



Benemérita
Universidad Autónoma de Puebla

FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA

**“Caracterización fisicoquímica y
determinación de capacidad antioxidante de
residuos agroindustriales de *Hibiscus
sabdariffa*”**

TESIS PROFESIONAL

Febrero 2023

**Tesis para obtener el grado de:
Licenciatura en Ingeniería Ambiental**

Presenta:

CLAUDIA PÉREZ ORTEGA

Director de Tesis:

M.I.A Miriam Vega Hernández

Codirectora de Tesis:

Dra. Jessica Batalla Mayoral

Contenido

Índice de Ilustraciones.....	4
Índice de ecuaciones.....	5
Planteamiento del problema.....	6
Justificación.....	7
Objetivo general:	8
Objetivos específicos:	8
Marco teórico.....	9
Generalidades de <i>Hibiscus Sabdariffa</i>	9
Características fisicoquímicas de <i>Hibiscus Sabdariffa</i>	11
Usos y aplicaciones de <i>Hibiscus Sabdariffa</i>	14
Economía circular	16
Residuos agroindustriales.....	18
Criterios de selección de residuos con fines de aprovechamiento:	19
Antioxidantes	20
Antioxidantes endógenos	22
Antioxidantes exógenos	22
Antioxidantes Sintéticos	25
Estrés oxidativo	26
Enfermedades asociadas al estrés oxidativo	27
Radicales libres	28
Capacidad Antioxidante	29
Fenoles.....	31
Fundamento de la técnica de Folin-Ciocalteu para medir fenoles totales.....	35
Fundamento de la técnica de DPPH para medir capacidad antioxidante	36
Fundamento de la técnica FRAP para medir capacidad antioxidante	37
Antioxidantes en Alimentos.....	39
Materiales y métodos	40
Obtención y preparación de residuos agroindustriales de cálices de <i>Hibiscus Sabdariffa</i>	40
Determinación de humedad de los residuos agroindustriales de cálices de <i>Hibiscus Sabdariffa</i>	41

Determinación de pH de los residuos agroindustriales de cálices de <i>Hibiscus Sabdariffa</i>	42
Determinación de acidez titulable de los residuos agroindustriales de cálices de <i>Hibiscus Sabdariffa</i>	43
Obtención del extracto hidroetanólico de los residuos agroindustriales de cálices de <i>Hibiscus Sabdariffa</i>	44
Ensayo de Folin-Ciocalteu	45
Ensayo de FRAP	46
Ensayo DPPH.....	47
Análisis microbiológicos.....	48
Cuenta de microorganismos de coliformes totales en placa.....	48
Cuenta de Mohos y Levaduras en Alimentos	49
Resultados y Discusión	49
Caracterización Fisicoquímica	50
Humedad.....	50
Determinación de pH.....	51
Acidez Titulable.....	53
Folin- Cioacaltea	59
FRAP	62
DPPH.....	65
Análisis Microbiológicos.....	66
Conclusiones.....	67
Recomendaciones para trabajos futuros	67
Cronograma de actividades.....	69
Bibliografía	73

Índice de Tablas

Tabla 1 Estadísticas de los municipios Poblanos Productores de jamaica.	10
Tabla 2 Clasificación Taxonómica de la flor de jamaica	11
Tabla 3 Composición proximal de cálices de jamaica	13
Tabla 4 Antioxidantes exógenos	25
Tabla 5 Ejemplos de compuestos polifenolicos.....	34
Tabla 6 Determinación de % de humedad para residuos agroindustriales de cálices de jamaica y pa según diferentes autores, mediante la NOM-116-SSA1-1994 y la AOAC	51
Tabla 7 pH de los residuos agroindustriales de cálices de Hibiscus Sabdariffa en comparación con diferentes reportes	53
Tabla 8 Acidez titulable de residuos agroindustriales de cálices de Hibiscus Sabdariffa determinados mediante la NMX-F-102-NORMEX-2010	54
Tabla 9 Resultados de Acidez titulable de residuos agroindustriales de cálices de Hibiscus Sabdariffa según la ecuación de Tyl & Sadler 2017	55
Tabla 10 Principales ácidos orgánicos en frutas	56
Tabla 11 Determinación de fenoles totales mediante la técnica de Folín Ciocalteu en residuos agroindustriales de cálices de Hibiscus Sabdariffa en comparación con otros reportes.	61
Tabla 12 Determinación de FRAP en residuos agroindustriales de cálices de Hibiscus Sabdariffa en comparación con otros reportes.	63
Tabla 13 Determinación de porcentaje de inhibición por medio de la técnica DPPH en residuos agroindustriales de cálices de Hibiscus Sabdariffa en comparación con otros reportes	66
Tabla 14 Determinación de Coliformes Totales en placa, Mohos y levaduras en residuos agroindustriales de cálices de Hibiscus Sabdariffa	67

Índice de Ilustraciones

Ilustración 1 Flor de Hibiscus Sabdariffa	12
Ilustración 2 Estructura química de antioxidantes sintéticos más populares (Gulcin, 2020)	26
Ilustración 3 Generación de EROS	27
Ilustración 4 Enfermedades asociadas con estrés oxidativo	28
Ilustración 5 Mecanismo HAT (Huang, Ou, & Prior, 2005)	29
Ilustración 6 Mecanismo SET (Huang, Ou, & Prior, 2005)	30
Ilustración 7 Estructura de polifenol	32
Ilustración 8 Reacción del ácido gálico con reactivo FC (Muñoz-Bernal, y otros, 2017)	36
Ilustración 9 Estructura del Ácido Gálico	36
Ilustración 10 Reacción DPPH con antioxidante (Alam, Bristi, & Rafiquzzaman, 2013)	37
Ilustración 11 Reacción química FRAP (Cruz D. N., 2020)	38
Ilustración 12 Estructura química del Trolox.....	39
Ilustración 13 Muestra en desecador	42
Ilustración 14 Agitación de la muestra antes de medir pH.	43
Ilustración 15 Obtención del extracto	44
Ilustración 16 Ensayo FC	46
Ilustración 17 Ensayo FRAP	47
Ilustración 18 Ensayo DPPH	48
Ilustración 19 Determinación de coliformes totales	49
Ilustración 20 Mohos y Levaduras.....	49
Ilustración 21 Cronograma de Actividades	70

Índice de ecuaciones

Ecuación 1 Determinación de Fenoles Totales	35
Ecuación 2 Porcentaje de inhibición.....	37
Ecuación 3 Determinación de FRAP	38
Ecuación 4 Determinación a humedad.....	42
Ecuación 5 Determinación de acidez titulable	53

Planteamiento del problema

La jamaica (***Hibiscus Sabdariffa***), comúnmente es conocida como roselle, pertenece a la familia de las Malvaceas, se cree que es originaria de África y se cultiva en diferentes partes del mundo. El extracto de ***Hibiscus Sabdariffa*** es popular en todo el mundo por su capacidad antioxidante y por otros beneficios hacia la salud (Laskar & Mazumder, 2020).

Se le han atribuido a ***Hibiscus Sabdariffa*** efectos antibacterianos, antioxidantes, diuréticos, sobre el metabolismo de los lípidos (anticolesterol), antidiabéticos y antihipertensivos entre otros (Dentz, y otros, 2020).

Hibiscus Sabdariffa es usualmente cultivada por sus fibras y cálices, e incluye tres diferentes genotipos: verde, roja (que es el tipo más común utilizado) y roja oscura (Mezni, y otros, 2020).

Esta planta es muy popular para elaborar té herbales debido a que sus extractos son ricos en antocianinas, ácido ascórbico, flavonoides, ácido de hibisco etc. Los extractos de ***Hibiscus Sabdariffa*** son de color rojo brillante, debido a su abundante contenido de antocianinas altamente antioxidantes (Soto-Robles, y otros, 2019).

La composición química de los extractos de ***Hibiscus Sabdariffa*** comprenden: alcaloides, antocianinas, β -caroteno, cianidina-3-rutinósido, delfinidina, hibicetina, mucopolisacáridos, pectina, ácido protocatecuico, polisacáridos, quercetina, ácido esteárico y cera (Mohammed, Hassan, Shekoufeh, Mohsen, & Mohammad, 2020).

La extracción y purificación de compuestos bioactivos como las antocianinas de fuentes naturales están ganando una gran atención por los beneficios asociados a la salud y como agentes colorantes naturales. Estos compuestos son ampliamente usados en la preparación de suplementos alimenticios o nutraceuticos, ingredientes para alimentos funcionales, aditivos alimentarios y productos farmacéuticos y cosméticos (Kalla Mouto, Kayem Guiffo, Nso Jong, Sreekumar, & P.Nisha, 2015).

Muchas veces cuando se hacen extracciones de compuestos bioactivos y/o procesamiento de alimentos, estas extracciones no se llevan a cabo de manera completa, causando que los residuos puedan ser una fuente promisoría de antocianinas y de flavonoides. Por lo tanto, los residuos pueden ser reciclados para la recuperación de compuestos bioactivos y fibra dietética (Kalla Mouto, Kayem Guiffo, Nso Jong, Sreekumar, & P.Nisha, 2015).

Debido a lo anterior en este trabajo se tiene por objetivo caracterizar fisicoquímicamente y determinar la capacidad antioxidante de los residuos agroindustriales de cálices de ***Hibiscus Sabdariffa*** provenientes de la elaboración del licor de jamaica.

Justificación

Hibiscus Sabdariffa es una planta altamente rica en compuestos antioxidantes y tiene diversas propiedades nutricionales. Durante el proceso de elaboración de licor de jamaica se utilizan los cálices de ***Hibiscus Sabdariffa*** mediante una extracción alcohólica y quedan residuos agroindustriales a base de cálices con residuos de alcohol. Se conoce que para aprovechar los residuos agroindustriales es factible primero caracterizarlos fisicoquímicamente para conocer sus propiedades y/o su contenido nutricional y en base a eso obtener algún subproducto dejando esos residuos agroindustriales con menos nutrientes y mejorando su aprovechamiento. Por otro lado, es importante analizar la capacidad antioxidante de estos residuos agroindustriales de ***Hibiscus Sabdariffa*** con el objetivo de aprovecharlos y proponer diversas aplicaciones.

Los residuos agroindustriales de cálices de ***Hibiscus Sabdariffa*** fueron proporcionados por la “Integradora Agroindustrial de Chiautla de Tapia S. A de C.V.”, ubicada en el estado de Puebla, México. Estos residuos agroindustriales de cálices de ***Hibiscus Sabdariffa*** provienen de la elaboración del licor de jamaica. Esta cooperativa produce de 150 kg a 300 kg de residuos agroindustriales de cálices de ***Hibiscus Sabdariffa*** aproximadamente cada 15 días, según la producción.

La disposición de estos residuos se encuentra fuera de las instalaciones de la empresa y por comunicación personal, estos residuos agroindustriales de cálices de ***Hibiscus Sabdariffa*** los utilizan para elaborar composta y/o alimento para ganado.

Sin embargo, su disposición por algún tiempo fuera de las instalaciones puede ser una fuente de contaminación y de vectores de enfermedades como mosquitos y roedores.

Por lo tanto, el objetivo de este trabajo fue analizar las propiedades fisicoquímicas (pH, humedad y acidez titulable) y capacidad antioxidante (Fenoles totales mediante la técnica de Folin Ciocalteu, FRAP y DPPH) para posteriormente analizar potenciales aplicaciones tanto en alimentos como en salud, medio ambiente etc.

Objetivo general:

Caracterizar fisicoquímicamente y evaluar su capacidad antioxidante de los residuos agroindustriales de ***Hibiscus Sabdariffa*** para potenciales aplicaciones en alimentos, salud y medio ambiente.

Objetivos específicos:

- Determinar las propiedades fisicoquímicas (pH, % de humedad y acidez titulable) de los residuos agroindustriales de los cálices de ***Hibiscus Sabdariffa***.
- Realizar análisis microbiológicos de los residuos agroindustriales de cálices de ***Hibiscus Sabdariffa*** al salir del proceso de elaboración del licor.
- Determinar la capacidad antioxidante del extracto hidroetanólico de los residuos agroindustriales de cálices de ***Hibiscus Sabdariffa*** mediante diferentes técnicas: Folín-Ciocalteu, DPPH y FRAP.

Marco teórico

Generalidades de *Hibiscus Sabdariffa*

Hibiscus Sabdariffa también conocida como roselle, es una planta medicinal herbácea anual que pertenece a la familia Malvaceae (Jabeur et al 2017). Es originaria de la región tropical de África, desde Egipto y Sudán hasta Senegal, franja que incluye a Malawi, Mozambique, Zambia y Zimbabwe. Por sus propiedades medicinales, nutraceúticas y rusticidad de la planta se ha distribuido a otras regiones tropicales del mundo, como son: México, América Central, América del Sur y el Sureste Asiático; en estos lugares ha alcanzado gran importancia económica. Al Continente Americano fue traída por los esclavos negros, en el siglo XVII llegó a Brasil y al país de Jamaica en el año de 1707; se cree que la entrada a México fue en la época de la colonia (Ariza Flores, y otros, 2017).

Los cálices de jamaica se utilizan frescos o secos para preparar bebidas refrescantes, mermeladas, vinos, helados, chocolates, agentes saborizantes, jaleas, pudines y pasteles (Ovando-Cruz, Salinas-Moreno, Gálvez-Marroquín, Ortiz-Curiel, & Martínez-Bolaños, 2018).

Los principales países productores de jamaica son Egipto, Sudán, México, Tailandia y China; China y Tailandia son los exportadores más grandes y controlan el suministro (Ariza Flores, y otros, 2017).

En México la producción de jamaica se encuentra en séptimo lugar a nivel mundial. Actualmente se siembra en once estados, siendo Puebla el cuarto productor con el 3% de la producción nacional, solo por debajo de Guerrero (77%), Oaxaca (10%) y Michoacán (8%). En Guerrero se siembran alrededor de 14,294 hectáreas con una producción mayor a las 3 mil toneladas de cálices secos por ciclo de cultivo. (Ariza Flores, y otros, 2017)

En Puebla, la producción se concentra en seis municipios del sur del estado, siendo el principal productor Chiautla de Tapia con el 38% de la producción estatal (Tabla

1), lo cual le confiere un papel esencial en la producción de jamaica a nivel estatal. (SIAP, 2019).

Tabla 1 Estadísticas de los municipios Poblanos Productores de jamaica.				
Municipio	Siembra (hectáreas)	Producción (Toneladas)	Rendimiento (udm/ha)	PMR (\$/udm)
Chiautla de Tapia	212.67	121.22	0.57	8,320
Cohetzala	58.33	32.66	0.56	8,460
Huaquechula	44.6	75.23	1.69	16,185
Huehuetlán el Chico	84.67	55.88	0.66	8,430
Ixcamilpa de Guerrero	77.67	44.27	0.57	8,320
Teotlalco	84.67	55.88	0.66	8,430

udm: Unidad de medida

PMR= Precio Medio Rural (SIAP, 2019)

En la Tabla No. 2 se muestra la clasificación Taxonómica de la flor de jamaica.

Tabla 2 Clasificación Taxonómica de la flor de jamaica (Ramírez García & Nicholls Posada, 2014)	
Reino	Plantae
División	Magnoliophita
Clase	Magnonoliopsida
Subclase	Dilleniiedae
Orden	Malvales
Familia	Malvaceae
Género	Hisbiscus
Especie	<i>H. Sabdariffa</i>
Nombre Común	Flor o Rosa de jamaica

Características fisicoquímicas de *Hibiscus Sabdariffa*

Es una planta anual o hierba perenne (ilustración 1) o subarbusto de base leñosa, y crece hasta 2-2.5 m de alto. Las hojas tienen de tres a cinco lóbulos, 8-15 cm de largo, dispuestas alternativamente en los tallos. Las flores son de 8-10 cm de diámetro, de color blanco y amarillo pálido con una mancha de color rojo oscuro en la base de cada pétalo, y tienen un carnoso cáliz en la base, de 1-2 cm de ancho,

ampliando a 3-3,5 cm, son carnosas y brillantes de color rojo como la fruta madura. Se tarda alrededor de seis meses para madurar (Cruz, 2015).



Ilustración 1 Flor de Hibiscus Sabdariffa

Hibiscus Sabdariffa es rica en compuestos bioactivos como antocianinas y flavonoides, ácidos orgánicos y polisacáridos, los cuáles son los responsables de su actividad antioxidante, antibacterial, antiinflamatoria, hepatoprotector y anticolesterol. Se ha reportado la presencia en extracto etanólico de ***Hibiscus Sabdariffa*** de una gran variedad de compuestos fenólicos y ácidos orgánicos como ácido cítrico, ácido Hibiscus, ácido hidroxicítrico y ácido protocatecuico, siendo el ácido fenólico el principal, además glicósidos de quercetina y gopipetina fueron los flavonoides principalmente encontrados (Jabeur, y otros, 2017).

Las antocianinas son un grupo de compuestos fenólicos encontrados en una amplia variedad de flores y frutas presentando un color púrpura rojizo y han sido utilizadas como alternativas naturales para el reemplazo de aditivos sintéticos y colorantes en la industria alimentaria. El cáliz de ***Hibiscus Sabdariffa*** se ha reportado que contiene delphinidina-3-glucósido, cianidina-3-glucósido, delphinidina-3-sambubioside y cianidina-3-sambubioside, siendo estos compuestos responsables del color rojo de esta planta (Jabeur, y otros, 2017)

La composición de los cálices de ***Hibiscus Sabdariffa*** (Tabla 3) (Sáyago-Ayerdi & Goñi, 2010) no se encuentra de manera homogénea en la literatura ya que estos pueden cambiar dependiendo de la variedad genética y/o el tipo de suelo, etc.

