



Yield and quality of three varieties of jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) with continuous harvest and unique harvest

Rendimiento y calidad de tres variedades de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) obtenidos en cosecha continua y cosecha única

Ramos-Gutiérrez, F. A.¹, Ramírez-Cortés, B.², Sánchez-Machuca, M. L.²,
Caro-Velarde, F. J.², García Paredes, J. D.^{2*}

Universidad Autónoma de Nayarit, ¹Maestría en Ciencias Biológico Agropecuarias
en el Área de Ciencias Agrícolas; ²Unidad Académica de Agricultura. México.

Cite this paper/Como citar este artículo: Ramos-Gutiérrez, F. A., Ramírez-Cortés, B., Sánchez-Machuca, M. L., Caro-Velarde, F. J., García Paredes, J. D. (2020). Yield and quality of three varieties of jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) with continuous harvest and unique harvest. *Revista Bio Ciencias* 7, e707. doi: <https://doi.org/10.15741/revbio.07.e707>



ABSTRACT

There is scarce study on factors affecting the quality of roselle calyces (*Hibiscus sabdariffa* L.) during harvest and post-harvest management. In addition, the transition from flowering to fructification is gradual in this crop, causing calyces of the first flowerings to be exposed to damages by biotic and abiotic factors. The objective of this work was to evaluate yield and quality of the calyces of three varieties of roselle (UAN8, UAN6 and China) depending on unique harvest and continuous harvest. The following variables were evaluated: number of calyces; calyx length; calyx fresh weight; calyx dry weight; pH; titratable acidity; total soluble solids; total coliforms; aerobic mesophilic bacteria; molds and yeasts. The analyzed harvest methods did not generate significant differences in yield variables. Of the three evaluated varieties, UAN8 showed the best calyces yield. In continuous harvest, the calyces had more acidic

Article Info/Información del artículo

Received/Recibido: March 15th 2019.

Accepted/Aceptado: September 27th 2019.

Available on line/Publicado: October 11st 2019.

RESUMEN

Son escasos los estudios que abordan los factores que inciden en la calidad de los cálices de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) durante la cosecha y el manejo poscosecha. Además, en este cultivo la transición de la floración a la fructificación es gradual, lo que origina que los cálices de las primeras floraciones queden expuestos a daños por factores bióticos y abióticos. El objetivo de este trabajo fue evaluar el rendimiento y la calidad de los cálices de tres variedades de jamaica (UAN8, UAN6 y China) en función de la cosecha única y la cosecha en cortes continuos. Las variables evaluadas fueron: número de cálices, longitud de cálices, peso fresco de cálices, peso seco de cálices, pH, acidez titulable, sólidos solubles totales, coliformes totales, mesófilos aerobios, mohos y levaduras. Los métodos de cosecha analizados no generaron diferencias significativas en las variables de rendimiento. De las tres variedades evaluadas, la UAN8 obtuvo el mejor rendimiento de cálices. En la cosecha continua, los cálices tuvieron valores de pH más ácidos, pero contenidos mayores de sólidos solubles totales. Hubo mayor contaminación de coliformes totales y mohos en la cosecha única, al final del ciclo.

*Corresponding Author:

García Paredes, J. D. PhD, Universidad Autónoma de Nayarit, Ciudad de la Cultura S/N, CP 63000, Tepic, Nayarit; México. E-mail.: digapar@gmail.com

pH values, but a greater total soluble solids content. There was higher contamination of total coliforms and molds in the unique harvest, at the end of the cycle.

KEY WORDS

Type of harvest, calyx contamination, post-harvest management.

Introduction

In Mexico, cultivation of roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) is realized traditionally and under seasonal conditions, with a minimum use of technology, occasioning low yields ranging between 150 and 500 kg ha⁻¹ of dry calyxes (Caro-Velarde *et al.*, 2012).

The main product of this cultivation are fresh calyxes, which are dehydrated to prepare fresh drinks and some other products with potential to be processed and to obtain higher added value, such as candy, jams or as a natural flavoring (Galicia-Flores, 2008). In addition, various research studies have demonstrated its potential for the pharmaceutical industry due to its antioxidant, antibacterial and antidiabetic properties, among others (Da-Costa-Rocha *et al.*, 2014).

Calyxes are harvested until the end of the vegetative cycle of the plant, generally manual and consists in cutting the plant at 20 cm from the ground surface, fruits are harvested and the separation of the capsule and the calyx is realized with rustic tools. Calyxes are sun dried, spread out on the ground or on the roof of houses, constituting the commercial product obtained from this plant (Hidalgo-Villatoro *et al.*, 2009). This management of calyxes during harvest and post-harvest originates a contaminated product from a microbiological point of view and of low quality for the market (Sánchez *et al.*, 2006; Adebayo-Tayo & Samuel, 2009; Ruíz-Ramírez *et al.*, 2015).

There is scarce study on factors affecting calyx quality during harvest and post-harvest management. In addition, the gradual transition from flowering to fructifications in roselle causes calyxes of the first flowerings to be exposed to damages by biotic and abiotic factors and mature calyxes are obtained as immature during the harvest, until the end of the cycle (Christian & Jackson, 2010). Regarding

PALABRAS CLAVE

Tipos de cosecha, contaminación de cálices, manejo postcosecha.

Introducción

En México, el cultivo de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) se hace en forma tradicional y bajo condiciones de temporal, con mínimo uso de tecnologías, lo que ocasiona rendimientos bajos que oscilan entre 150 y 500 kg ha⁻¹ de cálices secos (Caro-Velarde *et al.*, 2012).

El principal producto de este cultivo son los cálices frescos, los cuales son deshidratados para preparar bebidas frescas y algunos otros productos con potencial para ser procesados y obtener mayor valor agregado como: dulces, mermeladas o como saborizante natural (Galicia-Flores, 2008). Además, múltiples investigaciones han demostrado su potencial para la industria farmacéutica debido a sus propiedades antioxidantes, antibacteriales y antidiabéticas, entre otras (Da-Costa-Rocha *et al.*, 2014).

La cosecha de los cálices se realiza hasta el final del ciclo vegetativo de la planta, por lo general es manual y consiste en cortar la planta a 20 cm de la superficie del suelo, se cosechan los frutos y se realiza la separación de la cápsula y del cáliz con instrumentos rústicos. Los cálices son secados al sol, extendidos en el suelo o en los techos de las casas, lo que constituye el producto comercial que se obtiene de esta planta (Hidalgo-Villatoro *et al.*, 2009). Este manejo de los cálices durante la cosecha y poscosecha origina un producto contaminado desde el punto de vista microbiológico y de baja calidad para el mercado (Sánchez *et al.*, 2006; Adebayo-Tayo & Samuel, 2009; Ruíz-Ramírez *et al.*, 2015).

