguilar Sánchez, Asesor de Tesis**

Y con esta fecha se registra en los archivos de la Dirección de esta Facultad, para los fines legales que tenga lugar.

Atentamente

“Pensar bien, para vivir mejor”

H. Puebla de Z., 16 de agosto de 2022

Dr. Jorge Raúl Cerna Cortez  
Director Facultad de Ciencias Químicas



c.c.p. Archivo

Cadena digital: 4Ua\$Cc!Aa(Pg"Sb!Xb.Ta/Ug&Hg%Qv"Er\*Nq(Gv-Ks!Yp!Uz&Vz&Ab#Cv-Ks(Eb'La\*Xl&Gw(Dm"Dk)Wt#Za!Zs\*Aw\$Og\*Tk%Rk-Xj(Lh'Wz\*Dr&Ya-Gz!Jc'Nd!Eg/Pa&Kz#Ek&Ve(Ez"Ch'Tb+Tr!Dg&Je,Re\$Hs+Sf"lf\$Un+Qe'Co\$Ov(Lb'Vs%Gy%Gc/Ua.Pw!Ps+Cu/Jf"Qb(Ns+Bu!Qk\*Gs.Qp\*Qt!Tm!Tj"Ae+Zx"Qx-Rd+Hw,Li!Rq.Ey\$As+Jw(Zd.Fy,Qb/Oo)



OFICIO C.Q./CT 006CR/2023

*[Handwritten signatures]*  
**Dra. Laura Morales Lara**  
**Dr. Armando Mena Contla**  
**Dr. José Luis Garate Morales**

Con toda atención comunico a Ustedes que se les propone como integrantes de la Comisión Revisora de l trabajo de Tesis que presenta la pasante de la Licenciatura en Químico Farmacobiólogo

**Dulce María García Pineda**

cuyo título es:

**“Producción y caracterización (físicoquímica, microbiológica, polifenoles totales y actividad antioxidante) de un vino de flor de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L)”**

Asimismo, les solicitamos que a la brevedad posible emitan el dictamen correspondiente.

Atentamente  
“Pensar bien, para vivir mejor”  
H. Puebla de Z., 22 de febrero de 2023

*[Handwritten signature]*

Dr. Jorge Raúl Cerna Cortez  
Director Facultad de Ciencias Químicas



c.c.p. Archivo

Cadena Digital 0WI&Cn#Vq"Wf.Cf!Pk\$Ex)Un' Cm\$GfSw#Si(Ar'Kd/Ps'Nd,Cm\$Va/Nw  
Cv#Up)Wg(Rm)Or.Tk&Ui/Ta%UI/Qg.Lr#Rk&Oe!Xg(Kr)Es)Yk'Ov#Pv.Ct#VI/Qv#UI+B@l"Rt"Gr/Vb'Du/Yc#Pj\$Uo#Gr  
Se.Te(Gj!Cj'Sk,Fg,Ge+Qp,Id'Gz"Nz'Yj'FaFb-Tr-Lr,Fw\*Op-Qg-  
In.Dk/Xw.Ba\*Xn#Ke#Wb&Lp%Xnj+Je#Qm"Mj,Qd,Ec!Tq/Fs%Dn.Gq)Et.Ng,



OFICIO C.Q./CT 013A/2023

**Dr. Jorge R. Cerna Cortez**  
**Director Facultad de Ciencias Químicas**  
**Benemérita Universidad Autónoma de Puebla**

Los que suscriben, integrantes de la Comisión Revisora de Tesis de la alumna de la Licenciatura en Químico Farmacobiólogo

**Dulce María García Pineda**

comunican a Usted la autorización para la publicación del trabajo de tesis bajo la dirección de la D.C. Sandra Luz Cabrera Hilerio y de la D.C. Rocío Aguilar Sánchez, con el siguiente título:

**“Producción y caracterización (físicoquímica, microbiológica, polifenoles totales y actividad antioxidante) de un vino de flor de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.)”**

Se extiende la presente, para los usos que al interesado convengan el día 14 de marzo de 2023.

Atentamente

“Pensar bien, para vivir mejor”

H. Puebla de Z., a 17 de marzo de 2023

**Dra. Laura Morales Lara, Presidente**

**Dr. Armando Mena Contla, Secretario**

**Dr. José Luis Garate Morales, Vocal**

C.c.p. Archivo

Cadena digital: 0Pp"Ky-Ud(Dx(Bj%Va+Qr\$St\$Rw)Dn-Gm%Jh&Xd+Dv\$Bt\$Yi,Al,Gp%UI!Sn'Xv+Am.Yw-Dh"Fm'Yj,Ib/Mm%Ui!Qk\*Un)Ni\$Ek)Bf\*Yx+Hf)Ro,Ke/Xn,Qk-Oi+Ky\$Jf!Qq.Ff-Lq)Eb)Ke%Yu)Kz,Vc-Qj.Kv#Pt.Gp%Aj(Cq&Yc%Hv)Jz-Bw)Di,Mm'Rg\*Sz#To&Nx%Ut.Ad.Ky,Rx%le'Yi\$Rr\$Am+Qn&Vp\$Nn&Fw.Fs,Hw/Up(Fy+Jd%Tr!Qs,Qv'Yx'Pa)If-Mz.Aa,



OFICIO C.Q./CT 012J/2023

**Mtro. Ricardo Valderrama Valdez**  
**Director de Administración Escolar**  
**Benemérita Universidad Autónoma de Puebla**  
**PRESENTE**

En relación al oficio de fecha 16 de marzo de 2023, firmado por la Coordinadora de la Licenciatura en Químico Farmacobiólogo de la Facultad de Ciencias Químicas, me permito comunicar a Usted el nombre de los catedráticos que integran el Jurado de Examen Profesional de la **Licenciatura en Químico Farmacobiólogo**, quien con número de matrícula **201757165**, en la Modalidad de Titulación por Tesis sustentará:

**GARCIA PINEDA DULCE MARIA**

**JURADO**

**Dra. Laura Morales Lara, Presidente**  
**Dr. Armando Mena Contla, Secretario**  
**Dr. José Luis Gárate Morales, Vocal**

Examen que se realizará el día **30 de marzo de 2023**, a las 12:00 horas en el Salón de Usos Múltiple de la Facultad de Ciencias Químicas. Esperando una respuesta favorable al presente, le reitero mi atenta y distinguida consideración.

Atentamente

“Pensar bien, para vivir mejor”

H. Puebla de Z., 21 de marzo de 2023



Dr. Jorge Raúl Cerna Cortez  
Director Facultad de Ciencias Químicas



c.c.p. Archivo

Cadena digital: 0Uc%Hh%Vu%Eb-Ux!Kx+Ng"Na\*Kx-Gm\$Gn'Gc\*Rw)Ye\$Ff.Tu,Nr'Lr(Up\*Sj&Hp)Sq(Mf&Df(To,Sy"Yu"Sm'Ul&Kd(Jq"Co)Vu"Rq\$Ff'Zf'Wl'Ez\*Gd-El'Sr-Ge'Vc/Pe(Mo,Cr%Av!Vf+Fn/Uv(Zb)Wz.Gc(Fb"De/Fj!Yp%Ke#Dd/Tc,Dk+Kr"Ri%Nt!Ig.Jl"Kd-Kl!Gb\*Mz\$Za#Lk(Ia#Eb&Ql"Pt)Yz!Vy-Xc!Rf#Mo#Kp.Dc#Ec)Na+Nd#Ap\*Mp'Xa-Ra'Po'Hx+

## Índice

RESUMEN .....	8
1. INTRODUCCIÓN .....	9
2. MARCO TEÓRICO .....	11
2.1 Flor de jamaica ( <i>Hibiscus sabdariffa</i> L).....	11
2.1.1 Producción de jamaica a nivel nacional.....	11
2.1.2 Descripción botánica.....	12
2.1.3 Clasificación taxonómica.....	13
2.1.4 Composición química y nutricional .....	13
2.1.5 Beneficios de su consumo .....	15
2.1.5.1 Propiedades antioxidantes .....	15
2.1.6 Uso de la jamaica para la elaboración de vino .....	16
2.2 Fermentación alcohólica.....	17
2.2.1 Condiciones necesarias para la fermentación alcohólica .....	18
2.2.1.1 Temperatura .....	18
2.2.1.2 pH .....	18
2.2.1.3 Aireación.....	18
2.2.1.4 Cantidad de azúcares .....	18
2.2.1.5. Nutrientes y activadores.....	19
2.3 Levaduras vínicas.....	19
2.3.1 <i>Saccharomyces bayanus</i> .....	20
2.4 Vino de frutas .....	20
2.4.1 Beneficios del consumo de vino de frutas .....	21
2.5 Caracterización del vino de frutas.....	22
2.5.1 Análisis fisicoquímico .....	22
2.5.2 Análisis microbiológico.....	24
2.6 Antioxidantes.....	24
2.6.1 Polifenoles totales .....	25
2.6.2 Capacidad antioxidante.....	26
2.6.2.1 Método DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo).....	27
2.7 Evaluación sensorial.....	28
2.7.1 Pruebas hedónicas .....	28
3. JUSTIFICACIÓN.....	29
4. OBJETIVOS.....	30
4.1 Objetivo general .....	30

4.2 Objetivos particulares .....	30
5. DIAGRAMA DE TRABAJO.....	31
6. MATERIAL Y MÉTODOS.....	32
6.1 Material .....	32
6.2 Material biológico.....	32
6.3 Métodos .....	32
7. METODOLOGÍA .....	33
7.1. Obtención del extracto de jamaica.....	33
7.2 Elaboración del vino de jamaica .....	33
7.2.1 Preparación del inóculo.....	33
7.2.2 Estandarización del mosto .....	33
7.2.3 Adición de nutriente .....	34
7.2.4 Pasteurización del mosto .....	34
7.2.5 Inoculación.....	34
7.2.6 Fermentación .....	34
7.2.7 Operaciones post fermentativas.....	34
7.2.7.1 Trasiego.....	34
7.2.7.2 Sulfitado.....	34
7.2.7.3 Clarificación .....	35
7.2.7.4 Segundo trasiego .....	35
7.3 Caracterización fisicoquímica del vino de jamaica .....	35
7.3.1 Determinación de pH .....	35
7.3.2 Determinación de Acidez Titulable .....	35
7.3.3 Determinación de Sólidos Solubles Totales (°Brix).....	35
7.3.4 Determinación del grado alcohólico .....	35
7.4 Caracterización microbiológica del vino de jamaica.....	36
7.4.1 Recuento de bacterias mesofílicas aerobias .....	36
7.4.2 Recuento de coliformes totales .....	36
7.4.3 Recuento de hongos y levaduras .....	37
7.5 Determinación del contenido de polifenoles totales .....	37
7.6 Determinación de la actividad antioxidante.....	38
7.7 Evaluación sensorial del vino.....	38
8. ANÁLISIS DE RESULTADOS.....	40
8.1 Estandarización del mosto de flor de jamaica.....	40
8.2 Rendimiento del proceso .....	41

8.3 Sólidos Solubles Totales (°Brix).....	41
8.4 pH.....	42
8.5 Acidez Titulable .....	44
8.6 Grado alcohólico.....	45
8.7 Análisis microbiológico .....	46
8.8 Polifenoles totales .....	47
8.9 Actividad antioxidante.....	49
8.10 Evaluación sensorial.....	50
9. CONCLUSIONES .....	53
10. RECOMENDACIONES .....	54
11. BIBLIOGRAFÍA.....	55
ANEXOS.....	61

## Índice de Tablas

---

<b>Tabla 1</b>	Clasificación taxonómica de la jamaica ( <i>Hibiscus sabdariffa</i> L) .....	13
<b>Tabla 2</b>	Composición química y nutricional de cálices de flor de jamaica deshidratados	14
<b>Tabla 3</b>	Métodos empleados para cada determinación .....	32
<b>Tabla 4</b>	Caracterización fisicoquímica del extracto inicial y del mosto estandarizado .....	40
<b>Tabla 5</b>	Análisis microbiológico del vino de flor de jamaica.....	46

---

## Índice de Figuras

<b>Figura 1</b> Flor de jamaica ( <i>Hibiscus sabdariffa</i> L.).....	12
<b>Figura 2</b> Cálices de flor de jamaica .....	13
<b>Figura 3</b> Estructura básica de un fenol .....	25
<b>Figura 4</b> Consumo de sustrato (°Brix) durante el proceso de fermentación .....	42
<b>Figura 5</b> Variación del pH durante el proceso de fermentación .....	43
<b>Figura 6</b> Variación de la acidez titulable (AT) durante el proceso de fermentación.....	44
<b>Figura 7</b> Contenido de polifenoles totales (PT) en el extracto inicial, en el mosto previo a la fermentación y en el vino producido.....	48
<b>Figura 8</b> Diagrama de araña de las puntuaciones sensoriales medias de las muestras de vino de jamaica .....	51

## Glosario de Abreviaturas

<b>%AA:</b>	Porcentaje de Actividad Antioxidante
<b>ABTS:</b>	2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolina-6- ácido sulfónico)
<b>ADN:</b>	Ácido desoxirribonucleico
<b>AICV:</b>	Asociación de la industria de la sidra y el vino de fruta de la Unión Europea
<b>AOAC:</b>	Asociación de Químicos Analíticos Oficiales
<b>AT:</b>	Acidez Titulable
<b>AV:</b>	Acidez Volátil
<b>BMA:</b>	Bacterias Mesofílicas Aerobias
<b>CAT:</b>	Catalasa
<b>CL:</b>	Ensayo de Quimioluminiscencia
<b>CT:</b>	Coliformes Totales
<b>CUPRAC:</b>	Ensayo de Reducción de Cobre
<b>DE:</b>	Desviación Estándar
<b>DPPH:</b>	2,2-Difenil-1-picrilhidrazilo
<b>EAG:</b>	Equivalente de Ácido Gálico
<b>EQ:</b>	Equivalentes de Quercetina
<b>ERO:</b>	Especies Reactivas de Oxígeno
<b>ET:</b>	Equivalente Trolox
<b>FA:</b>	Fermentación Alcohólica
<b>FRAP:</b>	Poder Antioxidante Reductor Férrico
<b>GPX:</b>	Glutación Peroxidasa

## Glosario de Abreviaturas

<b>HAT:</b>	Transferencia de Átomos de Hidrógeno
<b>IFT:</b>	Instituto de Tecnólogos de Alimentos
<b>LDL:</b>	Lipoproteínas de Baja Densidad
<b>ND:</b>	No Determinado
<b>OIV:</b>	Organización Internacional de la Viña y el Vino
<b>ORAC:</b>	Capacidad de Absorción de Radicales de Oxígeno
<b>PDA:</b>	Agar Papa Dextrosa
<b>pH:</b>	Potencial de Hidrógeno
<b>PT:</b>	Polifenoles Totales
<b>RNS:</b>	Especies Reactivas de Nitrógeno
<b>RSS:</b>	Especies Reactivas de Azufre
<b>RVBA:</b>	Agar Rojo Bilis Violeta
<b>SADER:</b>	Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural
<b>SET:</b>	Transferencia de Un Electrón
<b>SST:</b>	Sólidos Solubles Totales
<b>SOD:</b>	Superóxido Dismutasa
<b>TOSC:</b>	Capacidad Total de Eliminación de Oxidantes
<b>TRAP:</b>	Parámetro Total de Antioxidantes que Atrapan Radicales
<b>UFC:</b>	Unidad Formadora de Colonias

## RESUMEN

La flor de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L), es una especie vegetal perteneciente a la familia de las Malváceas. Los cálices son fuente importante de compuestos bioactivos, los cuales otorgan actividad antioxidante y otros efectos benéficos para la salud, además, son usados tradicionalmente para la elaboración de bebidas y otros productos artesanales. Debido a esto, en México se tiene un alto nivel de producción, comercialización y consumo de jamaica como tradición cultural, sin embargo, es un producto con baja industrialización. Por lo anterior, el objetivo del presente estudio fue evaluar la actividad antioxidante de un vino elaborado a partir de flor de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L) así como, realizar su caracterización fisicoquímica y microbiológica. Para lograrlo, se hicieron modificaciones técnicas al procedimiento clásico para la elaboración de vino. Se estandarizó un mosto de jamaica que posteriormente fue sometido a fermentación tipo batch durante 10 días. La caracterización fisicoquímica se hizo mediante análisis de pH, AT y contenido de SST. El análisis microbiológico se hizo a través del recuento de microorganismos por cultivo. Se determinó el contenido de polifenoles totales mediante el protocolo de Folin-Ciocalteu. Se determinó el %AA por medio del método de DPPH y adicionalmente, se hizo la evaluación sensorial del vino elaborado. Los resultados mostraron a lo largo de la vinificación un descenso en el pH y el contenido de SST, de 3.6 a 3.4 y, de  $22.53 \pm 0.12$  a  $6.93 \pm 0.6$  °Brix, respectivamente, mientras que la AT y el contenido de PT aumentaron de  $5.55 \pm 0.37$  a  $7.68$  g/L y, de  $142.94 \pm 1.72$  a  $287.84 \pm 2.05$  mg EAG/100 mL, respectivamente. Obteniéndose finalmente un vino con pH de 3.4, SST expresados en  $6.93 \pm 0.6$  °Brix, AT de  $7.68$  g/L de ácido cítrico, un contenido de PT de  $287.84 \pm 2.05$  mg EAG/100 mL y  $74.57 \pm 1.01$  %AA en la dilución 1:100. El recuento de microorganismos reveló 70 UFC/mL de BMA y 145 UFC/mL de levaduras. Finalmente, el vino elaborado presentó una buena aceptabilidad sensorial. A través del proceso de vinificación se logró una extracción parcial del contenido polifenólico de los cálices de flor de jamaica y, su consecuente transferencia al vino, obteniendo un producto con importantes propiedades antioxidantes y con buenos atributos de calidad.

