



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**

FACULTAD DE QUIMICA

ESTUDIO ANALITICO DE JUGO DE FRUTAS
CITRICAS NACIONALES

TESIS MANCOMUNADA

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICO EN ALIMENTOS

P R E S E N T A N :

DE LEON GONZALEZ, JOSE GABRIEL

LOPEZ DIAZ IGNACIO



MEXICO, D.F.



**EXAMENES PROFESIONALES
FACULTAD DE QUIMICA**

2004



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO

Presidente: Prof. Francisca Aída Iturbe Chiñas

Vocal: Prof. María de los Ángeles Valdivia López

Secretario: Prof. Hermilo Leal Lara

1er. Sup. Prof. Arturo Navarro Ocaña

2do. Sup. Prof. Claudia Lucía Mancilla Ascencio

El presente trabajo se desarrolló en:

Facultad de Química, Edificio E, Laboratorio 322 y 323
Departamento de Alimentos

ASESOR DEL TEMA


M. en C. Ma. de los Ángeles Valdivia López

SUPERVISOR TÉCNICO


QFB. Bertha Julieta Sandoval Guillén

SUSTENTANTES


José Gabriel de León Gonzalez


Ignacio López Díaz

AGRADECIMIENTOS.

A la Universidad Nacional Autónoma de México y la Facultad de Química por habernos brindado la oportunidad de terminar una licenciatura.

A la M. en C. María de los Ángeles Valdivia López por su asesoramiento en la realización de este trabajo.

A la Q.F.B. B. Julieta Sandoval Guillén por su invaluable apoyo y confianza que nos brindó durante la realización de este trabajo.

Al Dr. Pedro Morales y M. en C. Edith Cienfuegos por su cooperación para realizar parte del trabajo experimental de esta tesis dentro del Instituto de Geología..

Al H. Jurado de esta Tesis por su paciencia en la revisión y corrección de dicho trabajo.

A todos los profesores de la Facultad por sus valiosas enseñanzas dentro de formación como profesionista.

DEDICATORIAS

Si mencionara a todas y cada una de las personas a las que les quiero dar las gracias, no cabría todo lo demás de esta tesis; por lo tanto me voy a permitir ser breve.

En primer lugar quiero agradecer a mis padres, **María de Lourdes González Flores y José Gabriel De León Roa**, por haberme enseñado y dado todo lo que necesito para formarme como la persona que soy ahora.

Todo se lo debo a ustedes.

A mis abuelos Carlos, Carmen, Guillermo y Magdalena (en orden alfabético).

A mis hermanos Carla y Guillermo por mostrarme cosas que solo ellos pudieron enseñarme.

A mis tíos Paulina, Alicia, Maria, Elena, Carlos, Rosi, Armando y Lupita, Alma, Ana, Fernando y Sofía, Oscar y Eli. De todos ustedes he aprendido mucho; Gracias por su apoyo.

A todos y cada uno de mis primos, a todos los primos de mis padres y tíos abuelos, todos y cada uno de ustedes tienen algo que ver.

En segundo lugar, y sin orden específico alguno, quiero darle las gracias a todos aquellos cuyas líneas de vida han tocado la mía, ayudándome a pulir detalles y ver las cosas desde diferentes puntos de vista. Por mencionar algunos de ellos:

César (Master), Juan Carlos, Erasmo, Rubén, Gustavo (los de toda la vida.).

Aldo, Julio, Quique, Alfredo, Moncho, César (!YEAH!).

Carla, Israel, Claudia, Leonardo, Mary, Radamés. (Pipeta, Bureta y Matraz).

También gracias a la Zona.

Quiero agradecer especialmente a Karina Cruz Espinosa por compartir este tiempo conmigo, darme su apoyo y llamarme la atención cuando la ocasión así lo requiriera.

Gracias por estar conmigo todo este tiempo, y el que nos falta.

Finalmente quiero darle las gracias a Nacho, lo hubiera podido hacer sin ti, hermano.

Doy gracias a Dios por haberme dado la vida y permitirme llegar a este momento tan anhelado durante toda mi formación.

Especialmente a Ignacio López Ávila por su inmenso amor que me dio día a día sus consejos tan valiosos y la confianza que siempre deposito en mi, donde quiera que estés te la dedico con todo mi amor, siempre estarás en mi corazón, **gracias papá.**

A María de la Luz Díaz por el inmenso amor que me brindaste día a día, por tu ejemplo de fortaleza y la enorme confianza que depositaste en mi a pesar de mis errores, por tu incondicional apoyo a cada momento y tus palabras de aliento que fueron la razón para seguir adelante, por haberme brindado todo lo que necesite durante mi formación, **Gracias Mamá.**

A mis hermanos José Guadalupe, Martha, Apolinar, Socorro, Patricia y Katty por su ayuda y apoyo incondicional, por sus consejos tan valiosos, ejemplos de optimismo y sobre todo por cada momento que juntos compartimos, **Gracias.**

A mis sobrinos Luz Maria, Hugo, Liliana, Jaime, Georgette, Marco, Miguel Angel, Dany, Paty Pepe Toño, Aby, Noemí, Itzel ,Milton, Toñito por su cariño y apoyo incondicional durante toda mi carrera. **Gracias.**

A mis cuñados, Daniel, Agustín, Edgar, Rafael y Martha por sus consejos y apoyo, **gracias.**

A mis amigos Carla, Karina, Mary, Jorge Luis, Israel, Radames, Ernesto, Leonardo, Roberto, Luis, José, Francisco, por que con su apoyo me dieron la oportunidad de conocer a los verdaderos amigos y que por siempre perdure nuestra amistad. **Gracias Amigos.**

Con especial cariño a Paola C. R. por el apoyo incondicional a cada momento, su comprensión y consejos. Por que siempre me alentó a seguir adelante, **gracias.**

A María de Lourdes, José Gabriel, Doña Luz, Doña Hipólita, Don Marcos y Doña Chela.
Gracias por soportarnos estos últimos años.

A **Gabriel**, compañero y amigo por permitirme conocer lo que es una verdadera amistad sincera, gracias hermano.

INDICE

INTRODUCCIÓN.	1
OBJETIVOS.	2
CAPITULO I. ANTECEDENTES.	
1.1 Generalidades.	3
1.2 Taxonomía de la Naranja.	3
1.2.1 Variedades.	4
1.2.2 Distribución Geográfica.	5
1.3 Taxonomía de la Mandarina.	5
1.3.1 Variedades.	5
1.3.2 Distribución Geográfica.	6
1.4 Taxonomía de la Toronja.	6
1.4.1 Variedades.	7
1.4.2 Distribución Geográfica.	7
1.5 Morfología del fruto.	8
1.6 Composición química de los cítricos.	9
1.6.1 Flavonoides.	11
1.7 Metabolismo de los frutos cítricos.	14
1.7.1 Modificaciones bioquímicas.	15
1.8 Normalización entre los organismos que regulan las especificaciones para jugos cítricos.	17

1.9	Análisis espectrofotométrico.	21
1.10	Análisis de carbohidratos.	23
1.11	Análisis de la relación de isótopos estables de carbono 13.	24

CAPITULO II. DESARROLLO EXPERIMENTAL.

2.1	Diagrama general de la investigación.	29
2.1.1	Obtención y extracción de las muestras.	30
2.1.2	Determinación de pH y grados Brix.	30
2.2	Barrido espectrofotométrico.	31
2.3	Cuantificación de carbohidratos.	31
2.4	Cuantificación de flavonas glucosiladas.	32
2.5	Relación de isótopos estable de carbono 13.	33

CAPITULO III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

3.1	pH y grados Brix de los jugos analizados.	36
3.2	Análisis espectrofotométrico.	38
3.2.1	Jugo de toronja.	38
3.2.2	Jugo de naranja.	42
3.2.3	Jugo de mandarina.	45
3.3	Análisis de carbohidratos.	50
3.3.1	Contenido de carbohidratos en jugo de toronja.	50

3.3.2	Contenido de carbohidratos en jugo de naranja.	54
3.3.3	Contenido de carbohidratos en jugo de mandarina.	57
3.4	Contenido de flavonas glucosiladas en cítricos.	60
3.4.1	Contenido de flavonas en jugo de toronja.	61
3.4.2	Contenido de flavonas en jugo de naranja.	64
3.4.3	Contenido de flavonas en jugo de mandarina.	68
3.5	Isótopos estables de carbono 13.	71
3.5.1	Isótopos estables de carbono 13 en jugo y pulpa de toronja.	71
3.5.2	Isótopos estables de carbono 13 en jugo y pulpa de naranja.	72
3.5.3	Isótopos estables de carbono 13 en jugo y pulpa de mandarina.	73
	CONCLUSIONES.	76
	BIBLIOGRAFÍA.	78
	ANEXO I.	82
	ANEXO II.	84

INTRODUCCIÓN.

En la actualidad en México, se encuentran en el mercado una gran variedad de marcas de jugos así como normatividad que los regule, sin embargo, las normas para jugos de frutas no poseen los elementos necesarios para comprobar la autenticidad de la materia prima, ya que se podrían cumplir fácilmente con las especificaciones establecidas para dichos jugos (densidad, acidez, pH, contenido de CO₂ y % de etanol) por lo que es fácil adulterar la composición de los productos, como podría ser por adición de azúcares, ácidos orgánicos y mezclas de frutas, entre otros.

Las adulteraciones de los jugos cítricos han evolucionado desde simples diluciones con agua, azúcar y ácidos hasta métodos altamente sofisticados usando compuestos específicamente diseñados para hacer posible la modificación en la composición. El lavado de pulpa (que es una extracción acuosa de los sólidos solubles de la pulpa) como sustituto o adulterante de los concentrados congelados de jugo y la extracción de jugos sencilla con exceso de presión, se ha convertido en un asunto de gran importancia para la industria cítrica y las agencias reguladoras, así como un fraude económico hacia el consumidor.

En 1979 las Leyes de Frutos Cítricos del Estado de Florida establecieron que el concentrado congelado de jugo de naranja no deberá contener sólidos solubles recuperados por extracción acuosa de la pulpa del fruto, de la misma forma que los productos importados.

Este proyecto tiene como propósito el estudio analítico de jugos de cítricos. Dentro de los componentes a estudiar se encuentran carbohidratos solubles, flavonas glucosiladas y la relación del carbono 13/12, de las variedades que comúnmente se utilizan para la elaboración de jugos y concentrados, naranja (Valencia), mandarina (Dancy) y toronja (Redblush).

En México no existe información de la composición de las principales variedades de frutas que se cultivan y que se emplean para la elaboración de jugos, por lo que el conocimiento de perfiles composicionales y características fisicoquímicas de los jugos, en función de la época de cosecha y la variedad, permitirá eventualmente el establecimiento de parámetros que definan la autenticidad de los jugos, por lo que las especificaciones que se desprenderán podrían ser consideradas en los esquemas normativos nacionales.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

- Evaluar el efecto de la “época de cosecha” sobre los perfiles composicionales en frutas cítricas para establecer parámetros específicos, que puedan definir la autenticidad de la materia prima que se utiliza para la elaboración de jugos.

OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Establecer el esquema de extracción y de identificación de flavonas glucosiladas para cada fruta.
- Determinar el perfil espectrofotométrico de cada jugo de fruta.
- Establecer los intervalos y proporciones de glucosa, fructosa y sacarosa.
- Analizar la relación de isótopos estables del carbono 13.

CAPITULO I. ANTECEDENTES

1.1 GENERALIDADES.

Los cítricos son considerados como un conjunto de plantas que tuvieron su origen en las regiones tropicales y subtropicales de Asia y el archipiélago malayo, propagándose luego en cultivo a diversas regiones del mundo.

La denominación de cítricos ha sido aplicada desde tiempos lejanos a diferentes tipos de frutas. Como resultado existía mucha confusión acerca de la clasificación de estas frutas con características muy similares. Fue en 1957 cuando se sugirió llamar cítricos a aquellos de la familia Rutáceas que pertenece a los tres géneros nombrados *Citrus Fortunela* y *Poncirus*. (Pinto, 1994).

Los cítricos pertenecen a la clase *Angiospermae*, a la subclase *dicotiledónea*, a la orden *Rutae*, a la familia *Rutaceae* y al género *Citrus* y cuenta con más de 145 especies, entre las que se destacan: naranja (*Citrus sinensis*), mandarina (*Citrus reticulata*), limón (*Citrus limon*), lima (*Citrus aurantifolia*), toronja (*Citrus paradisi*). (Infoagro, 2002).

1.2 TAXONOMÍA DE LA NARANJA

Familia: Rutáceas.

Género: *Citrus*.

Especie: *Citrus sinensis*

Origen: China e Indochina.

Porte: Reducido (6-10 m). Ramas poco vigorosas (casi tocan el suelo). Tronco corto.

Hojas: Limbo grande, alas pequeñas y espinas no muy acusadas.

Flores: Ligeramente aromáticas, solas o agrupadas con o sin hojas. Los brotes con hojas (campaneros) son los que mejores frutos dan. **(Infoagro, 2002).**

La mayoría de las variedades han surgido como mutaciones estables. Estas mutaciones son muy frecuentes en cítricos y se estabilizan rápidamente.

1.2.1 VARIEDADES

Pueden considerarse 4 tipos, de los cuales 2 son los más importantes:

- Navel: buena presencia, frutos partenocárpicos de gran tamaño, muy precoces.