Son escasos los estudios que abordan los factores que inciden en la calidad de los cálices durante la cosecha y el manejo poscosecha. Además, debido a que en la jamaica, la transición de la floración a la fructificación es gradual, origina que los cálices de las primeras floraciones queden expuestos a daños por factores bióticos y abióticos y que durante la cosecha, hasta el final del ciclo, se obtengan cálices maduros como inmaduros (Christian & Jackson, 2010). Al respecto, Castro *et al.* (2004) señalan que muchos de los cálices se pasan del punto de cosecha y se tornan

the previously mentioned, Castro *et al.* (2004) pointed out that many of the calyxes passed the point of harvest and became senescent, favoring fungi growth, with losses in calyxes quality from 20 to 40 %, therefore harvest is recommended to be realized when calyxes mature. For this, knowing when calyxes reach their maturity is required to be harvested. Christian & Jackson, (2010) reported that the adequate time for cutting calyxes to avoid the loss of phenolic acids and their antioxidant activity is at 35 days after flowering, while a study realized in Nayarit found that the adequate time for harvesting calyxes was from 20 to 24 days after flowering (Ramírez-Cortés *et al.*, 2011). In addition to the negative impact that the harvest can have until the final cultivation cycle, it has been found that the timely harvest of the calyx and capsule is important in the yield of calyxes and seeds (Fakir *et al.*, 2012). The objective of this work was to evaluate calyxes yield and quality of three varieties of roselle, depending on unique harvest or harvest in continuous cuts.

Material and Methods

The experiment was performed in the facilities of the Academic Unit of Agriculture of the Autonomous University of Nayarit, located in the municipality of Xalisco, Nayarit; at the coordinates 21° 26' NL and 104° 53' 30' WL, with an elevation of 920 m.

Treatments and experimental design.

Six treatments were evaluated: two types of harvest and three varieties of roselle (factorial 2 x 3). The types of harvest were continuous harvest with 6 cuts, with intervals of seven days, with the first at 25 days of the beginning of flowering and a unique harvest at the end of the cycle. Used varieties of roselle were: China; UAN6 and UAN8. A randomized complete block experimental design was used with five repetitions.

The experiment was realized under seasonal conditions, the sowing of seeds was performed to steady flow and later thinning was realized at a distance of 1 meter between each plant. Separation between furrows was 1 meter, for an approximated density of 10 thousand plants per hectare. The experimental unit was of three furrows of 5 meters each and the central furrow was taken as useful plot.

Flowers labelling.

Once flowering started, a label was placed for

senescentes, lo que favorece el crecimiento de hongos, con pérdidas en la calidad de los cálices, desde 20 hasta 40 %, por lo que recomienda que la cosecha se realice conforme los cálices maduren. Para esto, se requiere conocer en qué tiempo los cálices han alcanzado su madurez para ser cosechados. Christian & Jackson, (2010) reportan que a 35 días después de la floración es el tiempo adecuado para el corte de los cálices para evitar pérdida de compuestos fenólicos y su actividad antioxidante, en tanto que en un estudio realizado en Nayarit se encontró adecuado un tiempo de cosecha para los cálices, de 20 a 24 días después de la floración (Ramírez-Cortés *et al.*, 2011). Además del impacto negativo que puede tener la cosecha hasta el final del ciclo del cultivo, se ha encontrado que la cosecha oportuna del calix y la cápsula es importante en el rendimiento de cálices y semillas (Fakir *et al.*, 2012). El objetivo de este trabajo fue evaluar el rendimiento y la calidad de los cálices de tres variedades de jamaica en función de la cosecha única y la cosecha en cortes continuos.

Material y Métodos

El experimento se estableció en terrenos de la Unidad Académica de Agricultura, de la Universidad Autónoma de Nayarit, ubicada en el municipio de Xalisco, Nayarit; en las coordenadas de 21° 26' NL y 104° 53' 30' WL, con una altitud de 920 m.

Tratamientos y diseño experimental.

Se evaluaron seis tratamientos: dos tipos de cosecha y tres variedades de Jamaica (factorial 2 x 3). Los tipos de cosecha fueron la cosecha continua con seis cortes, con intervalos de siete días, con el primero a los 25 días del inicio de floración y la cosecha única al final del ciclo. Las variedades de Jamaica utilizadas fueron: China; UAN6, y UAN8. Se utilizó un diseño experimental de bloques completos al azar con cinco repeticiones.

El experimento se estableció bajo condiciones de temporal, la siembra de la semilla se hizo a chorrillo y posteriormente se realizó el raleo a una distancia de 1 metro entre planta y planta. La separación entre surcos fue de 1 metro, para una densidad aproximada de 10 mil plantas por hectárea. La unidad experimental fue de tres surcos de 5 metros cada uno y el surco central se tomó como parcela útil.

Etiquetado de Flor.

Una vez que inició la floración se colocó una

each flower appearing to establish the date of cutting for the continuous harvest (CH) as well as for the unique harvest (UH).

Yield variables.

Number of calyxes and calyx length. Harvested calyxes were counted in each treatment, per plant and per cut as a control; later capsule or ovary was removed from the calyxes to measure their lengths with a digital Vernier brand Mitutoyo with a 130 mm scale and sensibility of 0.01 mm.

Calyx fresh and dry weights. Capsule was removed from the recently harvested calyxes from each treatment and were weighted in a digital weighting scale brand SCIENTECH model ZSA210, later they were stored in paper bags to be dehydrated in a drying oven brand Lumistel, model HTP-42; at 60 °C for 24 horas.

Chemical analysis.

Titrateable acidity. Three grams of fresh calyxes were used, placed in 50 mL of distilled water put at boiling point for 3 minutes; acidity with con NaOH at 0.08 N Valued was measured for the obtained extraction. Three drops of phenolphthalein were added in each sample as an indicator and results were reported in meq/100 g of fresh simple, with a specific pH read of 8.3; Titrateable acidity was estimated with base in the equation:

$$TA = \frac{(V_{NaOH}) (N_{NaOH}) \times 100}{W}$$

Where: TA = Titrateable Acidity (meq/100 g fresh sample). V_{NaOH} = Normality of NaOH (0.08 meq/mL). W = Weight of the sample (g).

pH. pH of the roselle extracts, obtained for each sample was measured with a potentiometer brand Corning model 350, which was calibrated with buffer solutions of pH 7 and 4.

Total Soluble Solids (TSS). A digital refractometre Brand Abbe monocular TPM-2WAJ was used. Six calyxes per treatment were chosen for the extraction, were halved and ground to extract the sample from which the percentage of soluble solids was determined.

Microbiological analysis.

Used microbiological indicators were total

etiqueta por cada flor que fue apareciendo para establecer la fecha de corte tanto para cosecha continua (CH) como para cosecha única (UH).

Variables de rendimiento.