**Palabras clave:** *Hibiscus sabdariffa* L, vino, extracción, polifenoles totales, actividad antioxidante.

## 1. INTRODUCCIÓN

La flor de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L), también conocida como rosa de Abisinia, rosa de jamaica o rosella, es una planta herbácea perteneciente a la familia de las Malváceas, cultivada en zonas con climas tropicales y subtropicales del mundo (Sáyago-Ayerdi & Goñi, 2010). En México, es muy popular y apreciado su consumo, se cultiva especialmente en el estado de Guerrero, donde de acuerdo con la Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural en el año 2021 se produjo alrededor del 73.6% de la producción nacional.

Es cultivada principalmente con la finalidad de usar los cálices para elaborar extractos a partir de los cuales se elaboran bebidas refrescantes y otros productos artesanales como mermeladas, jaleas, helados, harinas, licores, etc. Debido a que, además de poseer propiedades que le confieren un color rojo intenso y un sabor agradable, diversos estudios científicos demuestran que la flor de jamaica tiene un considerable contenido de compuestos antioxidantes, tal como, como vitamina C, compuestos fenólicos, ácidos polifenólicos, flavonoides, antocianinas, entre otros, que podrían ayudar a contrarrestar los efectos tóxicos de las ERO al ser incluidos en la dieta, confiriendo efectos anticancerígenos, cardioprotectores, diuréticos, antifebriles, antiaterogénicos, antiinflamatorios, antimicrobianos, protectores del daño celular, entre otros (López *et al.*, 2019). De esta forma, la jamaica es usada ampliamente con fines culinarios y medicinales, debido al descubrimiento de sus diversas propiedades benéficas para la salud humana.

Con el fin de obtener nuevos productos y explotar las propiedades que ofrecen los cálices de flor de jamaica, también se han utilizado para la elaboración de bebidas, como el vino, un producto de alto impacto, debido a que, particularmente, durante la última década el consumo moderado de vino tinto se ha asociado con la reducción de la mortalidad principalmente por enfermedades cardiovasculares, ralentizando la oxidación de LDL, inhibiendo la agregación plaquetaria y estimulando la producción de óxido nítrico (Di Lorenzo *et al.*, 2017).

Es así como, a pesar de que la jamaica no es una fruta, se han hecho modificaciones en el proceso de elaboración clásico del vino, para lograr adaptarlo a los cálices de jamaica

y obtener un producto final de óptima calidad. De este modo, al conocer que la jamaica presenta un alto contenido de antioxidantes se evalúa que el vino obtenido a partir de esta materia prima presente características similares.

Por lo anterior, el objetivo del presente estudio es producir y realizar la caracterización (físicoquímica, microbiológica y polifenoles totales) de un vino de flor de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L), así como, determinar su actividad antioxidante.

## 2. MARCO TEÓRICO

### 2.1 Flor de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.)

La flor de jamaica responde al nombre científico de *Hibiscus sabdariffa* L, en diversas partes del mundo también es conocida como rosa de Abisinia, rosa de jamaica, rosella, flor de dardo, flor roja y flor de hibisco. Es una planta herbácea que forma parte de la familia de las Malváceas, se distingue por producir flores (cálices) carnosas, de color rojo intenso y de sabor agradable. Los cálices deshidratados de esta planta son usados desde tiempos antiguos para elaborar extractos a partir de los cuales se elaboran bebidas refrescantes y otros productos artesanales como mermeladas, jaleas, helados, harinas, licores, vinos, etc.

La jamaica es originaria de África tropical, pero su cultivo se extiende por México, América Central, América del Sur y sudeste asiático (Sáyago-Ayerdi & Goñi, 2010). Internacionalmente se distinguen 6 variedades de jamaica, diferenciadas entre sí por su color, forma, tamaño de la planta, fruto y peso, destacándose; sudán, china o morada, roja (larga y corta, americana), negra gigante (nigeriana), morada gigante (tailandesa) y la variedad no ácida (Vietnam) (Meza-Chavarría, 2012).

#### 2.1.1 Producción de jamaica a nivel nacional

La flor de jamaica se cultiva en regiones tropicales y subtropicales del mundo, generalmente en suelos marginales de baja fertilidad y con poca retención de humedad. En México, el cultivo intercalado de jamaica con maíz tiene un rendimiento de 350 a 400 kg ha<sup>-1</sup>. Mientras que en monocultivo se obtienen rendimientos de hasta 600 kg ha<sup>-1</sup>. Actualmente, en México las principales variedades que se cultivan son: criolla (variedad roja larga, con la mayor superficie cultivada), china, jerzy y sudán (Cid-Ortega & Guerrero-Beltrán, 2012).

De acuerdo con la Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural (2021) el estado de Guerrero produce aproximadamente el 73.6% de la producción nacional de flor de jamaica. En el año 2019 se produjeron 5 810 toneladas de jamaica en este estado, seguido de Michoacán, con 884 toneladas y Oaxaca con 507 toneladas. La producción nacional fue de 7 889 toneladas.

### 2.1.2 Descripción botánica

La jamaica es una planta anual, herbácea, aproximadamente tiene de 1 a 2 m de altura, dependiendo de la variedad de jamaica, las condiciones de manejo y la fertilidad del suelo en el que se cultive.

Posee abundantes tallos con numerosas ramificaciones de color rojo, de forma cilíndrica, con textura lisa y suave. En gran parte de las variedades de jamaica las hojas son de coloración verde y se observan en ellas nervaduras de color rojo. Las flores se presentan de forma solitaria en las axilas de las hojas y tallos, tienen un tamaño aproximado de 6 a 12 cm de ancho (Meza-Chavarría, 2012). Su corola está compuesta de 5 pétalos, de color amarillo pálido a rosa y tienen un centro rojo (Figura 1).

#### Figura 1

*Flor de jamaica (Hibiscus sabdariffa L.)*



Fuente: CIAD – Culiacán (2016)

Posterior a la apertura de la flor, la corola se marchita y se desprende al siguiente día, quedando sólo los cálices, que se alargan y se vuelven carnosos, oscuros de coloración roja con un tamaño que varía desde 1 cm a 7 cm de longitud. El cáliz se conforma de 5 largos sépalos con un collar (épicaliz) y de 8 a 12 hojas delgadas de 3.2 a 5.7 cm situadas en el contorno de la base (Figura 2).

## Figura 2

Cálices de flor de jamaica



Fuente: CIAD – Culiacán (2016)

### 2.1.3 Clasificación taxonómica

La jamaica pertenece a la familia Malvaceae, género *Hibiscus* y especie *sabdariffa* (Tabla 1).

**Tabla 1.** Clasificación taxonómica de la jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L).

Reino	Plantae
Subreino	Tracheobionta
División	Anthophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Malvales
Familia	Malvaceae
Género	<i>Hibiscus</i>
Especie	<i>sabdariffa</i> L.

Fuente: Cid-Ortega, S., & Guerrero-Beltrán, J. A. (2012)

### 2.1.4 Composición química y nutricional

En la Tabla 2 se presentan algunos elementos que forman parte de la composición química y nutricional de los cálices de flor de jamaica de acuerdo con varios autores.

**Tabla 2.** Composición química y nutricional de cálices de flor de jamaica deshidratados

	Sáyago-Ayerdi & Goñi, 2010	Ariza-Flores <i>et al.</i> , 2014	Adanlawo & Ajibade, 2006
Proteínas (g/100g)	8.6	6.0 ± 0.09	4.71
Cenizas (g/100g)	6.8	6.8 ± 0.53	12.24
Lípidos (g/100g)	2.0	20.9 ± 1.19	2.01
Fibra cruda (g/100g)	8.5	ND	4.69
Calcio (mg/100g)	1263	ND	12.65
Potasio (mg/100g)	2320	ND	49.35
Hierro (mg/100g)	34.6	ND	3.22
Magnesio (mg/100g)	340	ND	38.65
Zinc (mg/100g)	6.3	ND	12.22
Ácido ascórbico (mg/100g)	54.8	ND	ND
Fenoles solubles (mg EAG/100 g)	ND	5.09 ± 0.1	ND

ND: No Determinado.

La composición de los cálices de la flor de jamaica difiere entre estudios dependiendo probablemente de múltiples factores como la metodología empleada, la variedad genética de la jamaica, condiciones del medio ambiente y la forma en la que se realizó el cultivo y la cosecha.

Los cálices de flor de jamaica aportan cantidades importantes de vitaminas como tiamina (B1), niacina (B3), riboflavina (B2) y principalmente vitamina C (ácido ascórbico), y minerales, como el potasio y el calcio que son los principales componentes minerales que se pueden encontrar, y desde el punto de vista nutricional, la flor de jamaica también es fuente interesante de hierro, magnesio y oligoelementos. Así mismo, en los cálices se ha demostrado la presencia de la mayoría de los aminoácidos esenciales, a excepción del triptófano (Cid-Ortega & Guerrero-Beltrán, 2012).

Por otro lado, en los cálices de flor de jamaica se han reconocido una gran cantidad de compuestos bioactivos/metabolitos secundarios como: ácidos fenólicos (ácido cafeico, ácido clorogénico) flavonoides (quercetina, quercitina-3-glucósido, quercetina-3-rutinósido, quercetina-3-sambubiosido, kaempferol 3- O -rutinósido, kaempferol 3- *p* -cumaril glucósido, miricetina 3-arabinogalactosa), antocianinas (delphinidin-3-sambubiosido, delphinidin-3-glucósido, cianidina-3,5-diglucósido, cianidina-3-sambubiosido) ácidos orgánicos y sus derivados (ácido gálico, ácido cítrico, ácido

hidroxicítrico, ácido hibísico, ácido málico, ácido tartárico, ácido ascórbico) (Montalvo-González *et al.*, 2022).

En un estudio realizado por Borrás-Linares *et al.* (2015) determinan el contenido de compuestos fenólicos totales, flavonoides, antocianinas, delphinidinas, cianidinas y la capacidad antioxidante de 25 extractos de variedades de jamaica cosechada en México, obteniendo rangos de 21 a 104 mg EAG/g para el contenido total de polifenoles totales, flavonoides de 417 a 1703 mg EQ/100 g, antocianinas de 0 a 4246 mg/100 g, delphinidinas de 0 a 3495 mg/100 g, cianidinas de 0 a 873 mg/100 g y capacidad antioxidante de 35 a 106  $\mu\text{mol ET/g}$ .

### **2.1.5 Beneficios de su consumo**

La flor de jamaica es una de las especies vegetales de gran interés a nivel mundial debido a su potencial para prevenir y/o controlar diversas enfermedades, gracias a su alto contenido de compuestos bioactivos. Se ha evidenciado que estos compuestos le conceden a los extractos acuosos de jamaica efectos benéficos para la salud, tales como actividad antioxidante, antihipertensiva, antidiabética, vasorelajante, cardioprotectora, antihiperlipidémica, antiinflamatoria, antibacteriana, antiviral, antiproliferativa, neuroprotectora, antidepresiva, antianémica y antiulcerosa (Montalvo-González *et al.*, 2022). También se han demostrado potentes efectos en la reducción de las concentraciones urinarias de creatinina, ácido úrico, citrato, tartrato, calcio, sodio, potasio y fosfato (Borrás-Linares *et al.*, 2015).

#### **2.1.5.1 Propiedades antioxidantes**

La flor de jamaica presenta una actividad antioxidante directamente proporcional a la concentración de moléculas antioxidantes presentes, como la vitamina c, polifenoles, flavonoides y antocianinas. Actualmente, como consecuencia de la exposición constante de los seres humanos a agentes oxidantes producto de la contaminación ambiental, situaciones de estrés y compuestos químicos obtenidos de diversas fuentes, las propiedades antioxidantes que presenta la flor de jamaica son de gran relevancia (Cid-Ortega & Guerrero-Beltrán, 2012). Por otra parte, como resultado de las reacciones químicas el cuerpo produce radicales libres, que, si bien de forma natural son neutralizados por los antioxidantes biológicos, cuando no existe un equilibrio y se tienen

niveles elevados de radicales libres en las células, se generan daños en las proteínas y lípidos de la membrana celular, así como, en los ácidos nucleicos desencadenando una serie de reacciones no deseables que pueden conducir al desarrollo de enfermedades mutagénicas, Alzheimer, diabetes, hipertensión, obesidad y otros síntomas metabólicos (López *et al.*, 2019).

Los antioxidantes naturales provenientes de los cálices de jamaica ejercen su acción al estabilizar a los electrones no apareados de los radicales libres, siendo capaces de evitar el efecto dañino en la célula, ejerciendo un mecanismo quelante y secuestrando a las ERO. Esto le confiere a la flor de jamaica la capacidad de ejercer una acción protectora frente al daño celular y peroxidación de lípidos, logrando efectos anticancerígenos, cardioprotectores, diuréticos, antiinflamatorios, entre otros (López *et al.*, 2019).

#### **2.1.6 Uso de la jamaica para la elaboración de vino**

Los cálices de flor de jamaica a pesar de no ser una fruta, gracias a su composición química y a su contenido de compuestos responsables de su agradable aroma y sabor, han sido utilizados para obtener productos alimenticios entre los que se encuentran los jugos, refrescos, vinos y licores artesanales. Se han utilizado los cálices de flor de jamaica en la preparación de "té cacody" y bebidas fermentadas en Egipto, en Sudán se ha utilizado la variedad roja para producir la bebida "karkade" y en Nigeria para producir "Zobo". Esta reportado que el cáliz de flor de jamaica al ser rico en antocianinas y al presentar una amplia diversidad de ácidos orgánicos, tiene las características necesarias para sugerir que el extracto de cáliz de flor de jamaica puede ser una materia prima adecuada para la elaboración de vino tinto (Alobo & Offonry, 2009). Siendo así que la modificación de los procesos para la producción de vinos de uva y la aplicación de dicha modificación a los cálices de flor de jamaica conducen a la producción de vino tinto de buena calidad.

En la actualidad, la elaboración de vino de jamaica ha tomado cierto interés, por lo cual se han realizado variedad de estudios científicos para evaluar diversas características y propiedades de los vinos elaborados a base de cálices de flor de jamaica, tal como es el caso de un estudio realizado por Mármol, V. (2016) en el que estudia la capacidad antioxidante y contenido de polifenoles en el proceso de fermentación del mosto de flor

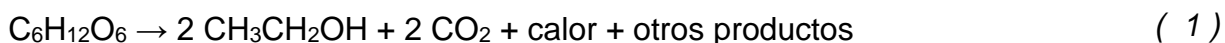
de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) utilizando cálices frescos y, en el que se establece que una relación 1:3 (p/v) presenta una mayor cantidad de polifenoles totales, a comparación de otras formulaciones. Un año más tarde, Moreno, C. (2017) realizó el estudio de la estabilidad de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante de vino microfiltrado de flor de jamaica durante el almacenamiento. Por su parte, Zamora *et al.* (2018), estudiaron la capacidad antioxidante y contenido de polifenoles en el proceso de clarificación del vino de flor de Jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) haciendo uso de cálices frescos. Mientras que, López *et al.* (2019) estudiaron la estabilidad de los antioxidantes del vino de flor de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L) en el almacenamiento.

## 2.2 Fermentación alcohólica

La fermentación alcohólica (FA) es el proceso fermentativo más conocido y está implicado en diferentes procesos importantes de transformación, estabilización y conservación de sustratos ricos en azúcar (Ciani *et al.*, 2008). Asimismo, es la base esencial del proceso de fabricación del vino e impacta directamente en el desarrollo de sus características sensoriales.

Por definición, la FA es un proceso bioquímico y metabólico realizado en ausencia de oxígeno (anaerobio), efectuado principalmente por levaduras, con la capacidad de consumir azúcares fermentables, que a través de transformaciones de óxido-reducción y la intervención de sus sistemas enzimáticos cumplen con el objetivo de convertir el azúcar disponible en alcohol etílico, dióxido de carbono, glicerol y otros productos secundarios (López *et al.*, 2019).