Tabla 3 Composición proximal de cálices de jamaica (g/100g de materia seca). (Sáyago-Ayerdi & Goñi, 2010)

	1 (Babalola SO, 2001)	2 (Morton, 1987)	3 (Sáyago-Ayerdi SG, 2007)
Proteína	8.6	17.4	9.87
Lípidos	2.0	2.61	0.59
Cenizas	6.8	6.9	9.75
Fibra cruda	8.5	12.0	-
Fibra dietética total	-	-	33.90
Fibra Insoluble	-	-	29.04
Fibra Soluble	-	-	4.87
Minerales y Vitaminas (mg/100 g de materia seca)			
Calcio	1263	1602	-
Potasio	2320	2732	-
Hierro	34.6	8.98	-
Magnesio	340	-	-

Zinc	6.3	-	-
Ácido ascórbico	54.8	67	-
Niacina	-	3.76	-
Tiamina	-	0.117	-
Riboflavina	-	0.277	-

Usos y aplicaciones de *Hibiscus Sabdariffa*

Los extractos de las flores de jamaica se emplean como colorantes naturales para los alimentos, en emulsiones para las bebidas y en la preparación de mermeladas y gelatinas de color rojo brillante y placentero con un sabor ácido. La cocción de las flores también se usa como un sustituto del té o el café por personas que sufren de problemas de salud.

Así mismo los extractos de la jamaica pueden actuar como antioxidantes y contribuir a las acciones anticancerígenas o cardioprotectivas ya que tienen un efecto antiespasmódico, reducen la hipertensión, son antimicrobianos y propician la relajación del músculo uterino. (Carvajal, Waliszewski , & Infazón , 2006).

Debido a su capacidad antioxidante *Hibiscus Sabdariffa* puede utilizarse para lo siguiente:

- **Cosméticos:** la inclusión de los antioxidantes en los cosméticos ayuda a prevenir el foto-envejecimiento. (Celia Castaño Amores, 2018)
- **Conservadores naturales:** la industria agroalimentaria enfrenta continuamente problemas derivados de la falta de estabilidad de los alimentos, siendo la principal causa la oxidación (Vargas Sánchez,

Torrescano Urrutia, & Sánchez Escalante, 2013) por lo cual los antioxidantes podrían ser una alternativa para combatir esta problemática.

- **Farmacéutico:** Se ha vinculado a los oxidantes con algunas enfermedades como lo son cataratas oculares, enfermedades cardiovasculares, enfermedad de Alzheimer, baja protección inmunológica, diabetes, aterosclerosis, artritis reumatoide, y cáncer (López, Fernando, Lazarova, Bañuelos, & Sánchez, 2013)
- **Aditivo para envases activos:** los compuestos antioxidantes, se pueden utilizar en las formulaciones de lo que denominaríamos “films activos” hoy en día se demandan más funcionalidades por parte de los envases, como puede ser prevenir la degradación y aumentar la vida útil del producto. Así pues, los compuestos antioxidantes pueden incorporarse dentro de las composiciones de los envases activos. (Martín Lajara, 2019)

Por su fibra y cálices ***Hibiscus Sabdariffa*** se emplea asimismo en la manufactura de cordajes y canastas, así como en la preparación de bebidas refrescantes. Las propiedades nutricionales del aceite y la semilla hacen que sea una fuente invaluable de alimento debido a su contenido proteico y calórico. (Carvajal, Waliszewski , & Infazón , 2006).

En México también tiene mucha demanda el licor de jamaica. Se trata de un licor de mesa que se acostumbra a tomar de forma moderada, comúnmente después de la comida. Ayuda a prevenir la ceguera, fortalece los huesos y disminuye el estrés. (González-Palomares & Val-Díaz, 2017)

Los principales pasos para elaborar licor de jamaica se mencionan a continuación (Ortega, y otros, 2005):

- Recepción de materia prima fresca (cálices de jamaica) previamente seleccionada y libre de contaminantes externos (piedras, tierra, semillas).
- Los cálices de jamaica pasan por un proceso de lavado y desinfección.

- Se realiza la extracción por infusión en una solución de agua y alcohol al 2.9%, se deja durante 7 días en reposo para posteriormente ser filtrada.
- Transcurrido los 7 días se obtiene jarabe (25°Brix)
- Se envasa en botellas de 750ml previamente esterilizadas las cuales se sellan, etiquetan y se coloca en cajas de 12 piezas.

Economía circular

La economía circular se define como ciclo de desarrollo positivo que preserva y aumenta el capital natural, optimiza los rendimientos de los recursos y minimiza los riesgos del sistema, gestionando stocks finitos y flujos renovables. Funciona de manera efectiva a cualquier escala. (Emilio Cerdá, 2016)

Los principios por lo cual se apoya la economía circular son los siguientes (Emilio Cerdá, 2016):

Principio 1. Preservar y aumentar el capital natural, controlando los stocks finitos y equilibrando los flujos de recursos renovables. Cuando se necesitan recursos, el sistema circular los selecciona sabiamente y elige tecnologías y procesos que utilizan recursos renovables o del más alto rendimiento, siempre que sea posible. Una economía circular también aumenta el capital natural fomentando flujos de nutrientes en el sistema y creando las condiciones para la regeneración del suelo.

Principio 2. Optimizar el rendimiento de los recursos, circulando siempre productos, componentes y materiales en su nivel más alto de utilidad, en los ciclos técnico y biológico.

Lo expresado anteriormente significa diseñar para reelaborar, renovar y reciclar para mantener circulando en la economía los materiales y componentes, y contribuyendo a la misma. Los sistemas circulares utilizan bucles internos más ajustados siempre que sea posible, preservando la energía incorporada, así como otros valores. Estos sistemas procuran extender más la vida del producto y optimizar la reutilización. El hecho de compartir incrementa la utilización del producto.

Principio 3. Promover la efectividad del sistema, haciendo patentes y proyectando eliminar las externalidades negativas.

Ello incluye reducir el daño causado a sistemas y áreas que afectan a las personas, tales como alimentos, movilidad, casas, educación, sanidad o entretenimiento, y gestionar externalidades tales como la contaminación del aire, el agua, la tierra, y el ruido, las emisiones de sustancias tóxicas y el cambio climático.

De acuerdo con el concepto y los principios que se han definido, podemos señalar las siguientes características clave de una economía circular (Emilio Cerdá, 2016)

- Reducción de insumos y menor utilización de recursos naturales:
 - Explotación minimizada y optimizada de materias primas, aunque proporcionando más valor con menos materiales.
 - Reducción de la dependencia de las importaciones de recursos naturales.
 - Utilización eficiente de todos los recursos naturales.
 - Minimización del consumo total de agua y energía.

- Compartir en mayor medida la energía y los recursos renovables y reciclables:
 - Reemplazar los recursos no renovables por renovables con niveles sostenibles de oferta.
 - Mayor proporción de materiales reciclables y reciclados que puedan reemplazar a materiales vírgenes.
 - Extraer las materias primas de manera sostenible.

- Reducción de emisiones:
 - Reducción de emisiones a lo largo de todo el ciclo material, a través del uso de menor cantidad de materias primas y obtención sostenible de las mismas.
 - Menor contaminación a través de ciclos materiales limpios.

- Disminuir las pérdidas de materiales y de los residuos:
 - Minimizar la acumulación de desechos.
 - Limitar, y tratar de minimizar, la cantidad de residuos incinerados y vertidos.
 - Minimizar las pérdidas por disipación de recursos que tienen valor.

- Mantener el valor de productos, componentes y materiales en la economía:
 - Extender la vida útil de los productos, manteniendo el valor de los productos en uso.
 - Reutilizar los componentes.

Dado el concepto de economía circular y los principios expuestos anteriormente podemos concluir que los residuos agroindustriales no deberían ser considerados como desechos más bien como subproductos.

A estos subproductos se les debe de dar un valor para poder incorporarlo a la economía de nuestro proceso principal, ya que al buscar alternativas para su uso podemos minimizar la acumulación de desechos.

Residuos agroindustriales

Los residuos agroindustriales son materiales en estado sólido o líquido que se generan a partir del consumo directo de productos primarios o de su industrialización, y que ya no son de utilidad para el proceso que los generó, pero son susceptibles de aprovechamiento o transformación para generar otro producto con valor económico, de interés comercial y/o social (Saval, 2012).

El problema al que se enfrentan los residuos agroindustriales es que no existe una clara conciencia ambiental para su manejo, además de que falta capacidad tecnológica y recursos económicos para darles un destino final, así como una legislación específica para promover la gestión de este tipo de residuos, que

asegure un buen manejo desde su generación hasta su disposición final. Aún en nuestros días, esta problemática prevalece a nivel mundial (Saval, 2012).

Por ello, la búsqueda de oportunidades de aplicación para dichos materiales requiere del conocimiento de su composición química, las propiedades de sus componentes y los grupos funcionales que los constituyen (Rodríguez, Fernández, & Ramírez, 2016).

Las características de los residuos agroindustriales son muy variadas, dependen de la materia prima y del proceso que los generó, no obstante, comparten una característica principal que es el contenido de materia orgánica, constituida por diferentes porcentajes de celulosa, lignina, hemicelulosa y pectina (Saval, 2012) por eso los residuos agroindustriales poseen un alto potencial para ser aprovechados en diferentes procesos que incluyen elaboración de nuevos productos, aportar valor agregado a los productos originales y recuperar condiciones ambientales alteradas (Corredor & Pérez, 2018).

Al buscar una oportunidad de aprovechamiento de los residuos, se hace necesaria su caracterización para conocer su composición, la calidad de sus componentes y la cantidad que se genera, con esto se pueden definir las tecnologías más apropiadas para su aprovechamiento y posterior tratamiento. (Saval, 2012)

Respecto a esto último, es de esperar que después del aprovechamiento de un residuo se genere un siguiente residuo más agotado que podría tener otra aplicación, o bien, convertirse en un desecho. En la búsqueda de oportunidades de aprovechamiento de residuos este aspecto deberá ser considerado, con un enfoque de responsabilidad ambiental (Saval, 2012).

Criterios de selección de residuos con fines de aprovechamiento:

Se han definido criterios de selección de los residuos para ser aprovechados con fines biotecnológicos, algunos de ellos son (Saval, 2012):

- Que el principal componente del residuo pueda ser utilizado como sustrato para la producción fermentativa de insumos de procesos industriales, o bien, que el material pueda ser sometido a extracciones para recuperar alguno de sus componentes que tenga un mercado demandante.
- Que el residuo esté disponible localmente y en las cantidades necesarias para asegurar la fabricación de un producto de interés.
- Que no tenga otras aplicaciones o usos que compitan con el proceso que se pretende promover.
- Que no requiera pretratamiento, y en caso de requerirlo, que éste sea sencillo y económico.
- Que la disponibilidad del residuo permita planificar el proceso para el cual se va a utilizar.
- Que sea estable, es decir, que no se descomponga fácilmente bajo las condiciones ambientales del sitio donde se genera.

Usos que se le han dado a diversos tipos de residuos agroindustriales:

- Como sustrato para la producción fermentativa de metabolitos de interés
- Como sustrato para la generación de bioenergéticos.
- Como mejoradores o acondicionadores de suelo obtenidos mediante composteo.
- Como suplemento alimenticio para animales.

Por otro lado, cuando los residuos no son reutilizados y se abandonan en el lugar donde se generaron, se convierten en contaminantes de suelos y aguas subterráneas (Saval, 2012).

Antioxidantes

Un antioxidante es una molécula capaz de retardar o prevenir la oxidación de otras moléculas, contrarrestan radicales libres y otras especies reactivas de oxígeno. (Benitez Estrada , y otros, 2020)

Los radicales libres son productos naturales intermediarios del metabolismo, pero aquellos radicales libres que se producen debido a diferentes tipos de estrés como lo son condiciones anormales, radiación etc., se atribuye ser causante de los procesos de envejecimiento y otras enfermedades. (Starke-Reed, 2003)

En el organismo existe un equilibrio entre las especies reactivas del oxígeno y los sistemas de defensa antioxidante. Cuando dicho equilibrio se ve alterado o descompensado a favor de las especies reactivas de oxígeno, se produce el denominado estrés oxidativo. El estrés se puede desencadenar por radiación solar, respuestas inflamatorias e inmunológicas, alcoholismo, tabaquismo, déficit de vitaminas y otros factores. (Ramírez Hernández, y otros, 2012).

La capacidad antioxidante a nivel celular está dada por mecanismos en la cual la célula anula y/o inhibe la generación de radicales libres; estos mecanismos son adecuados a la muy corta vida media de los radicales libres y lo comprenden moléculas pequeñas. (Avello & Suwalsky, 2006)

Existen dos tipos de antioxidantes (Sanchez, 2013):

- Antioxidantes exógenos: son aquellos que se encuentran en la naturaleza formando parte fundamentalmente de los alimentos y los obtenemos a través de la dieta.
- Antioxidantes endógenos: se producen en el propio organismo como determinadas enzimas y coenzimas, entre otros.

De igual manera se han desarrollado antioxidantes sintéticos que son producidos por síntesis química y usualmente son codificados para su aplicación principalmente en la industria de los alimentos (Gonzales & Cruz, 2017) y para tener un estándar de la capacidad antioxidante (Gulcin, 2020).

La importancia de consumir antioxidantes naturales se basa en las siguientes razones (Carolina Valenzuela V, 2016):

- La baja seguridad que ofrece el consumo de antioxidantes sintéticos ya que estos son bastante volátiles, se descomponen con facilidad a temperaturas altas y a su potencial efecto tóxico para la salud.
- La eficacia antioxidante de una variedad de agentes fitoquímicos.
- La idea generalizada de que el consumo de ciertos agentes fitoquímicos puede afectar de manera positiva la patología de las enfermedades crónicas y el proceso de envejecimiento.
- Los antioxidantes derivados de las plantas desde el punto de vista fitoquímico pueden ser taninos, lignanos, estilbenos, cumarinas, quinonas, xantonas, ácidos fenólicos, flavones, flavonoles, catequinas, antocianinas y proantocianinas los cuales debido a sus propiedades redox pueden actuar como donadores de hidrógenos y de esta manera prevenir o retrasar el desarrollo de enfermedades degenerativas.

Antioxidantes endógenos

Dentro de los antioxidantes endógenos se encuentran tres enzimas (Sanchez, 2013):

- **Superóxido dismutasa:** Cataliza la disminución del radical superóxido para formar peróxido de hidrógeno, se encuentra en el citosol y en la mitocondria.
- **Glutathión peroxidasa:** Se encarga de la reducción de hidroperóxidos intracelulares, peróxido de hidrógeno y grandes moléculas de peróxidos lipídicos procedentes del ataque de los radicales libres. Se localiza en el citosol y lisosomas.
- **Catalasa:** Cataliza la reacción de reducción del peróxido de hidrógeno; se encuentra en el citosol.

Antioxidantes exógenos

Los antioxidantes exógenos son aportados principalmente por los alimentos, a continuación, se presenta en la tabla 4 los principales antioxidantes exógenos (Olivares, Cabrera, & Martínez, 2010).

Tabla 4 Antioxidantes exógenos (Olivares, Cabrera, & Martínez, 2010)

Vitamina	Fuente Alimentaria	Acción antioxidante	Efectos secundarios
Vitamina E (tocoferol)	<p>Fuentes más importantes:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Aceites vegetales, aceites de semillas prensadas en frío, germen de trigo y de maíz, almendras, avellanas, girasol, frijol de soya, nuez, maní <p>Otras fuentes significativas:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Papas frescas, pimentón, palta, apio, repollo, frutas, pollo, pescado. 	<p>Mantiene la integridad de la membrana celular, protege la destrucción de la vitamina A, retarda el envejecimiento celular.</p>	<p>NRN</p>
Vitamina C (Ácido ascórbico)	<p>Frutas</p> <ul style="list-style-type: none"> • Limón, lima, naranja, guayaba, 	<p>Inhibidor de la oxidación de lípidos, regenera a la vitamina E,</p>	<p>Su ingesta en grandes cantidades puede ocasionar</p>

	<p>mango, kiwi, fresa, papaya, mora, piña.</p> <p>Verduras</p> <ul style="list-style-type: none"> • Tomate, verduras de hojas verdes (espinacas, perejil, hojas de rábano), repollo, coliflor, brócoli, pimentón, lechuga. 	<p>ofrece protección contra todo tipo de cánceres.</p>	<p>presencia de cálculos en riñones o vías urinarias</p>
Carotenoides	<p>Betacaroteno</p> <ul style="list-style-type: none"> • Verduras y frutas amarillas y anaranjadas, verduras verdes oscuro. <p>Alfacaroteno</p> <ul style="list-style-type: none"> • Zanahoria <p>Licopeno</p> <ul style="list-style-type: none"> • Tomate <p>Luteína y zeaxantina</p>	<p>Protege al DNA, detiene el deterioro de tejidos.</p>	<p>Su consumo excesivo produce descamaciones de la piel, caída del cabello, debilidad, ahogo y vómito</p>

	<ul style="list-style-type: none"> • Verduras de hoja verde oscuro, brócoli 		
Flavonoides (polifenólicos)	Espinacas, cebolla, ajo, té verde, vino, manzanas, peras, cítricos	Quela metales	NRN
Oligoelementos Selenio (Se), Zinc (Zn), Manganeso (Mn), Cobre (Cu)	Carne, pescado, cereales integrales, lácteos, ajo, cebollas, brócoli, frutos secos, te, piña, vísceras, cacao y derivados.	Forman parte del núcleo activo de las enzimas con actividad antioxidante, mantienen en buen estado las funciones hepáticas, cardíacas y reproductoras, protector contra el cáncer.	Él Se es el más tóxico de los minerales, su ingestión en dosis altas produce pérdida de cabello, alteración de uñas y dientes, náuseas, vómito y aliento a leche agria.