Numero de cáliz y longitud de cáliz. En cada tratamiento se contaron los cálices cosechados, por planta y por corte para llevar un control; posteriormente se les retiró la cápsula u ovario a los cálices para medir su longitud con un vernier digital marca Mitutoyo con escala de 130 mm y sensibilidad de 0.01 mm.

Peso fresco de cáliz y Peso seco de cáliz. A los cálices recién cosechados, de cada tratamiento, se les retiro la capsula y fueron pesados en una balanza digital de la marca: SCIENTECH modelo: ZSA210, posteriormente se almacenaron en bolsas de papel, para ser deshidratados en un horno de secado marca: Lumistel, modelo HTP-42; a 60 °C durante 24 horas.

Análisis químicos.

Acidez titulable. Se utilizaron 3 gramos de cálices frescos, depositados en 50 mL de agua destilada puesta a ebullición por tres minutos; a la extracción obtenida se le midió la acidez con NaOH al 0.08 N Valorado. En cada muestra se agregaron tres gotas de fenolftaleína como indicador y los resultados se reportaron en meq/100 g de muestra fresca, con una lectura de pH específica de 8.3; la acidez titulable se estimó con base en la ecuación:

$$TA = \frac{(V_{NaOH}) (N_{NaOH}) \times 100}{W}$$

Donde: TA = Acidez Titulable (meq/100 g muestra fresca). V_{NaOH} = Normalidad del $NaOH$ (0.08 meq/mL). W= Peso de la muestra (g).

pH. Al extracto de jamaica, obtenido por cada muestra, se le midió el pH con un potenciómetro marca Corning modelo 350, el cual se calibró con soluciones buffers de pH 7 y 4.

Solidos Solubles Totales (TSS). Se utilizó un refractómetro digital marca Abbe monocular TPM-2WAJ. Para la extracción se seleccionaron seis cálices por tratamiento, se partieron por mitad los cálices y molieron para sacar la muestra a la que se le determinó el porciento de solidos solubles.

coliforms, aerobic mesophilic bacteria, fungi and yeasts, which were reported as CFU/g of dehydrated calyx. Before realizing analysis, calyxes were stored in cellophane bags during 4 months, with the purpose of determining microbiological conditions after this time. These analysis were performed, based on official standards: NOM-SSA1-1994, goods and services. Preparation and dilution of food samples for microbiological analysis; and Mexican standard: NMX-FF-115-SCFI-2010, agricultural products for human consumption – roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) flower (calyx)–Specifications and test methods.

Total coliforms. The method of the most probable number was used, based on standards: NOM-109-SSA1-1994; NOM-110-SSA1-1994; NOM-113-SSA1-1994. These official standards establish procedures for sampling, handling and transport of samples, preparation and dilution of samples, as well as the method for plate count of total coliforms.

Aerobic mesophilic bacteria. They were identified according to the official Mexican standard NOM-092-SSA1-1994, goods and services. Method for plate count of aerobic bacteria.

Fungi and yeasts. Fungi and yeasts determination were realized by means of reads at 3, 4 and 5 days, as specified by the official Mexican standard NOM-111-SSA1-1994.

Statistical analysis

Data analysis was performed by means of an analysis of variance and Tukey's comparisons of means ($p \leq 0.05$) using Statistical Analysis System (SAS, 2009) software.

Results and Discussion

Yield variables.

The analysis of variance of yield characteristics, number of calyxes, calyx fresh weight, calyx length and calyx dry weight detected significant differences among varieties. In the interaction type of harvest X variety, only the calyx length variable was significant. There were no significant differences, in none of yield

Análisis Microbiológicos.

Los indicadores microbiológicos utilizados fueron coliformes totales, mesófilos aerobios, mohos y levaduras, los cuales, se reportaron como CFU/g de cáliz deshidratado. Antes de realizar los análisis, los cálices fueron almacenados en bolsas de celofán, durante cuatro meses, con el propósito de determinar las condiciones microbiológicas después de ese tiempo. Estos análisis se realizaron con base a las normas oficiales: NOM-SSA1-1994, bienes y servicios. Preparación y dilución de muestras de alimentos para su análisis microbiológico; y la norma mexicana: NMX-FF-115-SCFI-2010, productos agrícolas destinados para consumo humano – flor (cáliz) de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.)–Especificaciones y métodos de prueba.

Coliformes totales. Se usó el método del número más probable con base en las normas: NOM-109-SSA1-1994; NOM-110-SSA1-1994; NOM-113-SSA1-1994. Estas normas oficiales establecen los procedimientos para la toma, el manejo y transporte de las muestras, la preparación y dilución de las muestras, así como el método para la cuenta de coliformes totales en placa.

Mesófilos aerobios. Se identificaron siguiendo la Norma oficial mexicana NOM-092-SSA1-1994, bienes y servicios. Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa.

Mohos y levaduras. La determinación de los mohos y levaduras se realizaron mediante lecturas a los 3, 4 y 5 días, como lo dice la norma oficial mexicana NOM-111-SSA1-1994.

Análisis estadístico

El análisis de los datos se realizó mediante un análisis de varianza y pruebas de medias mediante el método de Tukey ($p \leq 0.05$) utilizando el paquete estadístico Statistical Analysis System (SAS, 2009).

Resultados y Discusión

Variables de rendimiento.

El análisis de varianza de las características de rendimiento, número de cáliz, peso fresco de cáliz, longitud de cáliz y peso seco de cáliz, detectó diferencias significativas

performance variables, when comparing the type of harvest (Table 1).

Number of calyxes and calyx length. When comparing the method of harvest no significant differences were observed for calyx length, while when comparing varieties, UAN8 was the one with highest calyx length (Table 2). According to Elsadig *et al.* (2013), the number of fruits per branch/plant, as well as the number of capsules in the main stem and fruits weight are important characteristics influencing on calyx yield per plant.

Calyx fresh weight and calyx dry weight. There were no significant differences between the methods of harvest. When comparing the three varieties of roselle, UAN8 variety was different from UAN6 and China varieties, for calyx fresh weight and calyx dry weight variables. The yield in dry weight, for the three varieties in average, for the total harvest, was of 1130 kg ha⁻¹, while a yield of 1160 kg ha⁻¹ was obtained for the continuous harvest (Table 2). Castro (2004) evaluated productivity and quality of roselle calyxes, on four planting dates (October 18th, November 15th, December 18th and January 15th), with two methods of harvest (unique final harvest and in ranks of 15 days, with the first cut at 138 days after planting date). Obtained yields were different depending on sowing dates, but similar between methods of harvest, coinciding with what was obtained in the present study.