Destacan las variedades: Navelete, Navelina, Washington y Thompson.

- Tardías: Destaca la Valencia Late que presenta frutos de buena calidad con una o muy pocas semillas y de buena conservación. **(Infoagro, 2002).**

Las variedades comerciales cultivadas en México son:

Valencia, Washington Navel, San Miguel, Pearson Brown, Criollo, Media Sangre, Hamlin, Morros, Jaffa, Mediterráneo, Chabela y Pine-apple.

La principal variedad que se cultiva en el país es la Valencia, también identificada como naranja de jugo por los citricultores. Esta variedad se destaca por su cantidad y calidad de jugo, características que le han llevado a ocupar actualmente más del 80% de las tierras dedicadas al cultivo de esta especie **(Claridades, 1995).**

1.2.2 DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA

En México la producción está localizada en zonas tropicales y subtropicales. Principales productores: Veracruz, San Luis Potosí, mientras que otro importante porcentaje se distribuye en Tamaulipas, Sonora, Yucatán y Tabasco. Estos aportan el 92% de la producción nacional. Veracruz aporta el 43%. (Claridades, 1998).

1.3 TAXONOMIA DE LA MANDARINA

Familia: Rutáceas.

Género: Citrus.

Especie: Existen numerosas especies: *Citrus reticulata*, *C. Unshiu*, *C. reshni* (clementinas, satsumas y comunes).

Origen: China e Indochina.

Porte: Menor que el naranjo y algo más redondeado.

Hojas: Algo más estrechas y alargadas que las del naranjo, con alas rudimentarias.

Flores: Solas o en grupos de 3 ó 4.

Fruto: Hesperidio. Existen variedades muy semilladas y otras partenocárpicas. (Infoagro, 2002).

1.3.1 VARIEDADES

Satsumas: son las más precoces, con frutos de mayor tamaño y peor calidad gustativa, sin semilla. Destaca la variedad *Clausellina*.

Clementinas: más tardías, de menor tamaño, mejor calidad gustativa y semilladas. Destaca la variedad *Clememules*.

Otros tipos: ornamentales, mandarino Cleopatra, híbridos Nova, Fortune, etc.

Las variedades que se cultivan principalmente en el territorio nacional son Dancy, Reina y Mónica. La variedad Dancy, se emplea principalmente para la elaboración de jugos.

Algunas características importantes son: cáscara brillante anaranjada – rojiza, granulada, la pulpa jugosa anaranjada, tierna y perfumada. **(Infoagro, 2002).**

Los cultivos de estas variedades se desarrollan generalmente en climas tales como el tropical y subtropical, al igual que los demás cítricos.

1.3.2 DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA

Los productores principales en México son: Veracruz (44.4%), Nuevo León (27.2%), San Luis Potosí (19.2%), Tamaulipas, Oaxaca, Jalisco, Campeche, Querétaro, Tabasco, Morelos Hidalgo, Sonora, Sinaloa, Yucatán y Guerrero. **(Infoagro, 2002).**

1.4 TAXONOMÍA DE LA TORONJA

Familia: Rutáceas.

Género: Citrus.

Especie: *Citrus paradisi* Maef.

Origen: Cruzamiento natural de naranjo dulce y pomelo, que se produjo en Barbados (Indias Occidentales).

Porte: Reducido. Tronco corto. Brotes color púrpura. Escasa espinosidad.

Hojas: medio-grandes, algo vellosas, con alas grandes y olor típico.

Flores: grandes de color verdoso y estambres reducidos. **(Infoagro, 2002).**

En nuestro país la toronja hace su aparición en 1940, cuando se estableció la primera plantación comercial en el área de Loma Bonita, Oaxaca, expandiéndose a partir de los años sesenta a otros estados como Veracruz, Tamaulipas y Nuevo León.

1.4.1 VARIEDADES

En la actualidad, nuestro país produce una gran diversidad de variedades, las cuales están definidas tanto por el color de la pulpa, como por el uso que se hace de ellas. A partir de esto, es posible clasificarla en tres grupos:

a) Pulpa blanca. En éste se ubica a la variedad Marsh, que tiene una importante demanda en la agroindustria nacional, para la generación de jugos y preparaciones de bebidas. Puede ser consumida en fresco, sobre todo cuando la oferta de las otras variedades es baja.

b) Pulpa rosa. En la que se encuentra la variedad Ruby Red, la que comúnmente se consume en fresco. En los últimos años ha visto reducida su demanda en el mercado, sobre todo frente a las variedades de pulpa roja.

c) Pulpa roja y doble roja. Entre éstas se encuentran la Star Ruby y Río Red, que son consideradas las de mayor demanda en el mercado en fresco. La Río Red es posiblemente la variedad más joven, traída a nuestro país (Claridades, 1999).

Por otra parte, la enorme diversidad de climas con la que cuenta nuestro país, permite una oferta de toronja casi todo el año. Esto significa que se pueda abastecer a las diferentes plazas del mercado nacional, lo que no sucede en el caso de la exportación donde la temporalidad está bastante bien definida.

1.4.2 DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA.

En Veracruz, el principal estado productor de toronja del país, hay dos regiones abastecedoras de este cítrico. La zona norte, comprende los municipios de Gutiérrez Zamora y sobretodo Martínez de la Torre, cuya época de cosecha va de octubre a mayo. Mientras que la otra zona, es la del Puerto de Veracruz, en el área de Medellín, que cuenta con un clima y condiciones particulares, y le permite por un lado, cosechar producto de julio a diciembre, así como aprovechar que en este tiempo existen una entrada al mercado internacional.

Otras regiones del país, también importantes en la producción de toronja son Monte Morelos en Nuevo León y Ciudad Victoria en Tamaulipas, en donde la época de cosecha es similar a la de la región norte de Veracruz (octubre a mayo), así como la del estado de Michoacán que abastece de producto al mercado nacional durante mayo a julio, e incluso en algunas ocasiones se llega a extender hasta agosto.

En nuestro país los estados productores principales son: Veracruz (67.6%), Tamaulipas (9.8%), San Luis Potosí (7.8%), Yucatán (4.6%) y Oaxaca (3.0%) (Claridades, 1999).

1.5 MORFOLOGÍA DEL FRUTO.

En general las frutas cítricas esta compuesta por cuatro partes fundamentales: flavedo, albedo, endocarpio y semillas.

1.- El flavedo. Es el tejido exterior que está en contacto con la epidermis y en el abundan vesículas o celdillas que contienen lípidos, aceites esenciales y cloroplastos.

2.- El albedo. Se encuentra debajo del flavedo; Es un tejido esponjoso, blanco y celulósico, el cual constituye la mayor parte de la corteza. El mismo tejido forma el corazón o eje central del fruto y ambos contienen los vasos que proporcionan agua y materiales nutritivos.

3.- El endocarpio. Es la parte comestible de los cítricos, y está formado por los carpelos o gajos que a su vez, están compuestos por vesículas que contienen el zumo y están separados por las membranas intercapilares. Al prensar estas vesículas, se separa el zumo que contiene componentes solubles y partículas en suspensión tales como: Colorantes, tejidos que se encuentran desintegrados y pectinas. La pulpa y el bagazo quedan al extraer el zumo, contiene la mayor parte fibrosa y celulósica de las vesículas y por tal motivo, retienen una gran cantidad de zumo.

4.- Las semillas. De cubierta dura, lignocelulósica, contiene una importante cantidad de grasa. (Fennema, 1995).

La composición química en los cítricos es influenciada por varios factores como las condiciones de crecimiento, maduración, variedad y clima. (Baduí, 1996).

1.6 COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LOS CITRICOS.

Los cítricos contienen un gran número de compuestos de los más importantes son los siguientes:

Carbohidratos. En los cítricos, son los sólidos solubles que se encuentran en mayor proporción, con excepción del jugo de frutos ácidos como la lima y el limón. Los principales azúcares en los zumos de las frutas cítricas son: sacarosa, glucosa y fructosa, con menores cantidades de galactosa. (Hirano, 1970).

De los azúcares, el contenido varía dependiendo del cítrico y va desde el 1% para el limón a 9% para la naranja. Las proporciones aproximadas son, para glucosa 2.4%, fructosa 2.4% y sacarosa 4.7% (Fennema, 1995).

En naranjas maduras la cantidad de azúcares reductores es aproximadamente igual al de sacarosa, y las dos hexosas (fructosa y glucosa) presentan la misma proporción. De esta forma la relación fructosa, glucosa y sacarosa es 1:1:2. En la toronja la cantidad de sacarosa es menor, de la misma forma que en otras frutas ácidas; mientras que en las mandarinas maduras la cantidad de sacarosa es mayor (Ting y Rouseff, 1971).

Existen amplias diferencias en el contenido de azúcar de diferentes jugos de cítricos. Se sabe que en algunas variedades de naranjas el jugo contiene hasta un 15% carbohidratos totales, sin embargo, algunas naranjas de las Filipinas no tienen azúcar del todo (Braverman, 1949). En general los carbohidratos son los compuestos más abundantes, seguidos de los ácidos orgánicos.

Ácidos Orgánicos. Los frutos cítricos, se acostumbra clasificarlos como frutos ácidos, debido a que sus sólidos solubles están compuestos principalmente por ácidos orgánicos y

azúcares; esta acidez es provocada principalmente por, el ácido cítrico y el ácido málico, y en menor cantidad los ácidos: tartárico, benzoico, succínico, oxálico y fórmico.

El cítrico es el ácido principal del endocarpio de todas las frutas cítricas tomando en cuenta que entre los principales ácidos de la cáscara se tiene: al oxálico, málico y el malónico con algo de cítrico que en conjunto constituyen del 30 al 50% de los aniones presentes.

Los ácidos cítrico y málico, así como sus sales, forman el principal sistema de amortiguación de los jugos cítricos; con tal sistema los jugos pueden diluirse con agua en gran medida, mostrando cambios insignificantes en su pH, razón por la cual los jugos de acidez titulable variable pueden tener valores idénticos de pH.

Además de los azúcares y los ácidos orgánicos, existen en el zumo otros componentes solubles que suman alrededor del 15% del total de sólidos solubles. (Hirano, 1970).

Compuestos Nitrogenados. Éste tipo de compuestos forman entre el 0.1 y 0.2% del total, la mayor parte del nitrógeno proviene de los aminoácidos (40-70%); las proteínas, el nitrógeno inorgánico y algunas bases nitrogenadas integran el resto. (Badui, 1996).

Lípidos. La mayor parte de los lípidos se encuentran en las semillas y en cantidades menores se encuentran en la piel, vesículas y el jugo. En este último se encuentra en porcentajes alrededor del 0.07 al 0.1% y está formado por monoglicéridos diglicéridos, triglicéridos, ácidos grasos libres, fosfolípidos, glicolípidos y material insaponificable.

Enzimas. La pectinesterasa en frutas cítricas se encuentra en grandes concentraciones en las vesículas y disminuye en el flavedo y el albedo. Esta enzima provoca la coagulación de la materia suspendida en el jugo y la sedimentación rápida.

Aceites esenciales. El principal constituyente es la δ -limonina que es uno de los compuestos responsables en el sabor y el aroma de los cítricos.

Constituyentes volátiles. Estos compuestos son asociados con el sabor y el aroma de los cuales se han encontrado 54 alcoholes, 41 aldehídos, 16 cetonas, 16 ésteres, 51 hidrocarburos y 10 ácidos.

Pigmentos. El color está dado principalmente en naranjas y mandarinas por carotenos y xantofilas, la mayor parte de los carotenos se localizan en el flavedo (alrededor del 70%) y aumenta con la maduración al mismo tiempo que se degrada la clorofila.

Vitaminas. La principal vitamina encontrada es el ácido ascórbico o vitamina C, se encuentra en un intervalo de 0.36 a 0.6 mg/mL, a parte los cítricos contienen vitaminas del complejo B y provitamina A, estas vitaminas se encuentran principalmente alojadas en la periferia, debajo de la corteza en el espesor de la parte blanca (albedo).

Minerales. Tiene un alto contenido de potasio (100-350 mg/mL) y bajo contenido en sodio (1-10 mg/mL). El potasio forma el 60-70% del total de las cenizas. La mayor porción de calcio y magnesio se encuentra combinado con la pectina. (Fennema, 1995).

Otros compuestos importantes son los flavonoides que incluyen flavanonas, flavonas glucosiladas y flavonas metoxiladas.

1.6.1 FLAVONOIDES

Existe una gran variedad de compuestos naturales que forman parte de los cítricos, los cuales generalmente se distribuyen en diferentes concentraciones a través de los tejidos de los frutos. Entre estos compuestos se encuentran los flavonoides, los cuales han llamado poderosamente la atención dentro de las industrias procesadoras de los cítricos, principalmente aquellos que alteran las propiedades sensoriales y funcionales de los jugos, concentrados y néctares. (Kefford, 1970).

Dentro de estos flavonoides se encuentran las flavonas glucosiladas que son un grupo de flavonoides unidos a una o más moléculas de azúcar, en naranja y toronja se han reportado la existencia de varias flavonas glucosiladas las cuales se muestran en la tabla siguiente:

Nombre	Estructura Química	Encontrada en:
Narirutina	Naringenin-7-rutinósido	Mandarina, Naranja y Toronja
Naringina	Naringenin-7-neohesperidósido	Toronja
Hesperedina	Hesperetin-7- rutinósido	Mandarina, Naranja y Toronja
Neohesperedina	Hesperetin-7- neohesperidósido	Mandarina, Naranja y Toronja
Poncirina	Isosakuranetin-7-neohesperidósido	Toronja
Didimina	Isosakuranctin-7- rutinósido	Naranja

La naranja contiene narirutina, hesperedina, neohesperedina y didimina. La hesperedina es la flavona glucosilada que se encuentra en mayor cantidad, es insípida y después de su hidrólisis se obtienen como productos hesperitina, ramnosa y glucosa.