NRN: No se producen efectos nocivos

Antioxidantes Sintéticos

Los antioxidantes sintéticos, han sido masivamente utilizados en la conservación de productos cárnicos, pero recientemente su uso ha sido ampliamente discutido porque son bastante volátiles, se descomponen con facilidad a temperaturas altas y tienen un potencial efecto tóxico para la salud.

Los antioxidantes sintéticos más populares son compuestos fenólicos (Ilustración 2) como el butihidroxiனால் (BHA), butilhidroxitolueno (BHT), Tert-Butilhidroquinona (TBHQ), Galato de propilo (PG) y Galato de octilo (OG). (Gulcin, 2020).

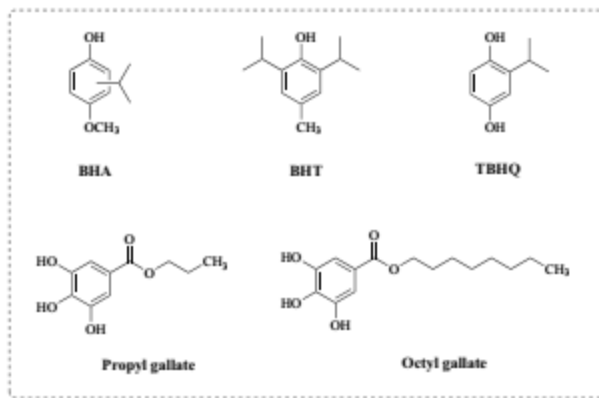


Ilustración 2 Estructura química de antioxidantes sintéticos más populares (Gulcin, 2020)

Estrés oxidativo

Especies reactivas de oxígeno (ERO) es el término que se aplica colectivamente a las moléculas radicales y no radicales que son agentes oxidantes y/o son fácilmente convertidos a radicales. En la última década se han acumulado evidencias que permiten afirmar que los radicales libres y el conjunto de especies reactivas que se les asocian juegan un papel central en el equilibrio homeostático, que es el normal funcionamiento de los mecanismos de regulación que conservan el estado normal fisiológico de los organismos. En mamíferos son muchos los procesos fisiopatológicos causados por estas especies tales como los mecanismos patogénicos asociados a virus, bacterias, parásitos y células anormales, constituyendo un mecanismo de defensa del organismo frente a estos agresores. Cuando el aumento del contenido intracelular de ERO sobrepasa las defensas antioxidantes de la célula se produce el estrés oxidativo, a través del cual se induce daño a moléculas biológicas como lípidos, proteínas y ácidos nucleicos. El estrés oxidativo se presenta en diversos estados patológicos en los cuales se altera la funcionalidad celular, contribuyendo o retroalimentando el desarrollo de

enfermedades degenerativas como la aterosclerosis, cardiomiopatías, enfermedades neurológicas y cáncer (Suwalsky, 2006).

Un ejemplo de la aparición de EROs (Ilustración 3) es durante la fosforilación oxidativa, donde, el O_2 se reduce hasta H_2O tras aceptar cuatro electrones en la cadena respiratoria en la mitocondria. Sin embargo, el 2% de oxígeno consumido es reducido de forma incompleta al aceptar un menor número de electrones, generando especies EROs como el radical OH (Abad, 2017).

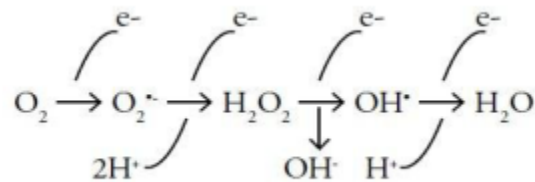


Ilustración 3 Generación de EROS

Enfermedades asociadas al estrés oxidativo

El estrés oxidativo ha sido relacionado con varias enfermedades, tales como algunos tipos de cáncer, enfermedades cardiovasculares, obesidad, diabetes, enfermedades neurodegenerativas, enfermedades oculares, lupus, etc. Por tanto, el estrés oxidativo prolongado tendría un impacto importante sobre la morbilidad y mortalidad de la población, el incremento del estrés oxidativo se agudiza por la exposición a agentes tóxicos externos, tales como tabaco, iones metálicos, contaminantes, medicamentos, etc. (Ilustración 4). (Abad, 2017)



Ilustración 4 Enfermedades asociadas con estrés oxidativo

Radicales libres

Los radicales libres son átomos o grupos de átomos que tienen un electrón desapareado, por lo que son reactivos ya que tienen la capacidad de captar un electrón de otra molécula estable con el fin de alcanzar estabilidad electroquímica. (Suwalsky, 2006)

Una vez que el radical libre ha conseguido sustraer el electrón que necesita, la molécula estable que se lo cede se convierte a su vez en un radical libre por quedar con un electrón desapareado, iniciándose así una verdadera reacción en cadena que destruye las células. La vida media biológica del radical libre es de microsegundos, pero tiene la capacidad de reaccionar con todo lo que esté a su alrededor provocando un gran daño a moléculas, membranas celulares y tejidos. Los radicales libres no son intrínsecamente deletéreos; de hecho, nuestro propio cuerpo los produce en cantidades moderadas para luchar contra bacterias y virus. (Suwalsky, 2006)

Capacidad Antioxidante

La capacidad antioxidante total se define como el potencial de una sustancia o compuesto para inhibir o dificultar la oxidación de un sustrato hasta en cantidades muy pequeñas, su medición es útil para valorar la calidad de un alimento, la cantidad de antioxidantes en un sistema, o la biodisponibilidad de compuestos antioxidantes en el cuerpo humano (Benitez Estrada , y otros, 2020)

Los métodos para determinar la capacidad antioxidante se clasifican en métodos HAT (Hydrogen Atom Transfer, por sus siglas en inglés) y SET (Single Electron Transfer, por sus siglas en inglés) (Batalla-Mayoral, Vega-Hernández, & Silveti-Loeza, 2019).

Los métodos HAT miden la capacidad clásica que tiene un antioxidante para apagar los radicales libres por una transferencia de hidrógeno. (Batalla-Mayoral, Vega-Hernández, & Silveti-Loeza, 2019). Los ensayos basados en la transferencia de un sólo electrón (HAT) envuelven una reacción Redox con el oxidante como un indicador del punto final de la reacción, y detectan la habilidad de un potencial antioxidante de transferir un electrón para reducir un compuesto, incluyendo metales, carbonilos y radicales. (Maya, Molina, & Vargas, 2013)

Los mecanismos basados en la metodología de transferencia de hidrógeno miden la habilidad de un antioxidante para radicales libres por donación de hidrógeno; estas reacciones son independientes del solvente y del pH y son usualmente rápidas, y completadas en pocos segundos. La mayoría de los ensayos basados en HAT aplican un esquema de reacción competitiva, en el cual el antioxidante y el sustrato compiten por radicales peróxilos generados a través de la descomposición de azocompuestos. (Maya, Molina, & Vargas, 2013)



Ilustración 5 Mecanismo HAT (Huang, Ou, & Prior, 2005)

Los métodos SET (Ilustración 6) detectan la capacidad potencial que tiene un antioxidante para transferir un electrón y así reducir cualquier compuesto, incluyendo metales, carbonilos y radicales (Batalla-Mayoral, Vega-Hernández, & Silveti-Loeza, 2019). Los ensayos basados en SET miden la capacidad de un antioxidante para la reducción de un oxidante, el cual cambia de color cuando es reducido, y el grado de cambio de color es correlacionado con la concentración de la muestra de antioxidante (Maya, Molina, & Vargas, 2013).



Ilustración 6 Mecanismo SET (Huang, Ou, & Prior, 2005)

Ambos mecanismos pueden ocurrir en paralelo (HAT y SET), y el mecanismo dominante en un sistema dado está determinado por la estructura de los antioxidantes y sus propiedades, como solubilidad y coeficiente de partición, así como por el solvente del sistema. La energía de ionización y el potencial de ionización son los factores más relevantes para determinar el mecanismo y la eficacia de los antioxidantes (Batalla-Mayoral, Vega-Hernández, & Silveti-Loeza, 2019).

Se necesita un protocolo que abarque mediciones de más de una propiedad antioxidante, ya que los polifenoles tienen múltiples actividades antioxidantes, y la actividad antioxidante dominante depende del medio y del sustrato de prueba (Batalla-Mayoral, Vega-Hernández, & Silveti-Loeza, 2019).

Dentro de las metodologías SET se encuentra FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power, por sus siglas en inglés). También existen métodos que utilizan ambos mecanismos HAT y SET como el ensayo de DPPH y la técnica de Folin- Ciocalteu (2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo) (Batalla-Mayoral, Vega-Hernández, & Silveti-Loeza, 2019).

Fenoles

Los compuestos fenólicos constituyen una de las principales clases de metabolitos secundarios de los vegetales, donde desempeñan diversas funciones fisiológicas (Tabla 5). Se trata de compuestos que intervienen en el crecimiento y reproducción de las plantas, así como en procesos defensivos contra agentes patógenos, depredadores o radiación ultravioleta (Martínez, Segovia, & Ana, 2015); estos presentan un grupo hidroxilo unido a un anillo aromático y son solubles en solventes orgánicos, de acuerdo a su diversidad química; los fenoles cumplen funciones en la defensa de las plantas contra herbívoros o patógenos, atracción de polinizadores etc. (Dominguez, 1973)

Tradicionalmente se han considerado como sustancias antinutritivas debido al efecto adverso de uno de sus componentes principales, los taninos, en la digestibilidad de proteínas. Sin embargo, actualmente existe gran interés en estos compuestos debido a la gran variedad de actividades biológicas que presentan, considerándose uno de los compuestos fitoquímicos alimentarios más importantes por su contribución al mantenimiento de la salud humana. La actividad biológica de los polifenoles está relacionada con su carácter antioxidante, el cual es debido a su habilidad para quelar metales, inhibir la actividad de la enzima lipooxigenasa y actuar como atrapadores de radicales libres. De hecho, diversas organizaciones internacionales, en el ámbito de la nutrición, recomiendan un consumo diario como mínimo de cinco raciones de fruta o verdura, para asegurar una adecuada ingesta de antioxidantes y prevenir enfermedades relacionadas con el estrés oxidativo. (Martínez, Segovia, & Ana, 2015)

Existen numerosos estudios que proporcionan datos que apoyan la correlación negativa entre la ingestión de compuestos fenólicos y el riesgo de padecer ciertas enfermedades, incluyendo las enfermedades cardiovasculares, cáncer, enfermedad de Alzheimer, cataratas y otras disfunciones relacionadas con la edad. Además de estos efectos beneficiosos para la salud, también se ha estudiado su efecto

antiinflamatorio y su efecto preventivo en el tratamiento de asma. (Martínez, Segovia, & Ana, 2015)

La cantidad de compuestos polifenólicos y tipos presentes en un alimento varía en función de la especie vegetal, variedad y parte del vegetal considerada (fruto, semillas, brotes, hojas), horas de exposición solar, grado de madurez, condiciones de cultivo, procesado, condiciones de almacenamiento, etc. (Martínez, Segovia, & Ana, 2015)

Los compuestos polifenólicos (Ilustración 7) presentan en su estructura química uno o más anillos de benceno y uno o más grupos hidroxilados con algún elemento común, como los grupos funcionales de ésteres, ésteres de metilo, glicósidos, etc, pueden encontrarse distintas clasificaciones de polifenoles, dependiendo de su complejidad química, pueden agruparse en C₆, (C₆-C)_n, C₆-C_n-C₆, siendo n ≤ 3. La tabla 5 muestra los diferentes grupos de polifenoles y algunos ejemplos de cada grupo. (Martínez, Segovia, & Ana, 2015).

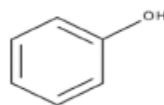

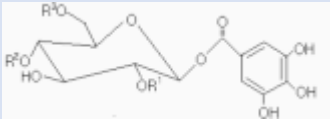
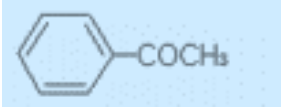
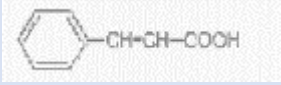
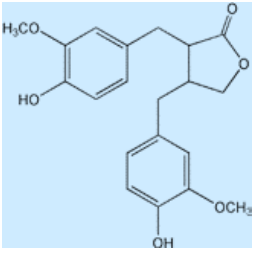
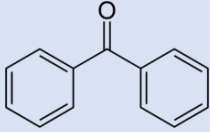

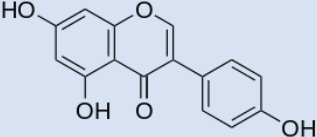
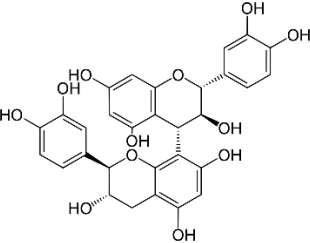


Ilustración 7 Estructura de polifenol

Tabla 5 Ejemplos de compuestos polifenolicos.			
Estructura química		Tipo	Ejemplo de polifenol
C ₆		Fenol simple	Eugenol

<p>C₆-C</p> 	<p>Ácido fenólico, Ácido benzoico</p>	<p>Ácido gálico Ácido elágico</p>
<p>(C₆-C)_n (Estructuras variadas)</p> 	<p>Taninos hidrolizables</p>	<p>Unidades de ácido gálico o eláico unidos a carbohidratos</p>
<p>C₆-C₂</p> 	<p>Acetofenonas</p>	<p>Ácido fenil acético</p>
<p>C₆-C₃</p> 	<p>Ácido hidroxicinámico Cumarinas</p>	<p>Ácido cafeico Ácido ferúlico</p>
<p>(C₆-C₃)₂</p> 	<p>Lignanos</p>	

<p>C_6-C-C_6</p> 	<p>Benzofenonas Xantonas</p>	
<p>$C_6-C_2-C_6$</p> 	<p>Estilbenos</p>	<p>Resveratrol</p>
<p>$C_6-C_3-C_6$</p> 	<p>Flavonoides Chalconas</p>	<p>Antocianinas Flavonoles Flavonas Flavanonas Isoflavonas Flavanoles</p>
<p>$(C_6-C_3-C_6)_n$</p> 	<p>Proantocianidinas</p>	

Además de los efectos sobre la salud, muchos compuestos polifenólicos tienen un efecto sobre la calidad de los alimentos que los contienen, puesto que son responsables de algunas propiedades sensoriales. (Martínez, Segovia, & Ana, 2015)

Fundamento de la técnica de Folin-Ciocalteu para medir fenoles totales

El ensayo con Folin-Ciocalteu (FC) inicialmente fue empleado para la cuantificación de tirosina en proteínas pero con el tiempo fue modificado para poder analizar compuestos polifenólicos en distintos extractos vegetales. (Muñoz-Bernal, y otros, 2017). La reacción que se lleva a cabo dentro de este método es de óxido-reducción, así mismo es considerada como una medida para determinar la actividad antioxidante ya que determina la capacidad que tienen los fenoles para reaccionar con agentes oxidantes. La velocidad de esta reacción depende del pH, siendo lenta en pH ácido y rápida en pH básico. (González, 2020).

El método de FC mide la capacidad de los fenoles para reaccionar con agentes oxidantes, el reactivo principal del ensayo consiste en una mezcla de ácidos fosfomolibdico y fosfotungstico de color amarillo denominado "reactivo de FC" y es a partir de la mezcla de ambos ácidos que se producen iones de molibdato y tungsteno (ilustración 8) (Muñoz-Bernal, y otros, 2017), los cuales al reaccionar con cualquier tipo de fenol reduce los complejos fosfomolibdico y fosfotungstico, de color amarillo, en un complejo de molibdeno Mo(V) que presenta una coloración azul, siendo este color proporcional al número de grupos hidroxilo, y por lo tanto de grupos fenólicos de la molécula (González, 2020).

