

“Benemérita Universidad Autónoma de
Puebla”



FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA

INGENIERÍA AMBIENTAL

**“Aprovechamiento de residuos agroindustriales
de jamaica (*Hibiscus sabdariffa L.*): Actividad
antioxidante y nanoencapsulación”**

Diciembre, 2018

“Tesis presentada para obtener el grado de:

Licenciatura en Ingeniería Ambiental”

“Presenta:

De La Luz Ramos Andrea”

“Director de Tesis:

Dra. Jessica Batalla Mayoral”

“Codirectora de Tesis:

M.I.A Miriam Vega Hernández”

Contenido	
INTRODUCCIÓN.....	6
OBJETIVO	7
Objetivo general.....	7
Objetivos específicos	7
HIPOTESIS	7
CAPÍTULO I ANTECEDENTES	7
1.1 Residuos Agroindustriales	7
1.1.2 Impacto Ambiental.....	9
1.1.3 Alternativas de uso.....	10
1.2 Aspectos generales de la jamaica (<i>Hibiscus Sabdariffa L.</i>).....	12
1.2.1 Origen, distribución geográfica e importancia.....	12
1.2.2 Características botánicas y morfológicas e identificación taxonómica.	13
1.2.3 Composición química.....	14
1.2.4 Panorama económico	15
1.2.4.1 Producción mundial	15
1.2.4.2 Producción nacional	15
1.2.4.3 Producción estatal.....	16
1.3 Generalidades de los antioxidantes.....	16
1.3.1 Antioxidantes fenólicos.....	17
1.3.1.1 Ácidos fenólicos.....	17
1.3.1.2 Flavonoides.....	18
1.3.2 Estrés oxidativo y radicales libres.....	19
1.3.3 Actividad y capacidad antioxidante (AOA y TAC)	20
1.4 Método de análisis de actividad antioxidante.....	21
1.4.1 Método Folin-Ciocalteu para fenoles totales.....	22
1.4.2 Ensayo FRAP.....	22
1.4.3 Ensayo DPPH	23
1.5 Generalidades de la nano encapsulación.....	23
1.5.1 Encapsulación.....	23
1.5.2 Nano encapsulación.....	24
1.5.2 Técnicas de nano encapsulación.....	25
1.5.3 Caracterización de las nanopartículas	28
1.5.3.1 Dispersión de luz dinámica.....	28
1.5.3.2 Potencial zeta	28
1.5.4 Aplicaciones de la nano encapsulación.....	29

CAPÍTULO II METODOLOGÍA.....	30
2.1 Obtención de la muestra.....	30
2.2 Análisis fisicoquímicos	30
2.2.1 Humedad	30
2.2.2 Preparación de la muestra para análisis fisicoquímicos y actividad antioxidante	30
2.2.3 pH.....	31
2.2.4 Acidez titulable	31
2.3 Elaboración y concentración de extractos	32
2.4 Ensayo de Folin-Ciocalteu para fenoles totales.....	32
2.5 Ensayo de FRAP	33
2.6 Ensayo DPPH para actividad antioxidante	34
2.7 Preparación de liposomas y nano encapsulación de extracto de RLJ.....	35
CAPÍTULO III RESULTADOS Y DISCUSIÓN	36
3.1 Caracterización fisicoquímica del extracto concentrado.	36
3.2 Ensayo de Folin-Ciocalteu.....	40
3.3 Ensayo de FRAP	40
3.4 Nano encapsulación.....	42
CONCLUSIONES.....	43
PERSPECTIVAS Y RECOMENDACIONES.....	43
TRABAJOS CITADOS.....	44

Índice de ilustraciones

Ilustración 1. Tipos de residuos agroindustriales (Sadh <i>et al.</i> , 2018).....	8
Ilustración 2. Cosecha y semillas de jamaica (Goolgle)	9
Ilustración 3. Proceso de producción de jamaica (“La empresa y sus productos,” n.d.) 9	
Ilustración 4. Residuo (cálices) de la producción de licor	9
Ilustración 5. Diagrama para un manejo adecuado de residuos agroindustriales (Prasertsan <i>et al.</i> , 2009)	10
Ilustración 6. Planta de Hibiscus Sabdariffa L. (Google)	13
Ilustración 9. Subclases de flavonoides (Da-Costa-Rocha <i>et al.</i> , 2014)	18
Ilustración 10. Estructuras químicas de las principales antocianinas en <i>Hs</i>	18
Ilustración 7. Generalidades del estrés oxidativo (Carocho <i>et al.</i> , 2018)	19
Ilustración 8. Principales antioxidantes exógenos (Pisoschi <i>et al.</i> , 2015)	21
Ilustración 11. Reacción entre el ácido gálico y el reactivo FC, (Muñoz-Bernal <i>et al.</i> , 2017)	22
Ilustración 12. Reacción del ensayo FRAP, (Gülçin, 2012)	23
Ilustración 13. Efecto del barrido del radical DPPH por un antioxidante AH,(Gülçin, 2012)	23
Ilustración 14. Comparación de la funcionalidad de la micro y nano encapsulación (Shishir <i>et al.</i> , 2018).....	24
Ilustración 15. Esquema de una nano cápsula,(Cano-Sarabia <i>et al.</i> , 2016)	25
Ilustración 16. Técnicas de nano encapsulación (Cano-Sarabia <i>et al.</i> , 2016)	26
Ilustración 17. Reacción del RLJ y los controles del método DPPH	35
Ilustración 18. Película lipídica hidratada con extractos RLJ	36

Índice de ilustraciones

Tabla 1. Diferentes maneras de reusar los residuos agroindustriales	11
Tabla 2. Actividad antioxidante en diversos residuos agroindustriales	12
Tabla 3. Identificación taxonómica de la jamaica (<i>Hibiscus sabdariffa</i> L)	14
Tabla 4. Valor nutricional de la jamaica	14
Tabla 5. Producción de jamaica en México	15
Tabla 6. Producción de jamaica en Puebla.	16
Tabla 7. Clasificación de los ácidos fenólicos como derivados de los ácidos benzoico y cinámico.	17
Tabla 8. Métodos HAT y SET	21
Tabla 9. Usos de la encapsulación en diferentes áreas	29
Tabla 10. Porcentaje de humedad y pH de los cálices RLJ	36
Tabla 11. Comparativa del contenido los principales ácidos orgánicos reportados en muestras frescas contra los resultados obtenidos en RLJ	38
Tabla 12. Contenido de fenoles en <i>Hs</i> reportado en diversas investigaciones	40
Tabla 13. Resultados del ensayo FRAP en diversas investigaciones en <i>Hs</i>	41
Tabla 14. Porcentaje de inhibición del radical DPPH en diversas investigaciones en <i>Hs</i>	41

Índice de ecuaciones

Ecuación 1. Contenido de fenoles totales	33
Ecuación 2. Actividad antioxidante FRAP	34
Ecuación 3. Porcentaje de inhibición DPPH	35

INTRODUCCIÓN

La agroindustria produce millones de toneladas de residuos (Melo *et al.*, 2011), la mayoría de estos residuos no son tratados ni reutilizados, se eliminan mediante la quema, vertido en el medio ambiente o en un relleno sanitario (Sadh *et al.*, 2018), generando así problemáticas ambientales en el suelo, agua y aire (Cury *et al.*, 2017).

A nivel nacional no existe un registro de la cantidad de residuos generados, esta falta de información y el mal manejo de estos, constituye una pérdida de fuentes naturales de compuestos bioactivos que podrían generar productos comerciales de mayor valor añadido (Chacon *et al.*, 2016).

Actualmente las industrias son valoradas no solo por su desempeño productivo sino también por su relación con el medio ambiente, de manera que su cuidado constituye una oportunidad y condición de permanencia. El aprovechamiento de los residuos generados de los procesos de la agroindustria es una alternativa para reducir su impacto negativo en el ambiente y apoyar la sostenibilidad (Cury *et al.*, 2017).

La agroindustria es uno de los sectores estratégicos en el estado de Puebla (Economía, 2018) donde en el municipio de Chiautla de Tapia se ha desarrollado una empresa jamaquera (“Integradora Agroindustrial de Chiautla de Tapia, S.A. de C.V”) dedicada a la elaboración de licor, extractos (concentrados), y mermelada de esta planta, la cual procesa aproximadamente 7 toneladas de jamaica anualmente. Este cultivo es criollo, tiene calidad de exportación (Regional Puebla, 2015) y proviene de 200 hectáreas del municipio (La campaña de Puebla, 2017).

La Integradora Agroindustrial de Chiautla de Tapia produce semanalmente de 150 a 300 kg de residuos derivados de la elaboración de licor, esta cantidad está sujeta a la demanda de producción, los cuales son utilizados como alimento para ganado o introducidos en un sistema de compostaje (Comunicación personal), aunque estas alternativas son viables y tienen beneficios ambientales (Saval, 2012), existen opciones biotecnológicas para valorizarlos, en este trabajo se aborda el aprovechamiento de los antioxidantes que poseen los residuos de jamaica (*Hibiscus Sabdariffa L.*) a través de la nano encapsulación con liposomas, lo que podría generar un beneficio económico para los socios de la integradora en la región Mixteca del estado de Puebla .

OBJETIVO

Objetivo general

Determinar la actividad antioxidante en el extracto de residuos agroindustriales derivados de jamaica (*Hibiscus sabdariffa L.*) y su nano encapsulación en liposomas.

Objetivos específicos

1. Caracterizar fisicoquímicamente los residuos agroindustriales derivados de *Hibiscus Sabdariffa L.* (pH, acidez titulable, % de humedad)
2. Determinar la concentración de fenoles en el extracto de los residuos agroindustriales derivados de la jamaica (*Hibiscus Sabdariffa L.*), mediante la técnica Folin & Ciocalteu.
3. Determinar la actividad antioxidante en el extracto de los residuos agroindustriales derivados de *Hibiscus Sabdariffa L.* mediante las técnicas de DPPH (1,1-Diphenyl-2-picryl-hydrazyl) y FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power).
4. Nanoencapsular y caracterizar los extractos de los residuos agroindustriales derivados de la jamaica (*Hibiscus Sabdariffa L.*) en liposomas.

HIPOTESIS

Los residuos agroindustriales derivados de jamaica (*Hibiscus Sabdariffa L.*) tienen un alto potencial antioxidante que puede ser aprovechado mediante la nanoencapsulación.

CAPÍTULO I ANTECEDENTES

1.1 Residuos Agroindustriales

1.1.1 Definición

La agroindustria involucra actividades de manufacturación mediante las cuales se elaboran materias primas y productos intermedios derivados del sector agrícola (FAO, 2000). La categoría alimenticia se encarga de la transformación de los productos agrícolas en alimentos elaborados (Rural, 2018).

México es líder en Latinoamérica en el sector agroindustrial, algunos de los productos más destacados son; cerveza, tequila, chocolate, jugos de frutas y vegetales etc. En enero a julio del 2018 la balanza de bienes agroindustriales registró un superávit de 1,797 millones de dólares, en este periodo las

exportaciones fueron 20.5% mayores a las importaciones (SAGARPA & SIAP, 2018)

Los residuos generados por este sector, categorizados como agroindustriales son productos orgánicos sólidos, semisólidos o líquidos generados a partir del uso indirecto de los productos primarios o de su industrialización y que no pueden ser útiles para el proceso que los generó, pero si son susceptibles de un aprovechamiento o transformación que genere otro producto con valor económico de interés comercial y/o social (Chacon *et al.*, 2016).

En la Ilustración 1 se muestran los diferentes tipos de residuos agroindustriales; residuos agrícolas e industriales.

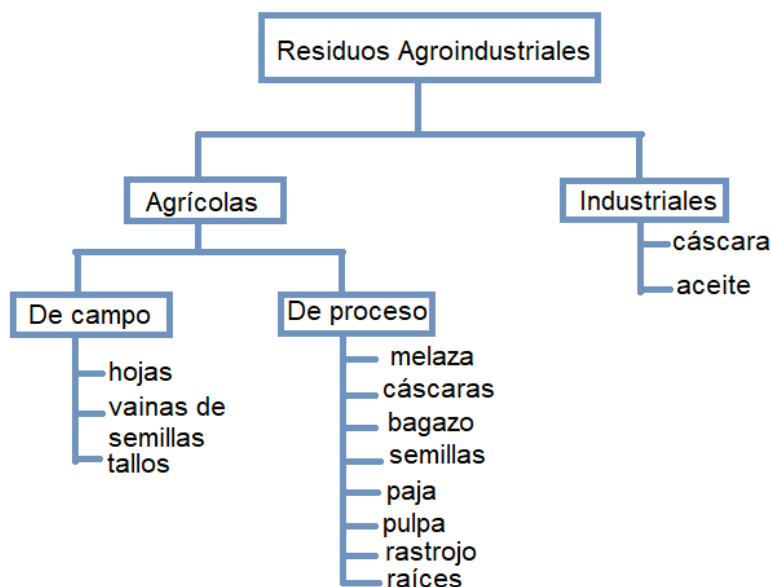


Ilustración 1. Tipos de residuos agroindustriales (Sadh *et al.*, 2018).

Los residuos agrícolas pueden dividirse en residuos de campo que son aquellos que se presentan después de la cosecha. Y los residuos de proceso presentes después de que el cultivo se ha manufacturado para convertirlo en un recurso valioso alternativo. Los residuos industriales son residuos orgánicos y efluentes producidos por industrias del procesamiento de alimentos como jugos, papas, carne, confitería y frutas (Sadh *et al.*, 2018).

La composición y cantidad de los estos residuos depende de la fuente de materia prima, así como de la naturaleza de los productos, operaciones y pasos del proceso (Prasertsan *et al.*, 2009).

En particular los residuos generados por la agroindustria jamaiguera son agua de lavados, tallos, hojas, semillas (ilustración 2) y una mezcla sólida de cálices. Los tallos, hojas y semillas son derivados del proceso de cosecha y selección (Contreras *et al.*, 2009). Los cálices son resultado del proceso de producción de licor (ilustración 3), presentan una coloración distinta a los cálices

frescos (antes de ser procesados, ilustración 4), puede apreciarse humedad en ellos así como un olor a alcohol.



Ilustración 2. Cosecha y semillas de jamaica (Google)

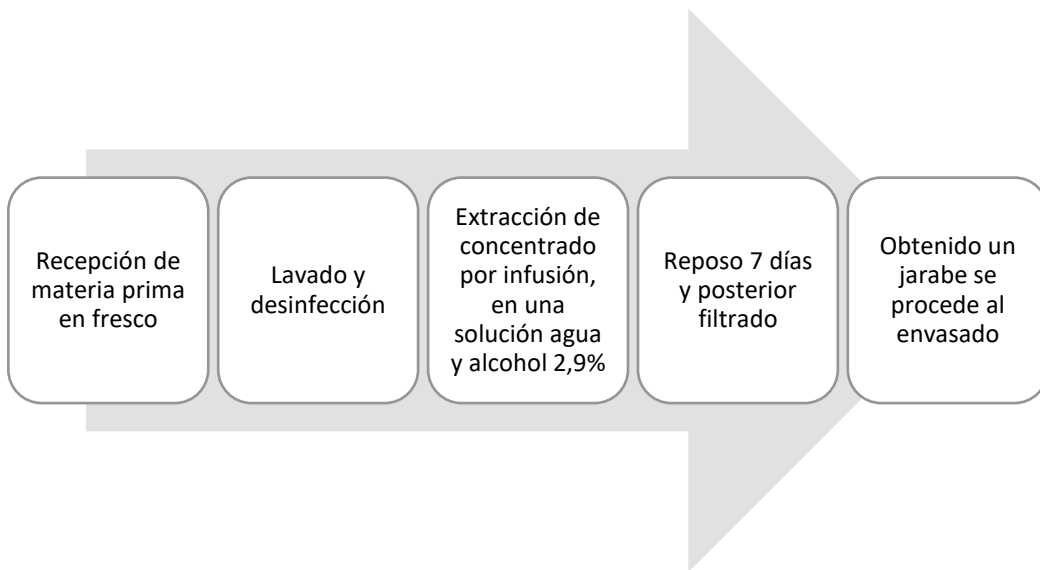


Ilustración 3. Proceso de producción de jamaica (“La empresa y sus productos,” n.d.)



Ilustración 4. Residuo (cálices) de la producción de licor

En general los residuos de plantas constituyen un buen recurso de carbohidratos, polisacáridos y moléculas bioactivas como proteínas, vitaminas, minerales y antioxidantes (Kowalska *et al.*, 2017)

1.1.2 Impacto Ambiental

Debido al alto contenido nutricional de los residuos agroindustriales estos tienen un alto potencial para causar severos problemas de contaminación si no son manejados y tratados apropiadamente. El daño que pudieran ocasionar dichos residuos está en función de sus características físicas, químicas y

biológicas (Saval, 2012). Esta contaminación puede dividirse en tres categorías: contaminación al agua, al suelo y al aire (Prasertsan *et al.*, 2009).