El contenido de hesperedina se ve influenciado por el estado de madurez y variedad de naranja. Por ejemplo el jugo de naranja valencia de Brasil contiene entre 219-321 ppm, mientras que para la naranja de la Florida el contenido se encuentra entre 335-351 ppm. Si la fruta es sometida a extracciones excesivas o lavado de pulpa puede aumentar su concentración a 1089-1200 ppm. (Pupin, 1998).

En la toronja, las flavonas glucosiladas que se han encontrado son narirutina, naringina, neohesperedina, porcirina y algunas especies contienen neohesperedina. La naringina es la flavona que predomina.

El contenido de naringina en el jugo de toronja es muy variable se dice que cuando el nivel de concentración se encuentra por arriba de 700 ppm el sabor es muy amargo, y esto ocurre cuando la fruta se somete a una excesiva extracción mecánica para tratar de obtener altos rendimientos de jugo (Fennema, 1995).

En las mandarinas se han identificado las siguientes flavonas: narirutina, hesperedina, neohesperedina, tangerina y sinensetina. La hesperedina, predominan en limones y mandarinas. Cuando se presenta en altas concentraciones se forma un flóculo que precipita en los jugos como resultado de la cristalización durante el almacenamiento (Rouseff, 1990).

En general se considera que el contenido de flavonoides en los cítricos disminuye con la maduración, esto no ha sido demostrado claramente. Huet en 1962, demostró que el contenido de flavonoides en naranjas y toronjas disminuye en ciertas temporadas mientras que en otra se mantiene constante. Por otro lado se encontró que el contenido de neohesperedina en la naranja ácida y de porcirina en toronja, desaparece con la maduración, mientras que la naringina permanece constante. (Kefford, 1970).

En otros estudios se sugirió que la disminución de la concentración de un flavonoide durante la maduración se debía a un cambio en la estructura química mas que a su degradación. (Badui, 1996).

Posteriormente Hagen y colaboradores en 1962, sugirieron que la disminución de la concentración de la naringina se debió adicionalmente a un efecto de dilución al aumentar el tamaño de la fruta, ya que la concentración relativa de los diferentes flavonoides cuantificados permaneció constante durante la maduración (Kefford, 1970).

Las flavonas glucosiladas (FGs) se utilizan extensamente para la diferenciación de la especie y las variedades de fruta cítrica. Sin embargo, en algunos casos, para las mandarinas tales como la variedad *C. reticulata Ortanique* o naranjas tales como variedad *C. sinensis Salustiana*, la diferenciación cromatográfica basada solamente en el contenido de FGs es difícil.

Los análisis estadísticos multidimensionales son útiles para la diferenciación de estas variedades de la fruta cítrica. Las flavononas Polimetoxiladas (PMFs), que están situados principalmente en la parte del flavedo de la fruta, se utilizan extensamente en el control de calidad para la diferenciación de la naranja (*C. sinensis*) y mandarina (*C. reticulata*), puesto que un poco de aceite esencial se encuentra siempre en jugo de la fruta cítrica durante la producción

industrial del jugo. Se han desarrollado métodos cuantitativos para la determinación de flavonoides (FGs y PMFs), tomando en cuenta las diferencias entre la concentración de flavonas glucosiladas (FGs) y flavononas Polimetoxiladas (PMFs) por un lado, y por otra parte, las diferencias estructurales entre estas dos familias de compuestos. Es posible, que con estos dos métodos, se puede cuantificar cantidades bajas de adición del jugo en algunos casos de la especie y de la variedad. Sin embargo, la desventaja de estos métodos es que son específicos para una familia de compuestos.

Los perfiles polifenólicos ahora son utilizados por muchos laboratorios para el control de calidad, que representa una huella digital del jugo de la fruta cítrica y se puede utilizar para caracterizar variedades o sustancias agregadas, tales como lavado de pulpa. Esta técnica se puede utilizar en la cromatografía líquida (LC) detectando los compuestos flavonoides a 280 nm. (Pierre, 1998).

1.7 METABOLISMO DE LOS FRUTOS CÍTRICOS.

Cuando una fruta se separa de la planta, no recibe más agua ni nutrientes y la fotosíntesis cesa. Sin embargo, prosigue la respiración del tejido, así como otras diversas reacciones enzimáticas, entre las que se incluyen la síntesis de pigmentos e incluso de enzimas. Las principales reacciones que intervienen son las que acompañan a la respiración.

La respiración de los tejidos vegetales consiste en la oxidación de los hidratos de carbono; por tanto, origina una pérdida de materia seca y también frecuentemente una disminución del sabor azucarado.

Se puede considerar la vida de una fruta como formada por cuatro fases; división celular (floración), aumento del volumen de las células (crecimiento), maduración, vejez y muerte. En algunas frutas como los cítricos, esas fases son bastante lentas, debido, sin duda, a su baja actividad respiratoria.

Entre las considerables diferencias que existen para las diversas frutas, hay que citar las que conciernen a la actividad respiratoria, el lapso de maduración y vejez, el comportamiento después de la cosecha cuando se recogen antes de la maduración, entre otras. Tomando en cuenta estas características, se pueden dividir en dos grupos:

El primero (frutas climatéricas), que presentan un aumento transitorio de la actividad respiratoria, llamado "pico climatérico", que en general, coincide con las principales modificaciones de color, textura y sabor característico de la maduración. El pico climatérico surge en la planta o bien durante la maduración, después de la cosecha y constituye un medio cómodo, aunque incompleto, para valorar el estado de maduración de diversas frutas; no se producen modificaciones ambientales, pues se debe a reacciones endógenas. El pico climatérico condiciona la presencia de oxígeno como indispensable para que se produzca la maduración.

Las frutas del segundo grupo (frutas no climatéricas), especialmente los cítricos, no presentan pico climatérico, su respiración progresa más lentamente y, por lo general, se les deja madurar sobre la planta. (Jcar, 1976)

Las frutas climatéricas y no climatéricas reaccionan de modo diferente ante el etileno exógeno. En las frutas climatéricas inmaduras se produce un aumento en el metabolismo, dependiente de la dosis de etileno, y del incremento de la respiración. En las frutas no climatéricas, por el contrario, en cada estadio de la maduración se produce un aumento de la respiración, que es dependiente de la dosis de etileno. (Belitz, 1997)

1.7.1 MODIFICACIONES BIOQUÍMICAS.

Entre las principales reacciones bioquímicas de la maduración, están las modificaciones de los constituyentes glucosídicos. En general, el contenido de hexosas y el sabor azucarado aumentan en el curso de la maduración, a pesar del consumo de una parte, por oxidación respiratoria. Esos azúcares provienen de la hidrólisis de hemicelulosas de paredes celulares.

Los azúcares constituyen fundamentalmente el “residuo seco soluble” de los zumos de frutas, lo que permite valorar su cantidad por refractometría.

Por lo general, durante la maduración se cree que hay un descenso de la acidez y la cantidad de carbohidratos comienza a incrementarse, de esta forma la relación azúcares/ácidos aumenta, durante la maduración de la mayor parte de las frutas; en el caso de la naranja, toronja, que se recogen maduros, ese fenómeno continúa durante el almacenamiento.

Las variaciones en contenido de ácido ascórbico no presentan la misma regularidad, durante la maduración, hay una síntesis activa de vitamina C a partir de glucosa.

Las sustancias pécticas resultan profundamente modificadas durante el crecimiento y maduración de frutas. La protopectina, insoluble, se transforma en pectina soluble y esta posteriormente se demetoxila y depolimeriza parcialmente debido, en parte, a una síntesis acelerada de pectinasas. (Jear, 1976) Las pectinas solubles unen polifenoles y hacen desaparecer su efecto astringente, contribuyendo al sabor suave de las frutas maduras. (Belitz, 1997)

Los pigmentos también sufren durante la maduración considerables modificaciones. Por lo general, el pase de verde a amarillo en los cítricos, corresponden a la aparición de los pigmentos carotenoides, debido a la destrucción de la clorofila. Al mismo tiempo hay frecuentemente una síntesis de carotenoides o de pigmentos antocianos.

La maduración origina un gran número de compuestos orgánicos volátiles, que, en parte, son responsables del aroma de las frutas, estos compuestos sólo representan una baja fracción de la emisión volátil de las frutas; en efecto, el carbono desprendido bajo esta forma sólo representa del 0.1 al 1 % y además está constituido por un 80% de etileno desprovisto de olor.

Entre los compuestos no volátiles que contribuyen al sabor de las frutas, hay que mencionar preferentemente los flavonoides, constituyentes fenólicos astringentes, que desaparecen, en parte, durante la maduración. (Jear, 1976)

Los cítricos pierden el color verde rápidamente por exposición a unas pocas ppm de etileno a una temperatura aproximada de 25°C, y con elevada humedad. El etileno acelera el envejecimiento de cítricos, por lo que se puede prolongar su almacenamiento si se elimina el etileno de la atmósfera.

Se puede decir que cuando una fruta madura suceden a la vez varios eventos bioquímicos causados por enzimas que transforman las moléculas complejas a otras más sencillas. La permeabilidad de las paredes y membranas celulares aumenta. Las células incrementan su respiración, consumen más oxígeno y producen más dióxido de carbono. Los contenidos de almidón y ácidos disminuyen mientras aumenta el contenido de azúcares. Por ejemplo durante la conversión bioquímica que tiene lugar en frutas con alto contenido de almidón se convierte un 25% de almidón y 1% de azúcar en 20% de azúcar y 1% de almidón, perdiéndose un 5% como energía utilizada en las reacciones bioquímicas.

Las enzimas pectínicas ablandan la textura de las frutas y les hacen desarrollar sus aromas característicos. Corrientemente los colores cambian del verde al rojo, amarillo o púrpura; esto tiene lugar al degradarse las moléculas de clorofila lo que enmascara a los otros colores. También se sintetizan algunos colores y al madurar el color de la fruta va adquiriendo el aspecto característico de fruto maduro.

1.8 NORMALIZACIÓN (NORMATIVIDAD). ENTRE LOS ORGANISMOS QUE REGULAN LAS ESPECIFICACIONES PARA JUGOS CÍTRICOS.

Actualmente se encuentran en el mercado una gran variedad de marcas de jugos, sin embargo, las normas para jugos de frutas no poseen los elementos necesarios para comprobar la autenticidad de la materia prima, ya que todos cumplen fácilmente con las especificaciones establecidas para dichos jugos, por lo que es muy fácil poder adulterar la composición de los productos, como podría ser por adición de azúcares, ácidos orgánicos y mezclas de frutas, entre otros.

En la siguiente tabla se muestran una comparación de los requerimientos generales, que se piden en Normas Mexicanas comparándolas con las que se piden en el *Codex Alimentarius*, en la elaboración de jugos.

<p><i>Normas NMX-F-118-1984</i> ALIMENTOS - BEBIDAS NO ALCOHOLICAS - JUGO DE NARANJA ENVASADO</p>	<p>Codex Stan 45-1981 NORMA DEL CODEX PARA EL ZUMO (JUGO) DE NARANJA (NORMA MUNDIAL)</p>
<p align="center">ESPECIFICACIONES</p> <p><u>Relación entre el contenido de sólidos disueltos v acidez titulable</u></p> <p align="center">Mínimo 12.0 Máximo 20.0</p> <p><u>°Brix</u></p> <p align="center">Mínimo 10.5 Máximo 13.5</p> <p><u>Acidez titulable</u> Expresado como ácido cítrico anhidro g/100</p> <p align="center">Mínimo 0.65 Máximo 1.85</p> <p><u>pH</u></p> <p align="center">Mínimo 3 Máximo 4</p> <p><u>Densidad relativa 293k (20°C)</u></p> <p align="center">Mínimo 1.04 Máximo 1.05</p> <p><u>Ácidos orgánicos</u> Cítrico, málico, tartárico y otros permitidos por la Secretaría de Salubridad y Asistencia, para ajustar la relación de sólidos solubles y acidez titulable.</p>	<p align="center">ESPECIFICACIONES</p> <p><u>Sólidos solubles</u> El contenido de sólidos de naranja solubles del zumo (jugo) de naranja (con exclusión de los azúcares añadidos) no será menor del 10% m/m determinado con refractómetro a 20°C, sin corregir la acidez, y expresado en °Brix en las Escalas Internacionales de Sacarosa. Cuando el zumo se haya obtenido empleando zumo concentrado con la adición de agua, el contenido de sólidos solubles del zumo de naranja no será menor del 11% m/m, determinado con refractómetro a 20°C, sin corregir la acidez, y expresado en °Brix en las Escalas Internacionales de Sacarosa.</p> <p><u>Azúcares</u> Podrán añadirse uno o más de los azúcares sólidos definidos por la Comisión del <i>Codex Alimentarius</i>. La cantidad total de azúcares añadida no excederá de 50 g/kg.</p> <p><u>Contenido de etanol</u> El contenido de etanol no excederá de 3 g/kg.</p> <p><u>Ácidos volátiles</u> Sólo se permiten trazas de ácidos volátiles.</p> <p><u>Aceites esenciales</u> El contenido de aceites esenciales no excederá de 0,4 mL/kg.</p>