UAN8 variety obtained the highest yield with 1,410 kg ha⁻¹, comparing with UAN6 and China varieties, with 900 kg ha⁻¹ and 1,120 kg ha⁻¹, respectively (Table 2). These yields are high when comparing them with the average national yield which is of 291 kg ha⁻¹ (FAO, 2004). However, yield potential is even higher since yield higher than 1,500 kg ha⁻¹ have been reported (Castro *et al.*, 2004). The yield of cultivation is known to depend on various factors (climate, soil, variety, handling), as demonstrated by the results reported in roselle on sowing densities (Terán & Soto, 2004); fertilization (Ruíz-González & Victorino-Ramírez, 2015); varieties (Ariza-Flores *et al.*, 2014); factors which should be evaluated in producing regions to optimize yield and quality of roselle calyxes.

Chemical variables.

Evaluated chemical variables were significantly

entre variedades. En la interacción tipo de cosecha por variedad, solo la variable longitud de cáliz fue significativa. No hubo diferencias significativas, en ninguna de las variables de rendimiento, al comparar el tipo de cosecha (Tabla 1).

Numero de cáliz y longitud de cáliz. Al comparar el método de cosecha sobre la longitud de cáliz se observó que no hubo diferencias significativas, mientras en la comparación de las variedades, la UAN8 es la que tiene mayor longitud de cáliz (Tabla 2). Según Elsadig *et al.* (2013) el número de frutos por rama/planta, así como el número de cápsulas del tallo principal y el peso de frutos son características importantes que influyen en el rendimiento de cálices por planta.

Peso fresco de cáliz y peso seco de cáliz. No hubo diferencias significativas entre los métodos de cosecha. Al comparar las tres variedades de jamaica, en la variable peso fresco de cálices y peso seco de cálices, la variedad UAN8 fue diferente a la UAN6 y China. El rendimiento en peso seco, promedio de las tres variedades, para la cosecha total, fue de 1130 kg ha⁻¹, mientras que en la cosecha continua se tuvo un rendimiento de 1160 kg ha⁻¹ (Tabla 2). Castro (2004) evaluó la productividad y calidad de los cálices de jamaica, en cuatro fechas de plantación (octubre 18, noviembre 15, diciembre 18 y enero 15), con dos métodos de cosecha (cosecha final única y en rangos de 15 días, con el primer corte a los 138 días después de la plantación). Los rendimientos obtenidos fueron diferentes para las fechas de siembra, pero similares entre los métodos de cosecha, esto último es coincidente con lo obtenido en este estudio.

La variedad UAN8 obtuvo el mejor rendimiento con 1,410 kg ha⁻¹, en comparación con la variedad UAN6 y China, con 900 kg ha⁻¹ y 1,120 kg ha⁻¹, respectivamente (Tabla 2). Estos rendimientos son elevados si se comparan con el rendimiento promedio nacional que es de 291 kg ha⁻¹ (FAO, 2004). Sin embargo, el potencial de rendimiento es aún mayor, ya que se han reportado rendimientos superiores a 1,500 kg ha⁻¹ (Castro *et al.*, 2004). Es conocido que el rendimiento de los cultivos está en función de varios factores (clima, suelo, variedad, manejo) como lo demuestran los resultados reportados en jamaica sobre densidades de siembra (Terán & Soto, 2004); fertilización (Ruíz-González & Victorino-Ramírez, 2015); variedades (Ariza-Flores *et al.*, 2014); factores que deben ser evaluados en las regiones productoras para optimizar el rendimiento y calidad de los cálices de jamaica.

different depending on the type of harvest, varieties, as well as the interaction harvest X variety, excepted for titratable acidity values in the type of harvest. For microbiological variables, in the type of harvest, there were significant differences for total coliform and fungi. There were no differences among varieties, nonetheless, differences for aerobic mesophilic bacteria were detected in the interaction type of harvest X variety (Table 1).

For the type of harvest, pH and total soluble solids variables were significantly different, the result of titratable acidity was not significant. There were significant differences of the evaluated variables in the three varieties (Table 1).

The variety resulting with the highest titratable acidity was UAN8 with 40.70 meq/100 g of fresh simple, while the other two varieties resulted with a lower acidity without significant differences among them (Table 2).

In the case of soluble solids, the variety with the higher percentage resulted to be China variety with 11.52, while

Variables químicas.

Las propiedades químicas evaluadas fueron estadísticamente significativas entre el tipo de cosecha, las variedades, así como la interacción cosecha por variedad, con excepción de los valores de acidez titulable en el tipo de cosecha. Para las variables microbiológicas, en el tipo de cosecha, hubo diferencias significativas para coliformes totales y mohos. No hubo diferencias entre variedades, sin embargo, si se presentaron diferencias para mesófilos aeróbicos en la interacción tipo de cosecha por variedad (Tabla 1).

Para el tipo de cosecha las variables de pH y sólidos solubles totales fueron diferentes significativamente, el resultado de la acidez titulable fue no significativo. Hubo diferencias significativas de las variables evaluadas en las tres variedades (Tabla 1).

La variedad que resultó con mayor acidez titulable fue la UAN8 con 40.70 meq/100 g de muestra fresca, mientras las otras dos variedades resultaron con una acidez menor sin diferencias significativas entre ellas (Tabla 2).

Table 1.
Probability value (Pr>F) and coefficient of variation (CV %) of yield variables, physico-chemical and microbiological characteristics in calyxes of three varieties of roselle in two types of harvest.

Tabla 1.
Valor de probabilidad (Pr>F) y coeficiente de variación (CV %) aplicado a las variables de rendimiento, características fisicoquímicas y microbiológicas en cálices de tres variedades de jamaica en dos tipos de cosecha.

Variables	Harvest (H)	Variety (V)	Interaction	HxV	CV
Number of calyxes	0.234	0.0053	0.351		24.15
Length of calyxes (cm)	0.289	0.0001	0.0001		2.66
Fresh weight of calyxes (g/planta)	0.622	0.0078	0.117		21.15
Dry weight of calyxes (g/planta)	0.385	0.0007	0.324		26.45
Chemical variables:					
pH	0.0001	0.007	0.0001		4.45
Total soluble solids (%)	0.0033	0.0001	0.0001		7.77
Titratable acidity (meq/100 g)	0.198	0.0001	0.0001		5.37
Microbiological variables:					
Total coliforms CFU/g	0.0069	0.905	0.260		172.32
Aerobic mesophiles CFU/g	0.080	0.487	0.032		152.90
Molds CFU/g	0.014	0.183	0.492		154.74
Yeasts CFU/g	0.633	0.383	0.890		132.58

Table 2.
Yield variables of three varieties of roselle in two types of harvest.

Tabla 2.
Variables de rendimiento de tres variedades de Jamaica en dos tipos de cosecha.