El impacto ambiental relacionado al manejo y disposición final de los residuos agroindustriales puede presentarse cuando estos son dispuestos sobre el suelo sin ningún tratamiento previo y permanecen a la intemperie, su descomposición puede convertirlos en residuos peligrosos por la presencia de agentes infecciosos y la producción de metano derivado de su descomposición (Saval, 2012), acentuando problemas como el cambio climático por el incremento de gases de efecto invernadero (Sadh *et al.*, 2018). Si no se aplicaron las medidas de remediación oportunamente el problema de contaminación se convierte en un pasivo ambiental y como consecuencia se puede presentar la dispersión de contaminantes (Saval, 2012).

La contaminación al agua se da en forma de descargas de residuos orgánicos o peligrosos en los suministros hídricos (Silva *et al.*, 2013). Esta suele ser la más seria debido al volumen usado en el proceso y a que los tipos y la concentración de los contaminantes es extremadamente variable, aun en el mismo sector (Prasertsan *et al.*, 2009).

En México estos residuos pertenecen a la categoría de manejo especial y deben estar sujetos a un plan de manejo, cuyo objetivo es minimizar su generación y maximizar la valoración de los residuos (Diario Oficial de la Federación, 2015).

1.1.3 Alternativas de uso

Los problemas ambientales en las agroindustrias pueden reducirse si se emplea un buen manejo de los residuos, la implementación de esta práctica apunta a una prevención de la contaminación y promueve beneficios económicos como la conversión de residuos en subproductos y la reducción en el costo del tratamiento de residuos (Prasertsan *et al.*, 2009).

Este manejo está dividido en cuatro categorías que pueden ser implementadas siguiendo el orden de priorización mostrado en la ilustración 5.

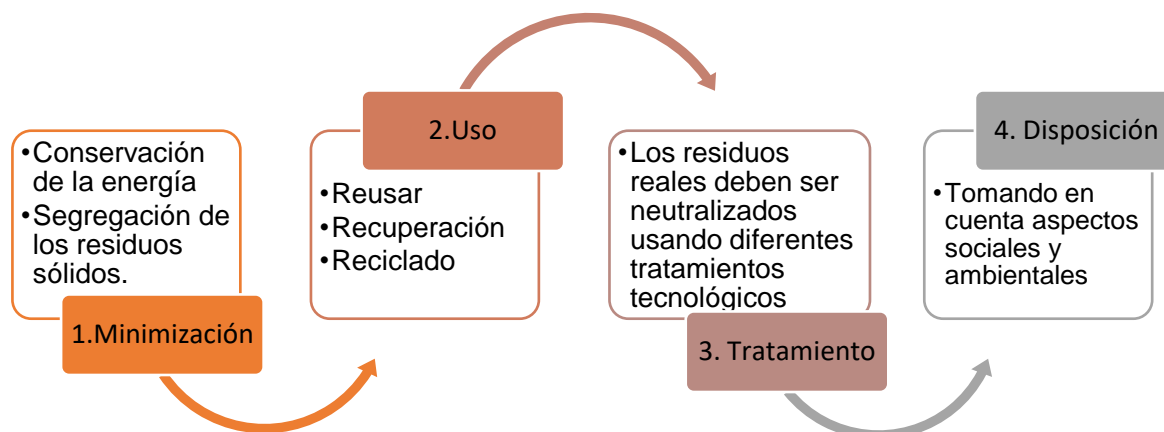


Ilustración 5. Diagrama para un manejo adecuado de residuos agroindustriales (Prasertsan *et al.*, 2009)

En cuanto al uso, los residuos agroindustriales son materiales que debido a su alto contenido nutricional son considerados como materia prima para la formación y desarrollo de nuevos productos (Sadh *et al.*, 2018). Su acumulación representa no solo el deterioro ambiental sino también la pérdida de una gran cantidad de material potencialmente valioso (Nigam *et al.*, 2009).

El aprovechamiento de residuos y el reciclaje orgánico son alternativas viables para los residuos de agroindustria, que suelen ser baratos y abundantes (Castro *et al.*, 2018). El primer concepto, se define como el conjunto de acciones cuyo objetivo es recuperar el valor económico de los residuos mediante su reutilización, re manufactura, rediseño, reciclados y recuperación de materiales secundados o energía (SEMARNAT, 2010). En tanto que el reciclaje orgánico es una actividad que responde a la idea de una explotación sostenible de los recursos naturales en un contexto de eficiencia industrial por lo que existen agroindustrias que producen residuos que pueden ser utilizados como combustible, pasta para papel o fertilizante (FAO, 1997). Algunos ejemplos se citan en la tabla 1.

Teniendo en cuenta ambos conceptos, los residuos de la agroindustria pueden ser valorizados mediante el desarrollo de tratamientos biotecnológicos (Nigam *et al.*, 2009). El reciclaje de residuos de plantas se ha enfocado en su uso en suplementos alimenticios para eliminar radicales o como ingredientes anti envejecimiento en cosméticos así como conservadores naturales en alimentos (Peschel *et al.*, 2007).

Tabla 1. Diferentes maneras de reusar los residuos agroindustriales

<i>Residuo</i>	<i>Uso</i>
<i>Cáscara de plátano y fibra de caña de azúcar</i>	Carbón activado
<i>Bagazo de plátano</i>	Remoción de metales pesados
<i>Piel de cebolla, cáscara de cacahuete</i>	Fertilizante orgánico
<i>Tallo de girasol y maíz</i>	Producción de etanol y alimento animal
<i>Fibras de bagazo</i>	Producción de biogás y generación de electricidad
<i>Tallos de palma aceitera</i>	Pasta de papel
<i>Ceniza de cáscara de arroz</i>	Aditivo en mezclas de cemento

Fuente: (Ajila *et al.*, 2012)

En Brasil los extractos de residuos de semillas verdes de café han mostrado potencial antioxidante que se puede usar en suplementos dietéticos, productos farmacéuticos y cosméticos o como fuente de compuestos bioactivos (Castro *et al.*, 2018). En nuestro país se ha investigado la biosíntesis de nanopartículas de plata usando un extracto natural de residuos agroindustriales de tequila (López-Naranjo *et al.*, 2018).

Como regla general los extractos de materiales vegetales de origen residual muestran una actividad antioxidante que en algunas ocasiones es comparable con la de antioxidantes sintéticos, su extracción y uso pueden ser una alternativa para obtener antioxidantes naturales. Algunos ejemplos se muestran en la tabla 2.

Tabla 2. Actividad antioxidante en diversos residuos agroindustriales

<i>Residuo</i>	<i>Ensayo de actividad antioxidante</i>	<i>Actividad (concentración antioxidante)</i>	<i>Referencia</i>
<i>Arándano</i>	ABTS	27±1 (µmolTE/g)	(Paes <i>et al.</i> , 2014)
<i>Semilla de café verde</i>	DPPH	PI 22.5±5.3%	(Castro <i>et al.</i> , 2018)
<i>Fruta exótica de Brasil: bacaba</i>	FRAP	16,916.37±10.1 (µmolTE/100g)	(Barros <i>et al.</i> , 2017)
<i>Yerba mate</i>	DPPH	65.96 (mgTE/g seco)	(Gullón <i>et al.</i> , 2018)

Fuente: (Moure *et al.*, 2001)

Por ejemplo, se han realizado estudios para obtener productos biológicos (biocombustibles, ácidos orgánicos, triacilglicerol y polihidroxicarboxilatos) a partir de residuos agroindustriales de la producción de azúcar (Díaz *et al.*, 2018).

Baqueiro-Peña y colaboradores en 2017 estudiaron metodologías para la recuperación y generación de aromas de la vainillina a partir del bagazo de vainilla. Además, se ha investigado la extracción de compuestos fenólicos y antocianinas de residuos de arándano usando CO₂ supercrítico y líquido presurizado (Paes *et al.*, 2014). Teixeira *et al.*, 2018 realizaron una caracterización fenólica de los tallos de uva derivados de la industria del vino.

Así, el uso de residuos agroindustriales para obtener bioextractos puede llevar directamente al desarrollo de nuevos productos atractivos con propiedades bioactivas y reducir el impacto causado por su acumulación en el ambiente (Kowalska *et al.*, 2017).

Debido a la legislación y las razones ambientales, la industria se ve cada vez más obligada a encontrar un uso alternativo para la materia residual. La recuperación de compuestos bioactivos es una forma elegante de reutilizar flujos de desechos, mientras que, por otro lado, es económicamente interesante (Brar *et al.*, 2014).

1.2 Aspectos generales de la jamaica (*Hibiscus Sabdariffa L.*)

1.2.1 Origen, distribución geográfica e importancia

Hibiscus sabdariffa L., (*Hs*) conocida comúnmente como jamaica, roselle, rosa de abisinia o karkadee crece en países con climas tropicales y subtropicales, es originaria del continente africano, pero actualmente su cultivo se extiende a

países como India, Arabia Saudita, China, Malasia, Indonesia, Filipinas, Vietnam, Sudán y México (Da-Costa-Rocha *et al.*, 2014).

Los cálices frescos o deshidratados se usan en la preparación de bebidas calientes o frías, bebidas fermentadas, vino, mermeladas, helado, chocolate, agentes saborizantes y pasteles (Da-Costa-Rocha *et al.*, 2014).

En la medicina tradicional, los extractos de *Hs* han sido utilizados para tratar una gran variedad de enfermedades (Ifie *et al.*, 2016) ya que a los cálices se le han atribuido propiedades de acción cardio protectora, antihipertensiva, y de efectividad contra la baja densidad de oxidación lipoprotéica e hiperlipidemia. También han sido estudiadas sus propiedades anti inflamatorias, anti oxidativas, hepatoprotectivas y antitumorales (Borrás-Linares *et al.*, 2015).

Recientemente se ha reportado que los extractos de *Hs* tienen propiedades bioactivas que podrían participar en la prevención de enfermedades crónicas como la aterosclerosis y diabetes. A su vez pueden reducir el colesterol alto y trabajar como anticancerígenos, anti mutagénicos y como agente anti proliferativo. Aunado a esto, los extractos presentan propiedades antimicrobianas (Sindi *et al.*, 2014).

También se ha estudiado el uso de *Hs* como fibra natural para aumentar sus propiedades en la manufactura de compuestos de polímero reforzado con fibra natural

1.2.2 Características botánicas y morfológicas e identificación taxonómica.

A nivel internacional se distinguen seis variedades de jamaica; del sudán, china o morada, roja (larga y corta, americana), negra gigante (nigeriana), morada gigante (tailandesa), y la no ácida (vietnamita) (Cid-Ortega *et al.*, 2012).

Roselle es un sub-arbusto herbáceo anual, erguido, frondoso, puede crecer hasta 2.4 metros de altura y su tallo es liso o casi liso, cilíndrico y rojizo. Las hojas están alternadas y miden 7.5-12.5 cm, son verdes con venas rojizas y peciolo cortos o largos. Las flores, nacidas individualmente en las axilas de las hojas, miden 12.5 cm de ancho, son de color amarillo o beige con un centro rosa o marrón y se tornan rosas al marchitarse. El cáliz rojo consiste en 5 sépalos que envuelven por completo la cápsula aterciopelada, cuya longitud varía de 1.25 a 2 cm, cada una de estas contiene de 3 a 4 semillas café claro y con forma de riñón (Da-Costa-Rocha *et al.*, 2014). Véase ilustración 6:



Ilustración 6. Planta de *Hibiscus Sabdariffa* L. (Google)

A continuación, se muestra la tabla 3 que contiene la identificación taxonómica (ITIS Integrated Taxonomic Information System, 2017) correspondiente a la jamaica.

Tabla 3. Identificación taxonómica de la jamaica
(*Hibiscus sabdariffa* L)

<i>Reino</i>	Vegetal
<i>Subreino</i>	Viridiplantae
<i>Subdivisión</i>	Espermatofitas
<i>Clase</i>	Dicotiledónea
<i>Orden</i>	Malvales
<i>Familia</i>	Malvaceae
<i>Género</i>	<i>Hibiscus</i>
<i>Especie</i>	<i>sabdariffa</i> L.

Fuente: (ITIS Integrated Taxonomic Information System, 2017)

1.2.3 Composición química

La composición química de los cálices de jamaica varía de acuerdo con su color y diferencias genéticas. En general los elementos comunes son proteína cruda, extracto etéreo, fibra cruda, carbohidratos, ácido ascórbico y en algunos casos caroteno, tiamina, riboflavina y niacina (Cid-Ortega *et al.*, 2012).

También contienen alcaloides, anisaldehído, β -caroteno, *B*-sito-sterol, ácido cítrico, ácido málico, galactosa, mucopolisacáridos, pectina, ácido protocatéquico, polisacáridos, quercetina, ácido esteárico y cera (Galicia *et al.*, 2008) . En cuanto al valor nutricional de esta planta se reporta en la tabla 4.

Tabla 4. Valor nutricional de la jamaica

<i>Proteínas</i>	1.9 g/100g
<i>Grasas</i>	0.1 g/100g
<i>Carbohidratos</i>	12.3 g/100g
<i>Fibra</i>	2.3 g/100g
<i>Vitamina C</i>	14 mg/100g
<i>β-Caroteno</i>	300 μ g/100g
<i>Calcio</i>	1.72 mg/100g
<i>Hierro</i>	57 mg/100g

Fuente:(Da-Costa-Rocha *et al.*, 2014)

Algunos de los antioxidantes presentes en *Hs* son la quercetina, el ácido L-ascórbico y los compuestos fenólicos. Las sustancias fenólicas en esta planta consisten principalmente en flavonoides y antocianinas como la delphinina-3-glucósido, delphinidina-3-sambudiósido y cianidina-3-sambudiósido, compuestos que están relacionados con la prevención del cáncer y enfermedades coronarias (Salazar-González *et al.*, 2009).

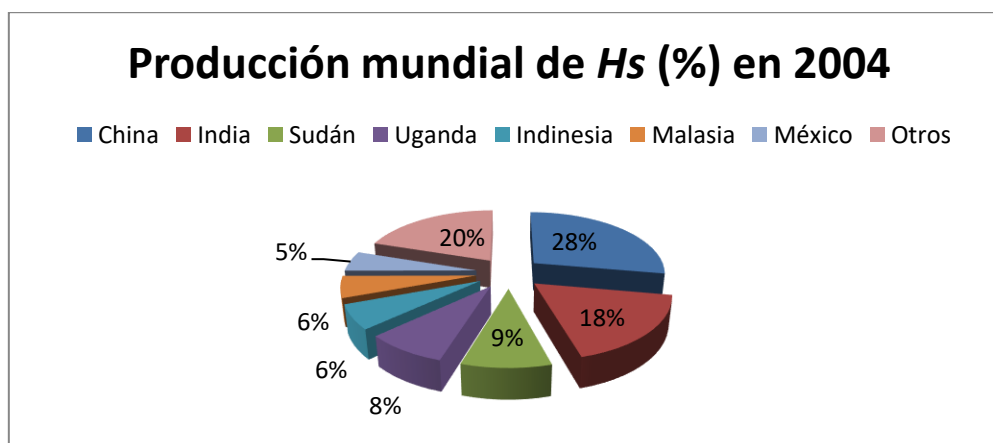
Los constituyentes más relevantes en el área farmacológica son los ácidos orgánicos, antocianinas, polisacáridos y flavonoides. Entre los ácidos

orgánicos encontrados en mayor cantidad en esta planta están el cítrico, hidroxícitrico, hibiscus, málico y tartárico, en menor cantidad el ácido oxálico y ascórbico (Da-Costa-Rocha et al., 2014).

1.2.4 Panorama económico

1.2.4.1 Producción mundial

La jamaica es uno de los productos botánicos especializados de mayor volumen en el comercio internacional, en el año 2004 se produjo un total de 97,975 toneladas de esta planta, siendo China el país con mejor participación y rendimiento como se muestra en la gráfica 1 (SAGARPA, 2010).



Gráfica 1. Producción mundial de Hs en 2004. Fuente: (SAGARPA, 2010)

1.2.4.2 Producción nacional

La producción nacional (tabla 5) en el año 2017 fue de 7,666.68 toneladas de jamaica, siendo Guerrero el estado con mayor producción, mientras que Morelos fue el estado con mayor rendimiento de producción (Pesquera, 2018a).

Tabla 5. Producción de jamaica en México

Estado	Producción (Ton)	Rendimiento (udm/ha)*	Valor producción (Miles de pesos)
Campeche	68.37	0.35	4,110.84
Guerrero	5,202.53	0.37	152,728.45
Jalisco	2.37	0.52	63.70
México	0.83	0.55	37.35
Michoacán	757.06	0.54	48,852.44
Morelos	32.17	0.96	1,396.66
Nayarit	128.62	0.46	7,905.19
Oaxaca	516.77	0.34	38,947.10
Puebla	932.76	1.05	30,947.10
Sinaloa	15.20	0.80	684.00
	7,656.68	0.41	285,038.95

Fuente: Servicio de información Agroalimentaria y Pesquera, 2017

*udm/ha. Unidad de medida/ hectárea

1.2.4.3 Producción estatal

De acuerdo con datos del Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera del año 2017, véase tabla 6, en el estado de Puebla, Huaquechula fue el municipio con mayor producción (692.60 toneladas), rendimiento y valor de producción, Chiautla de tapia se colocó en segundo lugar de producción (135.16 toneladas) y rendimiento (Pesquera, 2018b)

Tabla 6. Producción de jamaica en Puebla.