Dicha biorreacción es un proceso exotérmico y anaeróbico, representado por medio de la Ecuación 1:



Además del alcohol etílico, del CO<sub>2</sub> y el glicerol, en la FA se producen a partir del ácido pirúvico otros compuestos, donde se distinguen el ácido acético, ácido butírico, acetona, ácido láctico, acetoína, butanodiol-2,3, ácido fumárico, ácido oxalacético, ácido succínico, ácido propiónico, diacetilo, etc (Hidalgo *et al.*, 2016).

## **2.2.1 Condiciones necesarias para la fermentación alcohólica**

### **2.2.1.1 Temperatura**

Las levaduras son microorganismos mesófilos, lo que indica que el proceso fermentativo se puede realizar en un intervalo de temperatura de 13°C hasta 35°C. A pesar de esto, durante el proceso de FA, es imprescindible mantener la temperatura entre 18°C y 25°C, debido a que, a temperaturas mayores, la velocidad del proceso fermentativo será mayor y se obtendrá una proporción de productos secundarios elevada. Mientras que, a temperaturas inferiores las levaduras comienzan a morir, ocasionando la detención del proceso de fermentación.

### **2.2.1.2 pH**

El pH óptimo al cual se debe acondicionar el mosto es de 3.5, constituyendo un medio adecuado para el crecimiento y multiplicación de las levaduras y, para evitar el desarrollo de microorganismos patógenos. Los valores mínimos tolerables de pH son de 2.6 a 2.8, en valores inferiores el metabolismo fermentativo puede volverse lento, o bien detenerse y no reanudarse (López *et al.*, 2019).

### **2.2.1.3 Aireación**

A pesar de que la fermentación por definición es un proceso anaerobio, gran parte de los manuales de elaboración de vino recomiendan la aireación del mosto previo al proceso fermentativo. Esto es necesario por el efecto “Crabtree” o “Pasteur negativo”, descrito por el inglés H.G. Crabtree, quien explica el fenómeno por el cual, ante una concentración elevada de glucosa, el O<sub>2</sub> tiene un efecto activador de la FA. Debido a esto, una anaerobiosis estricta no es la manera óptima de iniciar una fermentación (de Piérola, 2018). No obstante, una aireación excesiva promovería el proceso de fermentación acética, ocasionando la producción de ácido acético y anhídrido carbónico, afectando la obtención del vino (Salazar-Espinoza, 2010).

### **2.2.1.4 Cantidad de azúcares**

El azúcar es el sustrato que será metabolizado por las levaduras para la producción del etanol del vino, para una adecuada fermentación alcohólica el mosto debe tener una concentración de sólidos solubles totales entre 20 y 24°Brix. Con un valor inferior de SST se obtendrá un vino con bajo grado alcohólico, susceptible al ataque microbiano, por lo

contrario, si los SST son muy elevados, será ejercida una gran presión osmótica hacia la levadura, imposibilitando el proceso fermentativo (González, 2012).

#### **2.2.1.5. Nutrientes y activadores**

El principal activador para que sea posible el proceso fermentativo son las levaduras, quienes requieren de azúcares fermentables para su catabolismo y, obtener de esta forma la energía necesaria para sus procesos vitales, asimismo, necesitan otros sustratos para su anabolismo como nitrógeno, fósforo, carbono, azufre, potasio, magnesio, calcio y vitaminas, especialmente tiamina (vitamina B1) (Salazar-Espinoza, 2010).

Finalmente, se debe monitorear la fermentación minuciosamente para lograr identificar si el azúcar se está transformando en etanol a una tasa razonable y para detectar a tiempo problemas que puedan presentarse como, la detención de la fermentación que puede ser causada por falta de nitrógeno, falta de un nutriente esencial para la levadura, uso de levadura dañada o ajuste de temperaturas incorrectas (Dengo-González & Mora-Pereira, 2016).

### **2.3 Levaduras vínicas**

Las levaduras, por definición son hongos unicelulares ascomicetes o basidiomicetos que tienen un crecimiento vegetativo resulta predominantemente de gemación o fisión, y que no desarrollan sus estados sexuales dentro o sobre un cuerpo fructífero (de Piérola, 2018). Las levaduras son uno de los elementos indispensables para el desarrollo del proceso de fermentación, desempeñan la función de convertir el azúcar del mosto en etanol y otros productos que afectan la calidad final del vino y sus propiedades sensoriales.

El género *Saccharomyces* ha tenido la mayor atención, de entre todas las levaduras más conocidas capaces de realizar FA, por su utilidad como fermentador. De este género destacan especies tales como *S. cerevisiae*, *S. bayanus*, *S. pastorianus* y *S. paradoxus*, entre otros (de Piérola, 2018).

Además de azúcar, para efectuar la FA en condiciones óptimas, las levaduras deben tener acceso a otros nutrientes esenciales. Los nutrientes más importantes para las

levaduras son el nitrógeno y el fósforo, de ahí que, se deben añadir al mosto sustratos, tal como; urea y fosfato de amonio, el primero como suministro de nitrógeno y el segundo como suministro de fósforo (Dengo-González & Mora-Pereira, 2016), para que el medio tenga una base nutricional adecuada.

### **2.3.1 *Saccharomyces bayanus***

*S. bayanus* es una especie conocida por su papel en la fermentación alcohólica. Tiene propiedades específicas, tal como: criotolerancia (mientras que *S. cerevisiae* predomina a 25°C, *S. bayanus* lo hace a 8–10°C), producción de cantidades menores de ácido acético y acetato de etilo, pero mayores cantidades de glicerol y ácido succínico; y una producción significativa de compuestos fermentativos volátiles, como el feniletanol y su acetato. Estos factores dan como resultado variaciones sensoriales considerables, dependiendo de las especies presentes (Le Jeune *et al.*, 2007).

Entre sus características microbiológicas y enológicas, se encuentran; tolerancia al alcohol hasta del 18%, fase de latencia corta, rápida cinética fermentativa en un rango amplio de pH, amplia gama de temperaturas de fermentación, incluyendo las bajas temperaturas (óptima entre 10 a 30° C), baja necesidad en nitrógeno asimilable, producción media de SO<sub>2</sub> y producción baja de SH (Salazar-Espinoza, 2010).

## **2.4 Vino de frutas**

De acuerdo con la Organización Internacional de la Viña y el Vino (OIV) (2018) “El vino es exclusivamente la bebida resultante de la fermentación alcohólica completa o parcial de uva fresca o de mosto de uva. Su graduación alcohólica adquirida no puede ser menor de 8.5 % (en volumen)”. Sin embargo, en algunos países debido a sus condiciones climáticas, no es posible el cultivo de uva para la producción de vino, como consecuencia la falta de disponibilidad de uvas ha hecho necesario el uso de frutas alternativas para la elaboración de esta bebida, lo que se ha convertido en una práctica común. Actualmente, en muchas partes del mundo se utilizan varios frutos para la elaboración de vino, como la frambuesa, la cereza, las fresas, papaya, plátano, anacardo, naranja, mandarina, piña, sandía, mango, guayaba, kiwi, carambola, mora, manzana, ciruela, pera, durazno y albaricoque, entre otros (Ruiz, 2011).

De esta manera, según la institución que se encargue de la producción del vino, existen distintas definiciones para los vinos de fruta, tal como la Asociación de la industria de la sidra y el vino de fruta de la Unión Europea (AICV) que define al vino de frutas fortificado como “Bebida alcohólica obtenida por fermentación completa o parcial de zumo o pulpa fresco, concentrado o reconstituido de frutas comestibles (domésticas o tropicales) u otras partes de plantas frescas, distintas a la uva, con o sin la adición de agua, azúcar y alcohol agrario” (Ruiz, 2011), por lo que de esta manera es posible llamar “vino” a la bebida alcohólica obtenida por fermentación del extracto acuoso de cálices de flor de jamaica.

Hay que resaltar que, al trabajar con vinos elaborados con una materia prima diferente a la uva, se tiene el reto tecnológico de hacer modificaciones para lograr un producto final de óptima calidad. Estas modificaciones están dirigidas a asegurar la viabilidad del proceso y la optimización de las características sensoriales del vino.

#### **2.4.1 Beneficios del consumo de vino de frutas**

Los vinos de frutas son una fuente considerable de compuestos bioactivos, entre los que destacan los compuestos fenólicos, aminoácidos, vitaminas, minerales y pigmentos de tipo carotenoide. Gran parte de los compuestos bioactivos contenidos en la fruta se encuentran unidos a compuestos vegetales insolubles, sin embargo, durante el proceso de vinificación muchos de ellos son liberados y transferidos al vino facilitando su aprovechamiento. Varios estudios han destacado el potencial antioxidante del vino de frutas atribuible a su contenido polifenólico. Los polifenoles, especialmente las antocianinas y los flavanoles o catequinas, han demostrado ser efectivos contra varias enfermedades crónicas, incluidas las enfermedades cardiovasculares (Mundaragi *et al.*, 2019).

Asimismo, el consumo diario de vino en cantidades moderadas contribuye significativamente a los requerimientos del organismo humano de elementos minerales esenciales. Pero, se debe prestar especial atención a los oligoelementos por su potencial toxicidad. También, los aminoácidos son importantes como componentes esenciales de las proteínas y por sus funciones en el metabolismo energético, la neurotransmisión y el

transporte de lípidos. Además, son precursores de compuestos aromáticos y contribuyen directamente al aroma, sabor y apariencia del vino (Núñez *et al.*, 2021).

## **2.5 Caracterización del vino de frutas**

### **2.5.1 Análisis fisicoquímico**

En el análisis fisicoquímico de un vino, una de las variables fundamentales e imprescindibles es la medición de contenido de SST, generalmente expresado en grados Brix (°Brix). Los SST se componen por azúcares, sales, ácidos y otros compuestos solubles en agua, sin embargo, se tiene especial atención en el contenido de azúcares por ser el componente de interés y el componente mayoritario (un 80% del total de los sólidos). De acuerdo con González (2012) el valor óptimo inicial en el mosto previo a la fermentación es de 20 a 24°Brix, con el cual se obtiene la máxima concentración posible de etanol en el vino, 12-14%, al fermentarse el azúcar disponible. Cuanto mayor sea la reducción en el contenido de azúcares fermentables, mayor será la producción de alcohol. Si la fermentación ha sido total, los vinos resultantes prácticamente no contendrán materias azucaradas, pero si la fermentación fue parcial, la presencia de azúcares residuales será alta; lo que se convierte en un aspecto no deseado respecto a la vida útil del vino (López *et al.*, 2019). De la misma manera, la reducción del contenido de azúcar también afecta el aroma y el sabor del vino, principales factores que determinan su calidad y valor (Patel *et al.*, 2021).

El pH es otra de las variables que impactan directamente en la calidad del vino, es una medida de acidez o alcalinidad, e indica la concentración de iones de hidrógeno  $[H]^+$  presentes en solución. Influye en propiedades importantes, incluyendo el color, el aroma, la oxidación, la astringencia, la acidez y la estabilidad química. Los valores óptimos de pH para el inicio de la fermentación del mosto se encuentran entre 3.0 y 3.6, además son valores que impiden la proliferación de microorganismos patógenos (González, 2012). Generalmente el pH de la mayoría de los vinos ronda entre los valores 2.9 y 4.2. Sin embargo, un valor de pH extremadamente bajo ( $< 3.2$ ) aporta un sabor ácido, no deseable en la elaboración del vino. (Patel *et al.*, 2021). Aunque el pH depende del contenido total de ácido, otros factores como el contenido de potasio influyen en él y debido a esto no está directamente relacionado con la AT.

Por su parte, la AT se define como la suma de los ácidos orgánicos valorables cuando se lleva el pH a 7 añadiendo una solución alcalina valorada. En los vinos, la AT está constituida por los ácidos orgánicos valorables y tiene un aumento a lo largo del proceso de fermentación del mosto debido a la producción de ácidos secundarios derivados de este proceso (principalmente ácido acético, láctico y succínico). De acuerdo con Chilaka *et al.* (2010) se espera que la AT del vino de alta calidad esté en el rango de 0.5 a 1.0% (p/v). Los ácidos orgánicos junto a los azúcares presentes en los vinos son los principales responsables de las cualidades sensoriales básicas. Además, la actividad antioxidante, las actividades antimicrobianas, el pH y el color dependen de la cantidad y los tipos de ácidos orgánicos disponibles. Los diferentes ácidos orgánicos aportan distintas propiedades sensoriales a los vinos, el L-tartárico aporta sabor cítrico, el L-málico sabor metálico a manzana verde, el L-láctico sabor agrio y picante, el cítrico sabor fresco y agradable sabor a cítrico, y el succínico aporta sabor agrio, salado y amargo.

En el vino, la AV comprende la cantidad presente de ácidos grasos de cadena corta pertenecientes a la serie acética (acético, fórmico, propiónico y butírico) en estado libre o en forma de sal, los cuales tienen un bajo punto de ebullición lo que los hace fácilmente destilables, utilizando esta propiedad para la determinación de su concentración. La AV permite apreciar el grado de conservación del vino, si ha sufrido alguna alteración o adulteración (Fernández *et al.*, 2009). Los valores normales van de 0.3 a 0.6 g de ácido acético/L de vino.

Por definición, se le denomina grado alcohólico al número de litros de etanol y de sus homólogos contenidos en 100 litros de vino, medidos ambos volúmenes a la temperatura de 20°C y es expresado como grado alcohólico volumétrico “% vol”. La graduación de los vinos varía entre un 7% y un 16% de alcohol por volumen, aunque la mayoría de los vinos embotellados oscilan entre 10 y 14 grados (Tenorio-Sáenz *et al.*, 2015). Es recomendable diseñar vinos de frutas con contenido alcohólico entre 10% y 12% para asegurar la estabilidad microbiológica, puesto que, vinos con concentraciones de alcohol menores al 10% comienzan a ser vulnerables al ataque microbiano.

### **2.5.2 Análisis microbiológico**

El análisis microbiológico tiene como objetivo asegurar la inocuidad y la calidad del vino. Generalmente, el análisis microbiológico del vino se determina mediante el recuento de microorganismos por cultivo, tal como; recuento de bacterias mesofílicas aerobias, recuento de coliformes totales y recuento de hongos y levaduras. Con el recuento de microorganismos por cultivo se pretende evaluar el nivel de contaminación de la muestra, esto es, estimar la cantidad de microorganismos cultivables, el principio del método radica en que los microorganismos vivos tienen la capacidad de multiplicarse en medio nutritivo y en condiciones de incubación aptas para crear colonias en el medio gelificado por el agar. En medio agar, una célula produce por multiplicación un cúmulo de células visibles a la vista llamado colonia (Castellucci, 2010).

### **2.6 Antioxidantes**

Por definición, un antioxidante es cualquier sustancia capaz de eliminar ERO y derivados (RNS y RSS), directa o indirectamente, actuando como un regulador de la defensa antioxidante o inhibidor de la producción de especies reactivas (Salehi *et al.*, 2018).

Los antioxidantes son de vital importancia tanto en los sistemas alimentarios como en el cuerpo humano para reducir los procesos oxidativos y los efectos nocivos de las ERO. En los sistemas alimentarios, el retraso de la peroxidación de lípidos y la formación de productos de peroxidación de lípidos secundarios se pueden prevenir mediante el uso de antioxidantes, lo que ayuda a mantener la vida útil del producto alimenticio (Gulcin, 2020). En el cuerpo humano, los antioxidantes ejercen una acción protectora frente al daño celular y peroxidación de lípidos a causa de las ERO. Lo que previene efectos adversos sobre las funciones fisiológicas normales, logrando efectos anticancerígenos, cardioprotectores, antiinflamatorios, entre otros.

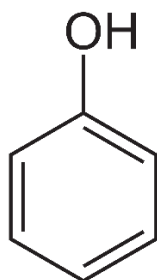
La acción de los antioxidantes puede clasificarse en distintas líneas de defensa, a partir de sus mecanismos de acción: (a) agentes preventivos que impiden la creación de radicales nuevos (enzimas, como SOD, CAT y GPX, proteínas que se unen a metales, como ferritina y ceruloplasmina, y minerales como selenio (Se), cobre (Cu) y zinc (Zn)); (b) agentes secuestrantes de radicales que inhiben la iniciación y/o propagación de la cadena, (glutación, albúmina, vitaminas C y E, carotenoides y flavonoides); (c)

enzimas reparadoras y de novo que reparan y reconstituyen membranas celulares, (lipasas, proteasas, enzimas reparadoras de ADN, transferasas y metionina-sulfóxido reductasas); y (d) agentes de adaptación que generan enzimas antioxidantes apropiadas y las transfieren al sitio de acción esencial (Salehi *et al.*, 2018).