Type of harvest†	Number of calyxes	Length of calyxes (cm)	Fresh weight of calyxes (g/plants)	Dry weight of calyxes (g/plants)	Dry weight of calyxes (kg ha ⁻¹)
CH	193 ^a	4.68 ^a	1577 ^a	116 ^a	1160 ^a
UH	215 ^a	4.63 ^a	1469 ^a	113 ^a	1130 ^a
Varieties					
UAN8	249 ^a	4.92 ^a	1718 ^a	140 ^a	1400 ^a
UAN6	176 ^b	4.75 ^b	1312 ^b	90 ^b	900 ^b
China	186 ^b	4.29 ^c	1539 ^b	112 ^b	1120 ^a

†CH, continuous harvest; UH, unique harvest. Means with the same letter within columns are not different according to the Tukey test at $p \leq 0.05$.

† CH, cosecha continua; UH, cosecha única. Las medias con la letras iguales dentro de las columnas no son diferentes de acuerdo con la prueba de Tukey en $p \leq 0.05$.

Table 3.
Chemical characteristics of the calyxes of three varieties of roselle in two types of harvest.

Tabla 3.
Características químicas de los cálices de tres variedades de Jamaica en dos tipos de cosecha.

Type of harvest†	pH	Titrateable acidity	TSS
CH	2.55 ^a	37.16 ^a	9.17 ^a
UH	2.76 ^a	38.42 ^a	8.36 ^b
Varieties:			
UAN8	2.72 ^a	40.70 ^a	7.38 ^b
UAN6	2.55 ^b	36.84 ^b	7.39 ^b
China	2.70 ^a	36.08 ^b	11.52 ^a

†CH, continuous harvest; UH, unique harvest; TSS, total soluble solids. Means with the same letter within columns are not different according to the Tukey test at $p \leq 0.05$.

† CH, cosecha continua; UH, cosecha única; TSS, sólidos solubles totales. Las medias con la letras iguales dentro de las columnas no son diferentes de acuerdo con la prueba de Tukey $p \leq 0.05$.

the other varieties obtained lower values without significant differences among them (Table 3).

pH. There were significant differences in pH results among the methods of harvest, the continuous harvest presented a lower pH with 2.55 than the value of unique harvest with 2.76. Of the three varieties, UAN6

En el caso de los sólidos solubles, la variedad con mayor porcentaje resultó ser la China con 11.52, mientras las otras variedades obtuvieron valores menores sin diferencias significativas entre ellas (Tabla 3).

pH. Hubo diferencias significativas en los resultados de pH de la comparación de métodos de cosecha, la cosecha

had the lowest pH (2.55) and different from the China variety (2.70) and UAN8 variety (2.72) which were similar among them. Results reported for pH in roselle extracts coming from distinct varieties varied in the range 2.29 to 2.81 (Galicia-Flores *et al.*, 2008; Abdallah *et al.*, 2011; Ramírez-Cortez *et al.*, 2011; Salinas-Moreno *et al.*, 2012). Although higher pH values have been reported (3.3 to 3.4) in roselle aqueous extracts (González-Palomares *et al.*, 2009), values under 3.0 are desirable (Salinas-Moreno *et al.*, 2012).

Titrateable acidity. There were no differences among the type of harvest for this variable. However, this characteristic was different among varieties. UAN8 variety had the highest titrateable acidity with 40.7 meq/100 g. Values in different unities were reported by Abdallah *et al.* (2011) in varieties of red and white roselle, with 9 and 11 mg/100 g, respectively. Other studies have reported values of titrateable acidity, as the percentage of citric acid, in the range of 13.9 to 23.7 (Salinas-Moreno *et al.*, 2012). To be able to compare these values, evaluations should have been performed under similar conditions of varieties and analytic technics, in addition of being reported in equal units.

The acidity of the extracts is related with the quantity of present acids, and in roselle it has been found: hibiscus acid, citric acid, ascorbic acid, stearic acid, benzoic acid, chlorogenic acid, 4-hidroxybenzoic acid, salicylic acid, vanillic acid and protocatechuic acid, among others (Ariza-Flores *et al.*, 2014; Ramirez-Rodriguez *et al.*, 2011).

Total soluble solids. The analysis of variance detected significant differences in total soluble solids content (°Brix), among the type of harvest and among varieties. The continuous harvest had the highest value. Regarding varieties, China had the highest content. These values were in the range 7.38 to 11.52 %, which were higher than those found by Abdallah *et al.* (2011) in a white roselle variety (5.5) and a red roselle variety (5.0).

Microbiological analysis.

Regarding microbiological variables (total coliforms, aerobic mesophilic bacteria, fungi and yeasts), when comparing varieties, there were no significant differences among them; Meanwhile, when comparing the types of harvest, significant differences were observed in total coliforms and fungi, with higher

continua obtuvo el pH más bajo con 2.55 en comparación con el valor de cosecha única con 2.76. De las tres variedades, la variedad UAN6 tuvo el pH más bajo (2.55) y diferente de la variedad China (2.70) y la variedad UAN8 (2.72), las cuales fueron similares entre sí. Los resultados reportados del pH, en extractos de jamaica provenientes de distintas variedades varían entre el rango de 2.29 a 2.81 (Galicia-Flores *et al.*, 2008; Abdallah *et al.*, 2011; Ramírez-Cortez *et al.*, 2011; Salinas-Moreno *et al.*, 2012). Aunque se han reportado valores de pH mayores (3.3 a 3.4) de extractos acuosos de jamaica (González-Palomares *et al.*, 2009), es deseable que los valores sean menores de 3.0 (Salinas-Moreno *et al.*, 2012).

Acidez titulable. No hubo diferencias entre tipo de cosecha, para esta variable. Sin embargo, entre variedades esta característica fue diferente. La variedad UAN8 tuvo la mayor acidez titulable con 40.7 meq/100 g. Valores en unidades diferentes fueron reportados por Abdallah *et al.* (2011) en variedades de jamaica roja y blanca, con 9 y 11 mg/100 g, respectivamente. Otros estudios han reportado valores de acidez titulable, como porcentaje de ácido cítrico, entre el rango de 13.9 a 23.7 (Salinas-Moreno *et al.*, 2012). Para poder equiparar estos valores, las evaluaciones se tendrían que haber realizado en condiciones similares de variedades y técnicas de análisis, además de reportarlas en unidades iguales.

La acidez de los extractos está relacionada con la cantidad de ácidos presentes, y en jamaica se han encontrado: ácido hibiscus, ácido cítrico, ácido ascórbico, ácido esteárico, ácido benzoico, ácido clorogénico, ácido 4-hidroxibenzoico, ácido salicílico, ácido vanílico y ácido protocatecuico, entre otros (Ariza-Flores *et al.*, 2014; Ramirez-Rodriguez *et al.*, 2011).

Sólidos Solubles totales. El análisis de varianza detectó diferencias significativas en el contenido de sólidos solubles totales (°Brix), entre tipo de cosecha y entre variedades. La cosecha continua tuvo el mayor valor. Con respecto a las variedades, la China fue la de mayor contenido. Estos valores estuvieron en el rango de 7.38 a 11.52 %, los cuales fueron superiores a los encontrados por Abdallah *et al.* (2011) en una variedad de jamaica blanca (5.5) y una variedad de jamaica roja (5.0).