<i>Distrito</i>	<i>Municipio</i>	<i>Producción (Ton)</i>	<i>Rendimiento (udm/ha)</i>	<i>Valor producción (Miles de pesos)</i>
<i>Cholula Izúcar de Matamoros Izúcar de Matamoros Izúcar de Matamoros Izúcar de Matamoros</i>	Huaquechula	692.60	1,47	19,341.86
	Chiautla	135.16	0.62	6,541.74
	Cohetzala	25.00	0.50	1,207.50
	Huehuetlán el Chico	45.00	0.60	2,169.00
	Ixcamilpa de Guerrero	35.00	0.50	1,687.00
			932.76	1.05

Fuente: Servicio de información Agroalimentaria y Pesquera, 2017

1.3 Generalidades de los antioxidantes

Los antioxidantes son cualquier sustancia que cuando se presenta en bajas concentraciones, en comparación con aquellas de sustrato oxidable, retrasa o evita significativamente la oxidación de ese sustrato (Halliwell *et al.*, 1995).

Existen dos categorías de antioxidantes; sintéticos y naturales. Los sintéticos son compuestos con estructuras fenólicas de varios grados de sustitución alquilo, los naturales pueden ser compuestos fenólicos (tocoferoles, flavonoides y ácidos fenólicos), compuestos de nitrógeno (alcaloides, derivados de la clorofila, aminoácidos y aminas) o carotenoides y ácido ascórbico (Hall *et al.*, 1997). Otro criterio de clasificación los llama endógenos y exógenos (Pisoschi *et al.*, 2015).

También pueden clasificarse en primarios, secundarios y multifuncionales, de acuerdo a su mecanismo antioxidante. Los primarios son capaces de reaccionar directamente con los radicales libres para transformarlos en especies más estables o productos no radicales, por medio de la ruptura de cadenas. Los antioxidantes secundarios trabajan indirectamente o limitando la oxidación lipídica, son supresores de radicales libre de oxígeno, descomponen peróxidos, inhibidores de oxidación enzimática o absorben la radiación ultravioleta (Pisoschi *et al.*, 2015). Y los multifuncionales pueden exhibir ambas propiedades (Hermund, 2018).

1.3.1 Antioxidantes fenólicos

Los compuestos fenólicos o polifenoles, poseen un anillo aromático que contiene uno o más sustituyentes hidroxilo y sus estructuras pueden variar desde moléculas fenólicas simples hasta compuestos altamente polimerizados (Balasundram *et al.*, 2006). Son unos de los principales metabolitos secundarios de las plantas, actúan como fitoalexinas, las plantas heridas los secretan para defenderse de posibles ataques fúngicos o bacterianos, y contribuyen a la pigmentación de muchas partes de la planta. Cuando los fenoles son oxidados, dan lugar a las quinonas, que dan un color pardo que muchas veces es indeseable (Gimeno, 2004).

Estos compuestos también poseen una amplia gama de propiedades fisiológicas como efectos antialérgicos, antitrombóticos, propiedades antimicrobianas, antivirales, anti inflamatorias, antioxidantes, cardio protectoras y vasodilatadoras (Balasundram *et al.*, 2006).

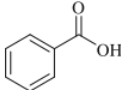
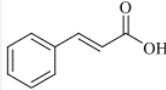
Entre las aplicaciones de estos compuestos naturales están el uso como sustitutos de conservadores en alimentos, uso en cosméticos, nutracéuticos y productos farmacéuticos. Los subproductos agroindustriales son una buena fuente de materiales lignocelulosos, que son ricos en compuestos fenólicos unidos que se pueden extraer y liberar (Ignat *et al.*, 2011).

La mayoría de los antioxidantes naturales son los compuestos fenólicos y los grupos más importantes de antioxidantes naturales son los tocofenoles, flavonoides y los ácidos fenólicos (Gülçin, 2012).

1.3.1.1 Ácidos fenólicos

Los principales ácidos de esta categoría son los benzoicos y cinámicos, tabla 7, en el primer grupo se encuentran incluidos el ácido gálico, p-hidroxibenzoico, protocatechuico, vanílico, por otro lado, en el grupo de los ácidos hidroxicinámicos son compuestos aromáticos con una cadena lateral de tres carbonos, siendo los ácidos cafeico, ferúlico, p-cumárico y sináptico los más comunes (Balasundram *et al.*, 2006).

Tabla 7. Clasificación de los ácidos fenólicos como derivados de los ácidos benzoico y cinámico.

Ácidos derivados benzoicos	Ácidos derivados cinámicos
	
Ácido gálico	Ácido cafeico
Ácido p-hidro benzoico	Ácido p-cumárico
Ácido 3,4-dihidrobenzoico	Ácido rosmarínico
Ácido vanílico	Ácido ferúlico
Ácido siríngico	Ácido sináptico
Ácido protocatéquico	Ácido clorogénico

Fuente: (Gülçin, 2012)

1.3.1.2 Flavonoides

Los flavonoides son compuestos de bajo peso molecular que consisten en 15 átomos de carbono ordenados en una configuración C₆-C₃-C₆ (ilustración 9). Esencialmente la estructura consiste en dos anillos aromáticos unidos por un puente de 3 carbonos, usualmente en la forma de un anillo heterocíclico 29. Estos compuestos son los que poseen mayor actividad antioxidante y su ingesta está relacionada con un menor riesgo de enfermedades cardiovasculares (Gimeno, 2004).

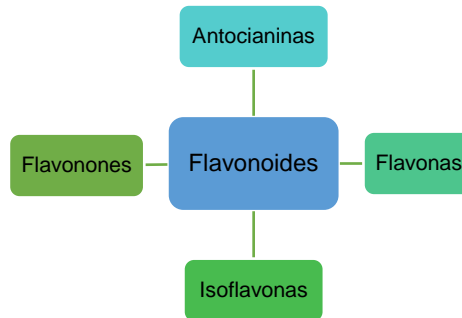


Ilustración 7. Subclases de flavonoides (Da-Costa-Rocha *et al.*, 2014)

Las antocianinas son un grupo de derivados de flavonoides y pigmentos naturales presentes en las flores secas y su color varía con el pH. Las antocianinas presentes en esta planta son delfinidinas y con base cianidina, incluidas delfinidina-3-sambubiósido (hibiscina), cianidina-3-sambubiósido (gospicanina), cianidina-3,5-diglucósido, delfinidina (antocianidina) (Da-Costa-Rocha *et al.*, 2014), las más frecuentes son cianidina-3-glucósido, delfinidina-3-glucósido, gospicanina e hibiscina (Sindi *et al.*, 2014) cuyas estructuras químicas se muestran en la ilustración 7.

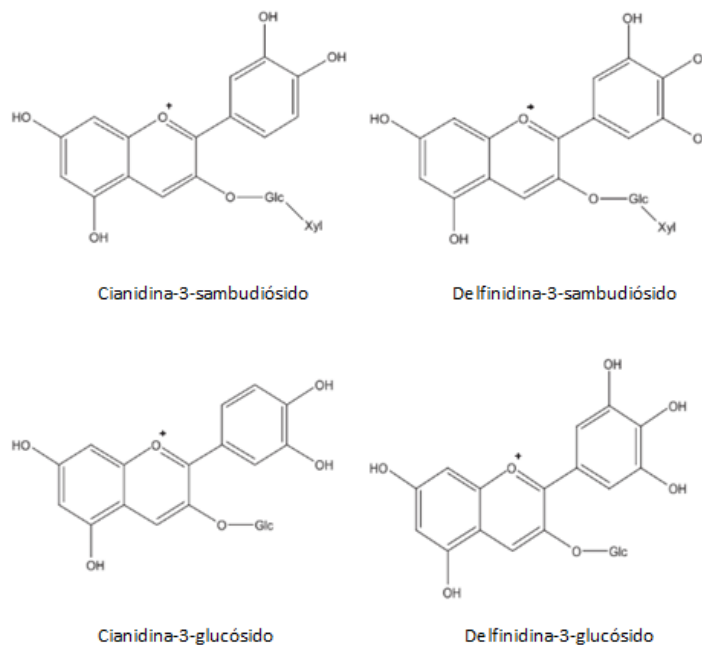


Ilustración 8. Estructuras químicas de las principales antocianinas en *Hs*

1.3.2 Estrés oxidativo y radicales libres

El estrés oxidativo, ilustración 7, es la ausencia de balance entre la aparición de especies reactivas de oxígeno/nitrógeno (ROS/RNS) y la capacidad del organismo para contrarrestar su acción por medio de los sistemas de protección anti oxidativa, está relacionado con patologías severas tales como enfermedades cardiovasculares y neurodegenerativas, cáncer, envejecimiento, cataratas (Pisoschi *et al.*, 2015).

Los radicales libres son aquellos compuestos reactivos que, para estabilizarse, tienden a capturar electrones de moléculas biológicas estables. Existen tres clases principales de especies radicales, las especies reactivas de oxígeno (ROS), las especies reactivas de nitrógeno (RNS) y las de especies reactivas de azufre (RSS) (Carocho *et al.*, 2018). Las especies reactivas de oxígeno, potencialmente dañinas, se producen como consecuencia del metabolismo aeróbico normal (Benzie *et al.*, 1996).

El estrés da paso a la producción de especies reactivas y radicales como super óxido (O_2^-), radicales tales como hidroxilo (OH^\cdot), monóxido de nitrógeno (NO), alquilo (RO) y otras especies como el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y el oxígeno atómico (O^\cdot) (Carocho *et al.*, 2018).

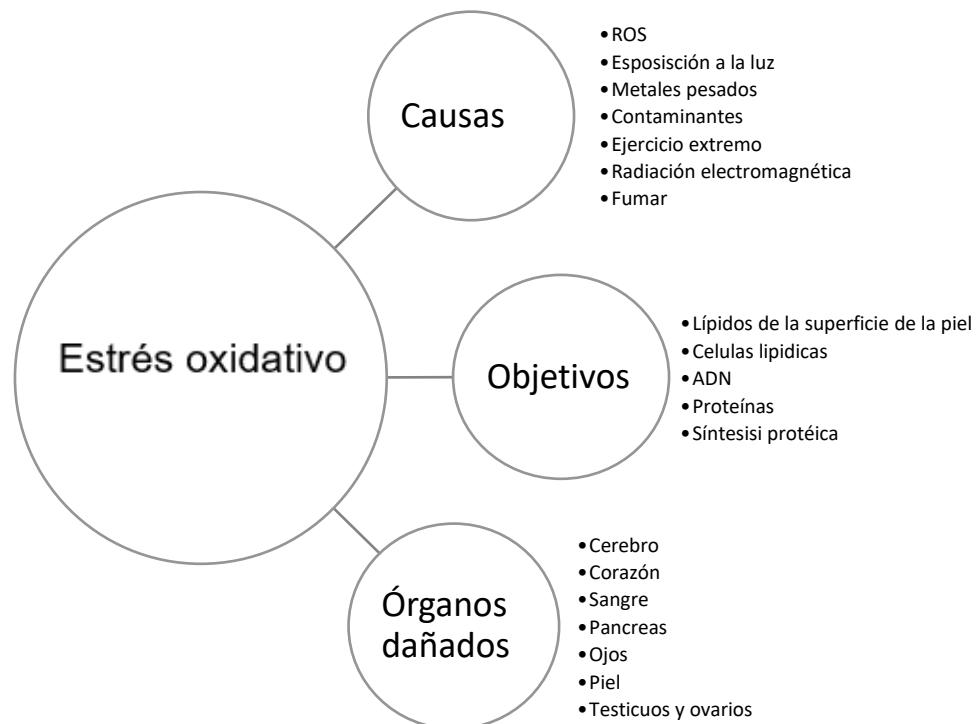


Ilustración 9. Generalidades del estrés oxidativo (Carocho *et al.*, 2018)

Bajo condiciones fisiológicas, el balance entre compuestos prooxidantes y antioxidantes, produciendo así un ligero estrés oxidativo, requiriendo la intervención de sistemas antioxidantes endógenos del organismo (Pisoschi *et al.*, 2015).

1.3.3 Actividad y capacidad antioxidante (AOA y TAC)

La actividad antioxidante está relacionada con la cinética de la acción antioxidante para apagar especies reactivas, generalmente expresada como tasas de reacción o porcentajes de eliminación por unidad de tiempo, y la capacidad es la eficiencia de conversión termodinámica de especies reactivas por antioxidantes, como el número de moles de conversión de especies reactivas por 1 mol de antioxidante durante un periodo de tiempo fijo (Apak *et al.*, 2016)

La actividad antioxidante es una propiedad funcional donde los compuestos antioxidantes exhiben esta capacidad de las siguientes maneras; a) inhibiendo la peroxidación lipídica, b) por el atrapamiento de radicales libres y especies reactivas de oxígeno, c) previniendo la descomposición de peróxidos en radicales libre y d) quelando iones metálicos pesados (Jiménez *et al.*, 2014).

Los primeros tipos de sistemas de defensa antioxidante identificados contra el daño oxidativo son aquellos que previenen la aparición de ROS así como aquellos que los bloquean y capturan. Otro proceso importante del sistema antioxidante de la célula es representado por la reparación del proceso, que remueve el daño de las biomoléculas antes de su agregación permite alteración del metabolismo celular (Pisoschi *et al.*, 2015).

Las funciones antioxidantes implican la disminución del estrés oxidativo, mutaciones del ácido desoxirribonucleico, transformaciones malignas, así como otros parámetros de daño celular. Estudios epidemiológicos han probado la habilidad de los antioxidantes para contener los efectos de la actividad de ROS y disminuir la incidencia de cáncer y otras enfermedades degenerativas (Pisoschi *et al.*, 2015).

El cuerpo humano cuenta con un conjunto de antioxidantes endógenos que actúan como la primera línea de defensa, pero es necesario contar con antioxidantes de alimentos como frutas, verduras y carne (Carocho *et al.*, 2018).

Está confirmado que los antioxidantes exógenos, ilustración 8, presentes en las frutas y vegetales siempre son homólogos a la actividad de la defensa endógena oxidativa. Los suplementos dietéticos son otra fuente de estos antioxidantes (Pisoschi *et al.*, 2015)

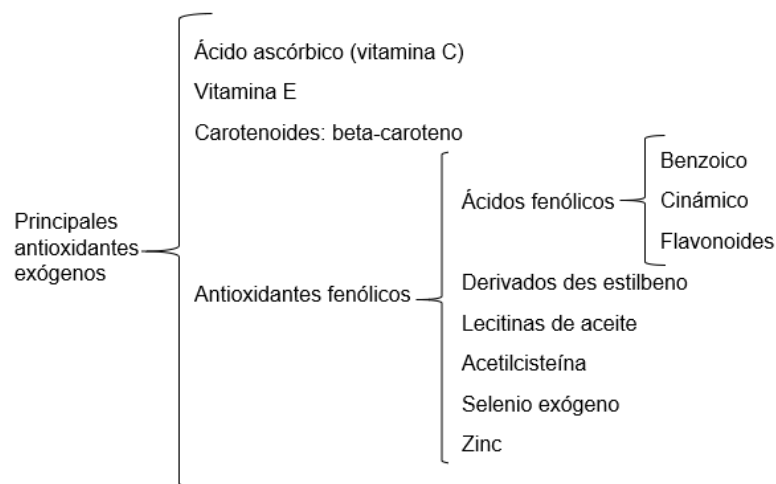


Ilustración 10. Principales antioxidantes exógenos (Pisoschi *et al.*, 2015)

1.4 Método de análisis de actividad antioxidante

Existen diferentes métodos para medir la actividad antioxidante, estos se encuentran dentro de dos categorías, tabla 8, la primera son los métodos basados en mecanismos de transferencia atómica de hidrógeno (HAT) y la segunda los basados en transferencia de un electrón (SET). Los primeros miden la habilidad clásica de un antioxidante para reprimir a los radicales por la donación de hidrógeno. Los métodos SET detectan la habilidad de un antioxidante potencial. Estos métodos transfieren un electrón para reducir cualquier compuesto, incluidos iones metálicos, carbonilos y radicales. Se presentan mediante un cambio de color conforme el antioxidante es reducido (Gülçin, 2012)

Tabla 8. Métodos HAT y SET

<i>Métodos HAT</i>	<i>Métodos SET</i>
Capacidad de absorción de radicales de oxígeno (ORAC)	Fenólicos totales por ensayo de reactivo Folin-Ciocalteu
Parámetro total de antioxidante que atrapa los radicales (TRAP)	Ensayo de capacidad antioxidante de equivalencia trolox (TEAC)
Inhibición de la oxidación de LDL inducida	Ensayo de poder antioxidante reductor de iones férricos (FRAP)
Ensayo de la capacidad de captación de oxígeno total (TOSCA)	Ensayo de potencial antioxidante total utilizando un complejo de Cu_2^+ como oxidante
Ensayo quimioluminiscente	Eliminación de radicales 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH $^{\cdot}$)
Ácido siríngico	Ensayo de recuperación del radical del ácido 2,2-azinobis-3-etilbenzotiazolina-6-silfónico (ABTS $^{\cdot+}$)
Ácido protocatéquicoico	Ensayo de eliminación del radical N,n-dimetil-p-fenilendiamina (DMPD $^{\cdot+}$)

Fuente: (Gülçin, 2012)

Recientemente se ha reportado que tanto el ensayo DPPH, ABTS y DMPD se ha clasificado como métodos de modo mixto, basados en ET o SET y HAT (Apak *et al.*, 2016).