### 2.6.1 Polifenoles totales

Los compuestos fenólicos o también llamados polifenoles, constituyen uno de los grupos más numerosos y representativos de metabolitos secundarios de las plantas, y han demostrado una gran capacidad antioxidante, que pone de manifiesto su potencial benéfico sobre la salud humana. Químicamente, se caracterizan por tener en su estructura la presencia de uno o varios anillos fenólicos (Quiñones *et al.*, 2012), anillos aromáticos unidos a al menos un grupo hidroxilo (Figura 3) y pueden ser simples de bajo peso molecular o complejos, de esta forma, la estructura química de los polifenoles es especialmente adecuada para ejercer una acción antioxidante. Debe considerarse que, dependiendo del número y posición de los grupos hidroxilo, así como, de la naturaleza de las sustituciones del anillo aromático, la capacidad antioxidante de estos compuestos es variable.

**Figura 3.** Estructura básica de un fenol



Existen dos clasificaciones de polifenoles de acuerdo con la estructura química primaria del hidroxibenceno, no flavonoides y flavonoides. Los flavonoides se dividen a su vez en; flavonoles, flavonas, flavan-3-ols, isoflavonas, flavanonas, dihidroflavonoles, antocianidinas y chalconas. Mientras que, en el grupo de los no flavonoides se encuentran los ácidos hidroxibenzoicos, ácidos hidroxicinámicos, polifenoles volátiles, estilbenos y compuestos diversos (lignanós y cumarinas). Los polifenoles también se clasifican acorde al número de anillos fenólicos y los elementos estructurales unidos a

las unidades básicas, siendo los principales grupos de compuestos fenólicos, los flavonoides, ácidos fenólicos, taninos hidrolizables, taninos condensados, estilbenos y lignanos (Valencia-Avilés *et al.*, 2017).

Existe una alta cantidad de polifenoles en los vinos y son uno de los compuestos que proporcionan más atributos, influyen directamente en el color de los vinos tintos, sabor, olor, astringencia y otras capacidades sensitivas. Además, está comprobado, que los componentes polifenólicos son los mayores responsables de las propiedades antioxidantes del vino y que, el contenido total de polifenoles se correlaciona directamente con su capacidad antioxidante.

El método que principalmente se usa para la determinación del contenido total de polifenoles, es el protocolo de Folin-Ciocalteu.

### **2.6.2 Capacidad antioxidante**

La capacidad antioxidante se define como el potencial de una sustancia o compuesto para inhibir o dificultar la oxidación de un sustrato. Su medición es útil para valorar la calidad de un alimento y/o la cantidad de antioxidantes en un sistema (Benítez-Estrada *et al.*, 2020). Dicha capacidad antioxidante se traduce como la capacidad de defender un organismo de la acción de los radicales libres y, en consecuencia, de prevenir los trastornos derivados del estrés oxidativo (Jäntschi *et al.*, 2013)

Para la determinación de la capacidad antioxidante de los componentes de los alimentos, los términos actividad antioxidante y capacidad antioxidante a menudo se usan por igual, pero es de importancia distinguir que sus significados son diferentes. La actividad antioxidante hace referencia a la constante de velocidad de una reacción entre un antioxidante específico y un oxidante específico. Mientras que, la capacidad antioxidante es la medida de la cantidad de radical libre eliminado por una muestra (Gulcin, 2020).

Por otra parte, en la literatura científica se encuentran gran cantidad de procedimientos para medir esta capacidad antioxidante. Los métodos para determinarla se clasifican de acuerdo con su mecanismo, en métodos HAT basados en la transferencia de átomos de hidrogeno y, métodos SET basados en la transferencia de electrones (Benítez-Estrada *et al.*, 2020). En la primera clasificación, se ubican métodos como ORAC, TRAP, TOSC

y CL, entre otros. Mientras que, en las metodologías SET se encuentran FRAP y CUPRAC (Mayoral *et al.*, 2019).

En otro sentido, también existen métodos que utilizan ambos mecanismos HAT y SET, tal como, los métodos más aplicados en la actualidad; ABTS y DPPH.

#### **2.6.2.1 Método DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo).**

El método DPPH es un método simple, económico y eficiente, es uno de los métodos más utilizados para establecer la capacidad antioxidante de diversos compuestos (Romanet *et al.*, 2019).

El DPPH (radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH•, DPPH-R)) fue descubierto por Goldsmith y Renn en 1922, fue propuesto para el ensayo de la capacidad antioxidante de los materiales biológicos gracias a su estabilidad y por tener un potencial redox lo suficientemente alto como para oxidar los antioxidantes naturales más comunes. A partir de ahí, el uso del DPPH se convirtió en un método espectrofotométrico conveniente y empezó a usarse ampliamente para determinar la capacidad antioxidante de productos químicos, así como diversos productos naturales (Flieger & Flieger, 2020). El primer método DPPH fue planteado e introducido por Marsden Blois (1958), usando cisteína como antioxidante modelo. Sin embargo, actualmente el método más usado es la modificación descrita por Brand-Williams *et al.* (1995).

El fundamento del método tiene sustento en la reducción del radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) a 2,2-difenil-1-picrilhidrazina (DPPH-H) al unir un átomo de hidrógeno o un electrón al centro radical debido a la reacción con un antioxidante. La característica de la reacción es el cambio de color de púrpura intenso del radical libre (DPPH• o DPPH-R) a amarillo en su forma reducida (DPPH-H). Cuanto más cambia este color, más se reduce el DPPH y mejor es la actividad antioxidante de la muestra (Flieger & Flieger, 2020).

El DPPH tiene una banda de absorción importante en el rango de 515 a 520 nm, lo que hace que la espectrofotometría sea una herramienta fácil para medir el cambio de color y determinar la actividad antioxidante de la muestra, dicha medida espectrofotométrica se realiza generalmente a la longitud de onda de  $\lambda = 517$  nm. La medida del poder

antioxidante es la diferencia de absorbancia de la solución de radicales DPPH antes y después de la reacción con el antioxidante (Flieger & Flieger, 2020).

## **2.7 Evaluación sensorial**

La evaluación sensorial es un método subjetivo que se basa en la respuesta humana a los estímulos físicos y busca evaluar la aceptación del consumidor a un determinado producto a partir de su percepción sensorial. De acuerdo con el Instituto de Tecnólogos de Alimentos (IFT), la evaluación sensorial es una disciplina científica utilizada para evocar, medir, analizar e interpretar las reacciones a aquellas características de los alimentos y materiales tal como son percibidas a través de los sentidos de la vista, olfato, gusto, tacto y oído (Sharif *et al.*, 2017).

Al ser un método subjetivo, los datos generados por los participantes en la evaluación suelen ser heterogéneos como consecuencia de la variedad de gustos y preferencias entre consumidores.

### **2.7.1 Pruebas hedónicas**

Las pruebas hedónicas tienen la finalidad de medir cuanto gusta o disgusta un producto en base a la percepción sensorial de diversos panelistas. Para realizar estas pruebas se utilizan escalas cualitativas categorizadas que son convertidas en puntajes numéricos para hacer el análisis de datos y evaluar los resultados obtenidos.

Debe existir un control en varios factores para minimizar el error experimental en las pruebas hedónicas, entre ellos, el control ambiental que incluye la eliminación de las distracciones psicológicas, eliminación de los olores irrelevantes, el control del nivel de ruido y el control de la estimulación de la luz (Sharif *et al.*, 2017). Debe existir un número de al menos 30 panelistas, que sean consumidores habituales del producto y se les deben dar instrucciones claras sobre cómo realizar la evaluación sensorial, generalmente, de forma verbal antes de entrar al área de evaluación y de forma escrita en una hoja de puntaje. Finalmente, las muestras a evaluar deben ser entregadas a los panelistas con la misma cantidad y presentación y, deben estar etiquetadas con números aleatorios.

### **3. JUSTIFICACIÓN**

La jamaica es una especie vegetal altamente cosechada en México, especialmente en el estado de Guerrero. Destaca ya que, se le han atribuido propiedades nutritivas y medicinales, es fuente importante de compuestos bioactivos, los cuales le otorgan actividad antioxidante y otros efectos benéficos para la salud. En consecuencia, los usos tradicionales de esta planta son muy variados, los cálices o flores son usados para la elaboración de bebidas, dulces, mermeladas artesanales, entre otras. Debido a esto, en México se tiene un alto nivel de producción, comercialización y consumo de jamaica como tradición cultural, sin embargo, es un producto con baja industrialización y, además, existen pocos estudios acerca de la obtención de productos a base de esta materia prima.

De esta manera, el potencial de esta investigación radica en la necesidad de la innovación y la creación de productos a partir de la jamaica, que, con base en su naturaleza aporta propiedades funcionales que ayudan al cuidado de la salud.

A raíz de esto, la elaboración de un vino, producto con un importante impacto social y económico debido a su amplia distribución y consumo en todo el mundo, pretende ayudar a complementar al sistema metabólico con el aporte de antioxidantes naturales provenientes de los cálices de jamaica.

De ahí que, la elaboración de un vino de jamaica presenta un gran potencial por explorar. Para ello, el presente estudio se planteó primordialmente para evaluar la actividad antioxidante del vino de flor de jamaica, además de realizar su caracterización fisicoquímica, microbiológica y determinación del contenido de polifenoles totales, con el fin de proporcionar una visión general de algunos atributos de calidad de esta bebida fermentada.

## 4. OBJETIVOS

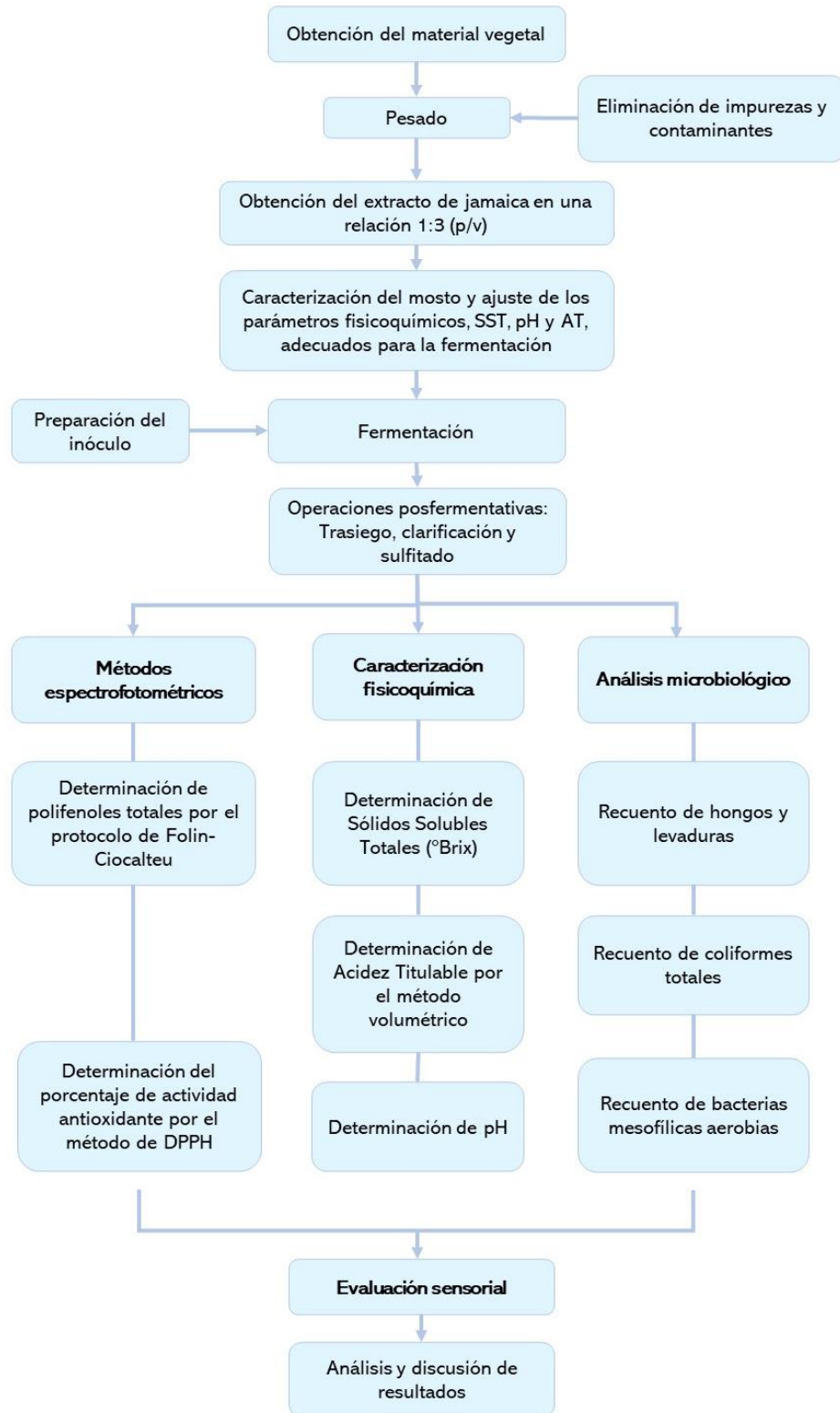
### 4.1 Objetivo general

Determinar la actividad antioxidante del vino de flor de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) y realizar su caracterización fisicoquímica y microbiológica.

### 4.2 Objetivos particulares

- I. Elaborar el vino de flor de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L) por fermentación alcohólica inducida por *Saccharomyces bayanus*®.
- II. Evaluar las características fisicoquímicas y el análisis microbiológico del vino de flor de jamaica.
- III. Determinar el contenido de polifenoles totales, bajo el protocolo de Folin-Ciocalteu.
- IV. Determinar la actividad antioxidante por el método de DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo).
- V. Evaluar las propiedades sensoriales del vino elaborado.

## 5. DIAGRAMA DE TRABAJO



## 6. MATERIAL Y MÉTODOS

### 6.1 Material

- Material de vidrio y reactivos de grado analítico esencial para cada determinación.
- Todos los ensayos se realizaron por triplicado en el laboratorio de Bromatología y Biotecnología (FCQ4, 105) de la Facultad de Ciencias Químicas, BUAP.

### 6.2 Material biológico

Cepas de *Saccharomyces bayanus*®. El material vegetal utilizado fueron cálices de flor de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L) deshidratados, variedad roja larga, obtenidos en un mercado local.

### 6.3 Métodos

Los métodos empleados se encuentran en la tabla 3.

**Tabla 3.** Métodos empleados para cada determinación

Determinación	Método	Referencia
<b>Sólidos Solubles Totales (SST)</b>	Refractometría	(Salinas-Moreno <i>et al.</i> , 2012).
<b>Acidez titulable (AT)</b>	Método volumétrico	AOAC 942.15
<b>Ph</b>	Lectura directa con medidor de pH	AOAC 981.12
<b>Grado alcohólico (%vol)</b>	Alcohol potencial	(Sobowale <i>et al.</i> , 2021)
<b>Recuento de coliformes totales (CT)</b>	Vaciado en placa en Agar Rojo Bilis Violeta	NOM-113-SSA1-1994
<b>Recuento de hongos y levaduras</b>	Vaciado en placa en Agar Papa Dextrosa	NOM-111-SSA1-1994
<b>Recuento de bacterias mesofílicas aerobias (BMA)</b>	Vaciado en placa en Agar Cuenta Estándar	NOM-092-SSA1-1994
<b>Contenido de polifenoles totales (PT)</b>	Folin-Ciocalteu	(Mitrevska <i>et al.</i> , 2020)
<b>Actividad antioxidante</b>	DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo).	(Brand Williams <i>et al.</i> , 1995)

## 7. METODOLOGÍA

### 7.1. Obtención del extracto de jamaica

A partir de los cálices de jamaica deshidratados obtenidos en un mercado local, se seleccionaron en función de su apariencia física aquellos cálices que no presentaron anomalías, se descartaron manualmente los tejidos vegetales en mal estado y otros contaminantes y se lavaron con agua fría los cálices seleccionados para eliminar residuos restantes.

Para la obtención del mosto, los cálices de jamaica limpios se sometieron a ebullición durante 15 minutos, en la relación 1:3 (p/v) establecida por Mármol (2016).

### 7.2 Elaboración del vino de jamaica

#### 7.2.1 Preparación del inóculo

Se activó la cepa de *Saccharomyces bayanus*® (2 g/L) reconstituida en una solución con 5% de azúcar en agua destilada a una temperatura de 35 a 40°C durante 30 minutos.

#### 7.2.2 Estandarización del mosto

Se hicieron las correcciones de pH necesarias mediante la adición de bicarbonato de sodio hasta obtener un valor de 3.6 (valor óptimo de pH para la iniciación de la fermentación). Se determinó la acidez titulable de acuerdo con la Ecuación 2 y se ajustó el mosto de acuerdo con los parámetros establecidos por González (2012), a 5.5 g/L en ácidos totales, haciendo uso de la Ecuación 3, para el caso de los sólidos solubles totales se adicionó la cantidad de azúcar requerida, de acuerdo con la Ecuación 4, para llevarlo a la concentración de 22°Brix.

$$\text{Acidez Titulable } \left(\frac{g}{L}\right) = \frac{N \times V_1 \times \text{Meq}}{V_2} \times 1000 \quad (2)$$

Donde N es la normalidad del titulador,  $V_1$  es el volumen usado del titulador (mL), Meq son los miliequivalentes del ácido predominante en la muestra (0.064 para ácido cítrico) y  $V_2$  es el volumen de la muestra (mL).

$$V_a(L) = \frac{V_e \times AT}{5.5 \frac{g}{L}} - V_e \quad ( 3 )$$

Donde  $V_a$  es el volumen de agua destilada a añadir al extracto (L),  $V_e$  es el volumen del extracto (L) y AT es la acidez titulable del extracto (g/L).

$$\text{Azúcar a añadir } \left( \frac{g}{L} \right) = (^\circ\text{Brix requeridos} - ^\circ\text{Brix iniciales}) \times 11 \quad ( 4 )$$

### 7.2.3 Adición de nutriente

Se añadió fosfato de amonio en una concentración de 1 g/L para ser utilizado como nutriente por la levadura.