PROPIEDADES ORGANOLÉPTICAS	PROPIEDADES ORGANOLÉPTICAS
<p><u>Color:</u> Característico, semejante a la variedad de naranja empleada.</p> <p><u>Olor:</u> Característico del jugo recién obtenido del fruto fresco y maduro.</p> <p><u>Sabor:</u> Característico del producto, sin sabores extraños.</p>	<p>El producto deberá tener el color y sabor característicos del zumo (jugo) de naranja.</p> <p>Se permite la restitución de los componentes volátiles naturales del zumo de naranja a cualquier zumo de naranja del que se hayan extraído dichos componentes volátiles naturales del zumo de naranja.</p>

<p>NORMA MEXICANA NMX-F-018-1968 CALIDAD PARA JUGO DE TORONJA</p>	<p>Codex Stan 46-1981 NORMA DEL CODEX PARA EL ZUMO (JUGO) DE POMELO (NORMA MUNDIAL)</p>
<p>DEFINICION</p> <p>Para los efectos de esta norma se entiende por jugo de toronja, el líquido obtenido de la expresión de toronjas (<i>Citrus máxima</i>, y/o <i>Citrus paradisi</i>).</p>	<p>DEFINICION</p> <p>Zumo (jugo) sin fermentar, pero fermentable, destinado al consumo directo, obtenido por procedimiento mecánico, del endocarpio de pomelos (<i>Citrus paradisi</i> Macfayden), maduros y en buen estado, conservado por medios físicos exclusivamente. El zumo podrá haber sido concentrado y luego reconstituido con agua adecuada para conservar los factores esenciales de composición y calidad.</p>

<p style="text-align: center;">ESPECIFICACIONES</p> <p><u>Densidad relativa 293k (20°C)</u> 1.048</p> <p><u>pH</u> min 3 - max 4</p> <p><u>Acidez titulable expresado como ácido cítrico anhidro g/100</u> min 140.54 - max 249.84</p> <p><u>°Brix</u> min 7.00 - max 25.00</p> <p><u>Relación entre el contenido de sólidos disueltos y acidez titulable</u> Máximo 250.00 Mínimo 10.00</p>	<p style="text-align: center;">ESPECIFICACIONES</p> <p>Sólidos solubles El contenido de sólidos de pomelo solubles del zumo (jugo) de pomelo (con exclusión de los azúcares añadidos) no será menor del 9% m/m, determinado con refractómetro a 20°C, sin corregir la acidez, y expresado en °Brix en las Escalas Internacionales de Sacarosa.</p> <p>Azúcares Podrán añadirse uno o más de los azúcares sólidos definidos por la Comisión del <i>Codex Alimentarius</i>. La cantidad total de azúcares añadida no excederá de 50 g/kg.</p> <p>Contenido de etanol El contenido de etanol no excederá de 3 g/kg.</p> <p>Aceites esenciales El contenido de aceites esenciales no excederá de 0,3 ml/kg.</p>
<p>PROPIEDADES ORGANOLÉPTICAS</p> <p>Color Brillante, característico, semejante al del jugo recién extraído del fruto maduro y de la variedad de toronja empleada.</p> <p>Olor Aromático, distintivo, semejante al del jugo de toronja recién extraído</p> <p>Sabor Característico semejante al del jugo recién extradito del fruto maduro, no debe presentar gusto a cocido o de oxidación o de terpenos ni cualquier extraño u objetable.</p> <p>Apariencia Debe ser muy buena, podría tener ligera tendencia a separarse en dos capas y deberá estar exento de corteza, semillas y sedimento.</p>	<p>PROPIEDADES ORGANOLÉPTICAS</p> <p>El producto deberá tener el color, aroma y sabor característicos del zumo (jugo) de pomelo.</p> <p>Se permite la restitución de los componentes volátiles naturales del zumo de pomelo a cualquier zumo de pomelo del que se extraigan dichos componentes volátiles naturales del zumo de pomelo.</p>

INGREDIENTES OPCIONALES	INGREDIENTES OPCIONALES
Ningún ingrediente adicional	Se permite la adición de concentrados al zumo. Sólo podrán emplearse concentrados de pomelo.

Por lo general se acepta que la calidad de las toronjas varía de una estación a otra. Sin embargo, con el fin de normalizar la calidad del jugo, el Departamento de Cítricos del Estado de Florida en Estados Unidos de Norteamérica, estableció una regulación para evitar que los niveles de naringina y limonin causen un sabor excesivamente amargo que lo haga inaceptable al paladar.

La regulación solo se aplica del 1° de Agosto al 1° de Diciembre de cada año, por lo que afecta a un pequeño porcentaje del total de fruta procesada anualmente. La regulación establece que un jugo como producto enlatado deberá reunir por lo menos uno de los siguientes requisitos: contener menos de 600 ppm de naringina o bien contener menos de 5 ppm de limonina medida por técnicas de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) (Jonson y Chandler, 1982).

1.9 ANÁLISIS ESPECTROFOTOMÉTRICO.

Uno de los análisis más rápidos que se le pueden practicar a un jugo de fruta es la medición de la absorción UV; este nos proporciona un perfil de los compuestos que el jugo contenga. Entre las investigaciones realizadas con este método se puede incluir los efectos de variaciones de proceso en jugo de uva, la determinación del contenido de hesperidina en jugos y extractos de cáscara de naranja, el análisis espectrofotométrico de carotenos y carotenoides extraídos de muestras comerciales de concentrados de jugo congelado de naranja provenientes de Florida, la determinación del contenido de polifenoles en jugo de limón, las propiedades espectrales de jugo de limón bajo condiciones adversas de almacenamiento (Petrus y Nagy, 1983).

Los barridos espectrofotométricos en la zona visible y ultravioleta pueden ayudar a identificar algunas adulteraciones como son la dilución de jugo y la adición de conservadores como sorbato; y en algunos casos se puede complementar el estudio con un análisis sensorial de las muestras, (Petrus et al, 1984). También es útil para identificar aquellos jugos en donde se ha añadido concentrado congelado a partir de un lavado de pulpa, ya que los perfiles de este tipo de productos son muy característicos y prácticamente inconfundibles con los de un jugo natural de primera extracción.

Existen muchas variables asociadas con el crecimiento y proceso de los frutos cítricos, lo que dificulta la documentación exacta de la naturaleza física y química de los productos cítricos, sin embargo el análisis espectrofotométrico ha sido probado como buena herramienta para definir muchas de las características fisicoquímicas de los productos.

Petrus y Dougherty, en 1973, estudiaron los cambios durante el proceso y maduración de jugos de piña y naranja Valencia. En 1983, junto con Nagy, identificaron picos de inflexión (en un espectro realizado a jugo de naranja Valencia procedente de Florida) en longitudes de onda de 465 nm, 443 nm y 425 nm en la región visible; y de 325 nm, 280 nm y 245nm en la región ultravioleta. Los registros en la región visible, se deben principalmente a la presencia de carotenoides, los cuales se relacionaron con las notas obtenidas en un colorímetro Hunter usado por la industria en Florida para determinar las notas de color de los jugos de naranja. En un estudio de características de color de jugos de naranja, Petrus y Dougherty, en 1973, notaron que la madurez de la fruta incrementa la absorbancia en 443 nm.

Los estudios realizados en la variación de las proporciones de cada uno de los compuestos analizados por esta técnica en jugo de naranja Valencia han mostrado que la cantidad de carotenoides aumenta con la maduración, sin ser afectada por la presión de extracción del jugo. Las presiones altas de extracción causan una mayor incorporación de membranas capilares y de albedo al jugo obtenido del cítrico, entre mayor sean las concentraciones de flavonoides y los principios de acidez en el jugo, la calidad de este se ve reducida, cuando proporciones excesivas de estos constituyentes son procesadas junto con el

producto. Las soluciones alcohólicas de las membranas capilares y albedo presentan grandes absorbancias a los 325 y 280 nm (Petrus y Dougherty, 1973).

En la región ultravioleta de un espectro (245 nm) la absorbancia se debe a la presencia de ácido ascórbico, a 280 nm se perciben los flavonoides totales y en 325 nm absorben los polifenoles. Sin embargo, la mayoría de los flavonoides tienen su máximo de absorción en longitudes de onda diferentes a 280 nm (Petrus y Nagy, 1983).

1.10 ANÁLISIS DE CARBOHIDRATOS.

Durante el tratamiento y almacenamiento de los jugos, los azúcares se ven afectados, principalmente la sacarosa este disacárido se va hidrolizando en sus monómeros, glucosa y fructosa debido a las condiciones de temperatura a las cuales es tratado el jugo del cítrico y por la presencia de los ácidos orgánicos del propio fruto (Hirano, 1970).

Las normas mexicanas aceptan que sean ajustados las cantidades de azúcares, por lo que pueden añadirse uno o más de los azúcares sólidos definidos por la Comisión del *Codex Alimentarius*. La cantidad total de azúcares añadida no excederá de 50 g/Kg.

No obstante es evidente, que la presencia de los carbohidratos no resulta determinante para evaluar la autenticidad del jugo, debido a que pueden ser adicionados fácilmente. Sin embargo, la caracterización de ellos es importante por que indican la presencia de éstos en los jugos, (Doner, 1987)

Por lo que el análisis de carbohidratos ha sido una práctica común en la industria de los alimentos y bebidas por muchos años, y la cuantificación de azúcares en frutas y jugos de frutas es de especial interés. Las diferencias geográficas, de temporada, de variedad y de madurez pueden afectar enormemente la composición de azúcares de algunas frutas. Por otro lado, hay

frutas que no son muy influenciadas por estos factores y muestran patrones de distribución de carbohidratos muy característicos, los que pueden ser usados para determinar la autenticidad de los jugos y concentrados (Wolstrad y Shallenberger, 1981).

1.11 ANÁLISIS DE LA RELACIÓN DE ISÓTOPOS ESTABLES DE CARBONO 13.

Una de las prácticas fraudulentas más comunes en la elaboración de los jugos de frutas es la adición de azúcares. La mejor manera de poder detectar adulteraciones en jugos y néctares es el uso combinado de análisis isotópico y no isotópicos. Estos últimos se pueden clasificar en aquellos que se basan en la composición de ciertos constituyentes característicos para los cuales se han definido intervalos típicos para muestras auténticas (Krueger et al, 1992). El otro tipo de análisis está basado en el perfil de oligosacáridos.

Ya sea por análisis por cromatografía de líquidos o por cromatografía de gases el análisis de oligosacáridos permite la detección de endulzantes a un nivel del 10% de los azúcares totales. Sin embargo, este análisis no puede detectar el origen de los azúcares, por lo que no todos los tipos de endulcorantes son detectados, por lo tanto el azúcar invertida pura de caña no puede ser detectada de la misma forma que la adición de jarabes fructosados de maíz. Los intervalos del isótopo de carbono proveen importantes métodos de diferenciación entre los derivados del C3 (como la remolacha y los frutos cítricos) y los derivados del C4 (como la caña de azúcar) (González et al, 1999).

Todos los compuestos orgánicos que forman a los seres vivos contienen el elemento químico llamado carbono. En la naturaleza existen dos átomos de carbono estables cuya única diferencia entre ellos es su masa atómica, todas las demás propiedades químicas en su mayoría son idénticas. A estos átomos se les conoce con el nombre de isótopos y se representan como carbono-13 (^{13}C) y carbono-12 (^{12}C).

La proporción de isótopos estables ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) contenidos en los alimentos, son típicos de su origen o de su procedencia y en menor escala de los posteriores procesos industriales que sufren. En general la proporción isotópica de origen se mantiene, por lo cual permite identificar su fuente. Este método es aplicable a los alimentos porque el intervalo de la relación ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) de material derivado de plantas refleja la vía fotosintética en la fuente de la planta. Las plantas se clasifican en tres grandes grupos dependiendo del proceso fotosintético que utilizan para fijar el CO_2 atmosférico. Plantas tipo C_3 utilizan el ciclo de Calvin, las plantas tipo C_4 siguen el ciclo de Hatch Slack y las plantas denominadas CAM (Crasulacean Acid Metabolism). El ciclo de Calvin es empleado por plantas tipo C_3 , a este ciclo pertenecen los frutales, entre otros, manzana, pera, durazno, plátano, uva, mango, guayaba, cítricos como naranja, toronja, mandarina y limón. (Cienfuegos, 1994).

La mayoría de las familias de plantas utilizan el ciclo fotosintético de Calvin (C_3) y poseen valores de $\delta^{13}\text{C}$ de -22 a 33 partes por trillón (ppt); las plantas que utilizan el ciclo de Hatch-Slack (C_4 , como la caña de azúcar y el maíz) tienen valores de $\delta^{13}\text{C}$ de entre -10 a -20 ppt. (Bender, 1971; Smith y Epstein, 1971. Doner y Bills, 1981).