1.4.1 Método Folin-Ciocalteu para fenoles totales

El método Folin-Ciocalteu (FC) fue empleado inicialmente para cuantificar tirosina en proteínas, y con el tiempo se modificó para analizar compuestos poli fenólicos en diferentes tipos de extractos vegetales. El reactivo FC es una mezcla de ácido fosfomolibdico y fosfotúngstico de color amarillo y a partir de la mezcla de ambos se producen iones de molibdato y tungsteno. La reacción, véase ilustración 11, se lleva a cabo en condiciones básicas (pH 10), con la finalidad de que se genere un ión fenolato que reduce al reactivo FC mediante una reacción de tipo óxido/reducción y genera la formación de un complejo de Molibdeno (Mo) que presenta una coloración azul cuya absorbancia se mide a una longitud de onda de 765 nm (Muñoz-Bernal *et al.*, 2017).

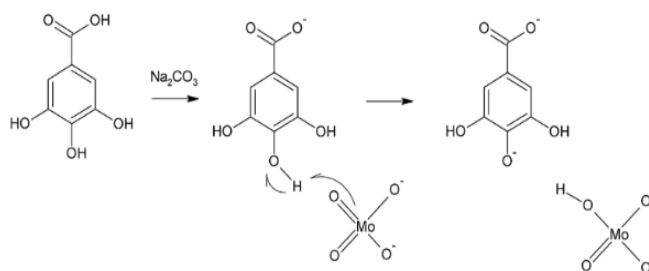


Ilustración 11. Reacción entre el ácido gálico y el reactivo FC, (Muñoz-Bernal *et al.*, 2017)

A pesar de que este método fue desarrollado en los años 60's sigue siendo ampliamente aceptado para la cuantificación de compuestos fenólicos en matrices vegetales y sus extractos. Los extractos de productos vegetales, acuosos u orgánicos contienen una gran cantidad de biomoléculas. Se ha estudiado que algunas de estas moléculas de características no polifenólicas pueden interactuar con el FC resultando en una sobreestimación. Ejemplos de estos compuestos son los azúcares reductores como fructuosa y glucosa, aminoácidos y ácido ascórbico (Muñoz-Bernal *et al.*, 2017)

1.4.2 Ensayo FRAP

El ensayo de poder antioxidante reductor férrico, (Ferric Reducing Ability of Plasma, FRAP), mide la capacidad de los antioxidantes para reducir el complejo 2,4,6-tripiridil-s-triazina $[\text{Fe}^{3+}-(\text{TPTZ})_2]^{3+}$ al complejo ferroso, de color azul intenso $[\text{Fe}^{2+}-(\text{TPTZ})_2]^{2+}$, ilustración 12, en medio ácido (Gülçin, 2012). Fue desarrollado por Benzie y Strain en 1996. La reacción no es específica (Benzie *et al.*, 1996). Este método mide la reducción de la potencia en plasma, pero posteriormente el ensayo también se ha adaptado y utilizado para la determinación de antioxidantes en diferentes alimentos o bebidas (Shahidi *et al.*, 2015).

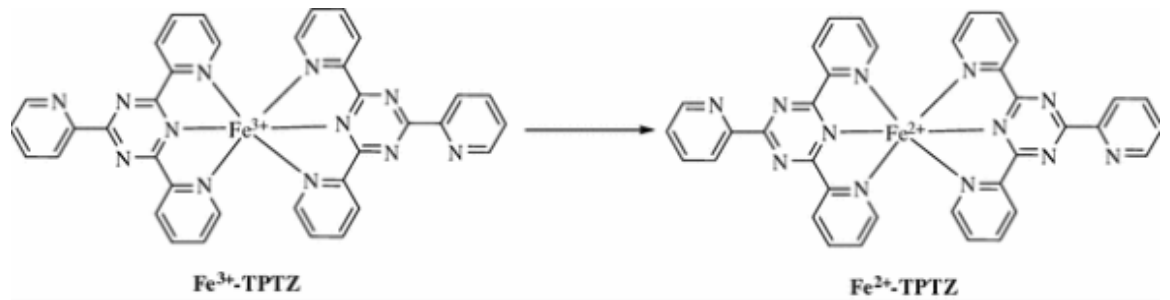


Ilustración 12. Reacción del ensayo FRAP, (Gülçin, 2012)

1.4.3 Ensayo DPPH

El método DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidracilo) fue desarrollado por Blois en 1958 con el objetivo de determinar la actividad antioxidante mediante el uso del radical α , α -difeníl- β -picrilhidrazilo ($C_{18}H_{12}N_5O_6$), uno de los pocos radicales de nitrógeno orgánicos estables, que tiene un color púrpura oscuro. El ensayo está basado en la medición de la capacidad reductora de eliminación de antioxidantes hacia este. El electrón impar del átomo de nitrógeno en DPPH se reduce al recibir un átomo de hidrógeno de antioxidantes a la correspondiente hidrazina (Kedare *et al.*, 2011).

Como se observa en la ilustración 13, el radical cromógeno púrpura (DPPH) se reduce mediante compuestos captadores de radicales AH (antioxidante) a la correspondiente hidrazina amarilla pálida (DPPH-H). La prueba es simple y rápida y solo necesita un espectrofotómetro ultra violeta visible (UV-Vis), para funcionar, lo que probablemente explica su uso generalizado en la detección de antioxidantes (Gülçin, 2012).

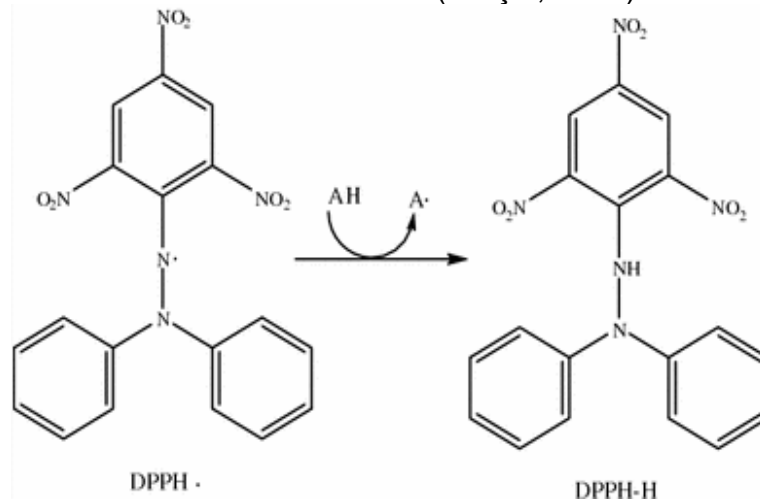


Ilustración 13. Efecto del barrido del radical DPPH por un antioxidante AH, (Gülçin, 2012)

1.5 Generalidades de la nanoencapsulación

1.5.1 Encapsulación

La encapsulación es el proceso en el cual los agentes activos son limitados o recubiertos por un material portador para formar partículas o cápsulas de micro o nano escala. Esta tecnología es aplicada en las industrias

farmacéuticas y alimenticia para encapsular compuestos bioactivos (polifenoles, micronutrientes, enzimas y antioxidantes) por la formación de barreras protectoras contra la luz, oxígeno, pH, humedad, calor u otras condiciones extremas).

En los procesos de encapsulación, las micro cápsulas (1-1000 μm), sub-microcápsulas (varios cientos de nanómetros menores a 1 μm) y las nano cápsulas (de 1 a varios cientos de nanómetros) son producidas mediante diferentes técnicas. Las nanocápsulas proveen una mayor área superficial que mejora la solubilidad, en comparación con las microcápsulas, además estas tienen una mejor contribución en la biodisponibilidad y liberación sostenida, que habilita una orientación precisa de los compuestos bioactivos (Shishir *et al.*, 2018), en la ilustración 14 se muestra la funcionalidad de la micro y nano encapsulación.

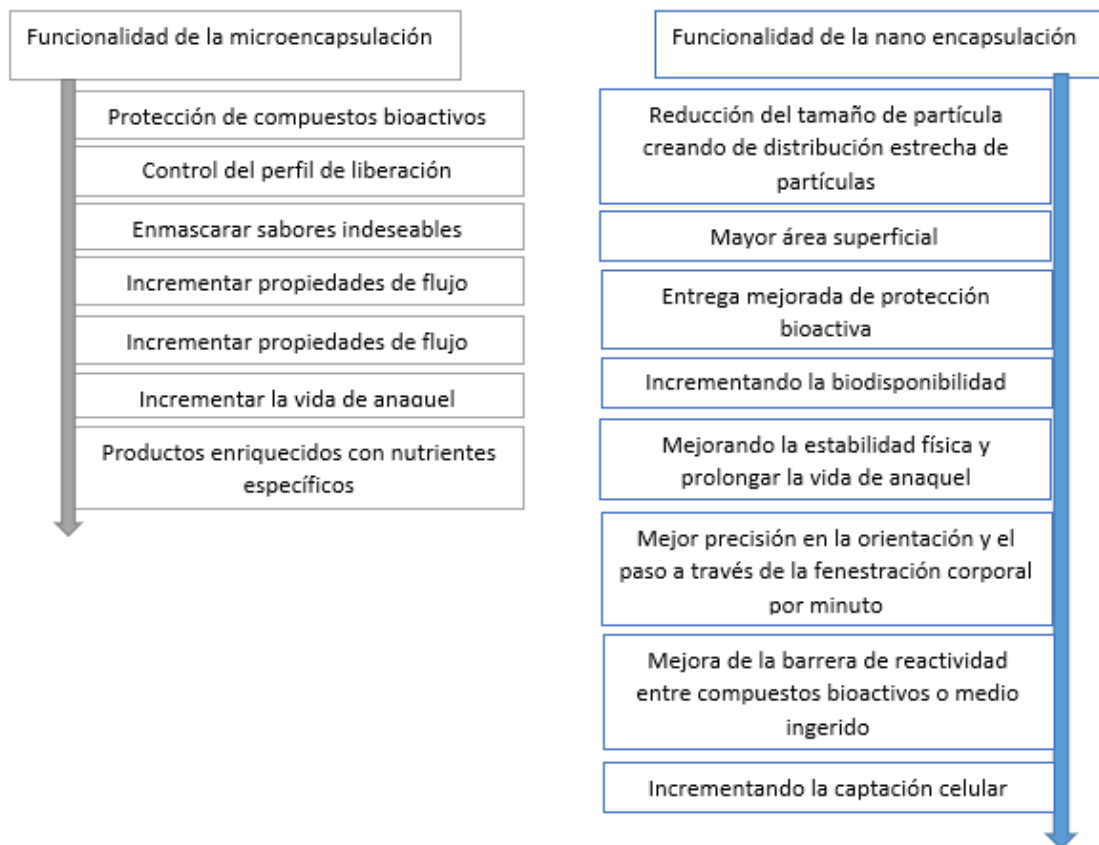


Ilustración 14. Comparación de la funcionalidad de la micro y nano encapsulación (Shishir *et al.*, 2018)

1.5.2 Nanoencapsulación

La Institución Británica de Estándares define a la nanotecnología como el diseño, caracterización, producción y aplicación de estructuras, dispositivos y sistemas mediante el control de la forma y el tamaño nano escala, el término “nano” se refiere a la magnitud de 10^{-9} m (Anandharamakrishnan, 2014).

La nano encapsulación es la tecnología de empaquetar o envasar nanopartículas sólidas, líquidas o de gas, también conocidas como núcleo o

activo, dentro de un material secundario, denominado matriz, para formar nanocápsulas (Cano-Sarabia *et al.*, 2016). Esta involucra la incorporación, absorción o dispersión de compuestos bioactivos en forma de pequeñas vesículas de diámetros nanométricos (Anandharamakrishnan, 2014).

El núcleo contiene al ingrediente activo, ilustración 15, mientras que la cubierta aísla y protege el núcleo del entorno circundante. Las nanocápsulas tienen un tamaño de 1 a 1000 nanómetros y tienen diferentes formas, dependiendo del material y el método usado para prepararlas (Cano-Sarabia *et al.*, 2016).

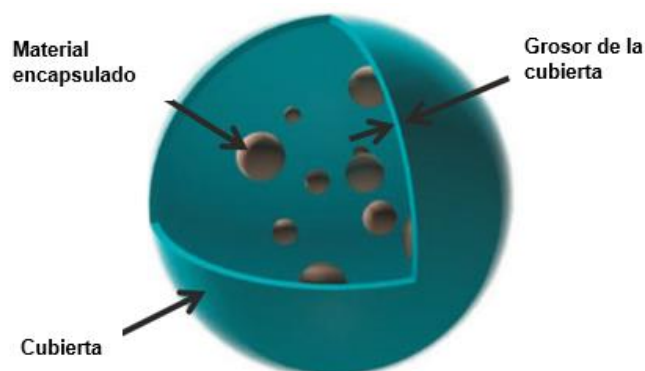


Ilustración 15. Esquema de una nanocápsula, (Cano-Sarabia *et al.*, 2016)

Las razones principales para la nanoencapsulación de especies es garantizar que el material nanoencapsulado alcance el área de acción sin ser afectado negativamente por el entorno externo que atraviesa. Así, las principales razones para la encapsulación son:

- a) Separación de materiales incompatibles
- b) Conversión de líquidos a sólidos que fluyen libremente
- c) Mayor estabilidad
- d) Enmascarar propiedades organolépticas (color, olor, sabor) de sustancias
- e) Manejo seguro de materiales tóxicos
- f) Liberación controlada y dirigida de compuestos activos (Cano-Sarabia *et al.*, 2016)

1.5.2 Técnicas de nanoencapsulación

Actualmente existen múltiples técnicas para la nanoencapsulación de especies, las más populares pueden ser clasificadas en tres principales familias: procesos químicos, fisicoquímicos y físico-mecánicos, ilustración 16. Los procesos químicos y fisicoquímicos incluyen aquellos métodos que involucran reacciones químicas en la formación de las nanocápsulas. En contraste, en métodos físico-mecánicos, no hay reacciones químicas y generalmente solo tiene lugar la fabricación de la forma (Cano-Sarabia *et al.*, 2016).

Dentro de las técnicas fisicoquímicas se encuentra el uso de sistemas moleculares que se auto ensamblan en cápsulas dentro de condiciones dadas. Por ejemplo, los liposomas son las vesículas artificiales más pequeñas de forma esférica que pueden producirse a partir de fosfolípidos y colesterol naturales y no tóxicos (Cano-Sarabia *et al.*, 2016), están compuestas de bicapas de

fosfolípidos de tipo membrana que rodean un medio acuoso. Estos pueden clasificarse de acuerdo al número de laminillas y su tamaño, véase ilustración 17 (Anandharamakrishnan, 2014).

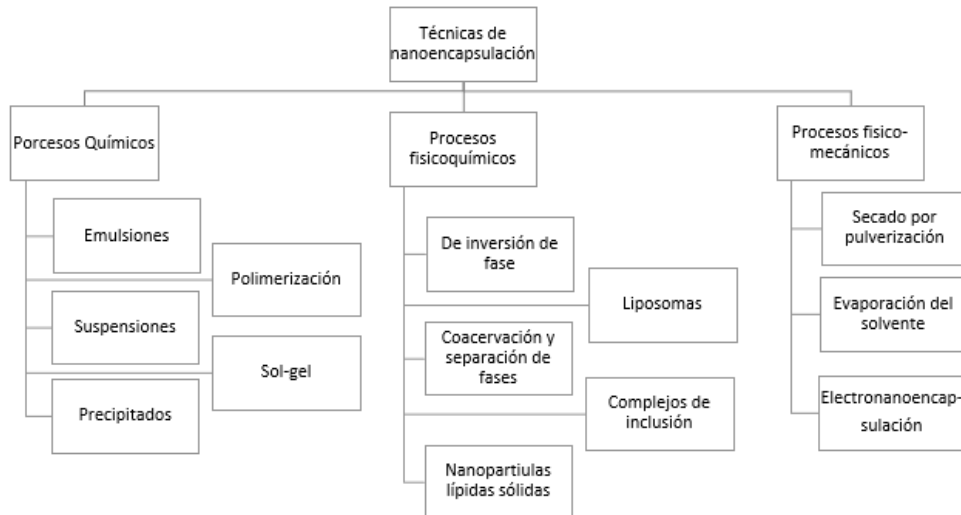


Ilustración 16. Técnicas de nanoencapsulación (Cano-Sarabia et al., 2016)

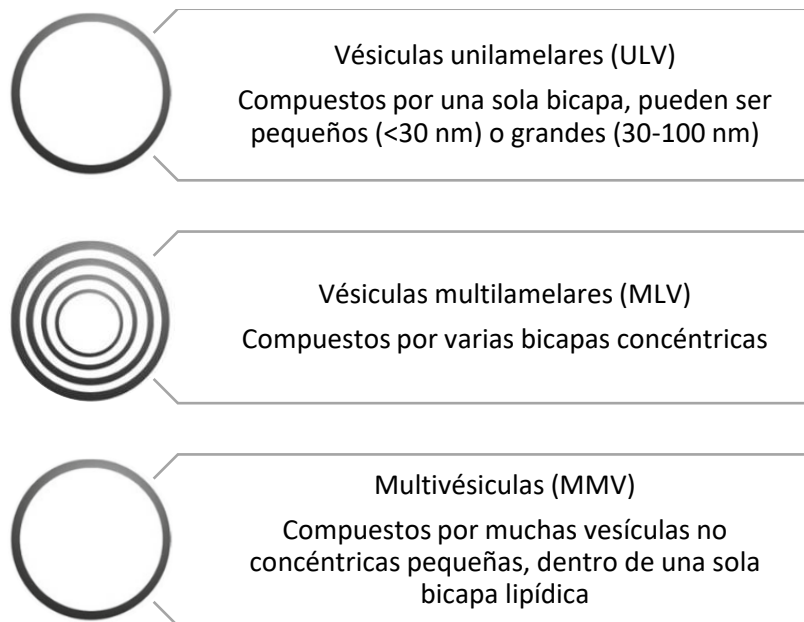


Ilustración 17. Clasificación y forma de los liposomas de acuerdo al número de láminas. En las imágenes áreas oscuras son las fases lipídicas de los liposomas, mientras que las áreas blancas cerradas son las fases (Anandharamakrishnan, 2014)

Cuando los fosfolípidos se dispersan en una fase acuosa, los liposomas se forman espontáneamente, encapsulando así materiales acuosos o solubles en lípidos (ilustración 18).