### 7.2.4 Pasteurización del mosto

Se pasteurizó el mosto a 75°C durante 15 segundos en un baño térmico.

### 7.2.5 Inoculación

Cuando el mosto alcanzó una temperatura de 35°C ± 5°C se agregó un 2% de inóculo previamente activado.

### 7.2.6 Fermentación

El proceso de fermentación fue tipo batch y se realizó durante 10 días a 25°C ± 2°C. Se evaluaron los parámetros de sólidos solubles totales, pH y acidez titulable cada 24 h, para ello se tomaron muestras para su análisis.

### 7.2.7 Operaciones post fermentativas

#### 7.2.7.1 Trasiego

Se filtró el vino con gasas estériles para eliminar los cálculos fermentados, las levaduras y los residuos sólidos resultantes.

#### 7.2.7.2 Sulfitado

Se añadieron 225 ppm de metabisulfito de sodio, para detener la fermentación alcohólica e inhibir la acción de las levaduras y bacterias presentes.

### **7.2.7.3 Clarificación**

Fue realizada mediante un agente clarificante proteínico. Se agregaron 10 mL/L de una solución al 25% de grenetina cuya floculación rápida y vigorosa arrastró las partículas presentes en el vino volviéndolo más límpido.

### **7.2.7.4 Segundo trasiego**

Después de la clarificación, el vino se dejó reposar a temperatura ambiente durante 8 días para posteriormente hacer un segundo trasiego y eliminar los sólidos restantes del vino.

## **7.3 Caracterización fisicoquímica del vino de jamaica**

### **7.3.1 Determinación de pH**

Los valores de pH se midieron mediante un medidor de pH digital previamente calibrado Marca Apera Instruments, según la norma AOAC-981.12. Con corrección automática de temperatura.

### **7.3.2 Determinación de Acidez Titulable**

La AT se determinó en función del Método Oficial AOAC-942.15. Las muestras de vino se dejaron reposar en un baño de agua durante 10 min para eliminar el dióxido de carbono presente, posteriormente, se diluyeron en relación 1:10 con agua destilada, cada muestra se valoró independientemente con una solución de hidróxido de sodio 0.1 N hasta llegar a pH 7. Las mediciones de pH se realizaron con un medidor de pH digital Marca Apera Instruments, que cuenta con compensación de temperatura automática. El cálculo de la AT se hizo en función del ácido cítrico y se expresó en g/L de acuerdo con la Ecuación 2.

### **7.3.3 Determinación de Sólidos Solubles Totales (°Brix)**

El contenido de SST se determinó colocando 3 gotas de la muestra del vino a analizar en la cámara de lectura de un refractómetro portátil (Salinas-Moreno *et al.*, 2012). Los resultados fueron evaluados y expresados en grados Brix (°Brix).

### **7.3.4 Determinación del grado alcohólico**

El grado alcohólico se obtuvo mediante el método de las diferencias de alcohol en potencia, descrito por Sobowale *et al.* (2021). El contenido de alcohol se calculó de

acuerdo con la Ecuación 5 en base a los contenidos de SST, obtenidos mediante refractometría, del mosto previo a la fermentación y del vino producido.

$$\% vol = 0.592 \times [(\text{°Brix ajustados} - 3) - (\text{°Brix finales} - 3)] \quad ( 5 )$$

#### **7.4 Caracterización microbiológica del vino de jamaica**

Las cargas microbianas de las muestras de vino se evaluaron utilizando métodos estándar. Se realizaron series de tres diluciones decimales utilizando solución salina estéril, seguidas de esparcimiento en placas de medio sólido específico.

##### **7.4.1 Recuento de bacterias mesofílicas aerobias**

De acuerdo con la NOM-092-SSA1-1994, utilizando material estéril, se colocaron independientemente 1 mL de cada dilución de vino en cajas Petri previamente rotuladas. Posteriormente se vertieron 20 mL de agar cuenta estándar líquido y se mezcló cuidadosamente con el inóculo con seis movimientos de derecha a izquierda, seis movimientos en el sentido de las manecillas del reloj, seis movimientos en el sentido contrario al de las manecillas del reloj y seis de atrás para adelante, sobre una superficie lisa y nivelada. Se dejaron gelificar las placas y se incubaron en posición invertida a  $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  durante  $48 \pm 2\text{h}$ . Después del periodo especificado se hizo el conteo de las colonias y el resultado se expresa en UFC/mL, de bacterias aerobias en placa en Agar para Cuenta Estándar, incubadas durante  $48 \pm 2\text{h}$  a  $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ .

##### **7.4.2 Recuento de coliformes totales**

De acuerdo con la NOM-113-SSA1-1994, utilizando material estéril, se colocaron independientemente 1 mL de cada dilución de vino en cajas Petri previamente rotuladas. Se vertieron 20 mL de RVBA fundido y mantenido a  $45 \pm 1^{\circ}\text{C}$  en baño de agua. Se mezcló cuidadosamente el inóculo con el medio de cultivo con seis movimientos de derecha a izquierda, seis movimientos en el sentido de las manecillas del reloj, seis movimientos en el sentido contrario al de las manecillas del reloj y seis de atrás para adelante, sobre una superficie lisa y nivelada. Se dejó que la mezcla gelificará dejando las cajas Petri reposar sobre una superficie horizontal fría. Se vertieron 4 mL más del medio RVBA a  $45 \pm 1^{\circ}\text{C}$  en la superficie del medio inoculado, cuando este estuvo

completamente gelificado. Al gelificar se incubaron las placas invertidas a 35°C, durante 24 ± 2 h. Después del periodo especificado se hizo el conteo de las colonias y el resultado se expresa en UFC/mL de coliformes totales en placa de Agar Rojo Violeta Bilis, incubadas a 35°C durante 24 ± 2 h.

#### **7.4.3 Recuento de hongos y levaduras**

De acuerdo con la NOM-111-SSA1-1994, utilizando material estéril, se colocaron independientemente 1 mL de cada dilución de vino en cajas Petri previamente rotuladas. Se vertieron 20 mL de PDA acidificado, fundido y mantenido a 45 ± 1 °C en un baño de agua. Se mezcló cuidadosamente el inóculo con el medio de cultivo con seis movimientos de derecha a izquierda, seis en el sentido de las manecillas del reloj, seis en el sentido contrario y seis de atrás para adelante, sobre una superficie lisa. Se dejaron gelificar y se incubaron las placas de forma invertida a 25 ± 1°C. Se contaron las colonias de cada placa después 5 días de incubación y el resultado se expresa como: UFC/mL de mohos en Agar Papa Dextrosa acidificado, incubadas a 25 ± 1°C durante 5 días y UFC/mL de levaduras en agar papa-dextrosa acidificado, incubadas a 25 ± 1°C durante 3 días.

#### **7.5 Determinación del contenido de polifenoles totales**

Se determinó el contenido de Polifenoles Totales (PT) en el extracto de flor de jamaica, en el mosto previo a la fermentación y en el vino resultante, mediante el Protocolo de Folin-Ciocalteu descrito en Mitrevska *et al.* (2020).

Las medidas se realizaron mezclando 2340 µL de agua destilada con 150 µL de reactivo de Folin-Ciocalteu y 60 µL de la muestra diluida en una relación 1:300 (muestra: agua destilada). Después de exactamente 1 min, se añadieron 450 µL de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> al 20 % (p/v). La mezcla se almacenó durante 1 h en oscuridad a temperatura ambiente y se leyó la absorbancia de la coloración azul resultante, susceptible de ser determinada a una longitud de onda de 750 nm, en un espectrofotómetro visible marca Thermo Scientific™ GENESYS 20. Se usó ácido gálico para obtener una curva de calibración con soluciones estándar dentro del rango de 0.001 a 0.014 mg/mL. Los resultados se expresan como mg de Equivalente de ácido gálico (mg EAG/100 mL de vino).

## 7.6 Determinación de la actividad antioxidante

Se determinó la actividad antioxidante del vino de flor de jamaica en estudio, de acuerdo con el método espectrofotométrico descrito por Brand Williams *et al.* (1995) con algunas modificaciones, basado en la decoloración del radical DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo).

Se elaboro una solución madre metanólica de DPPH al 0.06 mM. Se colocaron independientemente en tres celdas espectrofotométricas de 10 mm: un blanco constituido por 2.3 mL de etanol, un control con 2.3 mL de una solución de ácido gálico con una concentración de 0.1 mg/mL y, la muestra constituida por 2.3 mL de una dilución del vino en relación 1:100 (vino: metanol). El DPPH tiene una banda de absorción importante en el rango de 515 a 520 nm, por lo cual se leyó la absorbancia inicial del blanco ( $A_0$ ) a una longitud de onda de 517 nm, con un espectrofotómetro visible marca Thermo Scientific™ GENESYS 20. Inmediatamente se añadieron 0.7 mL de la solución de DPPH a cada una de las celdas y se mantuvieron en oscuridad durante 1 h. Al finalizar el tiempo de reacción se midió la absorbancia final de cada una de las celdas a la longitud de onda antes mencionada. La disminución de la absorbancia se expresó como el %AA de acuerdo con la Ecuación 6.

$$\% AA = \frac{(A_f - A_0) - (A_m - A_0)}{(A_f - A_0)} \times 100 \quad (6)$$

Donde  $A_0$  es la absorbancia inicial del blanco,  $A_f$  es la absorbancia final del blanco,  $A_m$  es la absorbancia final de la muestra.

## 7.7 Evaluación sensorial del vino

Se realizaron pruebas hedónicas de cinco puntos para el vino de jamaica producido en esta investigación y para un vino comercial artesanal de jamaica Casa Robredo®. Las muestras de vino de jamaica fueron evaluadas en el laboratorio de Bromatología y Biotecnología (FCQ4, 105) de la Facultad de Ciencias Químicas, BUAP. El panel incluyo a 45 jueces no entrenados (hombres y mujeres), mayores de 18 años y que tenían preferencia por los vinos.

Los vinos se enfriaron a 4 °C durante 24 h antes de la evaluación sensorial, posteriormente las muestras de vino se sirvieron en vasos transparentes con capacidad de 1 onza, codificados con números aleatorios de tres dígitos, 308 y 459, para el vino comercial y para el vino producido, respectivamente.

Cada panelista recibió las dos muestras de vino en un orden de presentación aleatorio y un vaso de agua para enjuagar. Se les proporcionó un lapicero y una hoja donde se les pidió evaluar las muestras de vino en cuanto a color, olor, sabor y apariencia general, en una escala hedónica de cinco puntos donde 1 – me disgusta mucho, 2 – me disgusta, 3 – ni me gusta ni me disgusta, 4 – me gusta y 5 – me gusta mucho.

No se permitió ninguna conversación entre panelistas durante el proceso de evaluación, a cada panelista se le proporcionó suficiente privacidad para evitar valoraciones sesgadas.

## 8. ANÁLISIS DE RESULTADOS

### 8.1 Estandarización del mosto de flor de jamaica.

A partir de la caracterización fisicoquímica del extracto acuoso de cálices de jamaica obtenido de la relación 1: 3 (p/v) se determinó la cantidad de componentes a emplearse en la vinificación. La caracterización fisicoquímica del extracto de jamaica y del mosto estandarizado previo a la fermentación se indica en la Tabla 4. En el extracto de jamaica la concentración de iones de hidrógeno reveló un valor de pH inicial de 2.5, valor que posteriormente fue ajustado a 3.6 mediante la adición de bicarbonato de sodio. De acuerdo con González (2012) los valores óptimos de pH para el inicio de la fermentación del mosto se encuentran entre 3.0 y 3.6, son valores que impiden la proliferación de microorganismos patógenos y evitan que el proceso fermentativo se desarrolle lentamente. Por ende, el valor de pH ajustado fue el adecuado para dar inicio con el proceso fermentativo.

**Tabla 4.** Caracterización fisicoquímica del extracto inicial y del mosto estandarizado

Parámetro	Unidad	Resultado	
		Extracto inicial	Mosto corregido
pH		2.5	3.6
Acidez titulable	g/L	22.83 ± 0.37	5.55 ± 0.37
Sólidos solubles totales	°Brix	3.10 ± 0.10	22.53 ± 0.12

Inicialmente, el extracto acuoso de jamaica presentó una concentración de ácidos orgánicos titulables de 22.83 ± 0.37 g/L respecto al ácido cítrico, la concentración se redujo a 5.55 ± 0.37 g/L mediante la adición de un 75.9% de agua destilada de acuerdo con la Ecuación 3, valor conforme a lo establecido por González (2012).

El contenido de SST iniciales tuvo un valor de 3.10 ± 0.10 °Brix, valor que fue estandarizado a 22.53 ± 0.12 °Brix a través de la adición de sacarosa, conforme a la Ecuación 4, este valor se encuentra dentro del rango óptimo inicial, reportado por González (2012), que va desde 20 a 24°Brix, con el cual se obtiene la máxima concentración posible de etanol en el vino.

Finalmente, el mosto fue adicionado con el inóculo y el nutriente requerido para llevar a cabo el proceso metabólico fermentativo.

## **8.2 Rendimiento del proceso**

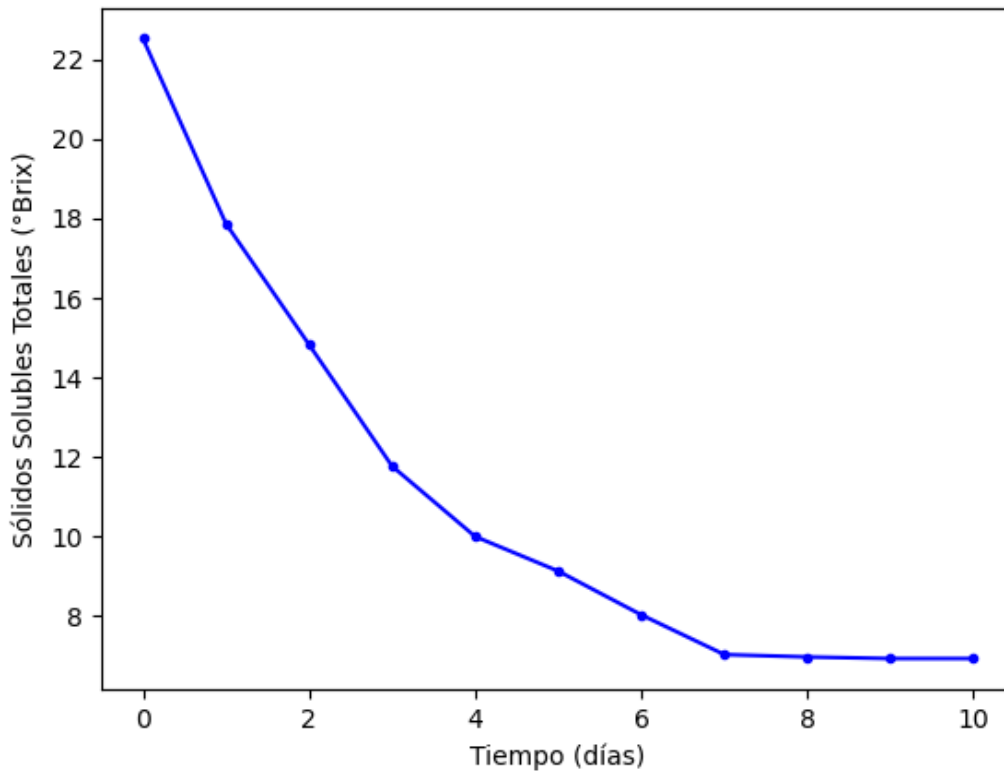
A partir del volumen total del mosto corregido de flor de jamaica, al estabilizarse el proceso fermentativo en el día 10 y después de un primer trasiego, se obtuvo un 82.71% de vino y un 17.29% de mermas, equivalentes a los cálices de jamaica fermentados, biomasa, muestras para análisis y pérdida por producción de CO<sub>2</sub>. Posterior a la clarificación y un segundo trasiego se obtuvo finalmente un rendimiento del 81.92%, un valor ligeramente bajo en comparación con el 85% al 96% que pueden alcanzar los vinos de uva (Bujan, 2003) esto a causa de la gran cantidad de restos orgánicos generados por los cálices de jamaica, que tienen un tamaño mayor a comparación de los restos orgánicos ocasionados por las uvas, los cuales tienen un peso y tamaño inferior, dando lugar a un mayor rendimiento en el proceso de vinificación.