El grado de mezcla entre azúcares provenientes de plantas C_3 con plantas C_4 (azúcares exógenos) se puede estimar mediante una proporción lineal construida tomando como extremos la composición isotópica de $\delta^{13}\text{C}$ de los edulcorantes exógenos y la composición isotópica de $\delta^{13}\text{C}$ de la variedad en estudio. (Cienfuegos, 1994)

Las variaciones en la relación $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ para azúcares de diferentes plantas se deben a combinaciones de fraccionamientos ambientales y bioquímicos que suceden en la hoja de la planta durante la fotosíntesis (O'Leary, 1993). En primer lugar, la difusión del dióxido de carbono hacia el sitio de carboxilación afectada por el hecho de que las plantas varían la apertura de sus estomas para controlar la pérdida de agua.

Esencialmente, la discriminación de isótopos contra ^{13}C está relacionada con la disponibilidad de agua, de tal forma que una alta disponibilidad de agua implica una disminución proporcional de carbono 13. En segundo lugar, la reacción de carboxilación, por sí misma,

contribuye a producir diferencias entre los isótopos, porque se usan diferentes enzimas (ribulosa -1, 5- bifosfatocarboxilasa / oxigenasa y fosfoenolpiruvatocarboxilasa) en naranja y caña de azúcar o maíz, respectivamente, para fijar el dióxido de carbono (Farquhar y Lloyd, 1993).

El descubrimiento de una correlación entre el contenido de $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ en azúcares y otras subfracciones del jugo, ha conducido a un mejoramiento significativo en la capacidad de diagnóstico del análisis de la relación de isótopos estables de carbono (ARIEC). La diferencia entre valores de la relación $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ de carbohidratos totales e incluso pulpa o ácidos orgánicos es mayormente consistente con los azúcares que tienen un poco menos del isótopo mas pesado que otras subfracciones (Association Interprofessionnelle de Jus et Nectars de la CEE (AIJN), 1997; Jamin et al, 1998; Rossmann, et al 1995). La adición de azúcar de caña o de maíz afectará esta diferencia, haciendo al análisis útil para una correlación interna en países donde la adición de ácido cítrico y/o pulpa no está permitido (Simpkins et al, 1999).

Metrología Isotópica.

$$\delta^{13}\text{C}_{\text{VPDB}} \text{ y } \delta^{18}\text{O}_{\text{VPDB}}$$

La unidad de reporte $\delta^{13}\text{C}_{\text{VPDB}}$ es la forma para expresar las relaciones isotópicas de carbono $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$. La unidad de reporte $\delta^{18}\text{O}_{\text{VPDB}}$ es la forma para expresar las relaciones isotópicas de $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ del CO_2 , ambas obtenidas mediante Espectrometría de Masas de Isótopos Estables. Estas relaciones isotópicas se determinan simultáneamente comparando una muestra de CO_2 con respecto a las relaciones isotópicas de carbono $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ y oxígeno $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ de un CO_2 proveniente de una reacción ácida con el patrón internacional PDB (Pee Dee Belemnite Limestone) el cual es un carbonato de origen marino de la formación cretácica Peedee en Carolina del Sur (Craig, 1957).

La unidad de reporte $\delta^{13}\text{C}_{\text{VPDB}}$ se calcula de acuerdo a la siguiente expresión:

$$\delta^{13}\text{C} = \left[\frac{(^{13}\text{C}/^{12}\text{C})_{\text{Muestra}}}{(^{13}\text{C}/^{12}\text{C})_{\text{VPDB}}} - 1 \right] \cdot 10^3$$

La unidad de reporte $\delta^{18}\text{O}_{\text{VPDB}}$ se calcula de acuerdo a la siguiente expresión:

$$\delta^{18}\text{O} = \left[\frac{(^{18}\text{O}/^{16}\text{O})_{\text{Muestra}}}{(^{18}\text{O}/^{16}\text{O})_{\text{VPDB}}} - 1 \right] \cdot 10^3$$

Donde:

$\delta^{13}\text{C}$ está expresada por los cocientes de los isótopos estables ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) de la muestra y el patrón internacional VPDB y de manera similar la $\delta^{18}\text{O}$ está expresada por los cocientes de los isótopos estables ($^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$) de la muestra y el patrón internacional VPDB. Morales (1970) introdujo el uso de triple colector, y Mook, y Grootes (1973) corrigieron los valores absolutos de PDB con otros patrones (NBS-19). Los valores que se utilizan en los programas de operación de los espectrómetros de masas de isótopos estables con triple colector para las masas 44, 45 y 46 del CO_2 , son: $[^{13}\text{C}/^{12}\text{C}]_{\text{PDB}} = 0,0112372$, $[^{17}\text{O}/^{16}\text{O}]_{\text{PDB}} = 0,000380$ y $[^{18}\text{O}/^{16}\text{O}]_{\text{PDB}} = 0,0020790$

En agosto 1995, la Comisión en Pesos Atómicos y Abundancias Isotópicas de la International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC) recomendó que los resultados isotópicos deben expresarse en escalas definidas en términos de la existencia de materiales de referencia de distribución internacional. Por lo cual el valor de la relación $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ($\delta^{13}\text{C}$) y $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ ($\delta^{18}\text{O}$) de carbonatos puede expresarse en partes por mil ‰, relativos a VPDB (Vienna

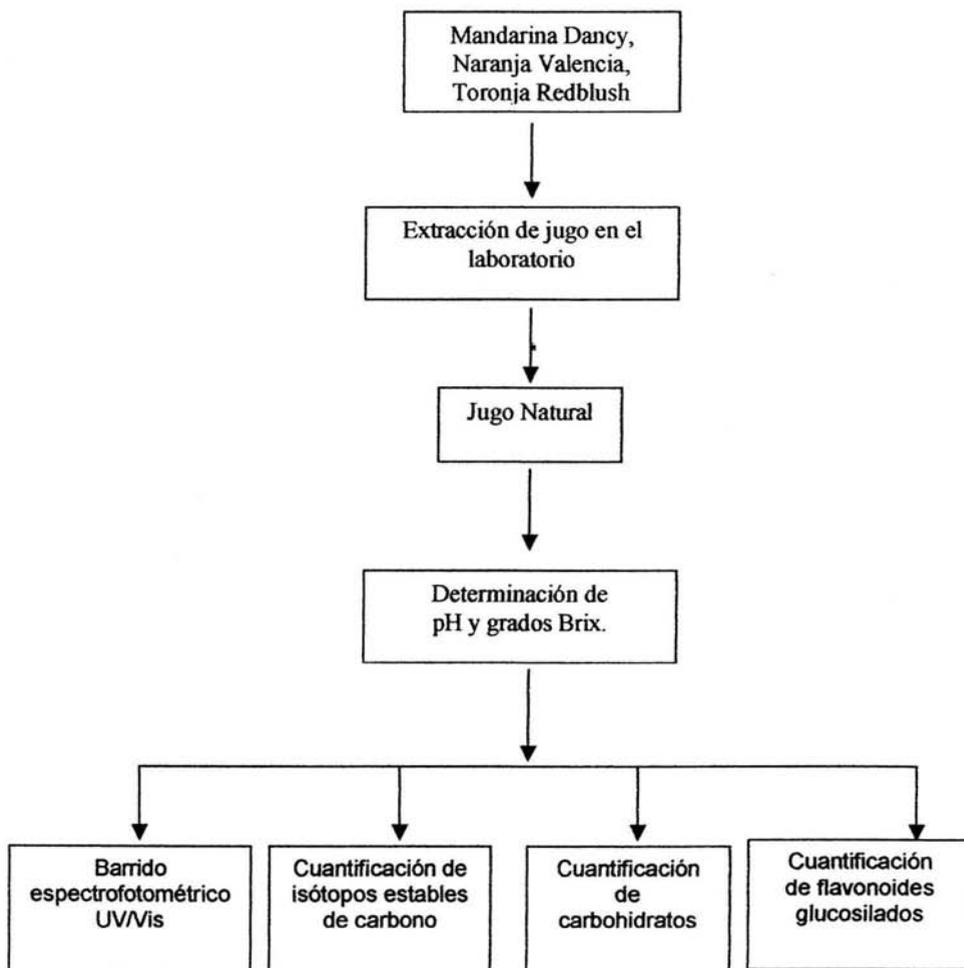
Pee Dee Belemnite) asignando el valor de $\delta^{13}\text{C}_{\text{VPDB}} = +1,95 \text{ ‰}$ y $\delta^{18}\text{O}_{\text{VPDB}} = -2,20 \text{ ‰}$ al RM8544 NBS-19 (calcita), ya que se agotó el material de referencia PDB.

Así mismo, se recomendó el uso en forma continua de un gas CO_2 de pureza 99,995 % como patrón de trabajo para uso interno en el laboratorio. El cual deberá de ser calibrado para carbono y oxígeno, usando la escala VPDB. Para efectos de calibración se recomiendan otros materiales de referencia como lo son: RM 8543 (NBS-18), RM 8544 T.S. (NBS-19). Ambos materiales de referencia son distribuidos internacionalmente por el National Institute of Standards and Technology (NIST) y la International Atomic Energy Agency (IAEA). El espectrómetro de masas de isótopos estables reporta los resultados de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{18}\text{O}$ frente el patrón internacional VPDB.

CAPITULO II. DESARROLLO EXPERIMENTAL.

2.1 DIAGRAMA GENERAL DE LA INVESTIGACIÓN.

A continuación se presenta el esquema seguido para el análisis de los jugos de fruta.



2.1.1 OBTENCIÓN Y EXTRACCIÓN DE LAS MUESTRAS.

Se seleccionaron 5 lotes de naranja Valencia, 5 lotes de mandarina Dancy y 5 lotes de toronja Redblush en diferentes épocas de cosecha con el fin de observar posibles diferencias en los intervalos de cada componente analizado. La fruta fue seleccionada de tal forma que cada lote sea homogéneo y tuviera una madurez adecuada para poder llevar a cabo el estudio. Cada lote tenía un peso de entre uno y un kilo y medio.

Primero, se procedió a lavar perfectamente la fruta, una vez limpias y secas, se partieron con un cuchillo y se extrajo el jugo.

La extracción del jugo se realizó manualmente, después de haber lavado y secado cada pieza. Posteriormente se filtró por un colador plástico para remover semillas y gajos. El jugo fue almacenado en envases de plástico de 250 y 500 mL. Los volúmenes de cada lote varían entre los 450 y 600 mL, y fueron almacenados en congelación hasta su análisis.

2.1.2 DETERMINACIÓN DE pH Y GRADOS BRUX (° BRUX)

Para la determinación de pH, se tomó una alícuota de 10 mL del jugo recién extraído y se empleó papel indicador ácido-base (Macherey-Nagel, pH-six colour fixer indicator sticks), que presenta coloraciones definidas dependiendo del pH, el color producido se comparó con la escala para conocer el valor de pH del jugo.

La determinación de grados Brix (°Brix), se realizó tomando directamente del jugo recién extraído, una gota con una pipeta Pasteur y colocándola en un refractómetro (Atago, 0-32 % a 20 °C, Hand refractometer), se leyó directamente de la escala los grados Brix que contenía el jugo.

2.2 BARRIDO ESPECTROFOTOMÉTRICO.

Esta determinación es la usada por Petrus y Attaway (1980).

Se toman 5 mL de jugo y se añade metanol hasta el aforo de un matraz de 50 mL. Se deja reposar una noche y se centrifuga a 2500 rpm durante 5 minutos, posteriormente se filtra por papel filtro Whatman de filtración media (#4). Posteriormente se vierte el sobrenadante en celdas espectrofotométricas de cuarzo y se realizan los barridos, en un espectrofotómetro UV/Vis Beckman DU-65 Spectrophotometer, en un intervalo de barrido 200-700 nm y velocidad de barrido de 500 nm/min.

2.3 CUANTIFICACIÓN DE CARBOHIDRATOS.

Para realizar el análisis, primeramente se toman 10 mL de jugo y se les añade metanol hasta llegar al aforo de un matraz de 50 mL, esto con el propósito de precipitar pectinas y otras sustancias; después se centrifugan durante 10 minutos a 2500 rpm; posteriormente se filtran por papel Whatman # 4 y se toman 5 mL del sobrenadante. A este se le añaden 5 mL de agua para cromatografía de líquidos de alta resolución (CLAR) y todo se filtra por una membrana con tamaño de poro de 45 μm . Una vez preparada la muestra se realizan las inyecciones bajo las siguientes condiciones:

- Cromatógrafo Beckman 421 A Controler
- Solvent Delivery Module 110 A
- Columna YMC-Pack PA, tamaño de partícula 5 μm , 4.5 x 260 mm
- Detector IR Perkin Elmer LC-30
- Inyección 20 μL
- Fase móvil Acetonitrilo: agua (80:20) isocrática
- Flujo 1.4 mL/min

2.4 CUANTIFICACIÓN DE FLAVONAS GLUCOSILADAS.

Una vez descongelados los jugos, se homogenizan perfectamente para posteriormente tomar una alícuota de 10 mL por triplicado para cada jugo, y se llevan a un volumen final de 50 mL con metanol, esto con la finalidad de precipitar las pectinas, para posteriormente separarlas por centrifugación a 1500 rpm durante 5 minutos.

El sobrenadante se vierte en un embudo de separación y se le adicionan 20 mL de agua y 2 mL de una solución saturada de cloruro de sodio. La adición de agua facilita la separación de las flavonas glucosiladas y flavonas metoxiladas de los carotenos y la adición del cloruro de sodio aumenta la polaridad del medio.

Se realizan dos extracciones con 35 mL de hexano cada una, esto es con la finalidad de separar los carotenos, que quedan en la fase orgánica.