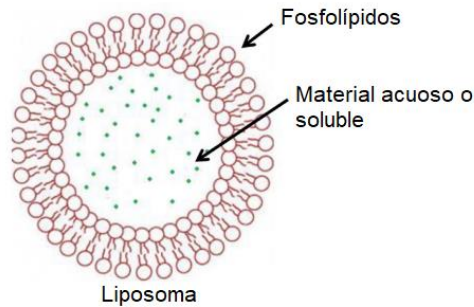


Ilustración 18. Estructura de un liposoma (Pimentel-Moral *et al.*, 2018)

Todos los métodos de preparación de liposomas involucran cuatro estados básicos (Akbarzadeh *et al.*, 2013):

1. Secado de lípidos a partir de solventes orgánicos
2. Dispersión de lípidos en un medio acuoso
3. Purificación de los liposomas resultantes
4. Análisis del producto final

En la preparación de liposomas se pueden usar las siguientes técnicas:

- a. De carga pasiva
- b. De carga activa

Dentro de las primeras existen tres diferentes métodos:

- Dispersión mecánica
- Dispersión de disolventes
- Eliminación de detergente

Dentro del método de dispersión de disolventes esta la hidratación de película delgada de Bangham que es uno de los métodos más utilizados para la preparación de vesículas multilamelares (MLV). La técnica consiste en secar una solución de lípidos de modo que se forme una película delgada en el fondo de un matraz de fondo redondo, seguido de la hidratación de la película agregando un buffer acuoso y agitando durante un tiempo. Los compuestos que se van a encapsular se agregan a un buffer acuoso o a un solvente orgánico que contiene lípidos, dependiendo de sus solubilidades (Anandharamakrishnan, 2014).

Para la interrupción de la suspensión de MLV puede usarse la sonicación, un método simple para reducir el tamaño de los liposomas (Woodbury *et al.*, 2006), que produce pequeñas vesículas unilamelares con diámetros de 15-50 nm. La instrumentación más común para la preparación de partículas sonicadas son los sonicadores de baño (SB) y punta de sonda. La técnica consiste en colocar, en el SB, un tubo con la suspensión y sonificarlo por 5-10 minutos a una temperatura por encima de la crítica del lípido (Dua *et al.*, 2012).

1.5.3 Caracterización de las nanopartículas

1.5.3.1 Dispersión de luz dinámica.

Para analizar el tamaño de las partículas a nano escala existen dos métodos principales, la dispersión de luz dinámica (Dynamic Light Scattering, DLS) y la microscopía electrónica. DLS es la herramienta más utilizada, calcula principalmente la fluctuación que ocurre en el camino de la luz que pasa a través de la muestra, (ilustración 19), debido al movimiento browniano de las partículas, es una técnica muy sensible y capaz de medir partículas de tamaño menor a $0.001 \mu\text{m}$, que no pueden medirse con otros métodos. Sus mayores ventajas son el costo-efectividad y los resultados rápidos (Anandharamakrishnan, 2014).

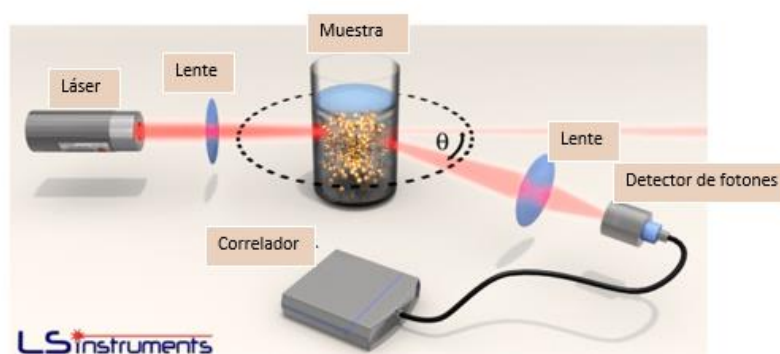


Ilustración 19. Sistema DLS, (LS Instruments, 2018)

1.5.3.2 Potencial zeta

Cuando se ponen en contacto dos fases, se desarrolla en general una diferencia de potencial entre ellas. El término potencial zeta es una abreviatura del potencial electro cinético en sistemas coloidales, ilustración 20, (Williams, 2016) , es la medida de la carga total que una partícula adquiere en un medio específico y da una indicación de la estabilidad potencial de un sistema coloidal. También explica la interacción electrostática y la movilidad de una solución coloidal. La interacción de repulsión electrostática se utiliza para medir y controlar la estabilidad de la solución, lo que explica la aparición de dispersión, agregación o floculación y puede ser usada para mejorar las condiciones de la solución coloidal (Anandharamakrishnan, 2014).

La magnitud del potencial zeta indica la estabilidad del sistema, observándose que los sistemas coloidales no son estables en el intervalo comprendido entre -30 y $+30$ mV (Ruano, 2013). Su valor indica el grado de repulsión entre partículas adyacentes cargadas, en una dispersión. Los coloides de alto potencial se estabilizan eléctricamente, mientras que cuando el potencial es bajo, se tiene atracción entre las partículas, se supera a la repulsión y se forman flóculos, en lugar de dispersión (Mayoral *et al.*, 2014).

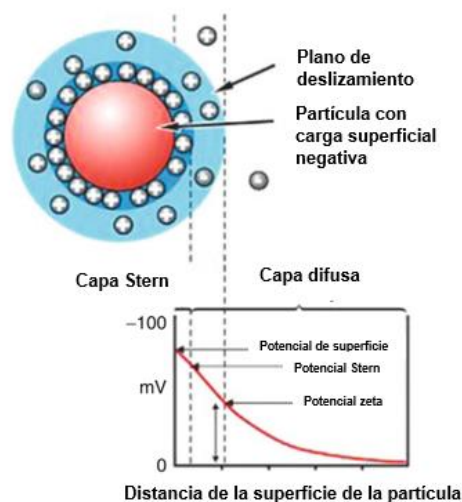


Ilustración 20. Representación del potencial zeta, (Williams, 2016).

1.5.4 Aplicaciones de la nanoencapsulación

Actualmente la nanoencapsulación es usada en un rango diverso de mercados, tabla 9, incluyendo, pero no limitando, el agroquímico, aromaterapia, pinturas, colorantes, revestimiento, farmacéutico, cuidado personal, adhesivos, biocidas, neutra céticos, aceite y gas, textiles, sistemas de papel, electrónicos y sistemas de imagen (Cano-Sarabia *et al.*, 2016).

Tabla 9. Usos de la encapsulación en diferentes áreas

Área	Uso-beneficio	Ejemplo
<i>Agricultura</i>	Protección de cultivos y solución de problemas de fitotoxicidad.	Nanoencapsulación de estimulantes de germinación
<i>Medicina y farmacéuticos</i>	Entrega del medicamento y concentración adecuados	Abraxane® es un conjugado de taxol de nanopartículas de albumina para el tratamiento de cáncer de mama metastásico
<i>Industria alimenticia</i>	Protección de ingredientes alimenticios sensibles, proporciona una mezcla de texturas viable, atractiva liberación de aroma y sabor, enmascaramiento de sabores y olores y simplifica el proceso de manufactura.	Suplementos de Omega-3 DHA (ácido docosahexaenoico)
<i>Cuidado personal</i>	Sistema portador ideal para ingredientes activos, protección eficaz contra la foto degradación y ahorro en la formulación, al reducir la cantidad de ingredientes activos necesarios.	Liposomas como fuente de ascorbil fosfato de magnesio, derivado estable de la vitamina C, aumentando sus efectos de blanqueamiento y antioxidantes.

Fuente: (Cano-Sarabia *et al.*, 2016)

CAPÍTULO II METODOLOGÍA

2.1 Obtención de la muestra

El residuo agroindustrial de la producción del licor de jamaica, en adelante RLJ, se obtuvo en las instalaciones de la Integradora Agroindustrial de Chiautla de Tapia y la técnica de muestreo se adaptó a las condiciones de disposición de residuos implementadas por la empresa.

2.2 Análisis fisicoquímicos

2.2.1 Humedad

La humedad fue determinada en base a la metodología de la norma oficial mexicana NOM-116-SSA1-1994, ("Bienes y servicios. Determinación de humedad en alimentos por tratamiento térmico. Método por arena o gasa"), en la cual se utilizaron charolas de aluminio con una gasa en el fondo, secadas durante 2 horas a 100°C, se colocaron en un desecador y fueron pesadas.

Se pesaron 5 g de cálices secos del RLJ en charolas de aluminio (ilustración 21), se pesaron, y se llevaron a secado por 4 horas a una temperatura de 100°C. Al término de este tiempo las charolas se volvieron a pesar.



Ilustración 21. RLJ en la charola de aluminio

La determinación se realizó por triplicado y los datos obtenidos se reportaron como porcentaje de humedad (%H).

2.2.2 Preparación de la muestra para análisis fisicoquímicos y actividad antioxidante

Para la preparación de las muestras se utilizó la metodología de Ochoa-Velasco *et al.*, 2017.

Se pesaron 600 g de RLJ que fueron secados en un horno de convección mecánica (Felisa, modelo FE-292AD, voltaje 120 Vac y potencia de 1800 W) a 55°C \pm 5 durante 48 horas.

Posteriormente la muestra fue molida en un molino de maíz, cereales y granos (SURTEK ®) y tamizados a 420 micrómetros (malla No.40). Los polvos

obtenidos fueron almacenados en un frasco de vidrio con tapa hermética y mantenidos a temperatura ambiente.

2.2.3 pH

Para la evaluación del pH se usó la metodología de la NMX-F-317-S-1978, (“Determinación de pH en alimentos”) de acuerdo con su clasificación como producto sólido.

Se añadieron 50 ml de agua destilada a 5 g de RLJ. Esta mezcla se agitó durante 20 minutos, se dejó reposar por 5 minutos, posteriormente se midió el pH con un potenciómetro (ilustración 22). La determinación se realizó por triplicado.



Ilustración 22. Toma de pH del RLJ

2.2.4 Acidez titulable

La determinación de la acidez titulable se realizó siguiendo la metodología de la norma mexicana NMX-F-102-NORMEX-2010, (“Determinación de la acidez titulable en productos elaborados a partir de frutas y hortalizas”) adecuada a 30 gramos del RLJ.

Se pesaron 30 g de la muestra de RLJ, se adicionaron 80 ml de agua destilada, posteriormente esta mezcla se llevó a una temperatura de 70 °C durante una hora en un horno de convección mecánica (Felisa, modelo FE-292AD, voltaje 120 Vac y potencia de 1800 W).

Después la mezcla se filtró aplicando lavados con agua caliente hasta obtener 50 ml. El filtrado obtenido se aforó a un volumen de 200 ml. De esta solución se tomaron alícuotas de 20 ml y se realizó una dilución a un volumen de 50 ml.

A esta dilución se agregó una solución de 0.1 N de hidróxido de sodio hasta alcanzar un pH de 6.0, se continuó agregando lentamente esta solución hasta un pH de 7.0. Se tituló agregando hidróxido de sodio en porciones de 4 gotas hasta lograr un pH de 8.3 (ilustración 23). Este procedimiento se realizó por triplicado.



Ilustración 23. Titulación del RLJ

Los datos se obtuvieron por extrapolación y se reportaron en porcentaje (Tyl *et al.*, 2017) y g de ácido orgánico por cada 100 g de polvo de cálices.

2.3 Elaboración y concentración de extractos

Para la elaboración de los extractos se siguió la metodología de Ochoa-Velasco *et al.*, 2017, con algunas modificaciones.

Se pesaron 25 g de polvo de RLJ y se adicionaron 250 ml de una mezcla de agua: etanol 50:50, se agitó por 2 horas en oscuridad. Se centrifugó por 10 minutos a 4500 rpm.

El sobrenadante fue filtrado en condiciones de vacío a través de un papel filtro Whatman No.2 (ilustración 24). El extracto fue concentrado usando un evaporador rotatorio Yamato RE301 a 150hPa, 70 °C y 50 rpm.



Ilustración 24. Filtrado del extracto del RLJ

2.4 Ensayo de Folin-Ciocalteu para fenoles totales

La determinación del contenido de fenoles totales se realizó con la metodología de Benzie & Strain, 1996, con modificaciones de Quiroz, 2016 y Marina *et al.*, 2008 y se realizó por duplicado.

Se realizó una curva de calibración de ácido gálico con soluciones estándar de 100, 250, 400, 550, 700, 850 y 1000 ppm. Partiendo de una solución madre de 1000 ppm y tomando para cada concentración de estándar 200, 500,

800, 1100, 1400, 1700 y 2000 µl respectivamente, aforando en matraces de 10ml (Quiroz, 2016).

Se realizó una solución de carbonato de sodio al 20% (p/v). Se pesaron 5 g de NaCO₃ que se disolvieron en 15 ml de agua destilada, esta mezcla se agitó por 2 minutos y se llevó a ultrasonido (ULTRASONIC CLEANER ®) durante 2 min. a 20°C (Marina *et al.*, 2008).

El extracto concentrado de RLJ fue diluido a una relación 1:10 (10,000 ppm).

Se tomaron 20 µl de cada estándar de ácido gálico, del extracto diluido de RLJ y de agua destilada como control y se les añadieron 1.4 ml de agua destilada, más 100 µl del reactivo Folin-Ciocalteu.

Esta mezcla se agitó (Vortex Genie 2®) por unos segundos, posteriormente las mezclas fueron incubadas a temperatura ambiente y en oscuridad por 3 minutos, después se añadieron 300 µl de la solución de carbonato de sodio al 20% y se aforaron a 2 ml con agua destilada.

Se agitaron nuevamente por unos segundos y se incubaron a temperatura ambiente y en oscuridad por 1 h 30 min.

Finalmente, cada muestra (ilustración 25) fue leída en un espectrofotómetro (Thermo Scientific GENESYS® 10S UV-Vis) a una longitud de onda de 760 nanómetros (nm).



Ilustración 25. Reacción de los estándares y RLJ por el método FC

La concentración de fenoles totales fue expresada en mg equivalentes de ácido gálico (GAE)/ g de extracto, derivados de la ecuación 1.

$$\text{Contenido de Fenoles Totales} = \frac{A_{760} - 0.0181}{0.001} \quad (\text{Ecuación 1. Contenido de fenoles totales})$$

2.5 Ensayo de FRAP

La capacidad antioxidante por el método FRAP se determinó de acuerdo a la metodología de Quiroz, 2016 y fue por duplicado.

Se realizó una curva de calibración de Trolox (ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametil-cromone-2-carboxílico) con soluciones estándar de 25, 100, 250, 400,

550, 750 y 1000 μM , partiendo de una solución madre se 1000 μM y tomando para cada concentración de estándar 250 μl , 1, 2.5, 4, 5.5, 7.5 ml aforando en matraces de 10 ml.

Preparación de soluciones:

1. Solución de buffer acetato. Se preparó disolviendo 0.775 g de acetato de sodio en 4 ml de ácido acético, se agitó por 3 min. y se aforó a 250 ml con agua destilada, se midió el pH, el cual fue cercano a 3.6.
2. Solución TPTZ (2,4,6-Tri (2-piridil-s-triazina). Se disolvieron 0.07808 g (10 μM) de este reactivo en 25 ml de una solución de ácido clorhídrico (HCl) a 40 $\mu\text{M/l}$.
3. Solución cloruro férrico hexahidratado ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$). Se disolvieron 0.2703 g en 50 ml de agua destilada.
4. Solución FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power). Fue preparada mezclando 50 ml de la solución buffer acetato con 5 ml de TPTZ y 5 ml de cloruro férrico, esta se calentó a 37°C por 4 min antes de usarse.