## **8.3 Sólidos Solubles Totales (°Brix)**

El desarrollo de la fermentación alcohólica se refleja en la reducción del contenido de azúcares fermentables a lo largo del proceso. Los resultados expresados en la Figura 4 muestran una disminución en la concentración de SST durante la fermentación en función del tiempo, de  $22.53 \pm 0.12$  °Brix en el día 0, a  $6.93 \pm 0.6$  °Brix en el día 10. Fenómeno que es indicativo del consumo de los azúcares fermentables, por las levaduras, y consecuente obtención de los productos de la fermentación, principalmente etanol, CO<sub>2</sub> y glicerol.

La fermentación alcohólica fue parcial, evidenciada por la presencia de azúcares residuales, obteniéndose un valor final de  $6.93 \pm 0.6$  °Brix. De acuerdo con Núñez *et al.* (2021) la fermentación del mosto se prolonga o se interrumpe antes de completarse debido a la falta de compuestos nitrogenados específicos u otros factores de crecimiento que son necesarios para el desarrollo y funcionamiento de la levadura, lo que explica que el proceso fermentativo no se haya terminado completamente.

**Figura 4.** Consumo de sustrato (°Brix) durante el proceso de fermentación



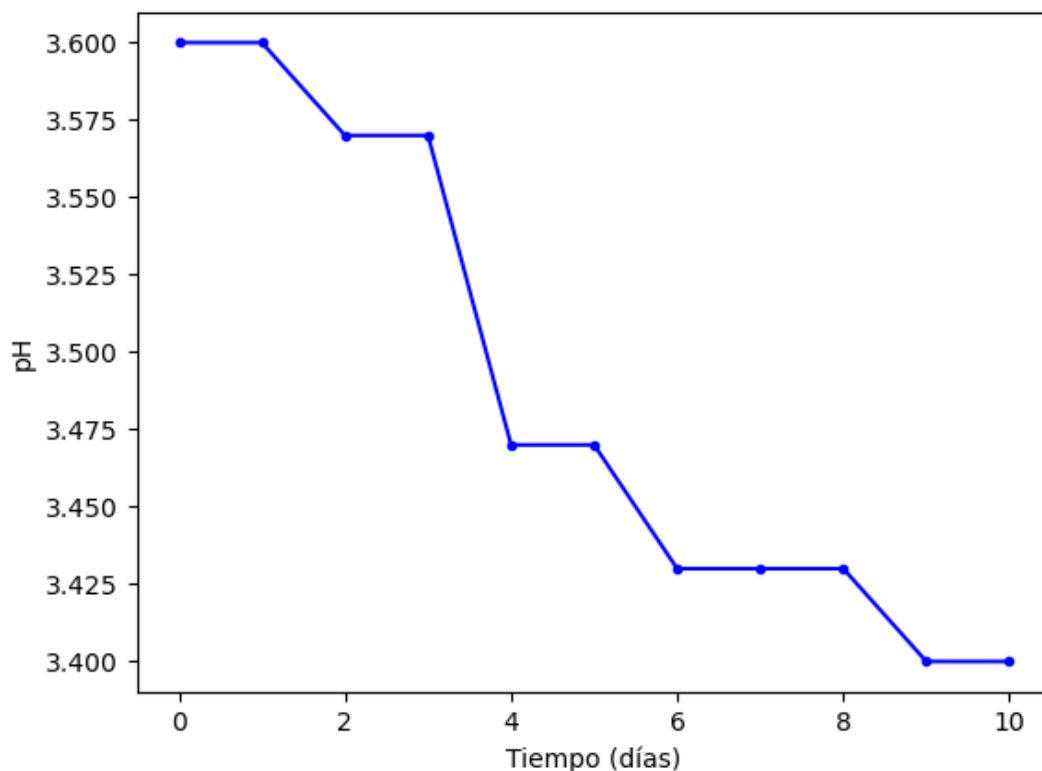
Se obtuvo un contenido final de SST por debajo de los valores reportados por Lee *et al.* (2013) quienes informaron que cuatro marcas diferentes de vino tinto mostraron un valor de 7.3 a 12.4 °Brix. De igual forma, se obtuvo un contenido inferior a lo descrito por Sobowale *et al.* (2021) los cuales reportan un valor de 10.12 °Brix para un vino elaborado a base de cálices de jamaica. Como consecuencia del contenido de SST en el vino producido, la percepción del sabor ácido era elevado, por tal razón, se ajustó el contenido final de SST del vino a 10.3°Brix por medio de la Ecuación 4, lo que fomentó la armonía sensorial entre el contenido de los ácidos orgánicos y los azúcares presentes, principales descriptores de la química del vino (Tsegay, 2020).

#### **8.4 pH**

La concentración de iones de hidrógeno reveló un valor inicial de pH de 3.6 en el mosto estandarizado previo al proceso fermentativo. En la Figura 5 se presenta la evolución del

pH a través del tiempo durante el proceso de fermentación alcohólica, donde se aprecia que el valor inicial de 3.6 sufrió un decremento a medida que sucedía el proceso de vinificación, hasta llegar a un valor de pH de 3.4, transcurridos 10 días.

**Figura 5.** Variación del pH durante el proceso de fermentación



El valor final de pH del vino producido es acorde con lo reportado por Lee *et al* (2013) quienes informan que las concentraciones de iones de hidrógeno en cuatro marcas diferentes de vino tinto mostraron un pH aproximado de 2.8 a 3.54.

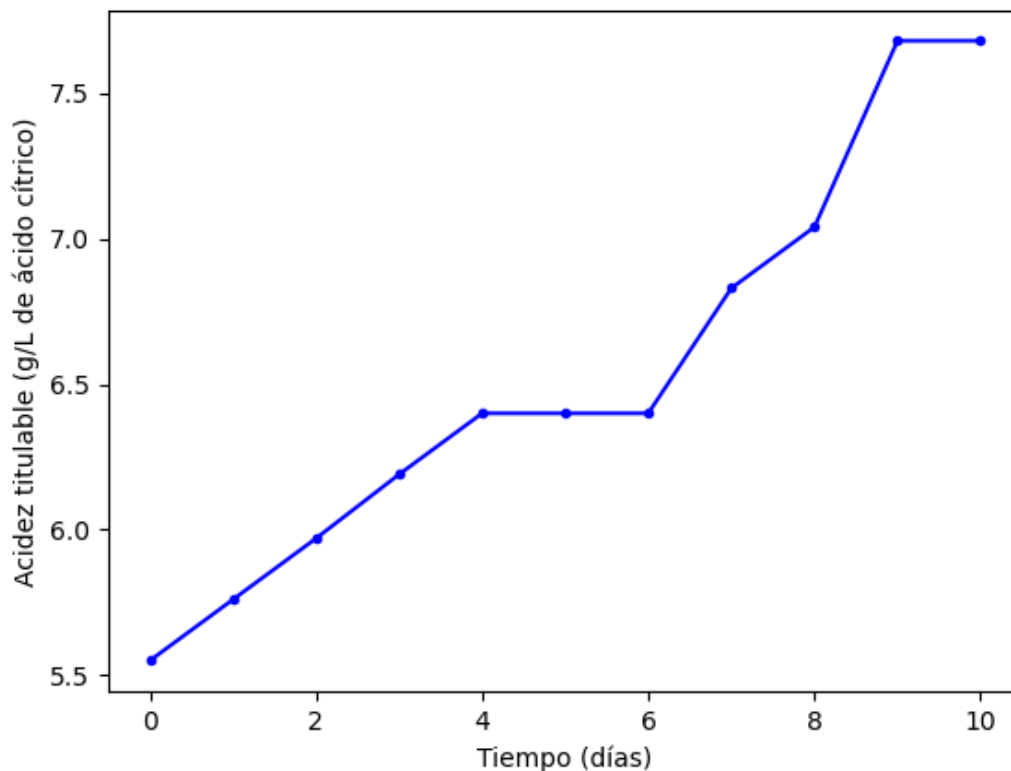
La disminución en el valor de pH durante la fermentación alcohólica es el resultado del aumento en la concentración de ácidos orgánicos parcialmente disociados en el medio, a través del contacto directo con la fracción líquida durante el proceso fermentativo y a causa de la producción secundaria de ácidos orgánicos débiles propios del proceso, cuya concentración fue lo suficientemente alta para reducir el pH y para compensar el aumento

de cationes, principalmente potasio y calcio, extraídos de los cálices de jamaica durante el proceso de fermentación alcohólica.

### 8.5 Acidez Titulable

Los ácidos orgánicos, expresados como AT, son los principales responsables del sabor ácido que se percibe en el vino, por lo cual, su concentración impacta directamente en la calidad sensorial del producto. El valor de AT estandarizado previo al proceso de fermentación alcohólica fue de  $5.55 \pm 0.37$  g/L de ácido cítrico. En la Figura 6 se muestra la evolución de la AT a través del tiempo, durante el proceso fermentativo, donde se refleja un aumento en la concentración de  $5.55 \pm 0.37$  g/L de ácido cítrico iniciales, a 7.68 g/L de ácido cítrico al estabilizarse la fermentación alcohólica a los 10 días.

**Figura 6.** Variación de la acidez titulable (AT) durante el proceso de fermentación



El incremento de la concentración de ácidos orgánicos titulables durante la fermentación es el resultado de la extracción de dichos compuestos a partir de los cálices de jamaica, a través del contacto directo con la fracción líquida durante el proceso fermentativo,

donde la concentración creciente de etanol facilita dicha extracción al actuar como codisolvente (junto con el agua).

Así mismo, el incremento de la concentración de ácidos orgánicos titulables se debe a la producción de ácidos orgánicos de carácter débil propios del proceso fermentativo, principalmente ácidos volátiles (ácido acético), ácido láctico y ácido succínico (Lee *et al.*, 2013). Ambos procesos mencionados impactan directamente en el aumento de la acidez del vino, fenómeno que también está asociado con la reducción del pH.

Finalmente, el vino producido posee un 0.76% (p/v) de ácidos orgánicos con respecto al ácido cítrico, resultado que de acuerdo con Chilaka *et al.* (2010) se encuentra dentro del rango de AT que presentan los vinos de alta calidad, que va desde el 0.5% hasta el 1.0% (p/v). Esta cantidad de ácidos orgánicos titulables son los responsables de ayudar a generar una armonía en el sabor del vino producido.

## **8.6 Grado alcohólico**

El grado alcohólico es el reflejo de la cantidad de azúcar consumida durante el proceso de fermentación. En el vino producido en esta investigación, la fermentación parcial dio como resultado un grado alcohólico del 9.24% de alcohol por volumen, después de 10 días de fermentación, valor inferior a lo reportado por Ifie *et al.* (2016) quienes señalaron que el vino de jamaica obtenido después de 40 días de fermentación tuvo un contenido de alcohol del  $11.53 \pm 1.04$  % vol. Caso contrario, se obtuvo un grado alcohólico superior al del vino artesanal de jamaica Casa Robredo® y al del vino de jamaica elaborado por Zamora *et al.* (2018), los cuales presentaron un grado alcohólico de 5.5 % vol y 6.0 % vol, respectivamente.

Por otro lado, se obtuvo un valor cercano a lo reportado por Sobowale *et al.* (2021) quienes de manera similar elaboraron un vino de jamaica a partir de un extracto acuoso, en proporción 1:15 (p/v), obteniendo un grado alcohólico de 10.18 %vol. Estas disimilitudes en el grado alcohólico de los vinos son el resultado de las variaciones en los procesos de vinificación seguidos para su obtención, que pueden ir desde las diferencias en las características fisicoquímicas de los mostos, hasta el tiempo de fermentación.

## 8.7 Análisis microbiológico

En la Tabla 5 se muestran los resultados obtenidos de las pruebas microbiológicas.

**Tabla 5.** Análisis microbiológico del vino de flor de jamaica

Parámetros	Unidades	Resultados obtenidos
Recuento de bacterias mesofílicas aerobias (BMA)	UFC/mL	70
Recuento de coliformes totales (CT)	UFC/mL	0
Recuento de mohos	UFC/mL	0
Recuento de levaduras	UFC/mL	145

En los recuentos de BMA se obtuvo un valor promedio de 70 UFC/mL de vino, en placa con agar para cuenta estándar, incubadas durante  $48 \pm 2$  h a  $35^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ , este valor es inferior a lo descrito por Mounigan y Badrie (2006), quienes señalan un rango de recuentos aeróbicos totales de 679 a 1175 UFC/mL incubados a  $35^\circ\text{C}$  durante 48h, en vinos de jamaica con diferentes formulaciones.

El recuento de CT en el vino elaborado dio un valor de 0 UFC/mL, en placa de agar rojo violeta bilis, incubadas a  $35^\circ\text{C}$  durante  $24 \pm 2$  h.

Los recuentos de mohos dieron un resultado de 0 UFC/mL de vino, en agar papa dextrosa acidificado, incubadas a  $25 \pm 1^\circ\text{C}$  durante 5 días y el recuento promedio de levaduras fue de 145 UFC/mL de vino, en agar papa dextrosa acidificado, incubadas a  $25 \pm 1^\circ\text{C}$  durante 3 días, valores inferiores a lo descrito por Mounigan y Badrie (2006), quienes reportan un rango de mohos y levaduras de 162 a 692 UFC/mL en vinos de jamaica con diferentes formulaciones, incubados a  $25^\circ\text{C}$  durante 48h. Estas diferencias en los recuentos microbiológicos son el resultado de las distintas condiciones sanitarias, así como, las variaciones metodológicas para la obtención de los vinos, entre ellas, el efecto del metabisulfito agregado, siendo menor la cantidad añadida en la investigación realizada por Mounigan y Badrie (2006) lo que daría lugar a una permanencia mayor de microorganismos, mientras que, la cantidad de metabisulfito añadida en el vino de jamaica elaborado (225 ppm, valor dentro del rango permitido) presenta una mayor acción inhibitoria sobre los microorganismos.

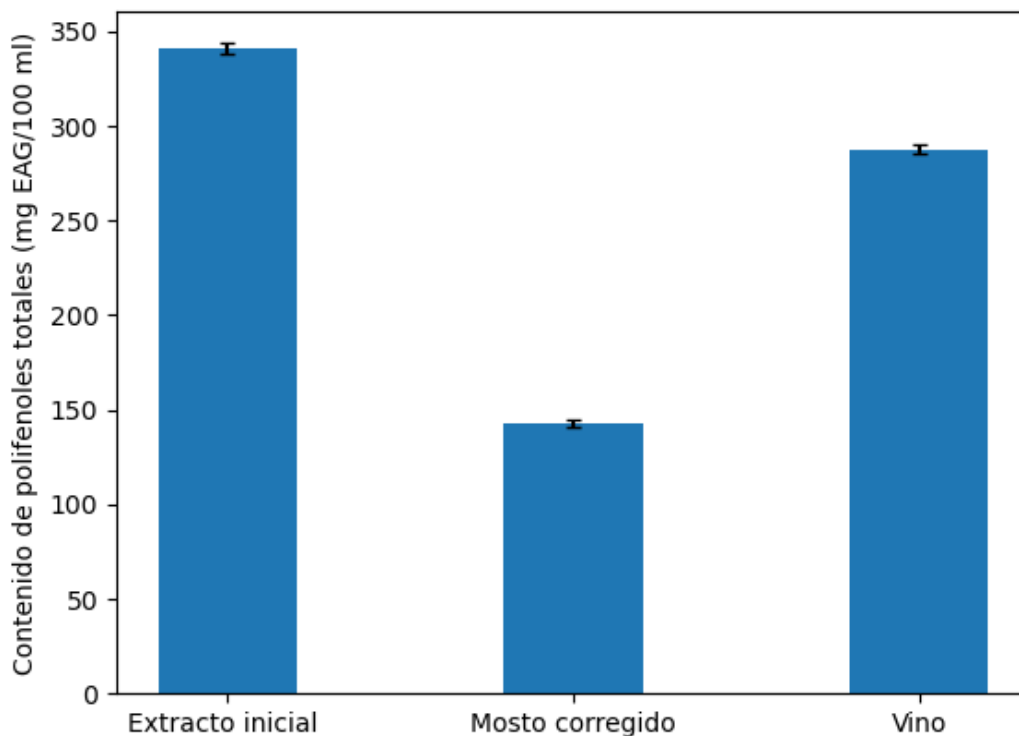
Legalmente no existen límites para el contenido de bacterias mesofílicas aerobias, coliformes totales, mohos y levaduras en vinos, estos microorganismos son indicadores de su calidad e inocuidad, un recuento elevado o que varía considerablemente entre las muestras, indica una alta probabilidad de un control microbiológico inadecuado durante el proceso, lo que incrementa el riesgo de presencia de microorganismos patógenos.