El análisis de la cantidad de los compuestos fenólicos se realiza por medio de espectrofotometría a 765nm; esta se cuantifica en base a una curva patrón de ácido gálico (ilustración 9) y los resultados se expresan en mgE ácido gálico (GAE)/ g materia seca (Ecuación 1):

$$\text{Fenoles totales} = \frac{\text{Absorbancia} - b}{m}$$

b= ordenada de origen

m= pendiente

Ecuación 1 Determinación de Fenoles Totales

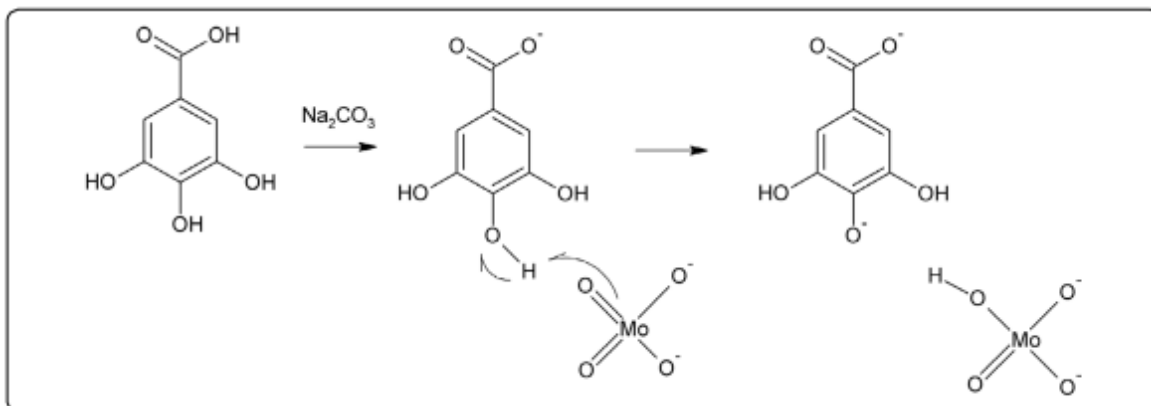


Ilustración 8 Reacción del ácido gálico con reactivo FC (Muñoz-Bernal, y otros, 2017)

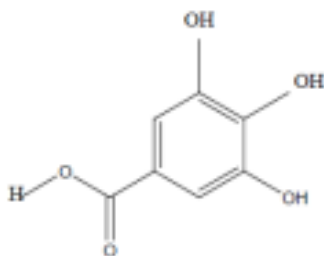


Ilustración 9 Estructura del Ácido Gálico

Fundamento de la técnica de DPPH para medir capacidad antioxidante

Este método fue propuesto por Blois (1958) en el cual se demostró por primera vez la capacidad del radical libre DPPH• para aceptar un átomo de hidrógeno (H•) proveniente de una molécula de cisteína (Tovar del Rio, 2013).

La Molécula 1,1-difenil-2-picril-hidrazilo (DPPH) es un radical libre debido a la deslocalización desapareada sobre la molécula completa, esta deslocalización intensifica el color violeta intensa típica del radical, el cual se absorbe en metanol a 517nm. Cuando la solución DPPH reacciona con algún sustrato antioxidante que pueda donar un átomo de hidrogeno, el cambio de color se monitorea espectrofotométricamente, ya que inicialmente el DPPH con su electrón desapareado se puede observar de color azul-violeta y al estar reaccionando con

algún antioxidante va decolorándose hacia amarillo pálido (ilustración 10). (Mishra, Ojha, & Chaudhury, 2012)

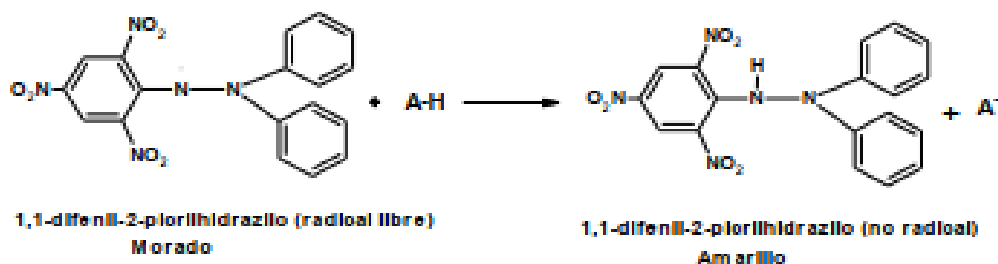


Ilustración 10 Reacción DPPH con antioxidante (Alam, Bristi, & Rafiqzaman, 2013)

El ensayo de DPPH mide la capacidad máxima inhibitoria, en otras palabras, la capacidad de antioxidante necesario para disminuir la concentración inicial del DPPH. (Ecuación 2) (Tovar del Rio, 2013)

Dentro de la ecuación para obtener el porcentaje de inhibición de DPPH se toma en cuenta el control negativo, se espera que este control no produzca cambios del estado normal de la muestra. (Johnson & G.Besselsen, 2002)

$$\% \text{ de inhibición de DPPH} = \frac{Ac - Abs \text{ muestra (extracto)}}{Ac} * 100$$

Ac= Control negativo

Abs muestra (extracto)= Absorbancia de la muestra

Ecuación 2 Porcentaje de inhibición

Fundamento de la técnica FRAP para medir capacidad antioxidante

Esta se basa en el principio en que los antioxidantes son capaces de reducir el ion férrico al estado ferroso (Fe III a Fe II) a bajo pH, el cual presenta un intenso color azul, el ion forma un complejo con el compuesto TPTZ (2,4,6-Tripyridyl-s-Triazine) que se absorbe a una longitud de onda de 593nm. (Cruz D. N., 2020)

FRAP es un método que no evalúa la capacidad neutralizadora de radicales libres de la muestra estudiada, si no su capacidad reductora por transferencia de electrones por lo cual este método considera la capacidad antioxidante de una muestra como una medida de su capacidad reductora de Fe³⁺.(Ilustración 11) (Mercado, Laura de la Rosa Carrillo, & Álvarez-Parrilla, 2013).

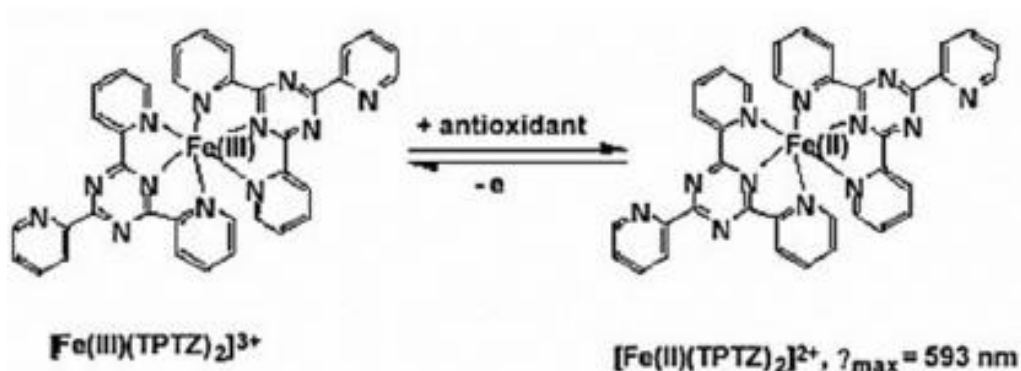


Ilustración 11 Reacción química FRAP (Cruz D. N., 2020)

La cuantificación se lleva a cabo a través del patrón externo trolox (ácido 6- hidroxil-2,5,7,8- tetrametilcromano -2-carboxílico, Ilustración 12) estándar que se utilizó para hacer una curva de calibración con concentraciones de 25- 1000 µM, además tomando en cuenta la ecuación 3. El trolox es un compuesto de alta capacidad antioxidante, análogo a la vitamina E, que permite medir la capacidad antioxidante (Cruz D. N., 2020). Los resultados se expresan en µM Eq Trolox/g de extracto.

$$x = \frac{\text{Absorbancia} - b}{m}$$

b= ordenada de origen
m= pendiente

Ecuación 3 Determinación de FRAP

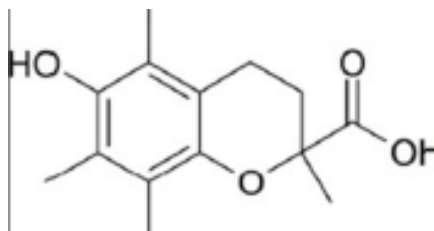


Ilustración 12 Estructura química del Trolox

Antioxidantes en Alimentos

Los antioxidantes son sustancias que el organismo sintetiza de forma natural o que se encuentran en los alimentos.

El cacao ha mostrado un contenido fenólico de 91.53 ± 3.51 mg equivalentes de ácido gálico mgE(GAE)/g de materia seca, el IC50 (Coeficiente de inhibición.) del DPPH fue de 50.21 ± 1.75 y FRAP tuvo un valor 924.21 ± 8.76 μ M eqTrolox / L de solución. (Méndez, Martínez, Fernández, & Cerón, 2020)

En Tejocote se han identificado flavonoides, ácidos fenólicos, azúcares, terpenos y otros compuestos. Se ha determinado el contenido de fenoles totales por medio de la técnica de Folin-Ciocalteu en la pulpa de 88.1 ± 3.5 mg equivalentes de ácido gálico mgE(GAE)/ g de materia seca. En el caso del IC50 del DPPH el resultado ha sido de 373.7 ± 15.8 y por último el resultado de la capacidad reductora de hierro (FRAP) se obtuvo valores de 39.2 ± 2.8 μ M eqTrolox/100 ppm de materia seca. (Botero, Jesús, & Méndez, 2020)

En la fruta de la guayaba fresca se encontró que el contenido de fenoles totales por la metodología de Folin fue de 385.39 ± 9 mg Equivalentes de ácido Gálico mgE/g de materia fresca, el porcentaje de inhibición de radical de DPPH tuvo un resultado de 1177.89 ± 67.18 μ mol Trolox Equivalente / 100 g de muestra fresca. (Zapata, Cortes, & Rojano, 2013) El resultado de capacidad reductora de hierro (FRAP) fue de 77 ± 11 μ M eqTrolox/g de materia fresca. (Barquera & Cuenca, 2016)

La cereza ha obtenido un resultado de fenoles totales (Folin Ciocalteu) de 181.81 ± 34.1 miligramos equivalentes de ácido gálico (GAE)/ 100g de materia seca, el IC50 (DPPH) fue de 2.1 ± 0.1 y el resultado de FRAP fue de $1,56 \pm 0.2$ mmoles Fe^{2+} /100g de materia seca. (Lopa, y otros, 2021)

Para el maracuyá se ha obtenido un total de 584.94 ± 134.62 miligramos equivalentes de ácido gálico (GAE)/ 100g de materia seca (Folin Ciocalteu) de, el IC50 (DPPH) fue de 0.56 ± 0.26 y el resultado de FRAP fue de 8.38 ± 0.22 mmoles Fe^{2+} /100g de materia seca. (Lopa, y otros, 2021)

Materiales y métodos

Obtención y preparación de residuos agroindustriales de cálices de *Hibiscus Sabdariffa*

La muestra fue proporcionada por “La Integradora Agroindustrial de Chiautla de Tapia S. A de C.V.”, ubicada en el estado de Puebla, México. Se utilizaron residuos agroindustriales de cálices de *Hibiscus Sabdariffa* obtenidos del proceso de elaboración de licor de jamaica. Se secaron 600 g de cálices de *Hibiscus Sabdariffa* en un horno de convección mecánica a una temperatura de $50\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2$ durante 48 horas (Ilustración 13). Posteriormente la muestra fue molida y tamizada (Ilustración 14). La muestra fue almacenada hasta su utilización a temperatura ambiente en frascos cerrados herméticamente.



Ilustración 13 Secado de muestra



Ilustración 14 Molienda y tamizado de la muestra

Determinación de humedad de los residuos agroindustriales de cálices de *Hibiscus Sabdariffa*

La determinación de humedad se llevó a cabo según la norma NOM-116-SSA1-1994 y algunas modificaciones. Cápsulas de aluminio fueron colocadas en una estufa a $100\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2$ durante 2 h, se enfriaron, inmediatamente después se pesaron.

La muestra se obtuvo de la cooperativa ubicada Chiauutla de Tapia, estos se encontraban a la intemperie ya que los residuos son colocados ahí al terminar el proceso de la elaboración de licor.

Posteriormente se colocaron 5 g de residuos de cálices de *Hibiscus Sabdariffa* en cada una de las charolas. Las muestras fueron colocadas dentro de la estufa durante 4 h a $100\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2$, posteriormente cuando se enfriaron se pesaron (Ilustración 15). La determinación de humedad se llevó a cabo mediante la ecuación (Ecuación 4) que señala la norma y se reportó como % H (porcentaje de humedad). Todas las mediciones se determinaron por triplicado.

$$\text{Humedad en \%} = \frac{M2 - M3}{M2 - M1} \times 100$$

En donde:

- M1 = Peso de la cápsula con arena o gasa (g)
- M2 = Peso de la cápsula con arena o gasa más muestra húmeda (g)
- M3 = Peso de la cápsula con arena o gasa más muestra seca (g)

Ecuación 4 Determinación a humedad



Ilustración 13 Muestra en desecador

Determinación de pH de los residuos agroindustriales de cálices de *Hibiscus Sabdariffa*

El pH se determinó según la norma NMX-F-317-S-1978 usada para medir pH en alimentos y se realizaron algunas modificaciones. Se pesaron 5 g de residuos de cálices de *Hibiscus Sabdariffa* molida y seca y se mezclaron con 20 mL de agua destilada recientemente hervida y fría. La muestra fue agitada (Ilustración 16). Posteriormente se procedió a medir el pH. Todas las mediciones se determinaron por triplicado.



Ilustración 14 Agitación de la muestra antes de medir pH.

Determinación de acidez titulable de los residuos agroindustriales de cálices de *Hibiscus Sabdariffa*

Se determinó acidez titulable según la norma NMX-F-102-NORMEX-2010, la cual determina la acidez titulable en productos elaborados a partir de frutas y hortalizas. Se colocaron 30 g de residuos de cálices de ***Hibiscus Sabdariffa*** molida y seca y se mezcló con 80 mL de agua destilada. La mezcla se calentó a 70 ° C durante 1 h. Posteriormente se filtró. El filtrado obtenido se aforó a un volumen de 200 mL y se tomaron alícuotas de 25 mL y se aforaron a 50 mL. Se agregó una solución de hidróxido de sodio 0.1N hasta alcanzar un pH de 8.3. La cantidad de ácidos orgánicos se relacionó con la cantidad gastada de hidróxido de sodio 0.1 N. Todas las mediciones se determinaron por triplicado.

Los resultados de los ácidos orgánicos presentes en la muestra fueron obtenidos de acuerdo a la norma NMX-F-102-NORMEX-2010, de igual manera se determinó el contenido ácido cítrico y ascórbico de acuerdo a lo descrito en el capítulo 22 del libro “Análisis de Alimentos”. (Tyl & Sadler, 2017)

Obtención del extracto hidroetanólico de los residuos agroindustriales de cálices de *Hibiscus Sabdariffa*

Se incorporaron 25 g de residuo agroindustrial de cálices de *Hibiscus Sabdariffa* seca y molida a una solución de agua: etanol 50:50 (v/v), la solución fue agitada por 2 h en oscuridad y a temperatura ambiente. Posteriormente la mezcla de residuos de cálices de *Hibiscus Sabdariffa* -agua-etanol fue centrifugada por 10 minutos a 4500 rpm para retirar el sobrenadante.

El sobrenadante fue filtrado. El extracto hidroetanólico fue concentrado usando un evaporador rotatorio a 150 hPa, 70 °C y 50 rpm durante 30 minutos (Ilustración 17).

Posterior a la obtención del extracto este fue almacenado entre una temperatura de 1-15°C protegido de la luz.

Para obtener la concentración de soluto con respecto al disolvente se midió el volumen final del extracto.



Ilustración 15 Obtención del extracto

Ensayo de Folin-Ciocalteu

Se realizó una curva de calibración usando ácido gálico (25-1000 ppm) (Ecuación 1) como estándar (Quiroz Reyes, 2016). Posteriormente se preparó una solución de carbonato de sodio al 20% (p/v).

El extracto hidroetanólico proveniente de los residuos agroindustriales de ***Hibiscus Sabdariffa*** fue diluido a una relación 1:10 (10,000 ppm). Posteriormente se tomaron 20 µL de cada estándar de ácido gálico, del extracto diluido y de agua destilada como control y se les añadieron 1.4 mL de agua destilada, posteriormente se les añadió 100 µl del reactivo de Folin-Ciocalteu que se vende comercialmente.

Esta mezcla se agitó vigorosamente, posteriormente las muestras 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 y se incubaron a temperatura ambiente y en oscuridad por 1.5 h. Finalmente cada muestra fue leída en un espectrofotómetro a una longitud de onda de 760 nm (Ilustración 18).

Para la curva de calibración se tomó la absorbancia de los estándares de ácido gálico, también se preparó un blanco colocándole todos los componentes excepto ácido gálico, la absorbancia del blanco se restó a los estándares de ácido gálico.

La concentración de fenoles totales fue expresada en mg equivalentes de ácido gálico (GAE)/g de materia seca de cálices de ***Hibiscus Sabdariffa***. El análisis se realizó por triplicado.

Los resultados fueron obtenidos mediante la ecuación 1.