Análisis microbiológicos.

En cuanto a las variables microbiológicas (coliformes totales, mesófilos aerobios, mohos y levaduras) al hacer la comparación de variedades no hubo diferencia significativas entre ellas; Mientras en comparación de tipos de cosecha se observó diferencias significativas en coliformes totales y mohos, con mayor contaminación en la cosecha única (Tabla

Table 4.
Microbiological characteristics of the calyxes of three varieties of roselle in two types of harvest.

Tabla 4.
Características microbiológicas de los cálices de tres variedades de jamaica en dos tipos de cosecha.

	Total Coliforms	Aerobic Mesophiles	Molds	Yeasts
Type of harvest†	----- CFU/g -----			
CH	54.7 ^b	52.07 ^a	140.9 ^b	148.53 ^a
UH	234.1 ^a	24.67 ^a	446.2 ^a	175.27 ^a
Varieties:				
UAN8	148.25 ^a	39.70 ^a	224.0 ^a	212.00 ^a
UAN6	162.15 ^a	20.50 ^a	206.2 ^a	156.80 ^a
China	152.80 ^a	48.90 ^a	450.4 ^a	116.90 ^a

†CH, continuous harvest; UH, unique harvest. Means with the same letter within columns are not different according to the Tukey test at $p \leq 0.05$.

† CH, cosecha continua; UH, cosecha única. Las medias con la letras iguales dentro de las columnas no son diferentes de acuerdo con la prueba de Tukey $p \leq 0.05$.

contamination in the unique harvest (Table 4). Factors that favor the growth of fungi are humidity, type of substrate and temperature. These conditions are also these that foster toxin production in most of agricultural products (Ciegler, 1978; Tola & Kebede, 2016).

Dehydrated roselle calyxes as well as other food are susceptible to damage by microorganisms, mainly fungi which can reduce its quality in terms of color, flavor or nutritive properties, in addition, they can sporulate and produce mycotoxins affecting human health (Adebayo-Tayo & Samuel, 2009).

Bobadilla-Carrillo (2016) pointed out that in roselle cultivations, the highest microbial load was presented when the calyx and the fruit were not separated yet. In addition, they found that after washing the calyxes, the number of microorganisms increased. They mentioned that the different maturation of calyxes can influence their contamination.

The main fungi, producers of mycotoxins, were from *Aspergillus*, *Fusarium* and *Penicillium* genera, although the potential for mycotoxin production considerably varied among species from the same genus (Frisvad *et al.*, 2006). One of the problems of the productive chain of roselle is related with a deficient handling of calyxes in post-harvest, which can involve a high

4). Los factores que favorecen el crecimiento de mohos son la humedad, el tipo de sustrato y la temperatura. Estas condiciones son también las que propician la producción de toxinas en la mayoría de los productos agrícolas (Ciegler, 1978; Tola & Kebede, 2016).

Los cálices de jamaica deshidratados al igual que otros alimentos son susceptibles del deterioro por microorganismos, principalmente hongos que pueden reducir su calidad en términos de color, sabor o nutrición, además pueden esporular y producir micotoxinas que afectan la salud humana (Adebayo-Tayo & Samuel, 2009).

Bobadilla-Carrillo (2016) señala que en el cultivo de jamaica la mayor carga microbiana se presenta cuando el cáliz y fruto aún no han sido separados. Además, encontró que después del lavado de los cálices, se incrementó el número de microorganismos. Menciona que la maduración diferente de los cálices puede influir en la contaminación de los mismos.

Los principales hongos productores de micotoxinas son el género *Aspergillus*, *Fusarium* y *Penicillium*, aunque el potencial para la producción de micotoxinas varía considerablemente entre especies del mismo género (Frisvad *et al.*, 2006). Uno de los problemas de la cadena productiva de jamaica se relaciona con el manejo deficiente de los cálices en postcosecha, el cual puede involucrar un alto contenido de humedad,

content of humidity, in addition to the low phytosanitary care. Results of a study in fungi associated with roselle calyxes identified 16 genera of fungi, of which the most common were *Aspergillus*, *Alternaria*, *Nodulisporium*, *Chaetomium* and *Thielaria* (Ruíz-Ramírez et al., 2015).

Total coliforms. There were significant differences in the number of total coliforms among the methods of harvest. In the continuous harvest, there was lower contamination. This was due to the fact that calyxes of the continuous harvest were maintained less time under contaminants exposure in the environment. Mexican official standard NOM-112-SSA1-1994 establishes as a limit the absence of total coliforms and although none of the evaluated treatments achieved this disposition, the highest contamination was highlighted in the traditional method of harvest (Table 4). Similar results were found by Cid-Ortega et al. (2009), who reported the presence of total coliforms in roselle flower extracts.

Aerobic mesophilic bacteria. The low pH reduced at the minimum the bacterial attack (Fasoyiro et al., 2005), and control the growth of aerobic mesophilic microorganisms (D'Heureux-Calix & Badrie, 2004). In the results, aerobic mesophilic bacteria did not present significant differences neither among varieties nor in types of harvest. CFU/g found for these microorganisms (Table 4) did not exceed the critical limit established in the Mexican Standard, which is of 100 CFU/g. In the study of Cid-Ortega et al. (2009) 130 CFU/g of aerobic mesophilic bacteria were reported, exceeding the highlighted limits of the Mexican standard.

Fungi and yeasts. A higher number of fungi was found in the unique harvest compared to the continuous harvest. Fungi grow better in warm and humid conditions, and in the unique harvest, calyxes were exposed during more time to these conditions. The quantity of fungi among varieties was not different. Regarding yeasts, there were no differences among treatments (Table 4). Not with standing the afore mentioned, CFU/g values for fungi and yeasts were above the critical limit established in the Mexican standard NOM-111-SSA1-1994, which is of 10 CFU/g maximum. These results coincide with those obtained by Cid-Ortega et al. (2009) who reported high values of these microorganisms (5,800 CFU/g).

Contamination of roselle flower calyxes was attributed to the deficient post-harvest handling of the product,

además del poco cuidado fitosanitario. Resultados de un estudio en hongos asociados a cálices de jamaicas identificaron 16 géneros de hongos, de los cuales los más comunes fueron *Aspergillus*, *Alternaria*, *Nodulisporium*, *Chaetomium* y *Thielaria* (Ruíz-Ramírez et al., 2015).