Dado lo anterior y a que el recuento de microorganismos no es considerablemente elevado, se considera al vino de jamaica producido como apto para consumo humano.

### **8.8 Polifenoles totales**

A partir de la elaboración de la recta de calibración de ácido gálico presentada en el Anexo I y, mediante las mediciones espectrofotométricas reportadas en el Anexo II, se obtuvieron las concentraciones de PT en el extracto de flor de jamaica, en el mosto previo a la fermentación y en el vino producido y estos se muestran en los resultados son representados en la figura 7.

**Figura 7.** Contenido de polifenoles totales (PT) en el extracto inicial, en el mosto previo a la fermentación y en el vino producido



El extracto acuoso inicial de cálices de jamaica en relación 1:3 (p/v) presentó un contenido de PT de  $340.89 \pm 2.94$  mg EAG/100 mL.

Posteriormente se observa que el mosto previo a la fermentación, estandarizado mediante la adición de un 75.9% de agua, tuvo un valor de PT de  $142.94 \pm 1.72$  mg EAG/100 mL, valor superior a lo reportado por Ifie *et al.* (2016) y López *et al.* (2019), que indican que el mosto de jamaica tuvo un valor inicial de  $74.3 \pm 3.4$  mg EAG/100 mL y  $79.13 \pm 3.9$  mg EAG/100 mL, respectivamente. Estas diferencias significativas se deben a la disimilitud en los procesos para la obtención de los mostos, en lo reportado por Ifie *et al.* (2016) la extracción de la jamaica se realizó usando agua destilada a 30 °C por 1 h, y la relación de cálices deshidratados a agua fue 1:35 (p/v), mientras que, en lo reportado por López *et al.* (2019) el mosto de jamaica fue elaborado con 70% de agua y 30% de cálices frescos, mediante estrujamiento.

Después del proceso de vinificación, la cantidad de PT obtenidos en el vino es significativamente superior en comparación al contenido en el mosto inicial, dando un valor de  $287.84 \pm 2.05$  mg EAG/100 mL después de 10 días de fermentación, cifra superior a lo reportado por Ifie *et al.* (2016) quienes señalan que el vino de jamaica obtenido después de 40 días de fermentación tuvo un contenido de  $136.3 \pm 4.4$  mg EAG/100 mL, valor similar a lo reportado por López *et al.* (2019) quienes obtuvieron una cifra de  $144.14 \pm 1.5$  mg EAG/100 mL, después de 29 días de fermentación.

El contenido de PT del vino de jamaica producido en esta investigación tiene un valor dentro del rango reportado para vinos tintos elaborados a base de uva, de acuerdo con Gutiérrez *et al.* (2021) los vinos tintos tienen una concentración de PT entre 100 a 500 mg EAG/100 mL.

El importante incremento del contenido polifenólico después del proceso de vinificación del mosto es el resultado del aumento de la concentración de etanol producido como consecuencia del proceso de fermentación alcohólica, que actúa como codisolvente (junto con el agua), lo que propicia una mayor extracción de los PT de los cálices de jamaica presentes en el medio. Este alto contenido de PT está directamente relacionado con la actividad antioxidante, además, contribuye en muchas de sus propiedades sensoriales como apariencia, pigmentación rojiza, aportan astringencia, amargor, entre otras.

A pesar de que el ensayo de Folin Ciocalteu carece de especificidad (azúcares, ácido ascórbico, aminas aromáticas y otras moléculas podrían interferir), es una prueba útil para obtener información preliminar sobre el contenido fenólico total del vino (Di Lorenzo *et al.*, 2017).

### **8.9 Actividad antioxidante**

La capacidad antioxidante del vino de flor de jamaica se calculó mediante el método de DPPH como porcentaje de actividad antioxidante (%AA) dando un resultado de  $74.57 \pm 1.01$  % en la dilución 1:100 (vino:metanol). Dicho resultado, está dentro de los rangos descritos para vinos tintos elaborados a base de uva de acuerdo con Bajčan *et al.* (2012) y Bajčan *et al.* (2016), que van de 71.0 a 86.4 % y 69.0 a 84.2 %, respectivamente. Por otro lado, el resultado obtenido es mayor en comparación con el rango de %AA para

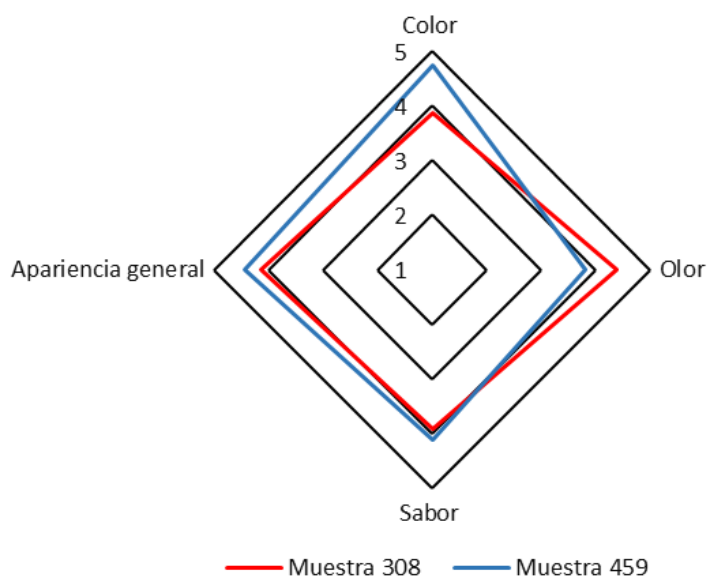
vinos elaborados a partir de mango, piña y maracuyá en distintas formulaciones, que va desde 41.27 a 45.26%, de acuerdo con lo reportado por Zubia y Dizon (2019).

De ahí que, es posible determinar que la actividad antioxidante del vino elaborado en esta investigación es similar a la actividad antioxidante de los vinos tintos elaborados a base de uva.

### **8.10 Evaluación sensorial**

La calidad sensorial de los vinos depende de la armonía de los diferentes compuestos presentes en el medio. Para determinar el grado de aceptabilidad sensorial se evaluó mediante una prueba hedónica de cinco puntos donde a partir de jueces no entrenados se llevó a cabo la evaluación sensorial (Anexo III), la tendencia de las puntuaciones medias de los atributos sensoriales evaluados del vino de jamaica producido, muestra 459, y del vino comercial artesanal de jamaica Casa Robredo®, muestra 308, se muestran en la figura 8.

**Figura 8.** Diagrama de araña de las puntuaciones sensoriales medias de las muestras de vino de jamaica



El vino elaborado obtuvo la puntuación más alta en términos de color, con un valor de  $4.73 \pm 0.45$ , en sabor con  $4.11 \pm 0.80$  y en apariencia general con  $4.44 \pm 0.59$ , a comparación del vino artesanal de jamaica Casa Robredo®, que tuvo puntuaciones de color, sabor y apariencia general de  $3.87 \pm 0.66$ ,  $3.93 \pm 0.78$  y  $4.13 \pm 0.73$ , respectivamente. En contraparte, el vino artesanal de jamaica Casa Robredo® tuvo una puntuación mayor en el olor con un valor de  $4.38 \pm 0.78$ , a comparación del vino de jamaica elaborado que tuvo una puntuación de  $3.80 \pm 0.92$ .

De forma adicional los comentarios abiertos de los panelistas sobre los vinos se basaron en el color atractivo de la muestra 459, así como la presencia de un sabor amargo, astringente y afrutado. Con respecto al olor, los comentarios declararon que se tuvo un olor a fermentado de alta intensidad. Los panelistas afirmaron que la muestra 308 (vino artesanal de jamaica Casa Robredo®) presentó un sabor ácido y amaderado, con un olor agradable ligeramente dulce pero un color poco llamativo. En cuanto al contenido de alcohol, no hubo diferencias sensoriales significativas entre las muestras de vino evaluadas.

De acuerdo con Mounigan y Badrie (2006), el color del vino se toma a menudo como un índice de palatabilidad y valor nutricional. Esto gracias a los beneficios para la salud que se asocian con la presencia de antocianinas, que aportan la coloración roja característica. Es así como, el color llamativo rojo intenso que presenta el vino de jamaica elaborado en esta investigación, es el resultado de la alta cantidad de pigmentos flavonoides provenientes de los cálices de jamaica que son transferidos al vino y que, además, le proporcionan un importante valor nutricional.

El sabor, otra de las propiedades principales que determinan la aceptabilidad y calidad, está directamente relacionado con la composición química del vino. De acuerdo con los resultados de la evaluación sensorial del vino elaborado, este presenta un sabor amargo, astringente y afrutado. Según lo descrito por Sobowale *et al.* (2021), estas son características que presentan los vinos tintos que contienen una alta cantidad de polifenoles totales, debido a que estos compuestos contribuyen a la astringencia, amargor y a otras sensaciones táctiles. Por otro lado, un alto contenido de ácidos orgánicos en el vino daría lugar a un sabor extremadamente ácido, lo que se convierte en una característica indeseable para el consumidor.

De acuerdo con Velic *et al.* (2018), los compuestos volátiles presentes en los vinos son los responsables del olor, estos compuestos pueden ser producidos por la propia especie vegetal con la cual se elabora el vino, también como subproductos de la fermentación alcohólica y maloláctica (aroma fermentativo), y pueden ser formados durante el embotellado y el almacenamiento del vino. En el vino elaborado en esta investigación, de acuerdo con los comentarios de los panelistas, se tuvo un aroma a fermentado con alta intensidad lo que es indicativo de que gran parte de los compuestos volátiles que aportan dicho aroma fueron producto del proceso fermentativo. Los ésteres, alcoholes superiores, ácidos orgánicos y otros compuestos forman parte de los compuestos volátiles que generalmente contribuyen al perfil de sabor y/o aroma de los vinos. También hay muchos compuestos volátiles y no volátiles menores que se suman al aroma de los vinos, como aldehídos, cetonas, lactonas, terpenos y fenoles (Velic *et al.*, 2018).

## 9. CONCLUSIONES

- Se logró adaptar el proceso clásico de elaboración de vino para aplicarlo a los cálices de flor de jamaica deshidratados.
- Se estandarizaron los parámetros fisicoquímicos de SST, pH y AT del mosto obtenido a partir de los cálices de jamaica, convirtiéndola en una materia prima óptima para la producción de vino.
- En el transcurso del proceso fermentativo, la cantidad de SST y el valor de pH se redujeron, mientras que, la AT y el contenido de polifenoles totales aumentaron, fenómeno propio de la vinificación.
- El vino obtenido presentó valores de pH y de acidez titulable, que promueven el mantenimiento de su vida útil.
- Se logró una extracción parcial del contenido polifenólico de los cálices de flor de jamaica y, su consecuente transferencia al vino como resultado del contacto directo de los cálices con la fracción líquida, en la cual a través del tiempo aumentaba la concentración de etanol, con efecto codisolvente.
- El vino elaborado presentó un alto contenido final de polifenoles totales y actividad antioxidante.
- El análisis microbiológico indicó la elaboración de un vino inocuo y apto para consumo humano, mientras que, la evaluación sensorial evidenció una alta aceptación.
- El proceso de fermentación permitió transformar a los cálices de jamaica en un producto con valor agregado, aprovechando aún más, las propiedades funcionales que presenta y que son benéficas para la salud, destacando el aporte de antioxidantes naturales.

## 10. RECOMENDACIONES

- Evaluar la vida útil del vino.
- Buscar mejorar el olor del vino para reducir la percepción de fermentación y volverlo más aceptable para el consumidor.
- Usar fuentes de nutrientes adicionales para la levadura, con el objetivo de obtener una fermentación total del mosto.
- Usar cepas de levaduras distintas a la usada en esta investigación y evaluar las características sensoriales y antioxidantes.

## 11. BIBLIOGRAFÍA

- Adanlawo, I. G., & Ajibade, V. A. (2006). Nutritive value of the two varieties of roselle (*Hibiscus sabdariffa*) calyces soaked with wood ash. *Pakistan Journal of Nutrition*, 5(6), 555-557.
- Alobo, A. P., & Offonry, S. U. (2009). Characteristics of colored wine produced from roselle (*Hibiscus sabdariffa*) calyx extract. *Journal of the Institute of Brewing*, 115(2), 91-94.
- Ariza-Flores, R., Serrano-Altamirano, V., Navarro-Galindo, S., Ovando-Cruz, M. E., Vázquez-García, E., Barrios-Ayala, A., & Otero-Sánchez, M. A. (2014). Variedades mexicanas de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) Alma Blanc y Rosalíz de color claro, y Cotzaltzin y Tecoanapa de color rojo. *Revista fitotecnia mexicana*, 37(2), 181-185.
- Association of Official Analytical Chemists [AOAC]. (2012). Official Methods of Analysis (19th ed.). Washington, D.C.: AOAC.
- Bajčan, D., Čéryová, S., & Tomáš, J. (2012). Antioxidant properties of the bestselling Slovak red wines. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 455-465.
- Bajčan, D., Vollmannová, A., Šimanský, V., Bystrická, J., Trebichalský, P., Árvay, J., & Czako, P. (2016). Antioxidant activity, phenolic content and colour of the Slovak Cabernet Sauvignon wines. *Potravinarstvo*, 10(1).
- Benítez-Estrada, A, Villanueva-Sánchez, J, González-Rosendo, G, Alcántar-Rodríguez, V, Puga-Díaz, R, & Quintero-Gutiérrez, A., (2020). Determinación de la capacidad antioxidante total de alimentos y plasma humano por fotoquimioluminiscencia: Correlación con ensayos fluorométricos (ORAC) y espectrofotométricos (FRAP). *TIP. Revista especializada en ciencias químico-biológicas*, 23, e20200244
- Borrás-Linares, I., Fernández-Arroyo, S., Arráez-Roman, D., Palmeros-Suárez, P. A., Del Val-Díaz, R., Andrade-González, I., Segura-Carretero, A. (2015). *Characterization of phenolic compounds, anthocyanidin, antioxidant and antimicrobial activity of 25 varieties of Mexican Roselle (Hibiscus sabdariffa)*. *Industrial Crops and Products*, 69, 385–394. doi:10.1016/j.indcrop.2015.02.053.
- Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebenson Wiss Technol*; 28:25-30.
- Castellucci, F. (2010). Análisis microbiológico del vino y del mosto. *OIV/OENO (Asamblea General de la OIV)*. Resolución OIV/OENO, 206.
- Catania, C., & Avagnina, S. (2007). Implicancias organolépticas de los polifenoles del vino. *Curso Superior de Degustación de vinos*. EEA Mendoza. INTA.