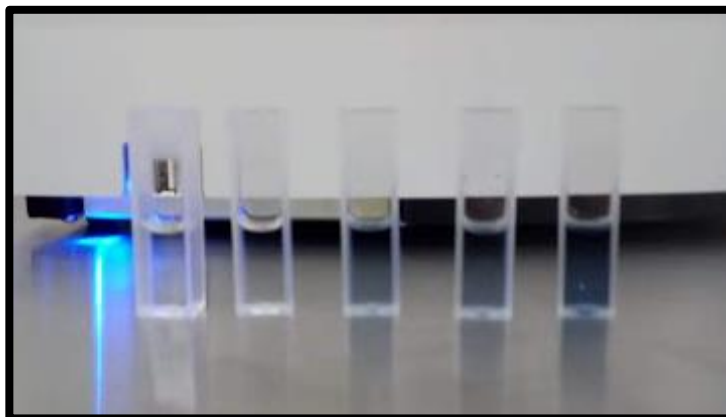


Ilustración 16 Ensayo FC

Ensayo de FRAP

Se realizó una curva de calibración usando Trolox (ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametil-cromone-2-carboxílico) como estándar (25-1000 μM) (Quiroz Reyes, 2016). Se preparó una solución de buffer acetato (pH cercano a 3.6). Se preparó solución TPTZ (2,4,6-Tri(2-piridil)-s-triazina) 10 μM en 25 mL de una solución de ácido clorhídrico 40 $\mu\text{M/L}$. Solución cloruro férrico hexahidratado 5.40g/L ($\text{FeCl}_3\cdot 6\text{H}_2\text{O}$). Solución FRAP fue preparada mezclando 50 mL de la solución buffer acetato con 5 mL de TPTZ y 5 mL de cloruro férrico hexahidratado y posteriormente se calentó a 37°C por 4 minutos antes de usarse. (Botero, Jesús, Reyes, & Méndez, 2020)

Para que se llevara a cabo la reacción FRAP primero se tomó una alícuota de 150 μl de extracto diluido (100 ppm), y 150 μl de cada una de las soluciones estándar, respectivamente. Posteriormente se les adicionaron 2850 μl de la solución FRAP y las mezclas se agitaron, se incubaron a temperatura ambiente y en oscuridad por 30 minutos. Posteriormente se leyó la absorbancia de la muestra y estándares en un espectrofotómetro a una longitud de onda de 593 nm (Ilustración 19).

La concentración de fenoles totales se expresó en μM equivalentes Trolox/ g muestra seca de *Hibiscus Sabdariffa*. El análisis se realizó por triplicado.

Para la curva de calibración se tomó la absorbancia de los estándares de Trolox antes mencionados restándole la absorbancia de blanco que se realizó.

Los resultados fueron obtenidos mediante la ecuación 3.

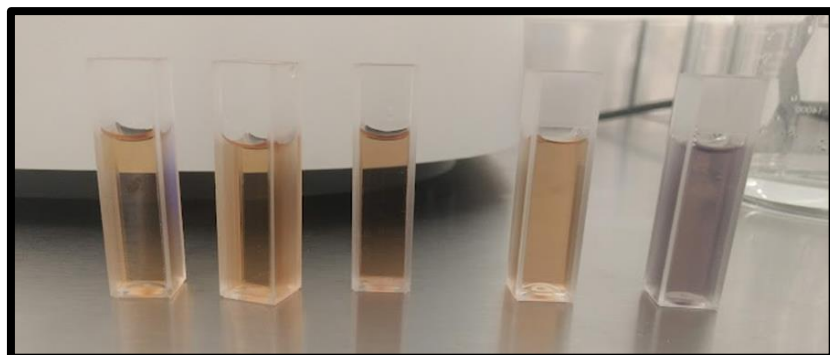


Ilustración 17 Ensayo FRAP

Ensayo DPPH

La actividad antioxidante por el método de DPPH se determinó de acuerdo con la metodología de Elrasheid et al., 2016 con modificaciones y fue realizado por triplicado. Se prepararon soluciones de 100 y 400 ppm de ácido ascórbico (estas soluciones fueron el control positivo). Así mismo se realizaron diluciones de 100 y 400 ppm del extracto acuoso de residuos agroindustriales de ***Hibiscus Sabdariffa***. Se preparó una solución de DPPH (0.02 mg/mL) en metanol, esta solución fue el control negativo (CN).

Se tomaron 2 mL el extracto acuoso de residuos agroindustriales de cálices de ***Hibiscus Sabdariffa*** (100 y 400 ppm), control positivo, y control negativo (CN., solución de DPPH) respectivamente. Posteriormente al extracto acuoso de residuos agroindustriales de ***Hibiscus Sabdariffa*** (100 y 400 ppm) y al control positivo se les añadió 1 mL de la solución de DPPH, mientras que a la solución de CN se le adicionaron 5 mL de metanol. Como blanco se utilizaron 2 mL de extracto acuoso de residuos agroindustriales de cálices de ***Hibiscus Sabdariffa*** diluido (100 y 400 ppm) más 1 mL de agua destilada.

Posteriormente todos los tubos fueron agitados vigorosamente por unos segundos (Vortex Genie 2 ®) y se incubaron a temperatura ambiente y oscuridad durante 15 minutos. Finalmente se midió la absorbancia de las muestras en un espectrofotómetro (Thermo Scientific GENESYS 10S UV-Vis) a una longitud de onda de 517 nm (Ilustración 20). El análisis se realizó por triplicado.

Los resultados fueron obtenidos mediante la ecuación 2.

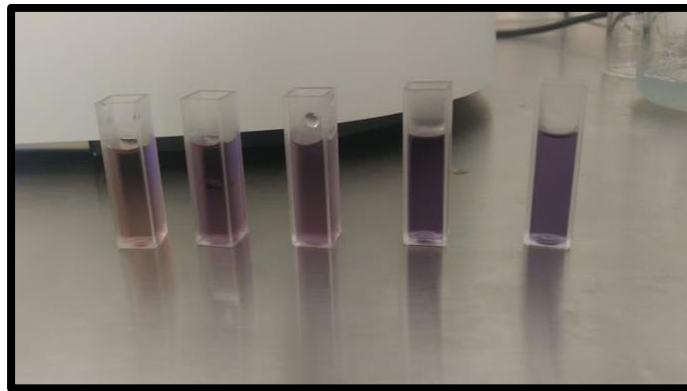


Ilustración 18 Ensayo DPPH

Análisis microbiológicos

Cuenta de microorganismos de coliformes totales en placa

La metodología se realizó de acuerdo con la NOM-113-SSA1-1994 (Diario Oficial de la Federación, 1995). Se prepararon cuatro cajas Petri de agar-rojo-violeta-bilis-lactosa (RVBA). Se colocó 1 ml de residuos de cálices de ***Hibiscus Sabdariffa*** en cada caja Petri, estos residuos se obtuvieron al finalizar el proceso de elaboración del licor tomados directamente de la maquinaria; estos se colocaron en la incubadora por 24 h a 35°C, posteriormente se realizó el conteo de las colonias formadas. El análisis se realizó por triplicado y un control.

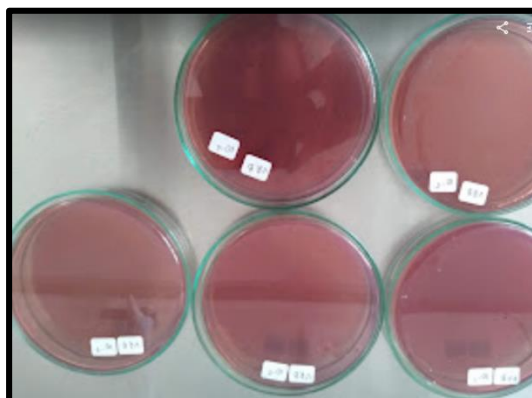


Ilustración 19 Determinación de coliformes totales

Cuenta de Mohos y Levaduras en Alimentos

La metodología se realizó de acuerdo con la NOM-111-SSA1-1994 (Diario Oficial de la Federación , 1995). Se prepararon cuatro cajas Petri de agar papa dextrosa. Se colocó 1 ml del residuo agroindustrial de cálices de ***Hibiscus Sabdariffa*** en cada caja Petri y se dejó en la incubadora de 3-4 días a 25°C posteriormente se realizó el conteo de las colonias formadas. El análisis se realizó por triplicado y un control.

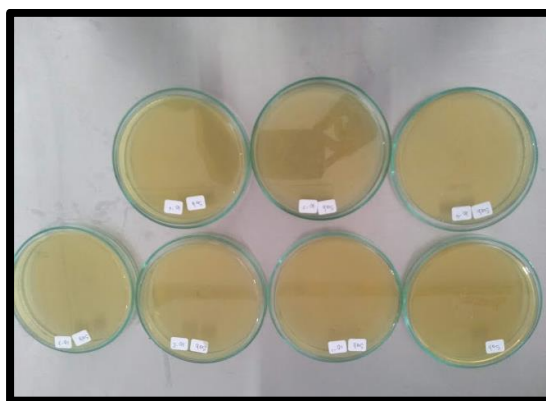


Ilustración 20 Mohos y Levaduras

Resultados y Discusión

A continuación, se presentan los resultados obtenidos de la caracterización Físicoquímica de los cálices de residuos agroindustriales de ***Hibiscus Sabdariffa***; contenido de Fenoles por el método de Folin-Ciocalteu, actividad antioxidante por FRAP, DPPH y análisis microbiológicos de los residuos.

Los valores que se obtuvieron en este trabajo se compararon con datos obtenidos de **Hibiscus Sabdariffa** sin procesar debido a que no existen datos de residuos agroindustriales de cálices de jamaica.

Caracterización Fisicoquímica

Humedad

El contenido de Humedad obtenido del residuo agroindustrial de cálices de **Hibiscus Sabdariffa** fue de 42.24% \pm 0.16 (Tabla 6 de acuerdo a la NOM-116-SSA1-1994). Generalmente el porcentaje de humedad determinado de muestras frescas de **Hibiscus Sabdariffa** oscila entre 80-95% (metodología de la AOAC (Association of Analytical Communities por sus siglas en inglés).

El porcentaje de humedad de los residuos de cálices de **Hibiscus Sabdariffa** es menor que lo reportado en cálices frescos, esto puede deberse al proceso de la elaboración de licor, al almacenamiento a la intemperie de los residuos de cálices de **Hibiscus Sabdariffa**, al clima y al tiempo de almacenamiento entre otros.

De acuerdo a la NMX-FF-115-SCFI-2010 se establece que los cálices de jamaica deben ser comercializados con una humedad máxima del 10-12%.

Por otro lado, un elevado contenido de humedad en los alimentos influye en el aumento de la velocidad de multiplicación de microorganismos, esto provoca su descomposición y pérdida de calidad sanitaria. (Diario Oficial de la Federación , 1994).

Tabla 6 Determinación de % de humedad para residuos agroindustriales de cálices de jamaica y para jamaica fresca según diferentes autores, mediante la NOM-116-SSA1-1994 y la AOAC.			
Tipo de muestra	Técnica	Resultados	Referencia
Residuo Agroindustrial	NOM-116-SSA1-1994	42.24% \pm 0.40	En este trabajo

de <i>Hibiscus Sabdariffa</i> (Chiautla de Tapia, Puebla)			
<i>Hibiscus Sabdariffa</i> Linn (Tlajomulco, Jalisco)	AOAC 1996	80%	(Zúñiga, Palomares, Sanchez, Reyes, & Díaz, 2009)
<i>Hibiscus Sabdariffa</i> Linn (Acaponeta, Nayarit)	AOAC 1998	85-87%	(Feria, Moreno, Moncada, Hernández, & MachucaSánchez, 2021)
<i>Hibiscus Sabdariffa</i> Linn (Solo, Indonesia)	AOAC 2005	95%	(Djaeni, Kumoro, Sasongko, & Utari, 2018)
<i>Hibiscus Sabdariffa</i> Linn (Ibadán.)	-	84.42%	(Ashaye, 2013)

Determinación de pH

El pH de los residuos de cálices de ***Hibiscus Sabdariffa*** se determinó por triplicado presentando un promedio de 2.76 ± 0.02 , muy cercano a los resultados obtenidos de muestras frescas (Tabla 7).

Los productos alimenticios se consideran ácidos si su pH es inferior a siete, y se clasifican como sigue: con bajo contenido de ácido (pH entre 4.6 y siete) y alimentos muy ácidos (pH inferior a 4.6) (Casaubon-Garcín, y otros, 2018). Por lo tanto, en

este caso los residuos agroindustriales de jamaica se clasifican como alimento muy ácido.

El pH tiene relación con la acidez, la cual contribuye en la generación del aroma y sabor en los alimentos (Zúñiga, Palomares, Sanchez, Reyes, & Díaz, 2009). Además, la acidez en los alimentos es un factor importante pues determina la clase de microorganismos contaminantes y los cambios que éstos pueden ocasionar en los alimentos, en general a mayor acidez, mayor dificultad de proliferación. (Domínguez, 2010)

Debido a que, el color rojo se encuentra presente en los residuos de cálices de ***Hibiscus Sabdariffa*** y el pH es muy similar a la jamaica fresca, se puede inferir que los residuos de ***Hibiscus Sabdariffa*** aun contienen una gran cantidad de componentes en comparación a la jamaica sin procesar o jamaica fresca, por ejemplo, antocianinas.

Tabla 7 pH de los residuos agroindustriales de cálices de <i>Hibiscus Sabdariffa</i> en comparación con diferentes reportes.			
Tipo de muestra	Técnica	Resultados	Referencia
Residuo Agroindustrial de <i>Hibiscus Sabdariffa</i> (Chiautla de Tapia, Puebla)	NMX-F-317-S-1978	2.76 ± 0.02	En este trabajo
<i>Hibiscus Sabdariffa</i> (Cairo, Egipto)	AOAC 2000	2.73 ± 0.02	(Abou-Arab, Abu-Salem, & Abou-Arab, 2011)
<i>Hibiscus Sabdariffa</i> (China)	Potenciómetro	2.70	(Ramos-Gutiérrez, Ramírez-Cortés, SánchezMachuca,

			Caro-Velarde, & Paredes, 2020)
Hibiscus Sabdariffa (Sudán)	Potenciómetro	2.64	(Moreno, Hernández, Torre, Altamirano, & Feria, 2012)
Hibiscus Sabdariffa (Ibadán)	Potenciómetro	3.48	(Ashaye, 2013)

Acidez Titulable

La acidez de los extractos de plantas está directamente relacionada con la cantidad de ácidos orgánicos presentes, y en **Hibiscus Sabdariffa** los dominantes son el oxálico y el succínico, aunque pueden encontrarse también cítrico, ascórbico, málico y esteárico. (Moreno, Hernández, Torre, Altamirano, & Feria, 2012)

Para obtener los valores del ácido ascórbico y cítrico se llevó a cabo mediante la ecuación 5 tomada de *Tyl 2017 (Tabla 9)* (Tyl & Sadler, 2017)

$$\%Acido \left(\frac{peso}{peso} \right) = \frac{N * V * Eqwt}{W * 1000} * 100$$

N=Normalidad de titulante (meq/ml)
V=Volumen del titulante utilizado (ml)
W= Masa de la muestra (gr)
Eqwt= Equivalente de peso del acido
1000= factor de conversion (mg/g)

Ecuación 5 Determinación de acidez titulable

En la tabla 8 podemos observar los resultados obtenidos de diferentes ácidos orgánicos que se obtuvieron en este trabajo según la norma NMX-F-102-NORMEX-2010.

Tabla 8 Acidez titulable de residuos agroindustriales de cálices de *Hibiscus Sabdariffa* determinados mediante la NMX-F-102-NORMEX-2010.

Ácido	Muestra	Técnica	Porcentaje
Ácido tartárico anhídrido (g/100 g de muestra)	Residuo Agroindustrial de <i>Hibiscus Sabdariffa</i> (Chiautla de Tapia, Puebla)	NMX-F-102-NORMEX-2010	0.23 ± 0.06
Ácido málico anhídrido (g/100 g de muestra)	Residuo Agroindustrial de <i>Hibiscus Sabdariffa</i> (Chiautla de Tapia, Puebla)	NMX-F-102-NORMEX-2010	0.20 ± 0.05
Ácido oxálico anhídrido (g/100 g de muestra)	Residuo Agroindustrial de <i>Hibiscus Sabdariffa</i> (Chiautla de Tapia, Puebla)	NMX-F-102-NORMEX-2010	0.14 ± 0.04
Ácido acético (g/100 g de muestra)	Residuo Agroindustrial de <i>Hibiscus Sabdariffa</i> (Chiautla de Tapia, Puebla)	NMX-F-102-NORMEX-2010	0.18 ± 0.05
Ácido cítrico (g/100 g de muestra)	Residuo Agroindustrial de <i>Hibiscus Sabdariffa</i> (Chiautla de Tapia, Puebla)	NMX-F-102-NORMEX-2010	0.20 ± 0.05

Tabla 9 Resultados de Acidez titulable de residuos agroindustriales de cálices de *Hibiscus Sabdariffa* según la ecuación de Tyl & Sadler 2017.

Acido	Muestra	Porcentaje
% Ácido cítrico anhídrido (peso/peso)	Residuo Agroindustrial de <i>Hibiscus Sabdariffa</i> (<i>Chiautla de Tapia, Puebla</i>)	0.81 ± 0.001
%Ácido tartárico anhídrido (peso/peso)	Residuo Agroindustrial de <i>Hibiscus Sabdariffa</i> (<i>Chiautla de Tapia, Puebla</i>)	0.87± 0.002
%Ácido ascórbico (peso/peso)	Residuo Agroindustrial de <i>Hibiscus Sabdariffa</i> (<i>Chiautla de Tapia, Puebla</i>)	1.03 ± 0.0029
%Ácido acético (peso/peso)	Residuo Agroindustrial de <i>Hibiscus Sabdariffa</i> (<i>Chiautla de Tapia, Puebla</i>)	0.70 ± 0.0013
%Ácido málico (peso/peso)	Residuo Agroindustrial de <i>Hibiscus Sabdariffa</i> (<i>Chiautla de Tapia, Puebla</i>)	0.78± 0.0016
%Ácido oxálico (peso/peso)	Residuo Agroindustrial de <i>Hibiscus Sabdariffa</i> (<i>Chiautla de Tapia, Puebla</i>)	0.52±0.0002

En la tabla 10 se pueden observar el porcentaje de ácidos orgánicos en diferentes frutas según Tyl & Sadler 2017.