El extracto concentrado de RLJ fue diluido a una relación 1:10 (10,000 ppm).

Se tomó una alícuota de 150 μl de extracto diluido y de cada estándar y se les adicionaron 2850 μl de la solución FRAP, las mezclas se agitaron (Vortex Genie 2 ®) por unos segundos y se incubaron a temperatura ambiente y en oscuridad por 30 min.

Posteriormente se leyó la absorbancia de la muestra y estándares (ilustración 26) en un espectrofotómetro (Thermo Scientific GENESYS 10S UV-Vis) a una longitud de onda de 593 nm.



Ilustración 26. Reacción de los estándares y el RLJ del método FRAP

La concentración de fenoles totales se expresó en mg equivalentes Trolox/ g de extracto, derivados de la ecuación 2.

$$\text{Actividad antioxidante} = \frac{A_{593} + 0.0093}{0.0024} \quad \text{Ecuación 2. Actividad antioxidante FRAP}$$

2.6 Ensayo DPPH para actividad antioxidante

La actividad antioxidante por el método DPPH se determinó de acuerdo a la metodología de Tahir *et al.*, 2016 con modificaciones y fue realizado por duplicado.

Se prepararon soluciones de 100 y 400 ppm de ácido ascórbico, partiendo de una solución madre de 1000 ppm, tomando 2.5 y 10 ml respectivamente y aforando a 25 ml. Estas soluciones fueron el control positivo.

Así mismo se realizaron diluciones de 100 y 400 ppm del extracto concentrado del RLJ, tomando 10 y 40 μ l respectivamente y aforando a 10 ml.

Se preparó una solución de DPPH (0.02 mg/ml) en 25 ml de metanol, esta solución fue el control negativo (CN).

Se colocaron en tubos de vidrio 2 ml de cada concentración del extracto, control positivo y de la solución DPPH (CN), después a los extractos y al control positivo se les añadió 1ml de la solución DPPH, mientras que a la solución CN se le adicionaron 5ml de metanol. Como blanco se utilizó 2 ml de extracto diluido más 1ml de agua.

Posteriormente todos los tubos fueron agitados vigorosamente por unos segundos (Vortex Genie 2 ®) y se incubaron a temperatura ambiente y oscuridad, durante 15 min. Finalmente se midió la absorbancia de las muestras (ilustración 22) en un espectrofotómetro (Thermo Scientific GENESYS 10S UV-Vis) a una longitud de onda de 517 nm.



Ilustración 17. Reacción del RLJ y los controles del método DPPH

Los resultados fueron reportados como porcentaje de inhibición mediante el uso de la ecuación 3.

$$\% \text{ de inhibición: } \frac{A_{\text{control negativo}} - A_{\text{muestra}}}{A_{\text{control negativo}}} * 100 \quad (\text{Ecuación 3. Porcentaje de inhibición DPPH})$$

2.7 Preparación de liposomas y nano encapsulación de extracto de RLJ

La preparación de los liposomas se realizó mediante la metodología de Bangham *et al.*, 1974 con modificaciones de Batalla-Mayoral, 2015 y Díaz-Bandera *et al.*, 2015, donde se disolvieron 0.2255 g lecitina de soya y 0.0571g de colesterol (4:1 masa, respectivamente) en una mezcla de solventes orgánicos de cloroformo y metanol (9:1 volumen), esta mezcla se agitó durante 10 minutos.

Posteriormente se evaporaron los solventes orgánicos en un rotavapor (Yamato RE301) a 333 hPa, 40°C, por 1 hora 30 min hasta obtener una película lipídica, esta fue hidratada con una solución de agua desionizada y propilenglicol (24:1 volumen) que se agitó suavemente a 50 rpm durante 2 horas. Durante la hidratación se incorporaron 31.25 ml del extracto concentrado de RLJ (Díaz-Bandera *et al.*, 2015).

Una vez formada la solución liposomal fue sonicada (ULTRASONIC CLEANER®) durante 5 minutos a 25°C.

Se realizó la caracterización de los liposomas mediante DLS (Dispersión de luz dinámica) y potencial zeta.

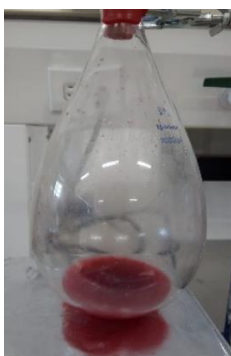


Ilustración 18. Película lipídica hidratada con extractos RLJ

CAPÍTULO III RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A continuación, se presentan los resultados obtenidos de la caracterización fisicoquímica realizada en la muestra de RLJ así como de las pruebas: contenido de fenoles por Folin-Ciocalteu y actividad antioxidante por DPPH y FRAP, realizadas en sus extractos.

Es importante mencionar que los valores reportados en este trabajo serán comparados con datos obtenidos de muestras de *Hs* antes de ser utilizadas para cualquier proceso productivo, debido a que no se han encontrado estudios que aporten información sobre jamaica como residuo.

3.1 Caracterización fisicoquímica del extracto concentrado.

El contenido de humedad de cálices del RLJ fue de 61.94%. Como resultado de la preparación de 600 g de cálices del RLJ se obtuvieron 86.7766 g (14.4627%) de muestra seca y tamizada, misma que se utilizó para determinar pH, acidez titulable y obtención de 64 ml de extracto concentrado (100,000 ppm) (Tabla 10).

Tabla 10. Porcentaje de humedad y pH de los cálices RLJ

<i>% de humedad</i>	<i>pH (22°C)</i>
61.94 ± 1.56	2.6 ± 0.005

El contenido de humedad que se ha reportado en los cálices frescos (muestras tomadas después de la cosecha) de *Hs* es de 88.26% (Suresh *et al.*, 2017), 85% (Shruthi *et al.*, 2016) y 86.2% (Mahadevan *et al.*, 2009) La muestra de RLJ es aproximadamente 20% menor, esta reducción puede deberse al proceso de elaboración de licor o a la disposición al aire libre del mismo.

Un elevado contenido de humedad influye en la velocidad de multiplicación de los microorganismos, provocando su descomposición y por lo tanto la pérdida de la calidad sanitaria (Secretaria de Salud, 1994).

El pH de la muestra del RLJ es de 2.6, el cual se relaciona con una alta concentración de ácidos orgánicos (Domínguez *et al.*, 2008) así también con el solvente de extracción, en el caso del etanol, que tiene un pH bajo (Sukkhhaeng *et al.*, 2018). Comparando este valor con los estudios de Cid-Ortega *et al.*, 2014 y Salazar-González *et al.*, 2012 quienes reportan un pH de 2.27 ± 0.12 (23°C) y 2.10 ± 0.02 respectivamente, en muestras procedentes de Chiautla de Tapia, se observa un ligero aumento, que repercute en el color del extracto, ya que el pH es un parámetro que tiene un importante efecto en los pigmentos de los alimentos y cuando estos son procesados, sus compuestos de color pueden cambiar, por ejemplo, con un incremento en los valores de pH el color de las antocianinas se vuelve pálido, aunque se pueden presentar componentes capaces de actuar como co-pigmentos y retener el color (Bello *et al.*, 2013).

Se ha reportado que las antocianinas exhiben una buena estabilidad en medios ácidos (Wu *et al.*, 2018), lo que puede explicar la presencia de un color rojo pálido en el residuo.

Además el pH es un factor importante para determinar la supervivencia y crecimiento de microorganismos durante el procesado, almacenamiento y distribución de los productos (Wu *et al.*, 2018).

La acidez titulable mide la concentración total de ácidos en una muestra, una titulación de rutina no puede diferenciar entre ácidos individuales, por lo tanto, generalmente se expresa en términos del ácido predominante. En algunos casos, dos ácidos están presentes en grandes concentraciones y el ácido predominante puede cambiar con la madurez de la muestra (Tyl *et al.*, 2017). Por estas razones se presentan (tabla 11) los principales ácidos contenidos en *Hs*.

Tabla 11. Comparativa del contenido los principales ácidos orgánicos reportados en muestras frescas contra los resultados obtenidos en RLJ

Ácido	Cantidad en RLJ	Cantidad en muestra fresca	Referencia
Málico	0.2142%	2-9 %	Da-Costa-Rocha <i>et al.</i> , 2014
	53.5506 mg/100g	4.42 ± 0.23 %	Salazar-González <i>et al.</i> , 2012
		4,172 mg/100 g	Ifie <i>et al.</i> , 2016
Cítrico	0.2046%	13-24 %	Da-Costa-Rocha <i>et al.</i> , 2014
	51.1543 mg/100g	3.74%	Lim, 2014
		58 ± 0.37 mg/ 100 g	Ifie <i>et al.</i> , 2016
		18,850 mg/100 g	Sukkhaeng <i>et al.</i> , 2018
Ascórbico	0.2813%	0.02-0.05 %	Da-Costa-Rocha <i>et al.</i> , 2014
	51.1223 mg/100g	11%	Lim, 2014
		11 mg/100 g	Shruti <i>et al.</i> , 2016
		186.4 mg/100g	Shrawan <i>et al.</i> , 2011
Tartárico	0.2397%	8 %	Da-Costa-Rocha <i>et al.</i> , 2014
	59.9489 mg/100 g	11 ± 0.04 mg/100 g	Ifie <i>et al.</i> , 2016
Oxálico	0.1438	1,810 mg/100 g	Jabeur <i>et al.</i> , 2017
	35.9651 mg/100 g	6 ± 0.02 mg/ 100 g	Ifie <i>et al.</i> , 2016

Todos los ácidos presentes en RLJ muestran una disminución comparándolos con estudios realizados anteriormente (tabla 11). Los ácidos predominantes en el RLJ son el ácido ascórbico y el tartárico.

El ácido málico presente en el RLJ es menor al 1%, este ácido es utilizado como acidulante, agente antioxidante aromatizante y quelante, como aditivo alimenticio se utiliza en una gran variedad de productos (leche, queso, hortalizas, pastas, productos pesqueros, alimentos complementarios para niños, zumos, concentrados, té e infusiones), la dosis máxima se encuentra establecida por las buenas prácticas de fabricación (Codex Alimentarius *et al.*, 2018). En el área terapéutica es usado tópicamente, en combinación con otros compuestos, para tratar quemaduras, úlceras y heridas también se ha utilizado en el tratamiento de trastornos hepáticos (H. G. Brittain, 2001) y en el área cosmética donde es usado en bajas concentraciones en la formulación de diversos productos (Fiume, 2001).

El ácido que experimentó menor reducción fue el cítrico, de acuerdo con Ifie *et al.*, 2016, la cantidad de este ácido reportada es de 58 ± 0.37 mg/ 100 g, y el RLJ presenta 51.1543 mg/100 g, ambas cantidades son similares, lo que representa un área de oportunidad en la búsqueda de su aprovechamiento. Este ácido es un intermediario clave en el metabolismo, es un agente anticoagulante. En comida y bebidas se utiliza como acidulante, regulador de pH, potenciador de sabor, conservador y sinergista antioxidante (National Center for Biotechnology Information, n.d.)

De acuerdo a las investigaciones de Shruti *et al.*, 2016 (variedad roja) y Da-Costa-Rocha *et al.* 2014, la cantidad de ácido ascórbico o vitamina C en *Hs* fue 11 mg/ 100 g y 0.02-0.05% respectivamente, en el RLJ se encontró 51.1223 mg/100 g o 0.2813%, que es una cantidad mayor a pesar de ser materia de origen residual. Estos resultados pueden deberse a factores como la variedad de la planta, el proceso de secado y obtención de los extractos (Ifie *et al.*, 2018) (Borrás-Linares *et al.*, 2015) .

La vitamina C representa un importante indicador de calidad de los productos alimenticios y contribuye a las propiedades antioxidantes de estos (Pisoschi *et al.*, 2012), actúa como agente reductor y es necesaria para la síntesis de las fibras de colágeno y protege al organismo del daño por los radicales libres. Es un antioxidante, agente de retención de color, regulador de acidez, agente de tratamiento de harinas, y acondicionador de masa (Secretaría de Salud, 2012). La recomendación de ingesta es de 90 y 75 mg/ día para hombres y mujeres respectivamente (Valdés, 2006) por lo que, al presentar una menor cantidad, el RLJ podría utilizarse en la elaboración de un suplemento alimenticio (Secretaría de Salud, 2012).

En cuanto al ácido tartárico el RLJ obtenido fue de 0.2397% o 59.9489 mg/100 g que es mayor comparándolo con el valor obtenido por Ifie *et al.*, 2016 que reporta 11mg/ 100 g. Este ácido es el acidulante sólido más hidrosoluble y ha sido recuperado de otros subproductos de la industria del vino (Dziezak, 2003), ya que el límite máximo de este ácido en un producto listo (bebidas, congelados, polvos, jarabes, concentrados) para consumo es de 2000 mg/l (Procuraduría Federal del Consumidor, 2011) puede ser reutilizado.

El contenido de ácido oxálico presente en el RLJ es del 0.1438% o 35.9651 mg/ 100 g, Jabeur *et al.*, 2017 e Ife *et al.*, 2016 obtuvieron resultados de 1,810 mg/100 g y 6 ± 0.02 mg/ 100 g respectivamente, este último valor resulta menor al del RLJ. Ha sido usado como agente blanqueador, en la formulación de productos de limpieza y como aditivo en pinturas (National Center for Biotechnology Information, 2018).

La pérdida de ácidos orgánicos como la vitamina C o ácido ascórbico, pueden explicarse debido al proceso de secado, pues esta es fácilmente degradada debido a variables como la temperatura, el pH, la luz etc. En general el sol, el secado solar y con aire caliente causan importantes pérdidas de este ácido (Tacer-Caba *et al.*, 2015).

3.2 Ensayo de Folin-Ciocalteu

A partir de la muestra de RLJ se obtuvieron 1349 mg equivalentes de ácido gálico (GAE)/ 100 g de extracto.

De acuerdo a los resultados obtenidos en diferentes investigaciones (tabla 12) el RLJ retiene cerca del 50% del contenido de fenoles (CF) presentes en cálices de Chiautla de Tapia.

Comparando el resultado obtenido con los valores reportados por Borrás-Linares *et al.* 2015 de 2,400 a 10,000 y de 9,800 a 10,000 mg GAE/100 g en *Hs* de Veracruz y Jalisco respectivamente, el RLJ contiene un 50% y un 14% de GAE en relación a la cantidad más baja y alta respectivamente.

A nivel internacional, en casos como el de Brasil y Taiwan se ha obtenido un CF menor al del RLJ lo que puede ser un indicador de calidad de la variedad utilizada por la empresa y que representa una oportunidad de desarrollo al poder compararse con una jamaica sin procesar.

Tabla 12. Contenido de fenoles en *Hs* reportado en diversas investigaciones

Origen			Cantidad	Referencia
Chiautla Puebla	de	Tapia,	1,860± 30 mg GAE/100 ml	Ochoa-Velasco <i>et al.</i> , 2017
Chiautla Puebla	de	Tapia,	2,016.2 ± 159.8 mg GAE/100 g	Cid-Ortega <i>et al.</i> , 2014
Chiautla Puebla	de	Tapia,	2,415 ± 96 mg GAE/ 100 g	Salazar-González <i>et al.</i> , 2012
Veracruz			2,400 a 10,000 mg GAE/ 100 g	Borrás-Linares <i>et al.</i> , 2015
Jalisco			9,800 a 10,000 mg GAE/100 g	Borrás-Linares <i>et al.</i> , 2015
Brasil			669.48 a 5,012.54 mg GAE/ 100 g	Bergmeier <i>et al.</i> , 2014
Sudán			3,126 ± 75 mg GAE/ 100 g	Chumsri <i>et al.</i> , 2008
Taiwan			683.13 mg GAE/ 100 g	Wu <i>et al.</i> , 2018

La reducción en el contenido fenólico puede deberse al secado del residuo pues de este proceso resulta una menor cantidad de antocianinas, ya que estas pueden ser rápidamente oxidadas por el oxígeno y el calor (Tacer-Caba *et al.*, 2015) de acuerdo a Sipahli *et al.*, 2017 las antocianinas en *Hs* podrían calentarse a temperaturas de hasta 70 ° C, con contenidos de antioxidantes que disminuyen solo gradualmente.

3.3 Ensayo de FRAP

Los resultados obtenidos con esta técnica fueron $7,631.11 \pm 897.92 \mu\text{M}$ equivalentes trolox (TE) / 100 g de RLJ. En la tabla 13 se muestran los valores obtenidos en diferentes investigaciones para el ensayo FRAP en *Hs*.