- Čeryová, N., Bajčan, D., Lidiková, J., Musilová, J., Šnirc, M., Jančo, I., Franková, H., & Bláhová, M. (2021). PHENOLIC CONTENT AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF SLOVAK VARIETAL WINES OF MUSCAT TYPE. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 10(5), e4292. [doi.org/10.15414/jmbfs.4292](https://doi.org/10.15414/jmbfs.4292)
- Chang, C.C., Yang, M.H., Wen, H.M., Chern, J.C. (2002). Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colourimetric methods. *Journal of Food and Drug Analysis*, 10(3), 178-182. [doi.org/10.38212/2224-6614.2748](https://doi.org/10.38212/2224-6614.2748)
- Chilaka, C. A., Uchechukwu, N., Obidiegwu, J. E., & Akpor, O. B. (2010). Evaluation of the efficiency of yeast isolates from palm wine in diverse fruit wine production. *African Journal of Food Science*, 4(12), 764-774.
- Ciani, M, Comitini, F. & Mannazzu, I. (2008). Fermentation. *Encyclopedia of Ecology*. Academic Press. Pag. 1548-1557. ISBN 978008045405
- Cid-Ortega, S., & Guerrero-Beltrán, J. A. (2012). Propiedades funcionales de la jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.). *Temas selectos de ingeniería de alimentos*, 6(2), 47-63.
- de Piérola, J. G. F. (2018). El papel de la selección de levaduras en la elaboración del vino. *Cuadernos del Tomás*, (10), 169-198.
- Dengo-González, D., & Mora-Pereira, J. (2016). Evaluación del proceso de elaboración artesanal de vino orgánico de mora (rubus) para la asociación aprocima, utilizando una enzima pectolítica, para mejorar la extracción del jugo de la fruta.
- Di Lorenzo, C., Badea, M., Colombo, F., Orgiu, F., Frigerio, G., Pastor, R. F., & Restani, P. (2017). *Antioxidant activity of wine assessed by different in vitro methods*. *BIO Web of Conferences*, 9, 04008. [doi:10.1051/bioconf/20170904008](https://doi.org/10.1051/bioconf/20170904008)
- Fernández, V, Berradre, M, Sulbarán, B, Ojeda de Rodríguez, G, & Peña, J. (2009). Caracterización química y contenido mineral en vinos comerciales venezolanos. *Revista de la Facultad de Agronomía*, 26(3), 382-397. [http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0378-78182009000300005&lng=es&tlng=es](http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0378-78182009000300005&lng=es&tlng=es)
- Flieger, J., & Flieger, M. (2020). The [DPPH•/DPPH-H]-HPLC-DAD Method on tracking the antioxidant activity of pure antioxidants and goutweed (*Aegopodium podagraria* L.) Hydroalcoholic Extracts. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 25(24), 6005. [doi.org/10.3390/molecules25246005](https://doi.org/10.3390/molecules25246005)
- González, M. (2012). *Elaboración artesanal de vino de frutas: Una guía para fabricar vinos a la medida* (Primera ed., Vol. I). México: Kindle.
- Gulcin, İ. (2020). *Antioxidants and antioxidant methods: an updated overview*. *Archives of Toxicology*. [doi:10.1007/s00204-020-02689-3](https://doi.org/10.1007/s00204-020-02689-3)

- Gutiérrez-Escobar, R., Aliaño-González, M. J., & Cantos-Villar, E. (2021). *Wine Polyphenol Content and Its Influence on Wine Quality and Properties: A Review. Molecules*, 26(3), 718. doi:10.3390/molecules26030718
- Hidalgo, Y., Hatta, B., & Palma, J. C. (2016). Influencia del nivel de fermentación del vino base sobre algunos compuestos volátiles del pisco peruano de uva italia. *Revista de la Sociedad Química del Perú*, 82(2), 128-141.
- Ifie, I., Marshall, L. J., Ho, P., & Williamson, G. (2016). Hibiscus sabdariffa (Roselle) extracts and wine: Phytochemical profile, physicochemical properties, and carbohydrase inhibition. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64(24), 4921-4931.
- Jakabová, S.; Fikselová, M.; Mendelová, A.; Ševčík, M.; Jakab, I.; Aláčová, Z.; Kolačková, J.; Ivanova-Petropulos, V. (2021). Chemical composition of white wines produced from different grape varieties and wine regions in Slovakia. *Appl. Sci.*, 11, 11059. doi.org/10.3390/app112211059
- Le Jeune, C., Lollier, M., Demuyter, C., Erny, C., Legras, J. L., Aigle, M., & Masneuf-Pomarede, I. (2007). Characterization of natural hybrids of *Saccharomyces cerevisiae* and *Saccharomyces bayanus* var. uvarum. *FEMS yeast research*, 7(4), 540-549.
- Lee, J. H., Choi, K. H., Kim, S. H., Park, K. S., Park, S. H., Kim, J. S., ... & Jang, K. H. (2013). Physicochemical characteristics and electric conductivity of various fruit wines. *International Food Research Journal*, 20(6).
- López, C., González Gallardo, C., Guerrero Ochoa, M. J., Mariño, G., Jácome, B., & Beltrán Sinchiguano, E. (2019). Estudio de la Estabilidad de los Antioxidantes del Vino de Flor de Jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L) en el Almacenamiento. *LA GRANJA. Revista de Ciencias de la Vida*, 29(1), 105-118.
- Mármol, V. (2016). Estudio de la capacidad antioxidante y contenido de polifenoles en el proceso de fermentación del mosto de flor de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) utilizando cálices frescos. Tesis inédita de pregrado. Quito. Recuperado de <http://repositorio.ute.edu.ec>
- Mayoral, J. B., Hernández, M. V., & Silveti-Loeza, A. (2019). Análisis de la actividad antioxidante en la flor de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) mediante las técnicas FRAP y DPPH. *RD-ICUAP*, 5(14).
- Meza-Chavarría, P. (2012). Guía: Flor de Jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) e (Hibiscus cruento Bertol). Asociación para el Desarrollo EcoSostenible ADEES. Recuperado el 5 de julio de 2022, a partir de: <http://www.adeesnic.org/wp-content/uploads/2012/02/Gu%C3%ADaFlor-de-Jamaica.pdf>

- Mitrevska, K.; Grigorakis, S.; Loupassaki, S.; Calokerinos, A.C (2020). Antioxidant Activity and Polyphenolic Content of North Macedonian Wines. *Appl. Sci*, 10, 2010. [doi.org/10.3390/app10062010](https://doi.org/10.3390/app10062010)
- Montalvo-González, E., Villagrán, Z., González-Torres, S., Iñiguez-Muñoz, L. E., Isiordia-Espinoza, M. A., Ruvalcaba-Gómez, J. M., Arteaga-Garibay, R. I., Acosta, J. L., González-Silva, N., & Anaya-Esparza, L. M. (2022). Physiological Effects and Human Health Benefits of *Hibiscus sabdariffa*: A Review of Clinical Trials. *Pharmaceuticals (Basel, Switzerland)*, 15(4), 464. [doi.org/10.3390/ph15040464](https://doi.org/10.3390/ph15040464)
- Moreno, C. (2017). Estudio de estabilidad de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante de vino microfiltrado de flor de jamaica durante el almacenamiento. Tesis de grado, Universidad Técnica de Ambato. Ambato. Ecuador.
- Mounigan, P., & Badrie, N. (2006). Roselle/sorrel (*Hibiscus subdariffa* L.) wines with varying calyx puree and total soluble solids: Sensory acceptance, quantitative descriptive and physicochemical analysis. *Journal of Foodservice*, 17(2), 102-110.
- Mundaragi, A., Thangadurai, D., Appaiah, K. A. A., Dandin, C. J., & Sangeetha, J. (2019). Physicochemical Characterization, Antioxidant Potential and Sensory Quality of Wine from Wild Edible Fruits of *Flacourtia montana* J. Graham. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 62.
- NORMA Oficial Mexicana NOM-092-SSA1-1994, Bienes y servicios. Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa.
- NORMA Oficial Mexicana NOM-111-SSA1-1994, Bienes y servicios. Método para la cuenta de mohos y levaduras en alimentos.
- NORMA Oficial Mexicana NOM-113-SSA1-1994, Bienes y servicios. Método para la cuenta de microorganismos coliformes totales en placa.
- Núñez, L., Serratosa, M. P., Godoy, A., Fariña, L., Dellacassa, E., & Moyano, L. (2021). Comparison of physicochemical properties, amino acids, mineral elements, total phenolic compounds, and antioxidant capacity of Cuban fruit and rice wines. *Food Science & Nutrition*, 9(7), 3673-3682.
- Organización Internacional de la Viña y el Vino (OIV). (2018). Definición de los productos de la vid por ficha código Recuperado a partir de <https://www.oiv.int/es/normas-y-documentos-tecnicos/definicion-de-productos-y-etiquetado/definicion-de-los-productos-de-la-vid-por-ficha-codigo>.
- Patel, V., Tripathi, A. D., Adhikari, K. S., & Srivastava, A. (2021). Screening of physicochemical and functional attributes of fermented beverage (wine) produced from local mango (*Mangifera indica*) varieties of Uttar Pradesh using novel *saccharomyces* strain. *Journal of Food Science and Technology*, 58(6), 2206–2215. [doi.org/10.1007/s13197-020-04731-9](https://doi.org/10.1007/s13197-020-04731-9)

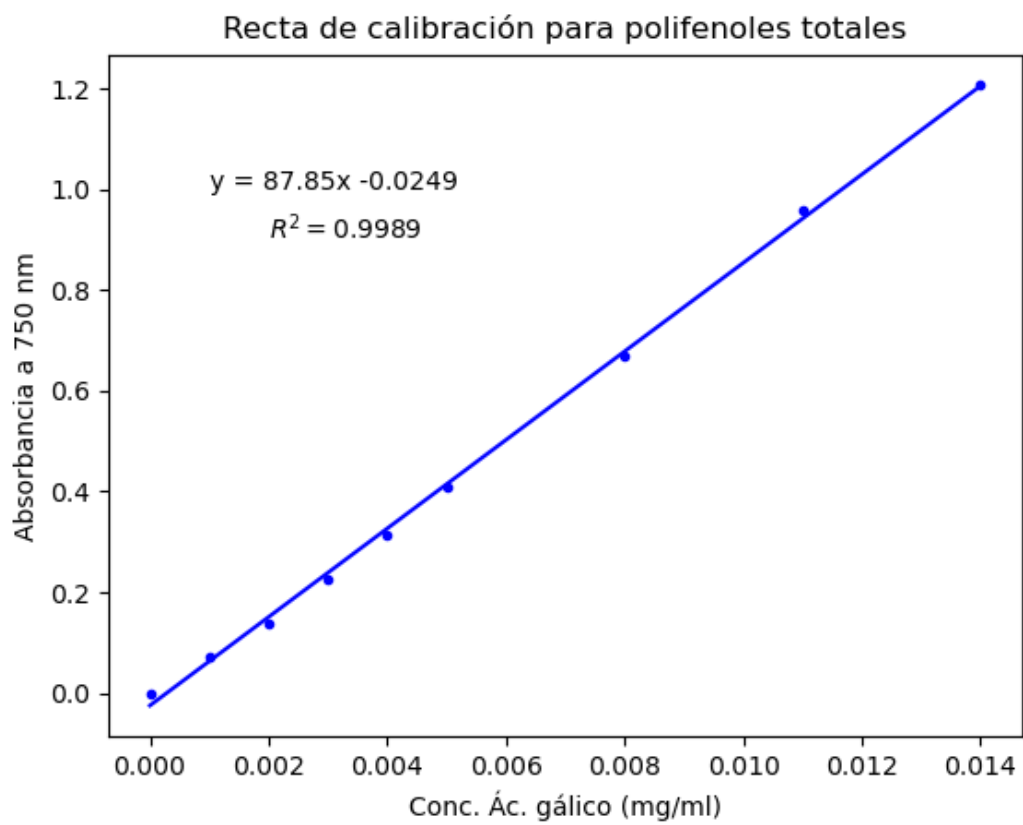
- Quiñones, M., Miguel, M., & Aleixandre, A. (2012). Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular. *Nutrición Hospitalaria*, 27(1), 76-89.
- Romanet, R., Coelho, C., Liu, Y., Bahut, F., Ballester, J., Nikolantonaki, M., & Gougeon, R. D. (2019). The Antioxidant Potential of White Wines Relies on the Chemistry of Sulfur-Containing Compounds: An Optimized DPPH Assay. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 24(7), 1353. [doi.org/10.3390/molecules24071353](https://doi.org/10.3390/molecules24071353)
- Ruiz, H. (2011). Desarrollo de un vino de mortiño (arándano) en la corporación Grupo Salinas de Ecuador. Pamplona, España: Universidad Pública de Navarra.
- Salazar Espinoza, G. A. (2010). Estudio de la influencia de tres variedades de Levaduras vínicas (*Saccharomyces bayanus* (lalvin Ec1118), *Saccharomyces Bayanus* (lalvin Qa23), *Saccharomyces cerevisiae* var. *cerevisiae* (lalvin icv opale)) Y levadura de panificación (*Saccharomyces cerevisiae*) En la calidad sensorial del vino de manzana, Variedad emilia (malus communis-reineta amarilla de Blenheim) (Bachelor's thesis).
- Salehi, B., Martorell, M., Arbiser, J., Sureda, A., Martins, N., Maurya, P., ... Sharifi-Rad, J. (2018). *Antioxidants: Positive or Negative Actors? Biomolecules*, 8(4), 124. [doi:10.3390/biom8040124](https://doi.org/10.3390/biom8040124)
- Salinas-Moreno, Y., Zúñiga-Hernández, A. R. E., Serrano-Altamirano, V., & Sánchez-Feria, C. (2012). Color en cálices de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) y su relación con características fisicoquímicas de sus extractos acuosos. *Revista Chapingo. Serie horticultura*, 18(3), 395-407.
- Sáyago-Ayerdi, S, G, & Goñi, I. (2010). *Hibiscus sabdariffa* L: Fuente de fibra antioxidante. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 60(1), 79-84.
- Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural. (2021). Refrescante y nutritivo sabor de la jamaica. Recuperado a partir de <https://www.gob.mx/agricultura/articulos/refrescante-y-nutritivo-sabor-de-la-jamaica?idiom=es>
- Sharif, M. K., Butt, M. S., Sharif, H. R., & Nasir, M. (2017). Sensory evaluation and consumer acceptability. *Handbook of Food Science and Technology*, 361-386.
- Sobowale, S. S., Omosebi, O. M., & Animashaun, O. H. (2021). Characterization of Roselle (*Hibiscus sabdariffa*) calyces wine using date palm (*Phoenix dactylifera*) fruit extracts as a substitute for granulated sugar. *Journal of Food Processing and Preservation*, 45(11), e15935.
- Tenorio-Sanz, M, Aparicio-Cediel, I, de Prádena-Lobón, J, García-Mata, M, Pérez-Rodríguez, M, Redondo-Cuenca, A, Villanueva-Suárez, M., & Zapata-Revilla, M. (2015). El vino y su análisis. Departamento de Nutrición y Bromatología II. Facultad de Farmacia. Universidad Complutense de Madrid.

- Tsegay, Z. T. (2020). Total titratable acidity and organic acids of wines produced from cactus pear (*Opuntia-ficus-indica*) fruit and Lantana camara (L. Camara) fruit blended fermentation process employed response surface optimization. *Food Science & Nutrition*, 8(8), 4449-4462.
- Valencia-Avilés, E., Ignacio-Figueroa, I., Sosa-Martínez, E., Bartolomé-Camacho, M. C., Martínez-Flores, H. E., & García-Pérez, M. E. (2017). Polifenoles: propiedades antioxidantes y toxicológicas. *Revista de la Facultad de Ciencias Químicas*, (16), 15-29.
- Velic, D., Velic, N., Amidzic-Klaric, D., Klaric, I., Petravic-Tominac, V., Kosmerl, T., & Vidrih, R. (2018). *The production of fruit wines – a review*. *Croatian Journal of Food Science and Technology*, 10(2), 279–290. doi:10.17508/cjfst.2018.10.2.19
- Verbel, R. E. O. (2006). Optimización del proceso de clarificación en la elaboración de vino de naranja criolla (*Citrus sinensis*). University of Puerto Rico, Mayaguez (Puerto Rico).
- Wei, J.P., Zhang, Y.X., Yuan, Y.H., Dai, L., & Yue T.L. (2019). Characteristic fruit wine production via reciprocal selection of juice and non-Saccharomyces species. *Food Microbiology*, 79 (2019), pp. 66-74
- Zamora, V., Mariño, G., González, C., Jácome, B., Beltrán, E. (2018). Estudio de la capacidad antioxidante y contenido de polifenoles en el proceso de clarificación del vino de flor de Jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) utilizando cálices frescos. *Enfoque UTE*, 9(2), 1-14.
- Zubia, C. S., & Dizon, E. I. (2019). Physico-chemical, antioxidant and sensory properties of artificially-carbonated fruit wine blends. *International Food Research Journal*, 26(1).

# ANEXOS

## ANEXO I

Recta de calibración para la determinación de polifenoles totales.



## ANEXO II

### Resultados de las mediciones espectrofotométricas en la determinación del contenido de polifenoles totales

**Tabla A.**

*Mediciones espectrofotométricas realizadas a 750 nm para la determinación del contenido de polifenoles totales, mediante el protocolo de Folin-Ciocalteu, de las muestras del extracto inicial de jamaica, del mosto corregido previo al proceso fermentativo y del vino obtenido.*

<b>Muestra</b>	<b>No.</b>	<b>Absorbancia (A)</b>	<b>Conc. Ác. Gálico (mg/ml) = <math>\frac{A+0.0249}{87.85}</math></b>	<b>Contenido de PT mg EAG/ml</b>
<b>Extracto</b>	1	0.975	0.01138	3.4146
	2	0.981	0.01145	3.4351
	3	0.964	0.01126	3.3770
<b>Mosto</b>	1	0.389	0.00471	1.4134
	2	0.399	0.00483	1.4476
	3	0.393	0.00476	1.4271
<b>Vino</b>	1	0.812	0.00953	2.8579
	2	0.824	0.00966	2.8989
	3	0.818	0.00959	2.8784

## ANEXO III

### Test de evaluación sensorial

#### Evaluación Sensorial



Esta prueba está diseñada para panelistas no entrenados, mayores de 18 años y que tienen preferencias por los vinos.

Instrucción: Estimado panelista se evaluará el grado de aceptabilidad de dos muestras de vino de Jamaica, por favor siga las instrucciones e indique mediante una escala hedónica de 5 puntos (indicando con un número 1 al 5) su preferencia.

1. Tome una pequeña muestra y manténgala en su lengua por espacio de 5 segundos
2. Tome nuevamente la muestra y realice la degustación y evaluación
3. Tome una muestra de agua y realice el paso 1 para la evaluación de la siguiente muestra



Atributo	Muestra 308	Muestra 459
Color		
Olor		
Sabor		
Apariencia general		

De acuerdo con la degustación el o los sabores que mejor describen al SABOR son (tache 1 o más opciones).

Dulce	Amargo	Afrutado	Picante	Seco
Acido	Fermentado	Astringente	Metálico	Amaderado

Comentarios:

\_\_\_\_\_

**¡Muchas gracias por tu participación!**