Tabla 10 Principales acidos organicos en frutas según Tyl & Sadler

Fruta	Principal Acido	Porcentaje tipico
Manzana	Malico	0.27-1.02
Platano	Malico/citrico (3:1)	0.25

Cereza	Malico	0.47-1.86
Arandano	Citrico Malico	0.9-1.36 0.70-0.98
Toronja	Citrico	0.64-2.10
Uvas	Tartarico/malico (3:2)	0.84-1.16
Limon	Citrico	4.2-8.33
Lima	Citrico	4.9-8.3
Naranja	Citrico	0.68-1.20
Durazno	Citrico	1-2
Peras	Malico/ Citrico	0.34-0.45
Piña	Citrico	0.78-0.84
Frambuesa	Citrico	1.57-2.23
Fresa	Citrico	0.95-1.18
Tomates	Citrico	0.2-0.6

Los ácidos orgánicos (cítrico, tartárico, fumárico, málico y oxálico) son de gran importancia biológica ya que todos ellos forman parte de diferentes rutas biológicas entre las que destaca la del Ciclo de Krebs. Todos estos ácidos orgánicos contribuyen en mayor a menor medida, dependiendo de su concentración, al pH.

Dentro de ellos, hay que resaltar el ácido cítrico ya que posee una importante función complejante de iones oxidantes, por lo que posee un efecto sinérgico con el ácido ascórbico. (Casañas Rivero, Rodríguez Rodríguez, González, Marrero Domínguez, & Romero, 2003)

Por otro lado, podemos observar que la concentración de ácido málico en los residuos de cálices de *Hibiscus Sabdariffa* es similar al encontrado en manzanas, cerezas, arándanos y uvas; además la concentración de ácido málico encontrada en este trabajo en los residuos de cálices se encuentra por encima de la concentración de ácido málico de las peras. Por lo tanto, se puede concluir que los cálices de *Hibiscus Sabdariffa* contienen concentraciones adecuadas de ácido málico.

El ácido málico (ácido hidroxibutanodioico o hidroxisuccínico) se usa principalmente como aditivo alimentario acidulante y aromatizante y, en menor medida, en cosmética y farmacia. (Torrecilla, T. Roncal, J. García Jaca, Azpeitia, & Ochoa-Gómez, 2010)

El ácido oxálico tiene importancia desde el punto de vista nutritivo, ya que se considera como un antinutriente. Se trata de un ácido dicarboxílico que forma sales insolubles con el calcio, lo cual produce una disminución de la biodisponibilidad de este metal. Se le considera, por tanto, un compuesto que impide la correcta absorción de calcio. (Guil, Torija, Giménez, & Rodríguez-García, 1996)

El ácido tartárico es un componente orgánico y un acidificante natural. La industria del vino es su principal consumidor, ya que se utiliza para corregir la acidez en mostos. (Bálgoma, 2015)

El ácido ascórbico (AA), comúnmente llamado vitamina C, es considerado uno de los más potentes agentes antioxidantes del organismo; en humanos se encuentra concentrado en ciertos órganos como: ojo, hígado, bazo, cerebro, glándulas suprarrenales y tiroideas. En humanos el AA es un micro-nutriente esencial,

necesario para todas las funciones biológicas, incluidas las reacciones enzimáticas y las antioxidantes. (Serra & Cafaro, 2007)

Los ácidos orgánicos que se encuentran en mayor concentración en los residuos de los cálices de jamaica fueron el ácido ascórbico, tartárico y málico (Tabla 9).

El porcentaje de ácido cítrico reportado en cálices de *Hibiscus Sabdariffa* es de entre 12-20%, (Da-Costa-Rocha, Bonnlaender, Sievers, Pischel, & Heinrich, 2014) y comparado con la muestra de residuos de cálices *Hibiscus Sabdariffa* ($0.81 \pm 0.001\%$) está muy por encima.

En muestra de jamaica provenientes China se obtuvo que el porcentaje de ácido málico fue de 20% (Flores, Salinas-Moreno, García, & Sánchez-Feria, 2008), los residuos tuvieron un resultado de $0.78 \pm 0.0016\%$ el cual es menor a comparación de los cálices de jamaica sin procesar, esto puede deberse a que estos cálices ya fueron expuesto a un proceso y la muestra fue dejado a la intemperie lo cual pudo ser afectada por variantes del clima.

El porcentaje de ácido ascórbico determinado en cálices de jamaica sin procesar es de 11% (Lim, 2014), en la muestra de los residuos se obtuvo un resultado del $1.03 \pm 0.0029\%$ como en los demás ácidos orgánicos podemos observar una disminución en el porcentaje de concentración considerable.

Se ha reportado que los cálices de jamaica fresca de diferentes variedades contienen de 13 a 24% de ácido de Hibiscus, ácido cítrico de 12 a 20%, ácido málico de 2 a 9%, ácido tartárico 8% y ácido ascórbico de 0.02 a 0.05% (Da-Costa-Rocha, Bonnlaender, Sievers, Pischel, & Heinrich, 2014)

Si compramos los resultados de los residuos de cálices con la tabla 10, nos podemos percatar que estos residuos tienen un porcentaje de ácido cítrico y málico similar a los del arándano fresco; lo cual nos indica que a pesar de tener una disminución considerable en comparación de cálices de jamaica fresco, se tienen

cercanía con porcentajes de otras frutas por lo cual aún conserva propiedades importantes los residuos.

Folin- Ciocalteu

Los resultados obtenidos en los residuos agroindustriales de cálices de **Hibiscus Sabdariffa** para la concentración de fenoles mediante la técnica de Folín Ciocalteu fueron de 1349 ± 77.8 mgE GAE/25 g de materia seca. En el gráfico 1 se observa la curva de calibración llevada a cabo usando ácido gálico como estándar, junto con su ecuación de regresión lineal y su ajuste, $r^2=0.98$. Los experimentos se llevaron a cabo por triplicado.

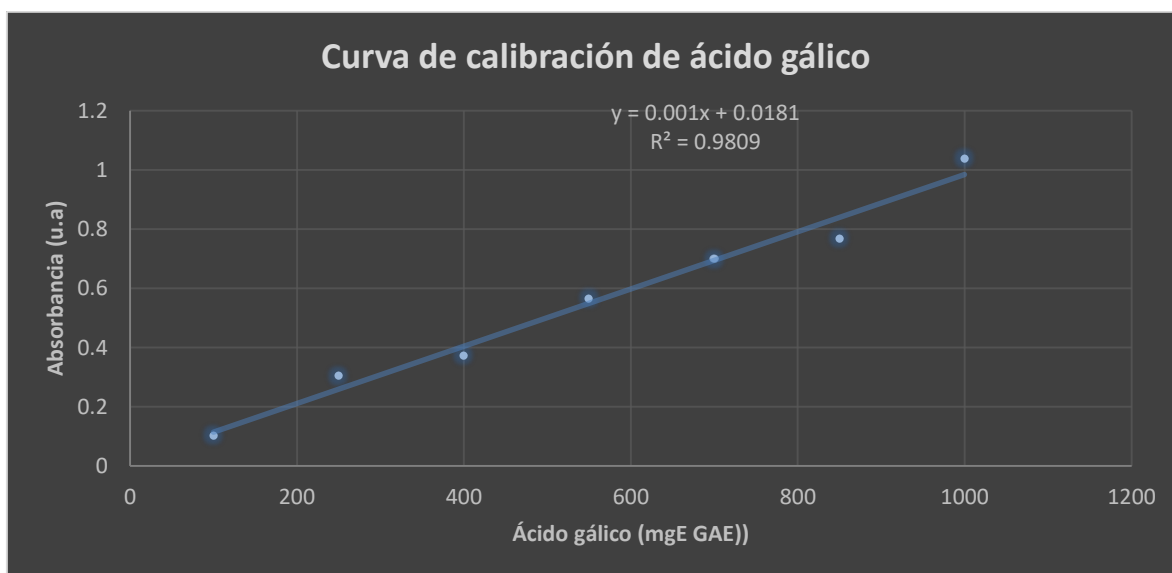


Gráfico 1 Curva de calibración usando ácido gálico como solución estándar en un rango de concentraciones de 0 a 1000 ppm usada en la técnica de Folín Ciocalteu.

De acuerdo a diferentes reportes sobre la técnica de Folín Ciocalteu para jamaica fresca o sin procesar (Tabla 11) se obtuvieron valores más bajos (164.25-1000 mgE GAE/25 g de muestra seca), pero en el mismo orden de magnitud, en comparación con los residuos agroindustriales de cálices de **Hibiscus Sabdariffa**. Lo anterior puede estar relacionado con el tipo de extracción hidroalcohólica que se llevó a cabo en los residuos de cálices de **Hibiscus Sabdariffa** en comparación con otros

procesos de extracción, con la variedad de la jamaica, el clima, las prácticas agrícolas etc.

La actividad antioxidante asociada a las bebidas elaboradas a partir de la decocción acuosa de los cálices de jamaica se atribuye a los fenoles que contienen, y destacan las antocianinas. (Pacheco, 2019)

La disminución de compuestos fenólicos en la jamaica se atribuyen al tiempo prolongado de exposición a la luz (Sánchez-Feria, y otros, 2018).

Tabla 11 Determinación de fenoles totales mediante la técnica de Folin Cioacaltea en residuos agroindustriales de cálices de <i>Hibiscus Sabdariffa</i> en comparación con otros reportes.			
Tipo de muestra	Técnica	Resultados	Referencia
Residuo Agroindustrial de <i>Hibiscus Sabdariffa</i> (<i>Chiautla de Tapia, Puebla</i>)	Folin- Cioacaltea	1349 mg GAE/25 g de materia seca	En este trabajo
<i>Hibiscus Sabdariffa</i> L. <i>Negra Quiviquinta</i>	Folin- Cioacaltea	4000 mg GAE/100 g de materia seca	(Feria, Moreno, Moncada, Hernández, & MachucaSánchez, 2021)
<i>Hibiscus Sabdariffa</i> L. <i>UAN</i>	Folin- Cioacaltea	3250 mg GAE/100 g de materia seca	(Feria, Moreno, Moncada, Hernández, & MachucaSánchez, 2021)

<i>Hibiscus Sabdariffa</i> (Venezuela)	Folin- Cioacaltea	15.34±0.98 mg GAE/g extracto de materia vegetal	(Pacheco, 2019)
<i>Hibiscus Sabdariffa</i> (Puebla)	Folin- Cioacaltea	33.10 mg GAE/ g cálices base seca	(Duarte Valenzuela, Zamora Gasga, Montalvo Gonzalez, & Sáyago Ayerdi, 2016)
<i>Hibiscus Sabdariffa</i>	Folin-Cioacaltea	22.92 mg GAE/g de extracto	Jing-Zhen et al 2016
<i>Hibiscus Sabdariffa</i>	Folín-Cioacaltea	21.67 ± 0.93 y 17.94 ± 0.29 mg GAE /g	Heba A. Sindi et al 2014
<i>Hibiscus Sabdariffa</i>	Folín-Cioacaltea	3640 ± 828 a 2871 ± 362 mg GAE /100 g Muestra seca	César Sánchez-Feria et al 2017
<i>Hibiscus Sabdariffa</i>	Folín-Cioacaltea	10.71 ± 0.29 y 6.57 ± 0.24 mg GAE/g MS	Alberto Reyes-Luengas et al 2015

Cabe destacar que la concentración de fenoles por la técnica de Folín Cioacaltea determinados en este trabajo fue más alta en comparación con los reportes mencionados en la tabla 11, sin embargo, es importante tomar en cuenta las desviaciones estándar de los diferentes reportes y podríamos concluir que los valores que se obtuvieron en este trabajo son similares a los reportes en los que se obtuvo una concentración alta.

FRAP

Los resultados obtenidos en los residuos agroindustriales de cálices de ***Hibiscus Sabdariffa*** para la determinación de capacidad antioxidante, mediante la técnica de FRAP fueron de 356.84 ± 15.72 $\mu\text{mol eq Trolox/ g}$ de muestra seca; en la Tabla 12 se pueden observar diferentes resultados de cálices de jamaica sin procesar según diferentes reportes, en comparación con los residuos de cálices de ***Hibiscus Sabdariffa*** obtenidos en este trabajo. Todos los experimentos se realizaron por triplicado.

Tabla 12 Determinación de FRAP en residuos agroindustriales de cálices de <i>Hibiscus Sabdariffa</i> en comparación con otros reportes.			
Tipo de muestra	Técnica	Resultados	Referencia
Residuo Agroindustrial de <i>Hibiscus Sabdariffa</i> (Chiautla de Tapia, Puebla)	FRAP	356.84 ± 15.72 $\mu\text{mol eq Trolox/ g}$ de muestra seca	En este trabajo
<i>Hibiscus Sabdariffa</i> (Puebla)	FRAP	422.15 mM eqTrolox/ 100g muestra seca	(Duarte Valenzuela, Zamora Gasga, Montalvo Gonzalez, & Sáyago Ayerdi, 2016)
<i>Hibiscus Sabdariffa</i> (México)	FRAP	66.30 ± 11.20 $\mu\text{mol eq Trolox/ g}$ muestra seca	(Sáyago-Ayerdi, Arranz, Serrano, & Goñi, 2017)

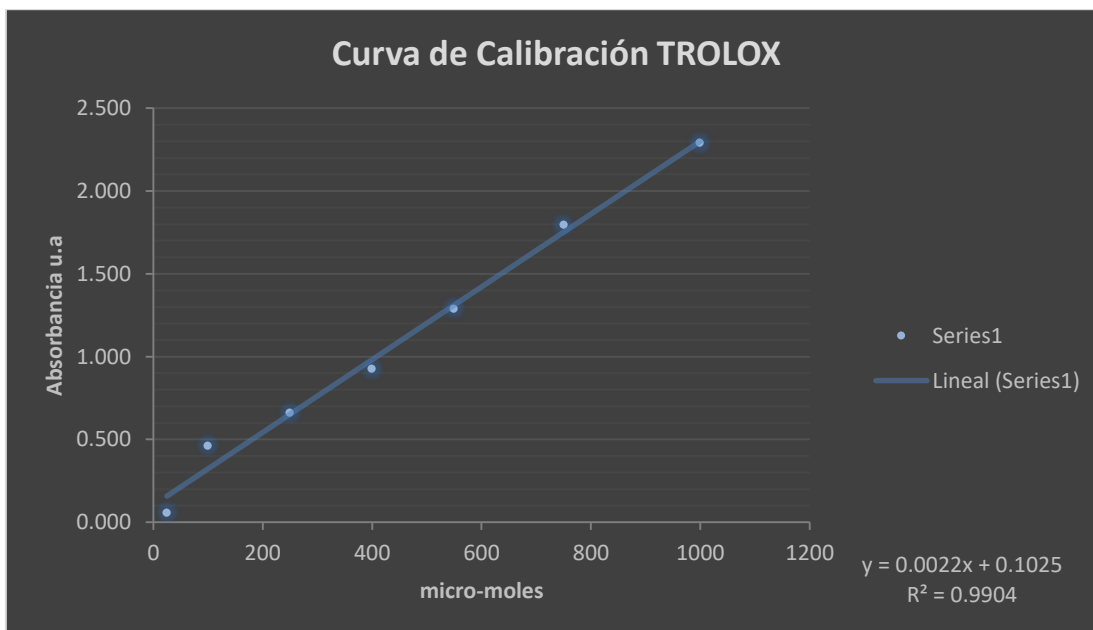
<i>Hibiscus Sabdariffa</i>	FRAP	33.98 mg Trolox eq/ 100 g de muestra seca	(Wu, Yang, & Chiang, 2018)
<i>Hibiscus Sabdariffa</i>	FRAP	38.18 ± 0.64 y 39.14 ± 1.69 mg eq Trolox /g de muestra seca	Heba A. Sindi et al 2014

Según los reportes de la tabla 12 se puede observar que el valor de FRAP para los residuos agroindustriales de ***Hibiscus Sabdariffa*** fue mayor que el presentado por Sáyago Ayerdí et al 2017, el cual fue de $66.30 \pm 11.20 \mu\text{mol eq Trolox/g}$ muestra seca, cabe destacar que la muestra de Sáyago Ayerdí era jamaica fresca o jamaica sin procesar. Por otro lado, también se puede observar que los valores de Duarte Valenzuela et al 2016 son muy superiores ($4.22 \text{ mM eq Trolox/g}$ de muestra seca) a los obtenidos en este trabajo, y también son determinados en jamaica fresca y sin procesar.