Coliformes totales. Hubo diferencias significativas en el número de coliformes totales entre el método de cosecha. En la cosecha continua existe menor contaminación. Esto se debe a que los cálices de la cosecha continua permanecieron menos tiempo a la exposición de contaminantes en el ambiente. La norma oficial mexicana NOM-112-SSA1-1994 establece como límite la ausencia de coliformes totales, y aunque ningún tratamiento evaluado cumplió esta disposición, es de resaltar, mayor contaminación en el método tradicional de cosecha (Tabla 4). Similares resultados fueron encontrados por Cid-Ortega et al. (2009), quienes reportaron la presencia de coliformes totales en extractos de flor de Jamaica.

Mesófilos aerobios. El bajo pH reduce al mínimo el ataque bacteriano (Fasoyiro et al., 2005), y controla el crecimiento de microorganismos aerobios mesófilos (D'Heureux-Calix & Badrie, 2004). En los resultados se observa que para mesófilos aerobios no hubo diferencias significativas ni en variedades ni en tipo de cosecha. Las CFU/g encontradas de estos microorganismos (Tabla 4), no superaron el límite crítico establecido en la norma mexicana la cual es de 100 CFU/g. En el estudio de Cid-Ortega et al. (2009) se reportaron 130 CFU/g de bacterias mesófilas aerobias, las cuales sobrepasaron los límites de la norma mexicana ya señalada.

Mohos y levaduras. Se encontró mayor número de mohos en la cosecha única en comparación con la cosecha continua. Los mohos crecen mejor en condiciones cálidas y húmedas, en la cosecha única los cálices están expuestos más tiempo a tales condiciones. La cantidad de mohos entre variedades no fueron diferentes. Con relación a las levaduras no hubo diferencias entre tratamientos (Tabla 4). A pesar de lo anterior, los valores de las CFU/g para hongos y levaduras están por encima del límite crítico establecido en la norma mexicana NOM-111-SSA1-1994, que es de 10 CFU/g máximo. Estos resultados coinciden con los obtenidos por Cid-Ortega et al. (2009) quienes reportaron valores altos de estos microorganismos (5,800 CFU/g).

La contaminación de los cálices de flor de jamaica se atribuye al deficiente manejo postcosecha del producto,

among those that can be mentioned, there were the open-air drying of calyxes, with the resulting damage by insects, dust and animal excrements

entre los que se pueden mencionar el secado de los cáliz al aire libre, con el consecuente daño de insectos, polvo y excretas de animales.

Conclusions

Methods of unique harvest and continuous harvest did not generate significant differences in yield variables. In the comparison of roselle varieties, significant differences and calyx length and dry weight were detected. The highest yield was found for UAN8 variety. Lower values of pH and higher content of total soluble solids were found in the continuous harvest. The lowest pH was found for UAN6 variety. China variety presented the highest content of total soluble solids and UAN8 variety showed the highest titratable acidity. Regarding microbiological variables, when comparing the three varieties, there were no significant differences among them; while when comparing the two types of harvest, significant differences were observed in total coliforms and fungi, with a higher contamination in the unique harvest at the end of the cycle.

Conclusiones

Los métodos de cosecha única y cosecha continua, no generaron diferencias significativas en las variables de rendimiento. En la comparación de las variedades de jamaica se expresaron diferencias significativas en longitud de cáliz y peso seco de cáliz. El mayor rendimiento lo expreso la variedad UAN8. En la cosecha continua se encontraron valores más bajos de pH y mayor contenido de sólidos solubles totales. El pH más bajo lo tuvo la variedad UAN6. La variedad China mostro el mayor contenido de sólidos solubles totales y la variedad UAN8 la mayor acidez titulable. En cuanto a las variables microbiológicas al hacer la comparación de las tres variedades no hubo diferencias significativas entre ellas; mientras que, la comparación de los dos tipos de cosecha se observó diferencias significativas en coliformes totales y mohos, con mayor contaminación en la cosecha única, al final del ciclo.

References

- Abdallah, M. A., Suliman, Ali O., Sharaf Eldeen A. A., Idriss, Mohammed A. and Abdualrahman. (2011). A comparative study on red and White karkade (*Hibiscus sabdariffa* L.) calyxes, extracts and their products. *Pakistan Journal of Nutrition*, 10: 680-683. <http://docsdrive.com/pdfs/ansinet/pjn/2011/680-683.pdf>
- Adebayo-Tayo, B. C. & Samuel, U. A. (2009). Microbial quality and proximate composition of dried *Hibiscus sabdariffa* calyxes in Uyo, Eastern Nigeria. *Malaysian Journal of Microbiology*, 5: 13-18. <http://mjmm.usm.my/uploads/issues/162/research3.pdf>
- Ariza-Flores, R., Serrano-Altamirano, V., Navarro-Galindo, S., Ovando-Cruz, M. E., Vázquez-García, E., Barrios-Ayala, A., Michel-Aceves, A. C., Guzmán-Maldonado, S. H. and Otero-Sánchez, M. A. (2014). Variedades mexicanas de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) "alma blanca" and "rosaliz" de color claro y "cotzaltzin" y "tecoanapa" de color rojo. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 37: 181-185. <https://www.revistafitotecniamexicana.org/documentos/37-2/9a.pdf>
- Bobadilla-Carrillo, G. I., Valdivia-Reynoso, M. G., Machuca-Sánchez, M. L., Balois-Morales, R., y González-Torres, L. (2016). Factores precosecha, cosecha y poscosecha inherentes al cultivo de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.): una revisión. *Revista Bio Ciencias*, 3: 256-268. <http://editorial.uan.edu.mx/BIOCIENCIAS/article/view/158/221>
- Caro-Velarde, F. J., Flores-Berrios, E. P. and Machuca-Sánchez, M. L. (2012). El cultivo de jamaica en Nayarit. Segunda Edición. Universidad Autónoma de Nayarit. Nayarit, México. 103p.
- Castro, N. E. A., Pinto, J.E.B.P., Cardoso, M. G., Morais, A. R., Bertolucci, S. K. V., Silva, F. G. and Delú, F. N. (2004). Planting time for maximization of yield of vinegar plant calyx (*Hibiscus sabdariffa* L.). *Ciência e Agrotecnologia*, 38: 542-551. <https://dx.doi.org/10.1590/S1413-70542004000300009>
- Christian, K. R. & Jacson, J. C. (2010) Changes in total phenolic and monomeric anthocyanin composition and antioxidant activity of three varieties of sorrel (*Hibiscus sabdariffa*) during maturity. *Journal of Food Composition and Analysis*, 22: 663-667. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2009.05.007>
- Ciegler, A. (1978). Fungi that produce micotoxins: Conditions and occurrence. *Mycopathologia*, 65: 5-11. <https://link.springer.com>