A la fase acuosa se le adicionan 30 mL de agua, con el objetivo de aumentar la polaridad del medio y así facilitar la separación de las flavonas glucosiladas y flavonas metoxiladas.

Se lava la fase acuosa dos veces con 50 mL de diclorometano, para extraer las flavonas metoxiladas, se concentran en el rotavapor y se resuspenden en 2 mL de una mezcla de metanol-agua (25:75). Se mide el volumen final de la fase acuosa, se filtra por una membrana con tamaño de partícula de 0.45 μm y se inyectan bajo las siguientes condiciones:

- Cromatógrafo Beckman Gold
- Columna Symmetry C-18 5 μm 3.9 x 150 mm. Waters
- Fase móvil: Agua-hidrofurano (80:20) gradiente en 10 min. para llegar a una proporción de agua:Tetrahidrofurano (50:50) y en un minuto regresar a las proporciones iniciales.
- Detector UV a 325 nm
- Flujo: 0.8 mL/min
- Inyección: 20 μL

2.5 RELACIÓN DE ISÓTOPOS ESTABLES DE CARBONO.

Primero se tiene que realizar una curva de referencia con materiales internacionales. Los materiales de referencia internacionales utilizados para calibrar el Espectrómetro de Masas de Isótopos Estables:

Para determinar la $\delta^{13}\text{C}_{\text{VPDB}}$ en materia orgánica se recomienda utilizar los siguientes materiales de referencia del NIST 8539: NBS-22 aceite, 8540: PEF1 poliuretano, 8541: USGS24 grafito ó 8242: Sucrose, ANU.

Los materiales de referencia para calibrar el CO_2 que se utilizará como patrón de trabajo y determinar $\delta^{13}\text{C}_{\text{VPDB}}$ y la $\delta^{18}\text{O}_{\text{VPDB}}$ son el NBS-19 y el NBS-18 que se preparan utilizando la técnica de McCrea (1950) y normalizados de acuerdo a Coplen, 1988.

A continuación se presenta la precisión y exactitud de los análisis isotópicos con un espectrómetro de masas, del Instituto de Geología de la UNAM, para ello como primer paso se realizaron las determinaciones de patrones internacionales de $\delta^{13}\text{C}_{\text{VPDB}}$ conocidos, cuyos resultados se muestran en la tabla 1.

Tabla 1. Patrones internacionales de $\delta^{13}\text{C}_{\text{VPDB}}$.

Materiales de Referencia	$\delta^{13}\text{C}_{\text{VPDB}}$. (‰) $\pm \sigma$ Valores certificados por el NIST.	$\delta^{18}\text{O}_{\text{VPDB}}$ (‰) $\pm \sigma$ LAB. IFUNAM Valores Experimentales.
SRM 8539 NBS-22 (aceite)	-29.73 \pm 0.09	-29.72 \pm 0.02
SRM 8540 PEF1 (poliuretano)	-31.77 \pm 0,08	-31.81 \pm 0.02
8542: SUCROSE ANU (Sacarosa)	-10.47 \pm 0.13	-10.39 \pm 0.04
NBS-16 (CO_2 puro)	-41.48 \pm 0.03	-41.48 \pm 0.03
NBS-17 (CO_2 puro)	-4.41 \pm 0.02	-4.43 \pm 0.08
NBS-18 (CaCO_3 carbonatita)	-5.04 \pm 0.06	-5.06 \pm 0.08
NBS-19 (CaCO_3 mármol)	+1.95 \pm 0.02	+1.95 \pm 0.05
NBS-20 (CaCO_3 mármol)	-1.06 \pm 0.02	-1.04 \pm 0.01
NBS-21 (Gráfito)	-28.10 \pm 0.03	-28.10 \pm 0.02

La metodología seguida para esta determinación es la propuesta de una norma europea impresa en octubre de 1996. Esta fue impresa por el Comité Europeo para la Estandarización (CEN).

Primero se remueve la materia sólida de 50 mL de jugo por centrifugación a 1400 *g*, esta *g* es una medida de aceleración que depende de cada centrifuga, se puede calcular con la fórmula:

$$g = 11.18 r \left(\frac{n}{1000} \right)^2$$

Donde:

g es la aceleración centrífuga.

r es el radio de la centrifuga en centímetros, medida desde el eje de la centrifuga al fondo del tubo para centrifugar cuando se balancea (si ese es el caso).

n es la frecuencia rotacional por minuto.

La purificación de las sustancias que permanecen solubles en el sobrenadante después de la centrifugación se lleva a cabo adicionando y agitando 2 gramos de hidróxido de calcio en polvo, mientras se calienta en baño maría durante 3 minutos a 90 °C. En esta etapa se precipitan los ácidos orgánicos, aminoácidos y otros compuestos. Para asegurar que todo precipite se centrifuga a 1400g durante 3 minutos. Se decanta y al sobrenadante se le adiciona ácido sulfúrico 0.1 mol/L hasta obtener un pH aproximado de 5, esto es cuando el color de la solución cambie. La solución contiene principalmente azúcares, sulfato de calcio y algunos colorantes como ingredientes menores. El sulfato de calcio se separa parcialmente manteniendo la solución en refrigeración a 4 °C aproximadamente 15 hrs., y posteriormente se decanta. El sobrenadante líquido se liofiliza y se guarda en un vial de vidrio con tapón que impida el paso de aire.

Pesar en una microbalanza las cápsulas de estaño y colocar una alícuota alrededor de 0.4 mg de azúcares, estas cápsulas se colocan en la microplaca y ésta en el horno para secar las muestras provenientes de los jugos o pulpa. Siempre se preparan dos cápsulas por muestra. Cuidar que las cápsulas queden bien selladas. Se debe manipular todo con pinzas limpias.

Al colocar las muestras en el automuestreador del Analizador Elemental colocar materiales de referencia y patrones internos al principio y al final, cada muestra debe tener su referencia por medio de un orden numérico.

El análisis se realiza bajo las siguientes condiciones:

El Analizador Elemental (AE) tiene dos hornos el horno de combustión, debe tener una temperatura de 900°C y el horno de reducción debe tener una temperatura de 680°C.

El flujo del gas acarreador He debe ser 120 mL/min, la presión de He para esta velocidad de flujo es de aproximadamente 20 psi. Revisar la dosificación de oxígeno.

Revisar la linealidad, la dosificación de los gases de referencia.

Controlar que no existan fugas en el sistema EA-IRMS.

CAPITULO III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

3.1 pH y grados Brix de los jugos analizados.

Con el objeto de conocer los parámetros que comúnmente se emplean para evaluar la madurez de los jugos, se determinó el pH y los sólidos solubles de los jugos recién extraídos. Los datos se reportan en la tabla 2.

Tabla 2. Relación de lotes de fruta analizadas.

Jugo	Lote	Fecha	Época de cosecha	Grados Brix	pH
TORONJA REDBLUSH	1	26/11/01	Otoño	8.0	2
	2	13/02/02	Invierno	10.5	3
	3	14/03/02	Invierno	8.5	3
	4	22/03/02	Primavera	12.2	3
	5	30/04/02	Primavera	11.2	3
	6	07/05/02	Primavera	10.8	3
MANDARINA DANCY	*1	17/01/02	Invierno	13.0	3
	*2	17/01/02	Invierno	12.8	3
	3	13/02/02	Invierno	12.8	3
	4	22/03/02	Primavera	13.5	3
	5	16/10/01	Otoño	8.2	3
	6	26/11/01	Otoño	10.2	3
NARANJA VALENCIA	1	13/02/02	Invierno	11.7	3
	2	22/03/02	Primavera	13.5	3
	*3	09/07/02	Verano	11.8	3
	*4	09/07/02	Verano	13.5	3
	5	16/10/01	Otoño	10.5	3
	6	26/11/01	Otoño	10.2	3

- Los lotes de mandarina obtenidos el 17 de enero fueron comprados en diferentes lugares, el lote 1, se obtuvo en la Central de abasto (C A) y el lote 2, fue comprado en un camión.
- El lote 3, de naranja es de cáscara verde y el lote 4 es de cáscara amarilla.

Por lo general, durante la maduración hay un descenso de la acidez y la cantidad de carbohidratos comienza a incrementarse, de esta forma la relación azúcares/ácidos también aumenta; en el caso de la naranja y toronja, que se recogen maduros, ese fenómeno continúa durante el almacenamiento.

Lo importante de realizar la medición del pH y grados Brix ($^{\circ}$ Brix), es tener una idea del nivel de madurez de cada uno de los lotes, para conocer la homogeneidad de las muestras analizadas y así ser más objetivos al momento de interpretar los resultados. En el caso de la naranja, para el lote 3 de cáscara verde y para el lote 4 de cáscara amarilla, se pudo apreciar que hay diferencia en el contenido de sólidos solubles ($^{\circ}$ Brix), aunque el pH permaneció constante, la relación entre estos da un indicio del grado de madurez. Cabe mencionar que lo ideal sería haber realizado una titulación para poder hacer la comparación, ya que el intervalo de pH es relativo en comparación con la acidez titulable.

La medición del pH indica qué tan concentrado en partículas receptoras de electrones tenga una sustancia y da una idea de su acidez. En cambio la acidez titulable consiste en una reacción mediante la cual una base neutraliza las propiedades de un ácido. Si la concentración de base es suficiente, todos los iones H^+ procedentes del ácido serán neutralizados por los OH^- procedentes de la base y se dice que se llegó al punto de equivalencia donde han reaccionado partes equivalentes del ácido y la base. Se obtiene valores más concretos en comparación con la medición del pH.

Se pudo observar que en los tres cítricos hubo variabilidad en la cantidad de sólidos solubles y el pH permanece constante para todos los lotes, lo importante es verificar si se conserva la relación entre los azúcares (glucosa, fructosa y sacarosa), para las diferentes épocas de cosecha.

La relación promedio de grados Brix/pH para cada uno de los lotes de toronja, fue de 3.6, encontrándose que el lote 3 de primavera está por debajo del promedio. En el caso de la mandarina se encontró una relación promedio de 3.8 el lote 5 de otoño es menor al promedio y para los lotes de naranja la relación es de 4 donde los lotes 4 y 5 presentaron valores inferiores al promedio (3.4 y 3.5 respectivamente). En general se puede decir que el grado de madurez de los jugos fue homogéneo de acuerdo con la relación grados Brix/pH para las normas NMX-F-118-1984 (jugo de naranja envasado) y NMX-F-018-1968 (calidad para jugo de toronja).

3.2 ANÁLISIS ESPECTROFOTOMÉTRICO.

Se realizó el análisis espectrofotométrico con el objeto de establecer la huella espectral de los jugos analizados e identificar la influencia de la época de cosecha.

3.2.1 JUGO DE TORONJA.

Se realizaron barridos espectrofotométricos para 5 lotes de toronja Redblush, en ellos podemos observar 5 puntos de inflexión, los cuales representan los máximos de absorbancia que corresponden a uno o varios componentes.

En la Fig. 1 Se presenta el barrido espectrofotométrico que corresponde a cada lote de toronja.

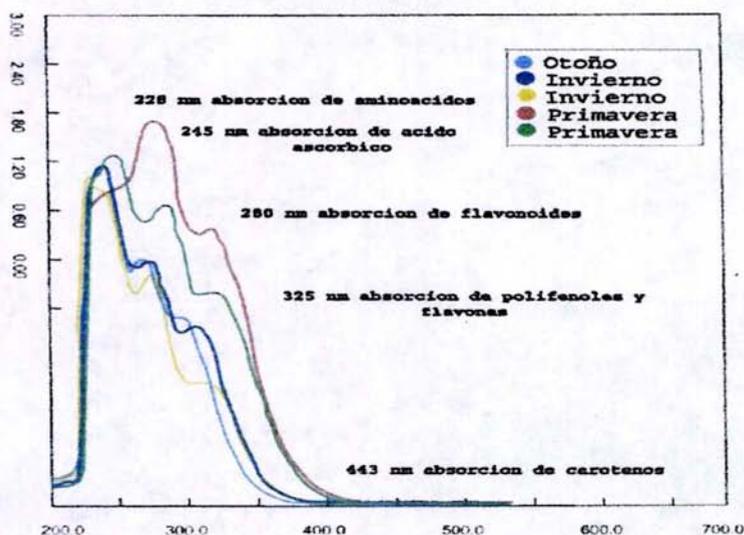


Fig 1. Perfil espectrofotométrico de jugo de toronja en diferentes épocas de cosecha

Los barridos espectrofotométricos, permiten obtener una huella digital de los compuestos que estos contienen.

En la tabla 3, se muestran las absorbancias (promedio de dos o tres repeticiones según sea el caso), obtenidas para los extractos de toronja a las longitudes de onda reportadas, donde absorben los compuestos de interés para este estudio.

Tabla 3. Absorbancias obtenidas a diferentes longitudes de onda para jugo de toronja

Absorbancias obtenidas a las longitudes de onda reportadas							
Lote	Fecha	Época de cosecha	443 nm	325 nm	280 nm	245 nm	227 nm
1	26/11/01	Otoño	0.03	1.200	1.462	2.103	0.87
2	13/02/02	Invierno	0.015	1.245	1.885	2.196	1.663
3	14/03/02	Invierno	0.010	0.957	1.419	1.982	1.555
4	22/03/02	Primavera	0.016	0.729	1.417	1.966	1.693
5	30/04/02	Primavera	0.015	1.707	2.286	2.034	1.521

Para facilitar la interpretación de los barridos espectrofotométricos, estos se analizaron de acuerdo con los máximos de absorbancia.