De acuerdo a análisis realizado por *Duarte-Valenzuela et al 2016* donde se evaluaron 20 variedades mejoradas de ***Hibiscus Sabdariffa*** cultivadas en México los resultados fueron diversos, ya que el menor reportado fue de $4518 \mu\text{mol eq Trolox/100gr}$ de muestra de muestra etiquetada como Tempranilla Roja del estado de Puebla y el mayor $422,150 \mu\text{mol eq Trolox/100gr}$ de muestra seca etiquetada como UAN 26 proveniente del estado de Colima. El valor de los residuos agroindustriales de cálices de ***Hibiscus Sabdariffa*** es menor que los resultados reportados, estas variaciones pueden ser atribuidas a factores genéticos propios de cada variedad y polifenoles extraíbles (Duarte Valenzuela, Zamora Gasga, Montalvo Gonzalez, & Sáyago Ayerdi, 2016). En el caso de los residuos de cálices de ***Hibiscus Sabdariffa*** puede deberse al proceso que se tuvo previamente para la obtención del licor, así como factores ambientales ya que la muestra estuvo expuesta a la intemperie, además al proceso de extracción, las condiciones de extracción y los solventes usados en la extracción.

Existen datos en el laboratorio en donde se realizó la determinación de capacidad antioxidante a jamaica que se ocupó para realizar el licor de jamaica, el cual mostro una capacidad antioxidante de $18,169.99 \pm 262.47/ 25$ g de materia seca (datos no mostrados) mediante la técnica de FRAP. Por lo tanto, serían 726.79/ g de materia seca para jamaica de proceso y 356.84/ g de materia seca para residuos agroindustriales de cálices de jamaica. Se puede observar que hubo una disminución de aproximadamente 49% de su capacidad antioxidante determinada por el método FRAP.

Para la obtención de los resultados de FRAP se llevó a cabo una curva de calibración usando Trolox como estándar (Gráfico 2), en donde se observa la ecuación de regresión lineal y su $R^2=0.99$.



. Grafico 2 Curva de calibración TROLOX

FRAP evalúa el efecto combinado de las defensas antioxidantes no enzimáticas que se encuentran presentes en los fluidos biológicos, como un índice de la capacidad

de resistir el daño oxidante (Benítez-Estrada, Villanueva-Sánchez, González-Rosendo, Alcántar-Rodríguez, & Quintero-Gutiérrez, 2020).

DPPH

El porcentaje de inhibición de DPPH que se obtuvo para los residuos agroindustriales de cálices de *Hibiscus Sabdariffa* usando una concentración de 100 ppm fue de $70.87\% \pm 4.50$ y para la concentración de 400 ppm fue de $75.07\% \pm 2.71$. Cabe destacar que el control positivo (ácido ascórbico) mostró un porcentaje de inhibición para 100 ppm de $68.9\% \pm 2.59$ y para una concentración de 400 ppm fue de $71.54\% \pm 1.86$. Como se pueden observar en los resultados anteriores no hubo diferencias entre las dos concentraciones de residuos agroindustriales de cálices de *Hibiscus Sabdariffa* respecto al porcentaje de inhibición mediante DPPH, tampoco hubo diferencias entre las muestras de residuos agroindustriales de *Hibiscus Sabdariffa* y el estándar de ácido ascórbico. Por lo tanto, en este trabajo se observó que los residuos agroindustriales de cálices de jamaica tienen una apropiada capacidad antioxidante.

Por otro lado, en la tabla 13 podemos observar que el porcentaje de inhibición de los residuos agroindustriales de cálices de *Hibiscus Sabdariffa* se encuentra por debajo en un 19% en comparación con la muestra proveniente de Guerrero y un 12% arriba de la muestra proveniente de China, y con respecto a la muestra de costa Rica presenta un valor similar. Como se mencionó anteriormente las variaciones entre los resultados se pueden ver afectados por la región, así como el cultivo, cosecha y variedades genéticas de *Hibiscus Sabdariffa*.

Tabla 13 Determinación de porcentaje de inhibición por medio de la técnica DPPH en residuos agroindustriales de cálices de *Hibiscus Sabdariffa* en comparación con otros reportes

Tipo de muestra	Técnica	Porcentaje de inhibición	de Referencia
-----------------	---------	--------------------------	---------------

Residuo Agroindustrial de Hibiscus Sabdariffa (Chiautla de Tapia, Puebla)	DPPH	70.87% ± 4.50 (100 ppm) y 75.07% ± 2.71 (400 ppm). Promedio de ambas muestras 73%.	En este trabajo
Hibiscus Sabdariffa (Guerrero)	DPPH	92%	(Flores, Salinas-Moreno, García, & Sánchez-Feria, 2008)
Hibiscus Sabdariffa (Sudán)	DPPH	78%	(Flores, Salinas-Moreno, García, & Sánchez-Feria, 2008)
Hibiscus Sabdariffa (China)	DPPH	61%	(Flores, Salinas-Moreno, García, & Sánchez-Feria, 2008)
Hibiscus Sabdariffa (Costa Rica)	DPPH	75.4%	(Agüero, Segura, & Parra, 2014)
Hibiscus Sabdariffa	DPPH	71.98 ± 5.77% y 69.88 ± 0.66%	Heba A. Sindi et al 2014

Análisis Microbiológicos

Los resultados microbiológicos de residuos agroindustriales de cálices de **Hibiscus Sabdariffa**, indicaron la ausencia de microorganismos patógenos en la muestra.

De acuerdo a la NOM-092-SSA1-1994 se deben seleccionar placas donde se encuentren entre 25 a 250 UFC (Unidades formadoras de colonias) para disminuir el error en la cuenta y cuando las placas de todas las diluciones no muestran

colonias, reportar la cuenta en placa como menor, una vez que el valor de la dilución más baja sea usado.

De acuerdo a *Zúñiga et al. 2009* en los análisis realizados a extractos provenientes de Tepalcatepec, Michoacán no se encontraron microorganismos, esto puede deber a que la jamaica contiene actividad antimicrobiana naturalmente, pero al realizar análisis en cálices frescos de acuerdo a *Ramos et al. 2020* se encontraron mohos y levaduras; esto podría deberse al tipo de almacenamiento de los cálices de jamaica, ya que la humedad podría propiciar el crecimiento de estos.

Tabla 14 Determinación de Coliformes Totales en placa, Mohos y levaduras en residuos agroindustriales de cálices de *Hibiscus Sabdariffa*

Tipo de muestra	Cuenta de Mohos y Levaduras en Alimentos	Cuenta de microorganismos de coliformes totales en placa
Residuo Agroindustrial de Cálices de <i>Hibiscus Sabdariffa</i> (Chiautla de Tapia, Puebla)	Ausentes	Ausentes
Referencia	NOM-111-SSA1-1994 (Diario Oficial de la Federación , 1995)	NOM-113-SSA1-1994 (Diario Oficial de la Federación, 1995)

Conclusiones

Los residuos agroindustriales de cálices de jamaica mostraron la presencia de ácidos orgánicos, un pH similar al de la jamaica sin procesar y actividad

antioxidante, por lo tanto, se propone su uso en diferentes áreas (salud, alimentos, medio ambiente, etc.).

El contenido de Humedad obtenido del residuo agroindustrial de cálices de ***Hibiscus sabdariffa*** fue de $42.24\% \pm 0.16$, el pH fue de 2.76 ± 0.02 , los ácidos orgánicos encontrados fueron ácido oxálico 0.52% (p/p), cítrico anhidro 0.81% (p/p), ascórbico 1.03% y málico 0.78% (p/p).

Los residuos agroindustriales de ***Hibiscus sabdariffa*** recién salidos del proceso de elaboración de licor de jamaica no presentaron microorganismos no deseables como mohos, levaduras y coliformes totales.

Mediante la técnica de Folín-ciocalteu se determinó una concentración de fenoles totales de 1349 ± 77.8 mgE GAE/25 g de materia seca en los residuos agroindustriales de cálices de ***Hibiscus sabdariffa***. La concentración de fenoles totales obtenida fue similar a los valores altos reportados en la literatura para jamaica sin procesar o jamaica fresca.

La capacidad antioxidante mediante la técnica de FRAP para los residuos agroindustriales de cálices de ***Hibiscus sabdariffa*** fue de 356.84 $\mu\text{mol eq Trolox/g}$ de muestra seca. En la literatura científica se observaron valores por debajo del encontrado en este trabajo y valores muy por encima de lo observado.

El porcentaje de inhibición de DPPH que se obtuvo para los residuos agroindustriales de cálices de ***Hibiscus sabdariffa*** usando concentraciones de 100 ppm y de 400 ppm fue similar, el promedio de % de inhibición de ambas concentraciones fue de 73% en comparación con el ácido ascórbico que para las mismas concentraciones fue de 70.22%. Los resultados obtenidos mostraron que estos residuos aun cuentan con un porcentaje de inhibición del radical libre alto, por lo cual, la capacidad antioxidante se encuentra aún presente en esta muestra.

Recomendaciones para trabajos futuros

Caracterizar fisicoquímicamente y mediante capacidad antioxidante jamaica fresca o comercial.

Elaborar un alimento alternativo para animales de abasto a base de residuos agroindustriales de cálices de jamaica.

Determinar la capacidad antioxidante mediante otras técnicas como ABTS (2,2'-azinobis- (3-etil benzotiazolin-6-sulfonato de amonio), ORAC (Capacidad de absorbancia de radicales de oxígeno).

Realizar cinéticas evaluando la capacidad antioxidante mediante FRAP, DPPH y Folín-Ciocalteu con respecto al tiempo.

Realizar un modelo matemático para correlacionar las técnicas de capacidad antioxidante FRAP, DPPH, Folín Ciocalteu y ABTS.

Por el amor, motivación y enseñanzas que me diste hasta el último momento, desde el primer libro que me regalaste hasta la última historia que contaste. Hoy que este trabajo te lo dedico a ti, gracias por ser ese gran hombre en mi vida, te extraño Abuelo Gume.

Tío David, gracias por tú manera singular de demostrar el amor a la familia y hacerme saber que siempre estarías conmigo.

A mis padres por su apoyo y fe que siempre me tuvieron, por nunca dejarme desistir de mis sueños y siempre orientarme. Gracias por las herramientas que me han dado a lo largo de mi vida y carrera, este logro es por ustedes.

Gracias a mis hermanos Isabel, Dulce y Sebastián por siempre estar presentes en las etapas importantes de mi vida, así como darme las herramientas para el término de este trabajo

A mis amigos Eli, Esteve y Susana, gracias por extender su mano en momentos difíciles y siempre estar conmigo en los pasos importantes que doy, por sus consejos y los momentos dentro de la universidad y fuera de esta que hemos compartido juntos.

Fer y Maggie gracias por su amistad, por siempre estar presentes, por su orientación, por sus palabras y por siempre cuidarme. Muchas gracias por ser esas personas maravillosas en mi vida.

German gracias por siempre confiar en mí, así como alentarme a ser una mejor persona y profesional. Agradezco que tú me confirmaras que septiembre siempre será mi mes preferido.

Así mismo quiero agradecer a Gis por sus consejos y apoyo incondicional tanto profesional como ser humano, gracias por su cariño y comprensión.

Arturo no esperaba que a cierta altura de mi vida llegara alguien tan importante gracias por ofrecerme tu amistad y cariño, por siempre escucharme y apoyarme.

Gracias por hacerme entender que todo tiene solución y que a pesar de las altas y bajas de la vida siempre estará alguien junto a mí; agradezco que estés presente en la culminación de este trabajo.

Quiero agradecer especialmente al Mariana y a Spreen por ayudar a despejarme en mis momentos de estrés.

Gracias a la vida por permitirme terminar este trabajo y a todas las personas que se involucraron en mi formación personal, académica y profesional.

Bibliografía

- Abad, E. d. (2017). Modelo de digestión gastrointestinal In vitro para la obtención de fracciones peptídicas antioxidantes y quelantes de metales a partir de las semillas de *Erythrina edulis*. Lima, Perú.
- Abou-Arab, A. A., Abu-Salem, F. M., & Abou-Arab, E. A. (2011). Physico- chemical properties of natural pigments (anthocyanin) extracted from Roselle calyces (*Hibiscus subdariffa*). *Journal of American Science*, 445-456.
- Agüero, M., Segura, C., & Parra, J. (2014). Análisis comparativo de compuestos fenólicos totales y actividad antioxidante de cuatro marcas de tisanas de *Hibiscus Sabdariffa* (Malvaceae) comercializadas en Costa Rica. *UNICIENCIA*.
- Alam, M. N., Bristi, N. J., & Rafiquzzaman, M. (2013). Review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 21, 143-152.
- Ana María Muñoz Jáuregui, F. R.-E.-O. (2009). Evaluación de Compuestos con Actividad Biológica en Cascara de Camu Camu (), GUINDA. *Rev Soc Quím Perú*.
- Ariza Flores, R., Serrano Altamirano, V., Michel Aceves, A. C., Barrios Ayala, A., Otero Sánchez, M. A., Avendaño Arrazate, C. H., & Noriega Cantú, D. (2017). Características bioquímicas y calidad nutracéutica de cinco variedades de jamaica cultivadas en México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 270.
- Ashaye, O. A. (2013). Studies on moisture sorption isotherm and nutritional properties of dried Roselle calyces. *International Food Research Journal*, 509-513.
- Avello, M., & Suwalsky, M. (2006). Radicales libres, antioxidantes naturales y mecanismos de protección. *Atenea (Concepción)*, 161-172.

- Babalola SO, B. A. (2001). Compositional attributes of the calyces of roselle (*Hibiscus Sabdariffa* L.). *J Food Tech Afric*, 133-134.
- Bálgoma, S. L. (2015). Estrategia de integración vertical del ácido tartárico en la industria del vino como ventaja competitiva sostenible en el tiempo. Obtenido de <https://repositorio.comillas.edu/xmlui/bitstream/handle/11531/3552/TFG001072.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Barhé, T. A., & Tchouya, G. R. (2016). Comparative Study of the Anti-Oxidant Activity of the Total Polyphenols extracted from *Hibiscus Sabdariffa* L., *Glycine max* L. Merr., Yellow Tea and Red Wine through reaction with DPPH Free Radicals. *Arabian Journal of Chemistry*. doi:10.1016 / j.arabjc.2014.11.048
- Barquera, D. R., & Cuenca, C. E. (2016). Determinación de vitamina C, compuestos fenólicos totales y actividad antioxidante de frutas de guayaba (*Psidium guajava* L.) cultivadas en Colombia. *Ciencia e Investigación*, 35-42.
- Batalla-Mayoral, J., Vega-Hernández, M., & Silveti-Loeza, A. (2019). Análisis de la actividad antioxidante en la flor de jamaica (*Hibiscus Sabdariffa* L.) mediante las técnicas de FRAP y DPPH. *RD-ICUAP*.
- Benitez Estrada , A., Villanueva Sanchez, J., Gonzalez Rosendo , G., Alcántar Rodríguez , V. E., Puga Díaz, R., & Quintero Gutiérrez, A. G. (2020). Determinación de la capacidad antioxidante total de alimentos y plasma humano por fotoquimioluminiscencia: Correlación con ensayos fluorométricos (ORAC) y espectrofotométricos (FRAP). *TIP Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*, 23, 1-9.
- Benítez-Estrada, A., Villanueva-Sánchez, J., González-Rosendo, G., Alcántar-Rodríguez, V. E., & Quintero-Gutiérrez, R. P.-D. (2020). Determinación de la capacidad antioxidante total de alimentos y plasma humano por

fotoquimioluminiscencia: Correlación con ensayos fluorométricos (ORAC) y espectrofotométricos (FRAP). *Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*, 1-9.

Botero, M. V., Jesús, E. R., & Méndez, C. N. (2020). Caracterización e identificación de compuestos bioactivos con actividad antioxidante de la cáscara, pulpa y semilla del fruto de tejocote (*Crataegus mexicana*). *Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*, 1-10.

Botero, M. V., Jesús, E. R., Reyes, C. N., & Méndez, M. A. (2020). Caracterización e identificación de compuestos bioactivos con actividad antioxidante de la cáscara, pulpa y semilla del fruto de tejocote (*Crataegus mexicana*). *Revista especializada en ciencias químico-biológicas*.

Carolina Valenzuela V, P. P. (2016). Natural antioxidants obtained from fruits and vegetables and their effect over the shelf life of meat and meat products: an update. *Chil Nut*.

Carvajal, O., Waliszewski, S., & Infazón, R. M. (2006). Los usos y Maravillas de la Jamaica. *Revista Ciencia y el Hombre*.

Casañas Rivero, R., Rodríguez Rodríguez, E., González, M., Marrero Domínguez, A., & Romero, D. (2003). Contenido de ácidos orgánicos en cinco variedades de patatas cultivadas en Tenerife (España). *Ciencia y Tecnología Alimentaria*, 16-21.

Casabon-Garcín, P., Lamshing-Salinas, P., Isoard-Acosta, F., Lemen-Meyer, S. C., Delgado-Franco, D., & Pérez-Lizaur, A. B. (2018). pH de los alimentos: ¿una herramienta para el manejo de los pacientes con refl ujo gastroesofágico? *Revista Mexicana de Pediatría*, 89-94.