- [ger.com/article/10.1007/BF00447169](https://doi.org/10.1007/BF00447169)
- Cid-Ortega, S., Navarro-Frómata, A.E. and Ariel-Rostagno, M. (2018). Evaluación de el proceso de extracción para la producción de extracto de Jamaica liofilizado. In: Coloquio de Investigación Multidisciplinaria: electronic book. Orizaba, Veracruz; México. 2009.
- Da-Costa-Rocha, I., Bonnlaender, B., Sievers, H., Pischel, I. and Heinrich, M. (2014). *Hibiscus sabdariffa* L. - A phytochemical and pharmacological review. *Food Chemistry*, 165: 424-443. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.05.002>
- D'Heureux-Calix, F. & Badrie, N. (2004). Consumer acceptance and physicochemical quality of processed red sorrel/rosselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) sauces from enzymatic extracted calyces. *Food Service Technology*, 4: 141-148. <https://doi.org/10.1111/j.1471-5740.2004.00100.x>
- Elsadig B. I., Abdel Wahab H., Abdalla, Elshiekh A., Ibrahim, Ahmed M. and El Naim. (2013). Interrelationships between yield and its components in some roselle (*Hibiscus Sabdariffa* L.) genotypes. *World Journal of Agricultural Research*, 1: 114-118. [10.12691/wjar-1-6-4](https://doi.org/10.12691/wjar-1-6-4)
- Fakir, M. S. A., Islam, M. M., Islam, A., Islam, F. and Chowdhury, M. M. (2012). Capsule growth and calix protein content in *Hibiscus sabdariffa* L. var. sabdariffa. *Journal of Agroforestry and Environment*, 6: 1- 4.
- FAO. (2004). Food and Agriculture Organization. <http://faostat.fao.org>
- Fasoyiro, S. B, Ashaye, O. A., Adeola, A. and Samuel, F. O. (2005). Chemical and storability of fruit-flavoured (*Hibiscus sabdariffa* L.) drinks. *World Journal of Agricultural Sciences*, 1: 165-168. https://www.researchgate.net/profile/Subuola_Fasoyiro/publication/26433571_Chemical_and_Storability_of_Fruit-Flavoured_Hibiscus_sabdariffa_Drinks/links/00b7d51c17dc355e1f000000/Chemical-and-Storability-of-Fruit-Flavoured-Hibiscus-sabdariffa-Drinks.pdf
- Frisvad, J. C., Thrane, U. Samson, R. A. and Pitt, J. I. (2006) Important mycotoxins and the fungi which produce them. *Avances en la micología de los alimentos*. 57: 3 - 31. https://doi.org/10.1007/0-387-28391-9_1
- Galicia-Flores, L. A., Salinas-Moreno, Y., Espinosa-García, B. M. and Sánchez-Feria, C. (2008). Caracterización fisicoquímica y actividad antioxidante de extractos de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) nacional e importada. *Revista Chapingo Serie Horticultura* 14: 121-129. <http://dx.doi.org/10.5154/r.rchsh.2007.01.005>
- González-Palomares, S., Estarrón-Espinosa, M., Gómez-Leyva, J. F. and Andrade-González, I. (2008). Effect of the Temperature on the Spray Drying of Roselle Extracts (*Hibiscus sabdariffa* L.). *Plant Foods for Human Nutrition*, 64: 62–67. <https://doi.org/10.1007/S11130-008-0103-Y>
- Hidalgo-Villatoro, S. G., Cifuentes-Reyes, W. A., Ruano-Solis, H. H. and Cano-Castillo, L. E. (2009). Caracterización de trece genotipos de Rosa de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) en Guatemala. *Agronomía Mesoamericana*, 20: 101-109. http://www.mag.go.cr/rev_meso/v20n01_101.pdf
- Norma Mexicana. NMX-FF-115-SCFI-2010. Productos agrícolas para consumo humano. Caliz de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) – Especificaciones y ensayos. http://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5140165&fecha=22/04/2010
- Norma Oficial Mexicana. NOM-112-SSA1-1994. Bienes y servicios. Determinación de bacterias coliformes. Técnica del número más probable. www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/112ssa14.html
- Ramírez-Cortés, B., Caro-Velarde, F. J., Valdivia-Reynoso, M. G., Ramírez-Lozano, M. H. and Machuca-Sánchez, M. L. (2011). Cambios en tamaño y características de cálices de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) durante su maduración. *Revista Chapingo Serie Horticultura.*, 17 (2): 19-31. <http://www.scielo.org.mx/pdf/rcsh/v17nspe2/v17nspe2a3.pdf>
- Ramírez-Rodríguez, M. M., Plaza, M. L., Azeredo, A., Balaban, M. O. and Marshall, M. R. (2011). Physicochemical and phytochemical properties of cold and hot water extraction from *Hibiscus sabdariffa*. *Journal of Food Science*, 76(3): C428-CM435. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2011.02091.x>
- Ruiz-González, R. O. & Victorino-Ramírez, L. (2015). Respuesta del policultivo jamaica-frijol-maíz a la fertilización en Villaflores, Chiapas, México. *Revista de Sociedad, Cultura y Desarrollo Sustentable*, 49: 545-557. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=46132135004>
- Ruiz-Ramírez, R., Hernández-Morales, J., Ayala-Escobar, V., Soto-Rojas, Araceli Rosa Elena Zúñiga-Hernández2 ; Luis Bartolomé Jiménez-De la Torre2 ; Victor Serrano-Altamirano3 ; César Sánchez-Feria L. (2015). Hongos asociados a cálices de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) secos y almacenados en Guerrero, México. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 33(1): 12-30. <http://www.scielo.org.mx/pdf/rmfi/v33n1/2007-8080-rmfi-33-01-00012-en.pdf>

- Salinas-Moreno, Y., Zuñiga-Hernández, A. R. E., Jiménez-de la torre. L. B., Serrano-Altamirano, V. and Sánchez-Feria, C. (2012). Color en cálices de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) y su relación con características fisicoquímicas. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 18 (3):395-407. <https://doi.org/10.5154/r.rchsh.2011.08.038>
- Sánchez, D. E., Sosa, S. R. A., Navarro, C. A. R., Dávila, M. R. M. and Lazcano, H. M. (2006). Establecimiento de parámetros fisicoquímicos y microbiológicos para el proceso de secado de la flor de jamaica (*Hibiscus sabdariffa*) comercializada en la ciudad de Puebla y la producida en Chiautla de Tapia, Puebla. respy2.uanl.mx/especial/2006/ee-14-2006/documentos/Art48.pdf
- SAS Institute Inc. (2009). SAS/ACCES® 9.4. Cary, NC:SAS Institute Inc.
- Terán, Z. & Soto, F. (2004). Evaluación de densidades de plantación en el cultivo de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.). *Cultivos Tropicales*, 25(1): 67-69. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=193230179011>
- Tola, M. & Kebede, B. (2016). Occurrence, importance and control of mycotoxins: A review. *Cogent Food & Agriculture*, 2: 1-12. <https://doi.org/10.1080/23311932.2016.1191103>