Tabla 13. Resultados del ensayo FRAP en diversas investigaciones en *Hs*

Origen	Cantidad	Referencia
Chiautla de tapia, Puebla	$6,630 \pm 1,120 \mu\text{M TE/ 100 g}$	Sáyago-Ayerdi <i>et al.</i> , 2016
Chiautla de tapia, Puebla	$8,035 \pm 220 \mu\text{M TE/ 100 g}$	Salazar-González <i>et al.</i> , 2012
Sudán	$1000 \mu\text{M TE/100 g}$	Ramirez-Rodrigues <i>et al.</i> , 2011

La capacidad reductora de los extractos de *Hs* indica la presencia de antioxidantes que actúan como reductores, en comparación con la investigación de Sáyago-Ayerdi *et al.*, 2016 que reportó $6,630 \pm 1,120 \mu\text{M TE/ 100 g}$, el RLJ mostró un valor mayor en aproximadamente $1000 \mu\text{M TE/ 100 g}$, en cambio de acuerdo a Salazar-González *et al.*, 2012, donde se obtuvieron $8,035 \pm 220 \mu\text{M TE/ 100 g}$, la muestra de RLJ tiene un resultado menor.

En el caso de residuos Gong *et al.*, 2012 realizó investigaciones con la planta de cempaxúchitl, que es utilizada como hierba medicinal y cuyas propiedades son importantes en la dermatología y cosmética (Gong *et al.*, 2012) obteniendo $880 \mu\text{M TE/100 g}$, el resultado obtenido en *Hs* es 8 veces mayor.

3.3 Ensayo DPPH

La muestra de RLJ mostró una actividad antioxidante de $87.7453 \pm 5.2567\%$ de inhibición, en la tabla 14 se muestran los resultados del ensayo DPPH de diferentes investigaciones.

Tabla 14. Porcentaje de inhibición del radical DPPH en diversas investigaciones en *Hs*

Origen	Cantidad	Referencia
Chiautla de Tapia, Puebla	$80.9 \pm 1.5 \%$	Cid-Ortega <i>et al.</i> , 2016
Nigeria	$69 \pm 0.46\%$	Anokwuru <i>et al.</i> , 2011
Sudán	$71.98 \pm 5.77\%$	Sindi <i>et al.</i> , 2014
Sudán	$70.49-74.11\%$	Tahir <i>et al.</i> , 2016
Taiwan	$20-60 \%$	Wu <i>et al.</i> , 2018

El porcentaje de inhibición del ensayo es

Peschel *et al.*, 2007 realizó estudios con residuos de hierba pastel (*Isatis Tinctoria*), que es utilizada como planta medicinal y cultivada para producir el tinte azul índigo (Nguyen *et al.*, 2017), obteniendo un porcentaje de inhibición de 6.88 ± 1.12 , comparándolo con el encontrado en *Hs*, este es 80% mayor.

La actividad antioxidante está relacionada con algunos ácidos orgánicos como el protocatéquico y el p-hidro benzóico (Msagati, 2012), ambos contenidos en *Hs* (Balasundram *et al.*, 2006).

En general el RLJ muestra contenidos inferiores en todos los ensayos realizados debido principalmente al procesamiento del que es resultado puesto que incluye calentamiento, lo que destruye muchas vitaminas, compuestos de aroma y pigmentos (Fellows, 2009). La variedad y calidad de la planta son importantes debido a que actualmente para la siembra de la jamaica se utilizan materiales criollos y la variación genética de estos materiales, hace que su composición química sea variable (SAGARPA, 2010). También deben considerarse factores ambientales tales como clima, la maduración, la temperatura, la duración de almacenamiento y el tratamiento térmico que pues relacionados con la actividad antioxidante (Moure *et al.*, 2001).

Además, es importante tomar en cuenta que el proceso de secado conlleva muchos cambios en los nutrientes, algunos deseables pero la mayoría del tiempo indeseables (degradación de compuestos bioactivos), dichos cambios dependen del tipo y condiciones del proceso de secado utilizado, así como de la muestra. En el caso del proceso de secado con horno, que es uno de los más populares, es capaz de mantener altos niveles de compuestos fenólicos (Tacer-Caba *et al.*, 2015).

3.4 Nanoencapsulación

De acuerdo a la caracterización de los liposomas obtenidos estos resultaron en un tamaño de 2 micras con un potencial z (PZ) cercano a 0. También presentan aglomeraciones.

Por sus dimensiones los liposomas pueden clasificarse como vesículas unilamelares gigantes ($\geq 1 \mu\text{m}$), y son considerados como microcápsulas. El tamaño promedio y la distribución de las partículas están influenciadas por la composición y la concentración, temperatura, tiempo y potencial del sonicado, el volumen y la calibración del sonicador. Debido a que no es posible reproducir las condiciones de la sonicación, la variación en el tamaño entre tandas o lotes es común. Además, las vesículas unilamelares son inestables por naturaleza y se fusionan espontáneamente para formar vesículas más grandes, cuando son almacenadas en condiciones por debajo de su temperatura de transición de fase (Dua *et al.*, 2012), lo que puede explicar la presencia de aglomeraciones en los liposomas de RLJ.

El potencial zeta con valor cercano a 0 es también un indicador de aglomeración, las partículas con un PZ casi neutral tienden a conglomerarse rápidamente (Gumustas *et al.*, 2017). Un potencial z de casi 0 es un requerimiento de la floculación débil que ayuda a formar suspensiones satisfactorias (no se endurece y se mantiene a pesar del almacenamiento), importante en los productos farmacéuticos, puesto que las partículas floculadas sedimentan rápidamente formando ligeras masas adheridas con grandes sedimentos, en lugar de formarse una pasta (Zeta-Meter Inc., n.d.).

CONCLUSIONES

Como cualquier residuo, las características del RLJ están relacionadas con las propiedades de la materia prima, el procesamiento y su disposición final.

De la metodología utilizada para nanoencapsular los extractos de RLJ se obtuvieron microcápsulas que, a pesar de no contar con las dimensiones deseadas, pueden ser utilizadas para diversas aplicaciones en la industria farmacéutica, alimenticia y cosmética (Patil *et al.*, 2015) (Rahimpour *et al.*, 2012) (Gibbs *et al.*, 1999). Es necesario encontrar las condiciones idóneas para la obtención de partículas a nanoescala o implementar otro sistema adicional.

Existe una relación positiva entre el contenido total de compuestos fenólicos y la actividad antioxidante de un extracto, y más del 95% de la capacidad antioxidante de los extractos se debe a sus compuestos fenólicos (Wu *et al.*, 2018)

A pesar de la pérdida de diversos compuestos bioactivos, el RLJ aún los conserva, lo que los hace óptimos para su aprovechamiento. Los ácidos orgánicos, pueden reutilizarse como aditivos y suplementos alimenticios. Las antocianinas tienen potencial para la aplicación de bebidas ácidas o pueden ser usadas como suplemento nutricional y pigmentos de bebidas (Wu *et al.*, 2018). Los RLJ pueden usarse como polvos o extractos para generar nuevos productos como cosméticos (polvos orgánicos, extractos de plantas) (Iwata *et al.*, 2012)

Las técnicas de encapsulación pueden ofrecer varias ventajas para los componentes alimenticios menores (vitaminas, minerales) (Tacer-Caba *et al.*, 2015).

PERSPECTIVAS Y RECOMENDACIONES

En cuanto a las técnicas implementadas se puede utilizar el secado por spray ya que es una opción para mantener niveles satisfactorios de compuestos fenólicos (Tacer-Caba *et al.*, 2015). Para la extracción pueden buscarse alternativas de solventes “verdes” o “eco-friendly” (Chemat *et al.*, 2012).

Para evitar la aglomeración se pueden añadir surfactantes que proveen repulsiones electrostáticas más fuertes (Gumustas *et al.*, 2017) .

El aprovechamiento de los residuos de esta planta no solo se puede enfocar al cáliz sino también a las flores, semillas y tallos, que también son residuos del proceso de elaboración de licor, puesto que ambas tienen compuestos (Lim, 2014) (Sáyago-Ayerdi *et al.*, 2007) que pueden ser útiles para diversas opciones.

TRABAJOS CITADOS

- Ajila, C. M., Brar, S. K., Verma, M., & Prasada Rao, U. J. S. (2012). Sustainable Solutions for Agro Processing Waste Management: An Overview BT - Environmental Protection Strategies for Sustainable Development. In A. Malik & E. Grohmann (Eds.) (pp. 65–109). Dordrecht: Springer Netherlands. https://doi.org/10.1007/978-94-007-1591-2_3
- Akbarzadeh, A., Rezaei-sadabady, R., Davaran, S., Joo, S. W., & Zarghami, N. (2013). Liposome : classification , preparation , and applications, 1–9.
- Anandharamakrishnan, C. (2014). *Techniques for Nanoencapsulation of Food Ingredients*. <https://doi.org/10.1007/978-1-4614-9387-7>
- Andrés-Bello, A., Barreto-Palacios, V., García-Segovia, P., Mir-Bel, J., & Martínez-Monzó, J. (2013). Effect of pH on Color and Texture of Food Products. *Food Engineering Reviews*, 5(3), 158–170. <https://doi.org/10.1007/s12393-013-9067-2>
- Apak, R., Özyürek, M., Güçlü, K., & Çapanoğlu, E. (2016). Antioxidant activity/capacity measurement. 1. Classification, physicochemical principles, mechanisms, and electron transfer (ET)-based assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64(5), 997–1027. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b04739>
- Balasundram, N., Sundram, K., & Samman, S. (2006). Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry*, 99(1), 191–203. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.07.042>
- Bangham A.D., Hill M.W., M. N. G. A. (1974). Preparation and Use of Liposomes as Models of Biological Membranes. *Methods in Membrane Biology*. https://doi.org/https://doi.org/10.1007/978-1-4615-7422-4_1
- Barros, R. G. C., Andrade, J. K. S., Denadai, M., Nunes, M. L., & Narain, N. (2017). Evaluation of bioactive compounds potential and antioxidant activity in some Brazilian exotic fruit residues. *Food Research International*, 102(September), 84–92. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.09.082>
- Batalla Mayoral, J. (2015). *Nanoencapsulación en liposomas de Taxol y de Nanopartículas Semiconductoras core-shell de CdSe / ZnS: Evaluación de su estabilidad y toxicidad en células tumorales de mama*. Instituto Politécnico Nacional.
- Benzie, I. F. F., & Strain, J. J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: The FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, 239(1), 70–76. <https://doi.org/10.1006/abio.1996.0292>
- 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. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.02.053>
- Brar, S. K., Dhillon, G. S., & Soccol, C. R. (2014). *Biotransformation of waste biomass into high value biochemicals. Biotransformation of Waste Biomass into High Value Biochemicals* (Vol. 9781461480). <https://doi.org/10.1007/978-1-4614-8005-1>
- Brittain, H. G. (2001). Malic Acid. In H. G. B. T.-A. P. of D. S. and E. Brittain (Ed.) (Vol. 28, pp. 153–195). Academic Press. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S1075-6280\(01\)28005-7](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S1075-6280(01)28005-7)
- Cano-Sarabia, M., & Masposh, D. (2016). *Encyclopedia of Nanotechnology*. <https://doi.org/10.1007/978-94-017-9780-1>
- Carocho, M., Morales, P., & Ferreira, I. C. F. R. (2018). Trends in Food Science &

- Technology Antioxidants : Reviewing the chemistry , food applications , legislation and role as preservatives. *Trends in Food Science & Technology*, 71(October 2017), 107–120. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.11.008>
- Castro, A. C. C. M., Oda, F. B., Almeida-Cincotto, M. G. J., Davanço, M. G., Chiari-Andréo, B. G., Cicarelli, R. M. B., ... Santos, A. G. (2018). Green coffee seed residue: A sustainable source of antioxidant compounds. *Food Chemistry*, 246(May 2017), 48–57. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.10.153>
- Chacon-Olivares, M., Pacheco-Rivera, A., Cendejas-López, M., & Ortega-Herrera, F. (2016). Tendencia del crecimiento en la cultura del reciclaje. *Revista de Ciencias Ambientales y Recursos Naturales*, 63–72.
- Chemat, F., Vian, M. A., & Cravotto, G. (2012). Green extraction of natural products: concept and principles. *International Journal of Molecular Sciences*, 13(7), 8615–8627.
- 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.
- Codex Alimentarius, FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura), & OMS (Organización Mundial de la Salud). (2018). Norma General del Codex para los Aditivos Alimentarios., 507. Retrieved from http://www.fao.org/gsfaonline/docs/CXS_192s.pdf
- Contreras Guardado, J. A., Soto Rocha, J. M., & Huchin Chable, A. Tecnología para el cultivo de jamaica en Quintana Roo (2009).
- Cury R, K., Aguas M, Y., Martinez M, A., Olivero V, R., & Chams Ch, L. (2017). Residuos agroindustriales su impacto, manejo y aprovechamiento. *Revista Colombiana de Ciencia Animal - RECIA*, 9(S), 122. <https://doi.org/10.24188/recia.v9.nS.2017.530>
- Da-Costa-Rocha, I., Bonnlaender, B., Sievers, H., Pischel, I., & Heinrich, M. (2014). *Hibiscus sabdariffa* L. - A phytochemical and pharmacological review. *Food Chemistry*, 165, 424–443. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.05.002>
- Diario Oficial de la Federación. (2015). Ley general para la prevención y gestión integral de los residuos. *Ley General Para La Prevención Y Gestión Integral De Los Residuos*, 52. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Díaz-Bandera, D., Villanueva-Carvajal, A., Dublán-García, O., Quintero-Salazar, B., & Dominguez-Lopez, A. (2015). Assessing release kinetics and dissolution of spray-dried Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) extract encapsulated with different carrier agents. *LWT - Food Science and Technology*, 64(2), 693–698. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.06.047>
- Diaz, A. B., Blandino, A., & Caro, I. (2018). Value added products from fermentation of sugars derived from agro-food residues. *Trends in Food Science and Technology*, 71(July 2017), 52–64. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.10.016>
- Domínguez López, A., Remondetto, G. E., & Navarro Galindo, S. (2008). Thermal kinetic degradation of anthocyanins in a roselle (*Hibiscus sabdariffa* L. cv. ‘Criollo’) infusion. *International Journal of Food Science and Technology*, 322–325. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2006.01439.x>
- Dua, J. ., Rana, A. C., & Bhandari, A. K. (2012). Liposome : Methods of preparation and applications. *International Journal of Pharmaceutical Studies and Reserch*, 3(2), 14–20.
- Dziezak, J. D. (2003). ACIDS | Natural Acids and Acidulants. In B. B. T.-E. of F. S. and N. (Second E. Caballero (Ed.) (pp. 12–17). Oxford: Academic Press. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B0-12-227055-X/00005-5>
- Economía, S. de. (2018). *Información económica y estatal:Puebla*.

- FAO. (1997). *El estado mundial de la agricultura y la alimentación 1997*. Roma. Retrieved from <http://www.fao.org/docrep/w5800s/w5800s12.htm>
- FAO. (2000). *El Estado Mundial de la Agricultura y la Alimentación 2000*.
- Fellows, P. J. (2009). *Food processing technology: principles and practice*. Retrieved from [https://books.google.com.mx/books?hl=es&lr=&id=t4ykAgAAQBAJ&oi=fnd&pg=PP1&dq=Food+Processing+Technology:+Principles+and+Practice&ots=xfomtCfqXX&sig=Mg3CCReH1pKl2aTOVEUcNQ4g-2M#v=onepage&q=Food Processing Technology%3A Principles and Practice&f=false](https://books.google.com.mx/books?hl=es&lr=&id=t4ykAgAAQBAJ&oi=fnd&pg=PP1&dq=Food+Processing+Technology:+Principles+and+Practice&ots=xfomtCfqXX&sig=Mg3CCReH1pKl2aTOVEUcNQ4g-2M#v=onepage&q=Food+Processing+Technology%3A+Principles+and+Practice&f=false)
- Fiume, Z. (2001). Final report on the safety assessment of Malic Acid and Sodium Malate. *International Journal of Toxicology*, 20 Suppl 1, 47–55. Retrieved from <http://europepmc.org/abstract/MED/11358110>
- Galicia, Salinas, E. (2008). Caracterización fisicoquímica y actividad antioxidante. *Red de Revistas Científicas de América Latina, El Caribe, España y Portugal*, 14(2), 121–129.
- Gibbs, B., Kermasha, S., Alli, I., & Mulligan, C. (1999). Encapsulation in the food industry: a review. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 50(3), 213–224. <https://doi.org/10.1080/096374899101256>
- Gimeno, E. (2004). Compuestos fenólicos. *Ámbito Farmaceutico Nutrición*, 23(6), 80–84.
- Gong, Y., Liu, X., He, W. H., Xu, H. G., Yuan, F., & Gao, Y. X. (2012). Investigation into the antioxidant activity and chemical composition of alcoholic extracts from defatted marigold (*Tagetes erecta* L.) residue. *Fitoterapia*, 83(3), 481–489. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2011.12.013>
- Gülçin, I. (2012). Antioxidant activity of food constituents: An overview. *Archives of Toxicology*, 86(3), 345–391. <https://doi.org/10.1007/s00204-011-0774-2>
- Gullón, B., Eibes, G., Moreira, M. T., Herrera, R., Labidi, J., & Gullón, P. (2018). Yerba mate waste: A sustainable resource of antioxidant compounds. *Industrial Crops and Products*, 113(January), 398–405. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.01.064>
- Gumustas, M., Sengel-Turk, C. T., Gumustas, A., Ozkan, S. A., & Uslu, B. (2017). Chapter 5 - Effect of Polymer-Based Nanoparticles on the Assay of Antimicrobial Drug Delivery Systems. In A. M. B. T.-M. S. for C. D. Grumezescu Biosensing and Diagnostics (Ed.) (pp. 67–108). Elsevier. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-323-52725-5.00005-8>
- Hall, C. A. & Cuppett, S. L. (1997). *Structure-activities of natural antioxidants*. Retrieved from https://books.google.com.mx/books?hl=es&lr=&id=tnyEBXXEJkgC&oi=fnd&pg=PA141&dq=C.+Hall+and+S.+Cuppett,+Structure-activities+of+natural+antioxidants.+AOCS+Press,+Champaign,+1997.&ots=Zwn5ZiJ6_x&sig=sXavINhsmR3SVPAGzaIFDeGQjaw#v=onepage&q&f=false
- Halliwell, B., & Gutteridge, J. M. C. (1995). The definition and measurement of antioxidants in biological systems. *Free Radical Biology and Medicine*, 18(1), 125–126. [https://doi.org/10.1016/0891-5849\(95\)91457-3](https://doi.org/10.1016/0891-5849(95)91457-3)
- Hermund, D. B. (2018). 10 - Antioxidant Properties of Seaweed-Derived Substances. In Y. B. T.-B. S. for F. A. Qin (Ed.) (pp. 201–221). Academic Press. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813312-5.00010-8>
- Ifie, I., Ifie, B. E., Ibitoye, D. O., Marshall, L. J., & Williamson, G. (2018). Seasonal variation in *Hibiscus sabdariffa* (Roselle) calyx phytochemical profile, soluble solids and α -glucosidase inhibition. *Food Chemistry*, 261(April), 164–168. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.04.052>