- Celia Castaño Amores, P. J. (2018). Antioxidant actives in the formulation of anti-aging cosmetic products. *Ars Pharm*, 77-84. Obtenido de <https://scielo.isciii.es/pdf/ars/v59n2/2340-9894-ars-59-2-77.pdf>
- Corredor, Y. A., & Pérez, L. I. (2018). Aprovechamiento de residuos agroindustriales en el mejoramiento de la calidad del ambiente. *Facultad de Ciencias Básicas* .
- Cruz, D. N. (2020). Manual de prácticas de Bromatología Funcional. Veracruz .
- Cruz, G. R. (2015). Estudio de mercado para la producción y comercialización de infusiones de té extraídas de la flor de jamaica. Obtenido de <http://repositorio.ucsg.edu.ec/bitstream/3317/3281/1/T-UCSG-PRE-ESP-CFI-148.pdf>
- Da-Costa-Rocha, I., Bonnlaender, B., Sievers, H., Pischel, I., & Heinrich, M. (2014). Hibiscus *Sabdariffa* L. – A phytochemical and pharmacological review . *Food Chemistry*, 424- 443.
- Dentz, K. E., Silva, B. S., Queiroz, E. A., Bomfim, G. F., Nascimento, A. F., Sugizaki, M. M., & Luvizotto, R. A. (2020). Hibiscus *Sabdariffa* ethanolic extract modulates adipokine levels, decreases visceral fat and improves glycemic profile in high-fat/sugar diet-induced obese rats. *Nutrition & Food Science*.
- Diario Oficial de la Federación . (1994). NORMA Oficial Mexicana NOM-116-SSA1-1994, Bienes y servicios. Determinación de humedad en alimentos por tratamiento térmico. Método por arena o gasa. Obtenido de <http://www.ordenjuridico.gob.mx/Documentos/Federal/wo69540.pdf>
- Diario Oficial de la Federación . (1995). *NORMA Oficial Mexicana NOM-111-SSA1-1994, Bienes y servicios. Método para la cuenta de mohos y levaduras en alimentos.* Obtenido de http://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=4881226&fecha=13/09/1995

Diario Oficial de la Federación. (1995). *NORMA Oficial Mexicana NOM-113-SSA1-1994, Bienes y servicios. Método para la cuenta de microorganismos coliformes totales en placa*. Obtenido de http://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=4880115&fecha=25/08/1995

Djaeni, M., Kumoro, A. C., Sasongko, S. B., & Utari, F. D. (2018). Drying Rate and Product Quality Evaluation of Roselle (*Hibiscus Sabdariffa* L.) Calyces Extract Dried with Foaming Agent under Different Temperatures. *International Journal of Food Science*. Obtenido de <https://www.hindawi.com/journals/ijfs/2018/9243549/>

Domínguez, L. A. (2010). *Manipulador de alimentos: La importancia de la higiene en la elaboración y servicio de comidas*. Ideaspropias Editorial SL.

Dominguez, X. A. (1973). *Métodos de investigación fitoquímica*. Mexico: Limusa.

Duarte Valenzuela, Z. N., Zamora Gasga, V. M., Montalvo Gonzalez, E., & Sáyago Ayerdi, S. G. (2016). Caracterización nutricional de 20 variedades mejoradas de jamaica (*hibiscus Sabdariffa* l.) Cultivadas en México. *Fitotec. Mex.*, 199-206.

Emilio Cerdá, A. K. (2016). Economía Circular. *Economía Industrial* , 11-20.

Feria, C. S., Moreno, Y. S., Moncada, M. d., Hernández, V. A., & MachucaSánchez, M. L. (2021). Effect of the dehydration method of *Hibiscus Sabdariffa* L. Effect of the dehydration method of *Hibiscus Sabdariffa* L. . *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 159-170.

Flores, L. A., Salinas-Moreno, Y., García, B. M., & Sánchez-Feria, C. (2008). Caracterización fisicoquímica y actividad antioxidante de extractos de jamaica (*hibiscus Sabdariffa* l.) Nacional e importada. *Revista chapingo serie horticultura*, 121-129.

- García, D. J. (19 de Noviembre de 2019). Composición química y actividad antioxidante de los aceites esenciales de *Mentha longifolia* y *Mentha x piperita*. Valencia .
- Gonzales, N. C., & Cruz, S. A. (2017). *Antioxidantes en los alimentos*. Lima, Perú: UNAB.
- González, B. F. (Febrero de 2020). Métodos analíticos para el diagnóstico de los antioxidantes del vino. Universidad Complutense .
- González-Palomares, S., & Val-Díaz, R. D. (2017). La Jamaica de México: un producto versátil para emprendedores altamente competitivos. *mipatente*.
- Guil, J., Torija, M., Giménez, J., & Rodríguez-García. (1996). Oxalic acid and calcium determination in wild edible plants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1821-1823.
- Gulcin, İ. (2020). Antioxidants and antioxidant methods: an updated overview. *Archives of Toxicology*, 651-715.
- Huang, D., Ou, B., & Prior, R. L. (2005). The Chemistry behind Antioxidant Capacity Assays. *Agricultural and food Chemistry*, 1841-1856.
- Jabeur, I., Pereira, E., Barros, L., Calhelha, R. C., Soković, M., Oliveira, M. B., & Ferreira, I. C. (2017). Hibiscus *Sabdariffa* L. as a source of nutrients, bioactive compounds and colouring agents. *Food Research International*, 717-723. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2017.07.073>
- Johnson, P. D., & G.Besselsen, D. (2002). Practical Aspects of Experimental Design in Animal Research. *ILAR Journal*, 202-206.
- Kalla Mouto, M. L., Kayem Guiffo, J., Nso Jong, E., Sreekumar, M., & P.Nisha. (2015). Effect of re-extraction parameters and drying temperature on the antioxidant properties and dietary fiber of Red sorrel (*Hibiscus Sabdariffa* L.)

calyces residues. *Industrial Crops and Products*, 680-688.
doi:<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.05.028>

Laskar, Y. B., & Mazumder, P. B. (2020). Insight into the molecular evidence supporting the remarkable chemotherapeutic potential of *Hibiscus Sabdariffa* L. *Biomedicine & Pharmacotherapy*.

Lim, T. (2014). *Hibiscus Sabdariffa*. En T. Lim, *Edible Medicinal and Non Medicinal Plants* (págs. 324-370). Australia: Springer Dordrecht.

Lopa, J., Valderrama, M., León, N., Lazo, L., Llerena, J. P., Ballón, C., & Poma, E. G. (2021). Evaluación de la capacidad antioxidante y compuestos bioactivos de tumbo (*Passiflora mollissima*) y cerezo (*Prunus serotina*). *Horizonte Médico*.

López, A., Fernando, C., Lazarova, Z., Bañuelos, R., & Sánchez, S. H. (2013). Antioxidantes, un paradigma en el tratamiento de enfermedades. *ANACEM*, 48-53.

Martín Lajara, J. (2019). Uso potencial de extractos de la paja de arroz como material antioxidante para el desarrollo de envases activos. Obtenido de <http://hdl.handle.net/10251/124824>

Martínez, E. G., Segovia, I. F., & Ana, A. F. (2015). Determinación de polifenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu. Obtenido de <https://riunet.upv.es/handle/10251/52056>

Maya, Y. L., Molina, D. A., & Vargas, J. H. (2013). Oxidación lipídica y antioxidantes naturales en derivados cárnicos. *Journal of Engineering and technology*, 50-66.

Méndez, M. Á., Martínez, E. S., Fernández, J. Y., & Cerón, E. N. (2020). Nano encapsulación de los compuestos bioactivos con actividad antioxidante de

Justicia spicigera (Muicle) y Theobroma cacao L (Cacao). *Avances de investigación en Nanociencias, Micro y Nanotecnologías*, 29-46.

Mercado, G. M., Laura de la Rosa Carrillo, A. W., & Álvarez-Parrilla, J. A. (2013). Compuestos polifenólicos y capacidad antioxidante de especias típicas consumidas en México. *Nutrición Hospitalaria*, 36-46. Obtenido de <https://dx.doi.org/10.3305/nh.2013.28.1.6298>

Mezni, A., Mhadhbi, L., Khazri, A., Sellami, B., Dellali, M., Mahmoudi, E., & Beyrem, H. (2020). The Protective Effect of Hibiscus *Sabdariffa* Calyxes Extract Against Cypermethrin Induced Oxidative Stress in Mice. *Pestic Biochem Physiol.*

Mishra, K., Ojha, H., & Chaudhury, N. K. (2012). Estimation of antiradical properties of antioxidants using DPPH assay: A critical review and results. *Food Chemistry*, 130, 1036-1043.

Mohammed, B., Hassan, A. A., Shekoufeh, N., Mohsen, A., & Mohammad, A. (2020). The antidiabetic and antilipidemic effects of Hibiscus *Sabdariffa*: A systematic review and meta-analysis of randomized clinical trials. *Food Research International*. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.108980>

Moreno, Y. S., Hernández, A. R., Torre, L. B., Altamirano, V. S., & Fera, C. S. (2012). COLOR EN CÁLICES DE JAMAICA (Hibiscus *Sabdariffa* L.) Y SU RELACIÓN CON CARACTERÍSTICAS FÍSICOQUÍMICAS DE SUS EXTRACTOS ACUOSOS. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 395-407.

Morton, J. F. (1987). Roselle, Hibiscus *Sabdariffa* L. *Fruits of warm climates*, 281-286.

Muñoz Jáuregui, A. M.-O. (2007). Evaluación de la actividad antioxidante y contenido de compuestos fenólicos en vinos producidos en Perú. *Revista de la sociedad química del Perú*,, 30-40.

- Muñoz-Bernal, Ó., Torres Aguirre, G. A., Núñez Gastélum, J., de la Rosa, L., Rodrigo-García, J., Ayala Zavala, J., & Álvarez Parrilla, E. (2017). Nuevo acercamiento a la interacción del reactivo de folin-ciocalteu con azúcares durante la cuantificación de polifenoles totales. *Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*, 23-28.
- Olivares, L. D., Cabrera, G. B., & Martínez, M. T. (2010). Importancia de los antioxidantes dietarios en la disminución del estrés oxidativo. *Investigación y Ciencia*, 10-15.
- Ortega, S. C., Martínez, C. T., Martínez, A. D., Moctezuma, J. S., Ramos, M. A., & García, I. S. (2005). Desarrollo de nuevos productos a partir de jamaica para la empresa integradora agroindustrial de Chiautla de Tapia, S. A. de C.V. *Memorias del 3er encuentro de investigación y transferencia de tecnología gropecuaria y agroindustrial en el estado de puebla*.
- Ovando-Cruz, M., Salinas-Moreno, Y., Gálvez-Marroquín, L., Ortiz-Curiel, S., & Martínez-Bolaños, M. (2018). Evaluación y selección de genotipos de jamaica (hibiscus *Sabdariffa* L.) bajo condiciones de temporal en Tututepec, Oaxaca, México. *Agro productividad*, 79-84.
- Pacheco Coello, F., Catari, I. P., Marrero, M. P., Vargas, C. O., & Ramírez-Azuaje, D. (2019). Comparación de compuestos fenólicos totales en Hibiscus *sabdariffa* L. Venezuela. *Rev. Colomb. Cienc. Quím. Farm*, 521-527.
- Pacheco, F. (2019). Polifenoles y actividad antioxidante de extractos acuosos de cálices de Hibiscus *sabdariffa* L. *Revista Científica FAV-UNRC*, 14-20.
- Quiroz Reyes, C. (2016). Extracción asistida por ultrasonido de compuestos bioactivos con actividad antioxidante de grano de cacao (*Theobroma cacao* L.). *IPN*.

Quiroz, R. E. (2021). Producción, composición y usos de la jamaica. *Universitarios Potosinos* , 20-25.

Ramirez Garcia , J. A., & Nicholls Posada, J. E. (2014). Usos y aplicaciones medicinales e industriales de la flor de jamaica. Medellin, Antioquia, Colombia. Obtenido de <https://repository.unad.edu.co/bitstream/handle/10596/2727/70552552.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Ramírez Hernández, J. H., Flores Garcia, C. F., Vizcaíno Reséndiz, J. A., Mariel Cárdenas, J., Gutiérrez Cantú, F. J., Mariel Murga, H., & Villagrán Rueda, S. (2012). ¿Qué son y para qué sirven los antioxidantes? *Revista de divulgación científica y tecnológica de la universidad veracruzana*. Obtenido de La ciencia y el Hombre : <https://www.uv.mx/cienciahombre/revistae/vol25num2/articulos/antioxidantes/>

Ramos-Gutiérrez, F. A., Ramírez-Cortés, B., SánchezMachuca, M. L., Caravelarde, F. J., & Paredes, J. D. (2020). Rendimiento y calidad de tres variedades de jamaica (*Hibiscus Sabdariffa* L.) obtenidos en cosecha continua y cosecha única. *Revista Bio Ciencias*.

Rodríguez, E. C., Fernández, V. L., & Ramírez, A. d. (2016). Caracterización de residuos agroindustriales con vistas a su aprovechamiento. *Centro azucar*, 27-35.

SAGARPA. (2007). *Investigación y Transferencia de Tecnología 2006*. México .

Sanchez, M. E. (2013). Antioxidantes Consumo de Antioxidates Naturales en adultos mayores de entre 65 y75 años con dislipidemia. Argentina. Obtenido de <http://imgbiblio.vaneduc.edu.ar/fulltext/files/TC112550.pdf>

- Sánchez-Feria, C., Salinas-Moreno, Y., González-Hernández, V. A., Ybarra-Moncada, M. d., Cruz-Huerta, N., & Soto-Hernández, R. M. (2018). Genotipo y ambiente de producción afectan la composición fenólica, ácidos carboxílicos y acidez titulable de cálices de Hibiscus *Sabdariffa* L. *Rev. Fitotec. Mex*, 373-383.
- Saval, S. (2012). Aprovechamiento de Residuos Agroindustriales: Pasado, Presente y Futuro. *BioTecnología*, 14-46.
- Sáyago-Ayerdi SG, A. S. (2007). Dietary Fiber Content and Associated Antioxidant Compounds in Roselle Flower (Hibiscus *Sabdariffa* L) Beverage. *Agric Food Chem*, 7886-7890.
- Sáyago-Ayerdi, S., & Goñi, I. (2010). Hibiscus *Sabdariffa* L: Fuente de fibra antioxidante. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 60. Obtenido de <https://www.alanrevista.org/ediciones/2010/1/art-12/>
- Sáyago-Ayerdi, S., Arranz, S., Serrano, J., & Goñi, I. (2017). Dietary Fiber Content and Associated Antioxidant Compounds in Roselle Flower (Hibiscus *Sabdariffa* L.) Beverage. *Agricultural and Food Chemistry*, 7886-7890.
- Segovia, A. F. (2019). Determinación de polifenoles totales y actividad antioxidante en orujo de vid de las variedades malbec y torrontés riojano. *Revista del CIZAS*, 7-17.
- Serra, H. M., & Cafaro, T. A. (2007). Ácido ascórbico: desde la química hasta su crucial función protectora en ojo. *Acta bioquímica clínica latinoamericana*, 525-532.
- SIAP. (2019). *Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera*. Obtenido de <http://nube.siap.gob.mx/cierreagricola/>
- Soto-Robles, C., Luquea, P., Gómez-Gutiérrez, C., Nava, O., Vilchis-Nestor, A., Lugo-Medina, E., . . . Castro-Beltrán, A. (2019). Study on the effect of the

concentration of Hibiscus *Sabdariffa* extract on the green synthesis of ZnO nanoparticles. *Phycsis*. doi:<https://doi.org/10.1016/j.rinp.2019.102807>

Starke-Reed, P. (2003). *Antioxidantes. nutrición del instituto nacional de*. Maryland, Estados Unidos.

Suwalsky, M. A. (2006). Radicales libres, antioxidantes naturales y mecanismos de protección. *ATENEA*, 161-172.

Torrecilla, J., T. Roncal, U. C., J. García Jaca, I. G., Azpeitia, M., & Ochoa-Gómez, J. (2010). *La biotecnología en el sector químico*.

Tovar del Rio, J. (2013). *Determinación de la actividad antioxidante por dpph y abts de 30 plantas recolectadas en la ecoregion cafetera*. Pereira.

Tyl, C., & Sadler, G. D. (2017). pH and Titratable Acidity. En C. Tyl, & G. D. Sadler, *Análisis de alimentos* (págs. 289-406). Springer, Cham.

Vargas Sánchez, R. D., Torrescano Urrutia, G. R., & Sánchez Escalante, A. (2013). El propóleos: conservador potencial para la industria alimentaria. *Interciencia*, 705-711. Obtenido de <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=33929482003>

Victoria, Z. C., M. G., Gallardo, C. E., Belén, J., & Elena., B.-S. (2018). Estudio de la capacidad antioxidante y contenido de polifenoles en el proceso de clarificación del vino de flor de Jamaica (*Hibiscus Sabdariffa* L.) utilizando cálices frescos. *E.R.B.*

Wu, H.-Y., Yang, K.-M., & Chiang, P.-Y. (2018). Roselle Anthocyanins: Antioxidant Properties and Stability to Heat and pH. *Molecules*.

Zapata, K., Cortes, F. B., & Rojano, B. A. (2013). Polifenoles y Actividad Antioxidante del Fruto de Guayaba Agria (*Psidium araca*). *Información tecnológica*, 103-112.

Zúñiga, J. A., Palomares, S. G., Sanchez, H. M., Reyes, T. R., & Díaz, R. D. (2009).
Concentrado de Jamaica (*Hibiscus Sabdariffa* L.) Análisis Físicoquímico y
Microbiológico. *UNACAR tecnociencia*, 40-50.