La absorción a 443 nm corresponde a los carotenoides, el registro que presentó la mayor absorbancia fue de la época de otoño, las absorbancias para las épocas de invierno y primavera fueron más pequeñas. En estudios realizados por Petrus y Nagy en 1983, se encontró que durante el periodo de otoño a invierno el valor promedio de carotenos aumentaba de 0.038 a 0.071 y durante la época de primavera permanecía constante de 0.139 a 0.137.

Se ha encontrado que el color en los cítricos está dado principalmente por carotenos y xantofilas, la mayor parte de los carotenos se localizan en el flavedo (alrededor del 70%) y aumenta con la maduración al mismo tiempo que se degrada la clorofila. El comportamiento en los registros para las diferentes épocas del año, a pesar de que fueron menores, resultaron constantes pero no de la magnitud que se ha encontrado, en general, en otros estudios. Esto pudo

deberse a factores externos como lo son métodos de cultivo, condiciones climáticas y estado de madurez entre otros.

A los 325 nm, absorben los polifenoles totales. La proporción de este tipo de compuestos aumenta con la maduración del fruto, como también por una presión de extracción excesiva al momento de ser procesado (Arana, 2002). Se observó un comportamiento homogéneo en los registros para las diferentes épocas del año, en un intervalo de 1.060 a 1.656, excepto el registro del lote del 22 de marzo del 2002, que presentó menor cantidad de polifenoles. El lote del 30 de abril del 2002 presentó una cantidad mayor de estos compuestos, los tres lotes restantes pertenecientes a las épocas de otoño e invierno sus absorbancias fueron uniformes. No se observó tendencia de incremento con el transcurso del tiempo, esto es notorio comparando los lotes de la misma época de cosecha (primavera e invierno). Este comportamiento se observa también en otras investigaciones (Petrus y Nagy, 1983), donde se encontró que existían épocas de cosecha en las que la cantidad de polifenoles totales permanecía constante y en otras estaciones si se observó variación.

En la absorbancia de 280 nm, absorben la mayoría de los flavonoides, se observó que 2 lotes, uno de la época de invierno y uno de primavera presentaron los valores de absorbancias mayores. En general se tiene que, los valores de absorbancias para las épocas de otoño y primavera son homogéneos por lo que no se establece influencia de la época del año sobre el contenido de flavonoides. El comportamiento fue similar en los polifenoles totales, aunque en general se considera que el contenido de flavonoides disminuye con la maduración, por un efecto de dilución al aumentar el tamaño del fruto más que a su degradación. Se ha encontrado que el contenido de flavonoides en toronjas disminuye en ciertas temporadas y en otras se mantiene constante.

El ácido ascórbico absorbe a 245 nm. Durante la maduración el ácido ascórbico disminuye, pero continúa la síntesis hasta llegar al estado de madurez por lo que su concentración se considera estable (Flores, 1998). Este comportamiento se pudo observar en los registros obtenidos para las diferentes épocas de cosecha, los cuales fueron homogéneos. La poca dispersión en los valores de absorbancias puede indicar que no existe influencia de la época de cosecha en el contenido de ácido ascórbico.

A una longitud de onda de 228 nm absorben los aminoácidos, los más importantes presentes en los jugos son: ácido aspártico, ácido glutámico, asparagina, serina, arginina, alanina, ácido gamma aminobutírico y prolina (Kuneman, 1988). Se observó que el lote de la época de otoño, tiene una absorbancia de casi la mitad de todos los lotes analizados. Para las épocas de invierno y primavera las absorbancias son uniformes. De igual forma que en el caso anterior, se puede pensar que la concentración de ácidos aminados no se ve afectada por la época de cosecha. Sin embargo esto es un análisis cualitativo que ayuda a identificar que compuestos se encuentran presentes en el jugo, por lo que sería necesario confirmar realizando el análisis cuantitativo correspondiente.

El análisis espectrofotométrico de la toronja Redblush muestra que no existe influencia de la época de cosecha en los resultados obtenidos a cada longitud de onda, por lo tanto se puede esperar que en estudios futuros, los valores de absorbancias se encuentren dentro de los intervalos mostrados en la tabla 4.

Tabla 4. Intervalo de absorbancias para el jugo de toronja Redblush.

Intervalo de absorbancias a las longitudes de onda reportadas		
Longitud de onda	Componente	Intervalo
443 nm	Carotenos	0.010 – 0.016
325 nm	Polifenoles	0.957 – 1.707
280 nm	Flavonoides	1.419 – 2.286
245 nm	Ac. Ascórbico	1.966 – 2.196
227 nm	Acidos Aminados	1.521 – 1.693

3.2.2 JUGO DE NARANJA.

En la Fig. 2 se presenta el barrido espectrofotométrico que corresponde a cada lote de naranja valencia.

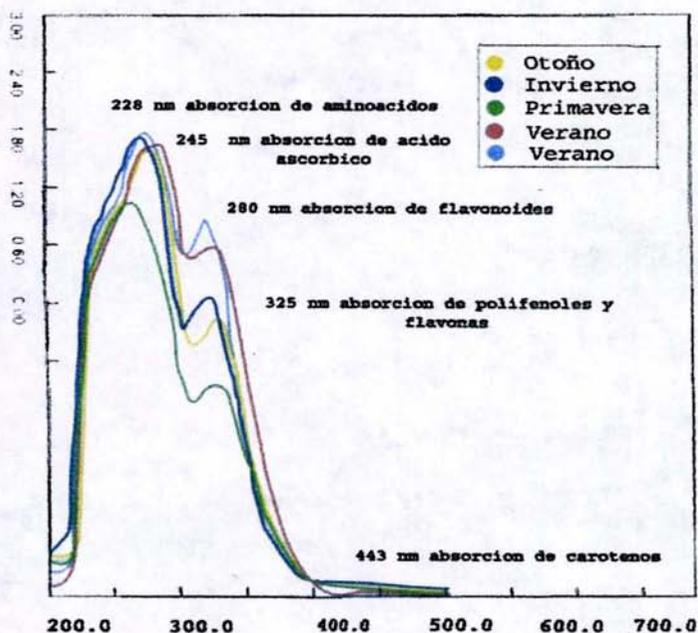


Fig 2. Perfil espectrofotométrico de jugo de naranja en diferentes épocas de cosecha.

Los resultados de los barridos espectrofotométricos realizados al jugo de naranja se muestran en la tabla 5.

Tabla 5.

Absorbancias obtenidas a la longitud de onda reportada							
Lote	Fecha	Época de cosecha	443nm	325nm	280nm	245nm	227nm
1	13/02/02	Invierno	0.037	1.483	2.245	1.969	1.540
2	22/03/02	Primavera	0.040	1.405	2.193	1.983	1.450
3	09/07/02	Verano	0.015	1.819	2.341	1.864	1.367
4	09/07/02	Verano	0.050	1.935	2.409	1.878	1.364
5	26/11/01	Otoño	0.048	1.246	2.197	1.502	1.349
6	16/10/01	Otoño	0.022	1.077	1.755	1.901	1.438

Se pudo observar la misma tendencia en los carotenoides (443 nm) que en el cítrico anterior (toronja), donde la variación resulto ser alta. Aquí el valor mas pequeño lo presentó el lote 3, y el valor mayor lo presenta el lote 4, ambos pertenecen a la misma temporada de cosecha, lo que no permite establecer una relación clara entre la época de cosecha de la fruta y la cantidad de carotenoides.

Los compuestos polifenólicos absorben a 325 nm. Los valores obtenidos en verano se pueden atribuir a una extracción con excesiva fuerza (esto es porque en la cáscara hay una gran concentración de compuestos polifenólicos, de la misma forma se han reportado valores de barridos espectrofotométricos comparando extracciones suaves contra extracciones fuertes) dado el valor tan elevado. Ya que no se muestra una tenencia definida entre las temporadas de cosecha estas absorbancias parecen indicar que no hay relación de la época de cosecha con el contenido de polifenoles,

Las absorbancias correspondientes a flavonoides (280 nm) presentaron datos muy homogéneos, a excepción del valor correspondiente al lote de otoño, que fue el más bajo; el valor mas alto lo presentó un lote de verano. Petrus y Dougherty en 1973 encontraron que la absorción a los 325nm (polifenoles totales) y 280 nm (flavonas totales) se incrementó con la maduración y con la presión de extracción del jugo. Los valores de absorbancia de los lotes de

verano concuerdan con los valores de los polifenoles, lo que podría afirmar que la cantidad de flavonoides no tiene una relación con la época de cosecha.

Los valores de las absorbancias obtenidas en 245 nm, longitud de onda donde absorbe el ácido ascórbico, fueron uniformes. Como se sabe la cantidad de este ácido se mantiene constante y este comportamiento se puede observar también en el cítrico anterior, por lo que se consideró que no influye la época de cosecha en su contenido.

Las absorbancias correspondientes a los aminoácidos (227 nm) fueron homogéneas. Estos resultados parecen no seguir tendencia alguna, por lo que se puede afirmar que no hay influencia de la época de cosecha sobre la cantidad de ácidos aminados.

Los resultados obtenidos en el estudio de jugo de naranja Valencia muestran que no existe influencia clara, o una relación entre la época de cosecha y los valores de absorbancia obtenidos a cada longitud de onda, por lo tanto se puede esperar que en estudios futuros, los valores de absorbancias se encuentren dentro de los intervalos mostrados en la tabla 6.

Tabla 6. Intervalo de absorbancias para el jugo de naranja Valencia.

Intervalo de absorbancias a las longitudes de onda reportadas		
Longitud de onda	Componente	Intervalo
443 nm	Carotenos	0.022 – 0.050
325 nm	Polifenoles	1.077 – 1.935
280 nm	Flavonoides	1.755 – 2.409
245 nm	Ac. Ascórbico	1.502 – 1.983
227 nm	Acidos Aminados	1.364 – 1.540

3.2.3 JUGO DE MANDARINA.

En la Fig. 3 se presenta el barrido espectrofotométrico que corresponde a cada lote de mandarina Dancy.

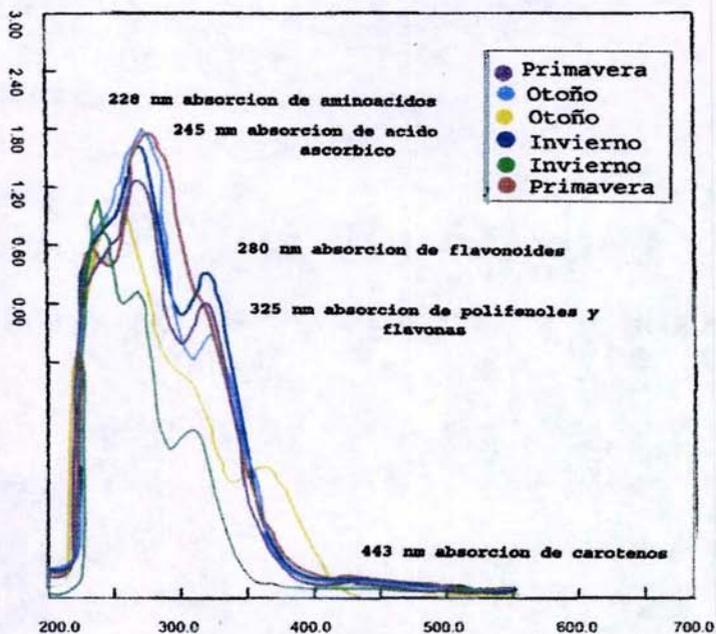


Fig 3. Perfil espectrofotométrico de jugo de mandarina en diferentes épocas de cosecha.

En la tabla 7, se presentan las absorbancias (promedio obtenidas de dos o tres corridas por jugo, según sea el caso) a las respectivas longitudes de onda estudiadas.

Tabla 7.

Absorbancias obtenidas a las longitudes de onda reportadas							
Lote	Fecha	Época de cosecha	443 nm	325 nm	280 nm	245 nm	227 nm
1	17/01/02	Invierno	0.033	1.266	2.386	1.974	1.413
2	17/01/02	Invierno	0.081	1.201	2.168	1.595	1.535
3	13/02/02	Invierno	0.013	0.6723	1.203	1.874	1.652
4	22/03/02	Primavera	0.04	0.870	1.651	2.07	0.873
5	16/10/01	Otoño	0.078	1.587	2.421	1.914	1.422
6	26/11/01	Otoño	0.060	1.472	2.346	1.818	1.358

En el caso de la mandarina se pudo observar, para los 443 nm (carotenoides), un comportamiento similar al de la toronja, es decir, es muy baja concentración de carotenoides. Esto también concuerda con el encontrado por Nelson y Tressler en 1980. Las múltiples variables asociadas con el crecimiento y procesamiento de las frutas cítricas dificultan la aportación exacta de la naturaleza tanto química como física de un producto cítrico, mostrando que no existe una tendencia clara en la cantidad de carotenoides, lo que indica que no hay una relación entre estos y la época de cosecha de la mandarina.