- 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. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b01246>
- Ignat, I., Volf, I., & Popa, V. I. (2011). A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. *Food Chemistry*, *126*(4), 1821–1835. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.12.026>
- ITIS Integrated Taxonomic Information System. (2017). Hibiscus sabdariffa L. Retrieved February 17, 2018, from <https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt#null>
- Iwata, H., & Shimada, K. (2012). *Formulas, ingredients and production of cosmetics: technology of skin-and hair-care products in Japan*. Springer Science & Business Media.
- Jiménez, E., Sumaya, T. M., Medina, R. E., Machuca, L. M., Balois, R., & Sánchez, M. L. (2014). Potencial de la jamaica (Hibiscus dabdariffa) en la elaboración de alimentos funcionales con actividad antioxidante. *Revista Mexicana de Agronegocios ISSN:*, *35*, 1082–1088. Retrieved from <http://www.redalyc.org/pdf/141/14131676017.pdf>
- Kedare, S. B., & Singh, R. P. (2011). Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay. *Journal of Food Science and Technology*, *48*(4), 412–422. <https://doi.org/10.1007/s13197-011-0251-1>
- Kowalska, H., Czajkowska, K., Cichowska, J., & Lenart, A. (2017). What's new in biopotential of fruit and vegetable by-products applied in the food processing industry. *Trends in Food Science and Technology*, *67*, 150–159. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.06.016>
- La empresa y sus productos. (n.d.).
- Lim, T. K. (2014). *Edible medicinal and non medicinal plants: Volume 8, flowers. Edible Medicinal and Non Medicinal Plants: Volume 8, Flowers* (Vol. 8). <https://doi.org/10.1007/978-94-017-8748-2>
- López-Naranjo, E. J., Hernández-Rosales, I. P., Bueno-Durán, A. Y., Martínez-Aguilar, M. L., González-Ortiz, L. J., Pérez-Fonseca, A. A., ... Manzano-Ramírez, A. (2018). Biosynthesis of silver nanoparticles using a natural extract obtained from an agroindustrial residue of the tequila industry. *Materials Letters*, *213*, 278–281. <https://doi.org/10.1016/j.matlet.2017.11.078>
- LS Instruments. (2018). Technology:Dynamic Light Scattering. Retrieved from <https://lsinstruments.ch/en/technology/dynamic-light-scattering-dls>
- Mahadevan, N., Shivali, K., & Kamboj, P. (2009). Hibiscus sabdariffa Linn: an overview. *Natural Product Radiance*, *8*(1), 77–83. <https://doi.org/ISSN:0972-592X>
- Marina, D., Avella, G., Alberto, C., García, O., & Cisneros, A. M. (2008). Medición de Fenoles y Actividad Antioxidante en Malezas Usadas para Alimentación Animal. *Simposio de Metrología*, 1–5. Retrieved from http://cenam.mx/simposio2008/sm_2008/memorias/M2/SM2008-M220-1108.pdf
- Mayoral, J. B., Moreno, A. C., & Martín-martínez, E. S. (2014). Potencial zeta en la determinación de carga superficial de liposomas.
- Melo, P. S. ., Bergamaschi, K. B. ., Tiveron, A. P. ., Massarioli, A. P. ., Oldoni, T. L. C. ., Zanús, M. C. ., ... De Alencar, S. M. (2011). Composição fenólica e atividade antioxidante de resíduos agroindustriais Phenolic composition and antioxidant activity of agroindustrial residues. *Ciência Rural*, *41*(6), 1088–1093. <https://doi.org/https://doi.org/10.1590/S0103-84782011000600027>
- Moure, A., Cruz, J. M., Franco, D., Manuel Domínguez, J., Sineiro, J., Domínguez, H., ... Carlos Parajó, J. (2001). Natural antioxidants from residual sources. *Food*

- Chemistry*, 72(2), 145–171. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(00\)00223-5](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(00)00223-5)
- Msagati, T. A. (2012). Antioxidants and Radical Scavengers. *Chemistry of Food Additives and Preservatives*.
- Muñoz-Bernal, Ó. A., Torres-Aguirre, G. A., Núñez-Gastélum, J. A., de la Rosa, L. A., Rodrigo-García, J., Ayala-Zavala, J. F., & Álvarez-Parrilla, E. (2017). Nuevo Acercamiento a La Interacción Del Reactivo De Folin-Ciocalteu Con Azúcares Durante La Cuantificación De Polifenoles Totales. *Tip*, 20(2), 23–28. <https://doi.org/10.1016/j.recqb.2017.04.003>
- Nadlène, R., Sapuan, S. M., Jawaid, M., Ishak, M. R., & Yusriah, L. (2016). A Review on Roselle Fiber and Its Composites. *Journal of Natural Fibers*, 13(1), 10–41. <https://doi.org/10.1080/15440478.2014.984052>
- National Center for Biotechnology Information. (n.d.). Citric Acid. Retrieved October 30, 2018, from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/311>
- National Center for Biotechnology Information. (2018). Oxalic Acid. Retrieved November 11, 2018, from https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/oxalic_acid#section=Top
- Nguyen, T. K. O., Jamali, A., Grand, E., Morreel, K., Marcelo, P., Gontier, E., & Dauwe, R. (2017). Phenylpropanoid profiling reveals a class of hydroxycinnamoyl glucaric acid conjugates in *Isatis tinctoria* leaves. *Phytochemistry*, 144, 127–140. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2017.09.007>
- Nigam, P. S.-N., & Pandey, A. (2009). *Biotechnology for agro-industrial residues utilisation: utilisation of agro-residues*. Springer Science & Business Media.
- Paes, J., Dotta, R., Barbero, G. F., & Martínez, J. (2014). Extraction of phenolic compounds and anthocyanins from blueberry (*Vaccinium myrtillus* L.) residues using supercritical CO₂ and pressurized liquids. *Journal of Supercritical Fluids*, 95, 8–16. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2014.07.025>
- Patil, Y. P., & Jadhav, S. (2015). Preparation of Liposomes for Drug Delivery Applications by Extrusion of Giant Unilamellar Vesicles. *Nanoscale and Microscale Phenomena.*, 17–29.
- Peschel, W., Dieckmann, W., Sonnenschein, M., & Plescher, A. (2007). High antioxidant potential of pressing residues from evening primrose in comparison to other oilseed cakes and plant antioxidants. *Industrial Crops and Products*, 25(1), 44–54. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2006.07.002>
- Pesquera, S. de I. A. y. (2018a). Anuario Estadístico de Producción Agrícola-jamaica. Retrieved from <https://nube.siap.gob.mx/cierreagricola/>
- Pesquera, S. de I. A. y. (2018b). Anuario Estadístico de Producción Agrícola-Puebla, 2018. Retrieved from <https://nube.siap.gob.mx/cierreagricola/>
- Pimentel-Moral, S., Teixeira, M. C., Fernandes, A. R., Arráez-Román, D., Martínez-Férez, A., Segura-Carretero, A., & Souto, E. B. (2018). Lipid nanocarriers for the loading of polyphenols – A comprehensive review. *Advances in Colloid and Interface Science*, 260, 85–94. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2018.08.007>
- Pisoschi, A. M., & Negulescu, G. P. (2012). Methods for Total Antioxidant Activity Determination: A Review. *Biochemistry & Analytical Biochemistry*, 01(01), 1–10. <https://doi.org/10.4172/2161-1009.1000106>
- Pisoschi, A. M., & Pop, A. (2015). European Journal of Medicinal Chemistry The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress : A review. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 97, 55–74. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2015.04.040>
- Prasertsan, P., Prasertsan, S., & Kittikun, A. H. (2009). RECYCLING OF AGRO-INDUSTRIAL WASTES THROUGH CLEANER TECHNOLOGY. *BIOTECHNOLOGY*, X. Retrieved from <https://www.eolss.net/sample->

- chapters/C17/E6-58-09-02.pdf
- Procuraduría Federal del Consumidor. Norma Oficial Mexicana NOM-218-SSA1-2011, Productos y servicios. Bebidas saborizadas no alcohólicas, sus congelados, productos concentrados para prepararlas y bebidas adicionadas con cafeína. (2011). México.
- Quiroz Reyes, C. N. (2016). *Extracción asistida por ultrasonido de compuestos bioactivos con actividad antioxidante de grano de cacao (Theobroma cacao L.)*. IPN.
- Rahimpour, Y., & Hamishehkar, H. (2012). Liposomes in cosmeceutics. *Expert Opinion on Drug Delivery*, 9(4), 443–455. <https://doi.org/10.1517/17425247.2012.666968>
- Ramirez-Rodrigues, M. M., Plaza, M. L., Azeredo, A., Balaban, M. O., & Marshall, M. R. (2011). Physicochemical and phytochemical properties of cold and hot water extraction from Hibiscus sabdariffa. *Journal of Food Science*, 76(3), 429–435. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2011.02091.x>
- Regional Puebla. (2015). Productores de Chiautla le dan valor agregado a la jamaica. Retrieved October 5, 2018, from <http://www.regionalpuebla.mx/corredor-atlixco/item/1555-productores-de-chiautla-le-dan-valor-agregado-a-la-jamaica.html>
- Ruano Aldea, M. (2013). *Fabricación de liposomas y de cápsulas poliméricas*. Universidad Complutense de Madrid.
- Rural, D. (2018). ¿ Ya conoces los tipos de agroindustria? La industrialización de materias primas y productos, 1–4.
- Sadh, P. K., Duhan, S., & Duhan, J. S. (2018). Agro-industrial wastes and their utilization using solid state fermentation: a review. *Bioresources and Bioprocessing*, 5(1), 1–15. <https://doi.org/10.1186/s40643-017-0187-z>
- SAGARPA. (2010). *Generación de variedades de jamaica (Hibiscus Sabdariffa L.) con alta concentración de compuestos bioactivos, de alto rendimiento y tolerantes a enfermedades para una producción sustentable en México*.
- SAGARPA, & SIAP. (2018). Análisis de la Balanza Comercial Agroalimentaria de México: julio 2018, 2018, 5.
- Salazar-González, C. ;, Vergara-Balderas, F. T. ;, & Guerrero-Beltrán, J. A. (2009). Evaluación de agentes antioxidantes de un extracto de flor de jamaica microencapsulado. *Temas Seleccionados de Ingeniería de Alimentos*.
- Saval, S. (2012). Aprovechamiento de residuos agroindustriales: pasado, presente y futuro. *Biotecnología*, 16(1), 14–46.
- Sáyago-Ayerdi, S. G., Arranz, S., Serrano, J., & Goñi, I. (2007). Dietary Fiber Content and Associated Antioxidant Compounds in Roselle Flower (Hibiscus sabdariffa L.) Beverage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(19), 7886–7890. <https://doi.org/10.1021/jf070485b>
- Secretaría de Salud. Norma Oficial Mexicana NOM-116-SSA1-1994, Bienes y servicios. Determinación de humedad en alimentos por tratamiento térmico. Método por arena o gasa. (1994).
- Secretaría de Salud. Acuerdo por el que se determinan los aditivos y coadyuvantes en alimentos, bebidas y suplementos alimenticios, su uso y disposiciones sanitarias (2012). México: Diario Oficial de la Federación. Retrieved from http://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5259470&fecha=16/07/2012
- SEMARNAT. (2010). Glosario de Residuos Sólidos Urbanos. Retrieved June 12, 2018, from http://dgeiawf.semarnat.gob.mx:8080/ibi_apps/WFServlet?IBIF_ex=D3_GLOS_RSM&IBIC_user=dgeia_mce&IBIC_pass=dgeia_mce

- Shahidi, F., & Ambigaipalan, P. (2015). Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects - A review. *Journal of Functional Foods*, 18, 820–897. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.06.018>
- Shishir, M. R. I., Xie, L., Sun, C., Zheng, X., & Chen, W. (2018). Advances in micro and nano-encapsulation of bioactive compounds using biopolymer and lipid-based transporters. *Trends in Food Science & Technology*, 78(December 2017), 34–60. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.05.018>
- Shruthi, V. H., Ramachandra, C. T., Nidoni, U., Hiregoudar, S., Naik, N., & Kurubar, A. R. (2016). Roselle (*Hibiscus Sabdariffa* L.) as a source of natural colour : A review. *Plant Archives*, 16(2), 515–522.
- Silva, C. a, Baker, D., & Shepherd, A. W. (2013). *Modelos operativos que incluyen a los pequeños agricultores. Agroindustrias para el desarrollo*. Retrieved from <http://www.fao.org/docrep/017/i3125s/i3125s00.pdf>
- Sindi, H. A., Marshall, L. J., & Morgan, M. R. A. (2014). Comparative chemical and biochemical analysis of extracts of *Hibiscus sabdariffa*. *Food Chemistry*, 164, 23–29. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.04.097>
- SIPAHLI, S., MOHANLALL, V., & MELLEEM, J. J. (2017). Stability and degradation kinetics of crude anthocyanin extracts from *H. sabdariffa*. *Food Science and Technology (Campinas)*, 37(ahead), 0–0. <https://doi.org/10.1590/1678-457x.14216>
- Sukkhaeng, S., Promdang, S., & Doung-ngern, U. (2018). Fruit characters and physico-chemical properties of roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) in Thailand—A screening of 13 new genotypes. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 11(May), 47–53. <https://doi.org/10.1016/j.jarmap.2018.10.001>
- Suresh, V. (2017). Medicinal uses of Roselle (*Hibiscus sabdariffa*), 5(4), 97–98.
- Tacer-Caba, Z., Nilufer-Erdil, D., & Ai, Y. (2015). *Chemical Composition of Cereals and Their Products. Handbook of Food Chemistry*. https://doi.org/10.1007/978-3-642-36605-5_33
- Tahir, H. E., Xiaobo, Z., Jiyong, S., Mariod, A. A., & Wiliam, T. (2016). Rapid Determination of Antioxidant Compounds and Antioxidant Activity of Sudanese Karkade (*Hibiscus sabdariffa* L.) Using Near Infrared Spectroscopy. *Food Analytical Methods*, 9(5), 1228–1236. <https://doi.org/10.1007/s12161-015-0299-z>
- Tyl, C., & D. Sadler, G. (2017). pH and Titratable Acidity. In *Food Analysis* (pp. 389–406). <https://doi.org/10.1007/978-3-319-45776-5>
- Valdés, F. (2006). Vitamina C. *Actas Dermo-Sifiliográficas*, 97(9), 557–568. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0001-7310\(06\)73466-4](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0001-7310(06)73466-4)
- Williams, P. M. (2016). Zeta Potential BT - Encyclopedia of Membranes. In E. Drioli & L. Giorno (Eds.) (pp. 2063–2064). Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-662-44324-8_612
- Woodbury, D. J., Richardson, E. S., Grigg, A. W., Welling, R. D., & Knudson, B. H. (2006). Reducing Liposome Size with Ultrasound: Bimodal Size Distributions. *Journal of Liposome Research*, 16(1), 57–80. <https://doi.org/10.1080/08982100500528842>
- Wu, H. Y., Yang, K. M., & Chiang, P. Y. (2018). Roselle anthocyanins: Antioxidant properties and stability to heat and pH. *Molecules*, 23(6). <https://doi.org/10.3390/molecules23061357>
- Zeta-Meter Inc. (n.d.). Potencial Zeta : Un Curso Completo en 5 Minutos.