En cuanto a los polifenoles (325 nm), se considera que el contenido de flavonoides en los cítricos disminuye con la maduración, esto no ha sido demostrado claramente. Se ha que el contenido de flavonoides en mandarinas disminuye en ciertas temporadas mientras que en otras se mantiene constante (Kefford, 1970), esta tendencia fue presentada por los lotes 3 y 4 cuyos valores llegan a ser hasta menos de la mitad del valor máximo (1.656); mientras que los demás lotes presentaron absorbancias relativamente homogéneas, siendo el valor máximo encontrado aquel que corresponde al lote 5 de la época de otoño. Al no encontrarse una tendencia firme se puede decir que no existe una relación clara entre la época de cosecha y la cantidad de polifenoles.

El comportamiento descrito anteriormente (a los 325 nm) se repitió para los flavonoides (280 nm), donde los valores menores fueron de los lotes extraídos en febrero y marzo, y los demás valores se observaron homogéneos, siendo el mayor en este caso el lote del 1 de invierno. Se puede afirmar que hubo una mayor concentración de compuestos flavonoides en otoño y que esta disminuyó un poco en invierno. Como no se observa una tendencia clara, se puede decir que no existe relación entre el contenido de flavonoides y la época de cosecha.

Para el ácido ascórbico (245 nm) no se observó diferencia en los 6 registros, en las diferentes épocas de cosecha (invierno, primavera y otoño), estos datos siguieron la tendencia de los cítricos anteriores, de lo que se puede pensar que la época de cosecha no influye en el contenido de ácido ascórbico.

Para los aminoácidos (227). Se observó solo un lote de invierno con absorbancia menor al resto de los lotes analizados, en general los datos obtenidos no mostraron diferencia, para poder afirmar si es significativa o no sería necesario realizar un análisis estadístico, sin embargo, este no se pudo realizar debido a que no se tuvo el número de repeticiones suficientes para hacerlo, por lo que se puede considerar que se ven influenciados por la época de cosecha.

El análisis espectrofotométrico de la mandarina Dancy mostró que no existe influencia de la época de cosecha en los resultados obtenidos a cada longitud de onda, por lo tanto se puede esperar que en estudios posteriores, los valores de absorbancias se encuentren dentro de los intervalos mostrados en la tabla 8.

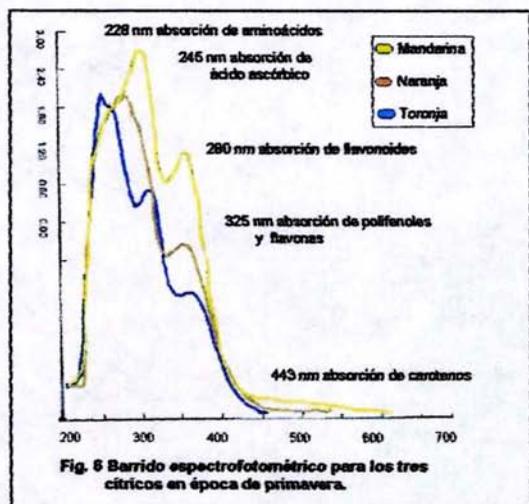
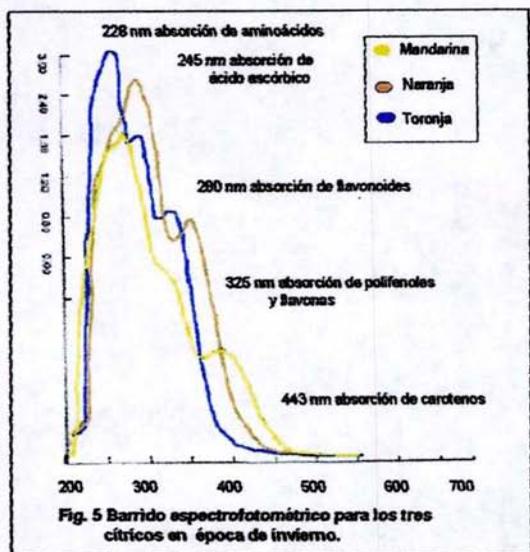
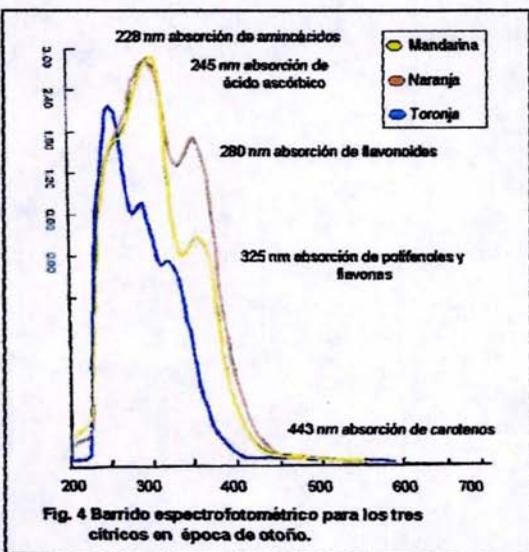
Tabla 8. Intervalo de absorbancias para el jugo de mandarina Dancy.

Intervalo de absorbancias a las longitudes de onda reportadas		
Longitud de onda	Componente	Intervalo
443 nm	Carotenos	0.010 – 0.016
325 nm	Polifenoles	0.957 – 1.707
280 nm	Flavonoides	1.419 – 2.286
245 nm	Ac. Ascórbico	1.966 – 2.196
227 nm	Acidos Aminados	1.521 – 1.693

En las figuras 4, 5 y 6 se muestra una comparación para tres cítricos por época de cosecha, en la figura 4 se muestran los barridos espectrofotométricos de los tres cítricos cosechados en la época de otoño. En esta figura se observó que el perfil de la mandarina y naranja son muy parecidos entre si, esto es más notorio en la longitud de 228 nm donde absorben los aminoácidos.

En general ambos presentaron el mismo perfil para las cinco longitudes de onda de interés, sin embargo, este perfil no se pudo observar en el caso de la toronja debido a que presentó puntos de inflexión en distintos valores de absorbancia. Por lo que esta técnica podría servir para diferenciar jugo de mandarina y naranja del de toronja.

Durante la época de invierno (Fig. 5), el comportamiento que se observó fue similar al que se presentó en la época de otoño, aquí nuevamente se pueden diferenciar la mandarina y naranja de la toronja, como se ha podido apreciar ésta presentó un perfil muy particular en comparación con los otros dos cítricos lo que puede permitir que se diferencie.



3.3 ANALISIS DE CARBOHIDRATOS.

La cuantificación de carbohidratos se realizó a través de cromatografía de líquidos de alta resolución, utilizando como estándares fructosa, glucosa y sacarosa. La curva de calibración se muestra en el anexo 1.

3.3.1 CONTENIDO DE CARBOHIDRATOS EN JUGO DE TORONJA RED BLUSH.

En la tabla 9 se muestran las concentraciones promedio de 4 repeticiones por duplicado (n=8) para cada uno de los carbohidratos identificados. Así mismo se muestra la relación de carbohidratos (tomando como base la glucosa) y los grados Brix ($^{\circ}$ Bx).

Tabla 9. Promedio del contenido de carbohidratos en jugo de Toronja Redblush (g/100g de jugo)

Lote	Fecha	Época de cosecha	Fructosa	Glucosa	Sacarosa	Total	Grados Brix	Diferencia
1	26/11/01	Otoño	3.84	2.69	0.13	6.68	8.00	1.31
	Relación*		1.4	1	-			
2	13/02/02	Invierno	4.16	2.86	3.42	10.45	10.50	0.04
	Relación		1.5	1	1.2			
3	14/03/02	Invierno	3.92	2.84	0.68	7.44	8.50	1.05
	Relación		1.4	1	0.2			
4	22/03/02	Primavera	5.22	4.22	2.58	12.04	12.20	0.16
	Relación		1.2	1	0.6			
5	30/04/02	Primavera	4.90	3.65	2.04	10.61	11.20	0.58
	Relación		1.3	1	0.6			

* Relación existente en concentración entre los 3 carbohidratos (fructosa:glucosa:sacarosa). Esta se calcula tomando el valor de un azúcar como base en este caso se toma la glucosa, para sacar la relación con los dos azúcares restantes se divide el valor del azúcar entre el valor de base.

En los jugos de toronja se encontró que la diferencia entre azúcares totales y $^{\circ}$ Bx es mínima (los grados Brix se definen como la cantidad de sólidos solubles en el jugo, los carbohidratos representan la mayor parte de estos sólidos, el resto son ácidos orgánicos y amino ácidos principalmente).

El intervalo de carbohidratos totales fue de 6.68% a 12.04%; éste es un intervalo amplio; en otros estudios se tienen valores que van desde un 3.38% hasta un 9.51%, de 5.27% a 8.02%, 5.10% a 10.55% (Maynard, 1971); desde 5.4% hasta 7.3% (White y Widmer, 1990); o de 6.0% y 7.2% (Ting y Rousef, 1971). Sin embargo, la mayoría de los valores en este estudio son más altos que otros valores reportados en otras investigaciones, esto se puede deber a factores como son suelo, clima, estado de madurez, variedad, método de extracción, procesamiento, entre otros.

Se realizó un análisis de varianza por carbohidrato de cada fruta, (anexo 2) de tal forma que se pudiera determinar si existía diferencia significativa en el contenido de azúcares por lotes, esto es; para comprobar la influencia de la época de cosecha en el contenido de cada uno de carbohidratos en el jugo de cada fruta. Cuando se encontró que existía diferencia significativa entre las muestras, se realizó una prueba de Duncan con el fin de asociar los carbohidratos en grupos.

Los valores del porcentaje de fructosa en el jugo de toronja fueron de mas del doble si se les compara con los mostrados en otros estudios, por ejemplo, donde los resultados varían entre 1.5% y 2.5% aproximadamente (Mynard, 1971; White y Widmer, 1990; Ting y Rousef, 1971). Los datos obtenidos en este estudio van de 3.84% a 5.22%. Por medio del programa estadístico SPSS (versión Windows) se observó que existe diferencia significativa en los valores de fructosa; por medio del mismo programa fue posible asociar los lotes de invierno (14 de marzo del 2002) y de otoño (26 de octubre del 2001), los otros tres lotes (correspondientes a invierno y primavera) no se agrupan por sus valores diferentes. Estos datos no presentan una tendencia definida sobre el aumento o decremento de la fructosa en el jugo durante la época del año, por lo tanto se puede decir que no existe relación entre la época de cosecha y el contenido de fructosa del jugo de toronja.

Los valores del porcentaje de glucosa fueron desde 2.69% hasta 4.22%; una vez mas los datos obtenidos en este estudio fueron mayores que los reportados en otros, donde el intervalo reportado va desde 1.4% hasta 2.5% (Nelson y Tressler, 1980; Maynard, 1971; White y Widmer, 1990; Ting y Attaway, 1971). De la misma forma que en el caso anterior, se realizó

un análisis de varianza donde se puede observar que no existe una relación clara entre los valores de glucosa de los lotes extraídos y la época de cosecha.

Al realizar la prueba de Duncan se asociaron en un grupo dos lotes de invierno (14 de marzo y 13 de febrero del 2003 respectivamente), los otros tres lotes no se pudieron agrupar, pero fue notable un ligero incremento en los lotes de primavera. Sin embargo no se puede afirmar que exista influencia de la época de cosecha sobre la cantidad de glucosa en el jugo de toronja.

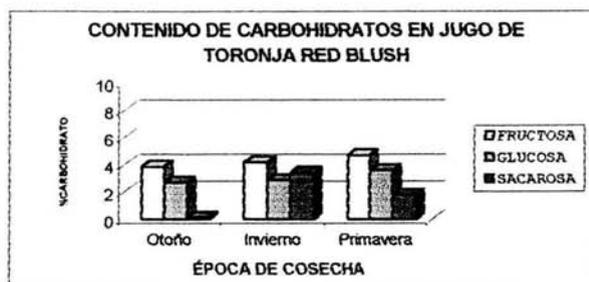
Se encontró diferencia significativa en el contenido de sacarosa, ningún de los registro se lograron asociar mediante la prueba de Duncan, por lo que cada lote es independiente.

Los valores del porcentaje de sacarosa en el jugo de toronja variaron desde 0.13% hasta 3.42% según los resultados obtenidos en este estudio. Los datos de los lotes de invierno y uno de primavera concuerdan con los mostrados en otras investigaciones donde los valores van de 1.34% hasta 3.4%; sin embargo, el lote de otoño y uno de primavera (16 de octubre del 2001 y el 14 de marzo del 2002) presentan valores muy por debajo de lo reportado.

En los cítricos se ha encontrado que la relación de carbohidratos reductores (glucosa y fructosa) y no reductores (sacarosa) es casi siempre 1:1:2 (fructosa:glucosa:sacarosa) sin embargo, Ting y Attaway en 1971 reportan que en toronja la cantidad de sacarosa puede ser menor, otros autores dan valores donde la cantidad de fructosa es ligeramente mayor que la de glucosa. Los resultados obtenidos en este estudio no concordaron con lo anterior, la fructosa es siempre la mayoritaria, seguida por la glucosa y en menor proporción la sacarosa dando una relación fructosa:glucosa:sacarosa de 1.5:1:0.5

Para poder verificar si existe alguna tendencia entre la época de cosecha y el contenido de carbohidratos se realizó una grafica de barras. En la Fig. 7 se muestran el porcentaje de carbohidratos por época de cosecha, para los jugos de toronja.

Fig. 7. Influencia de la época de cosecha en el contenido de carbohidratos en el jugo de Toronja Red Blush(g/100g jugo).



Como se observa en la Fig. 7, el carbohidrato que predominó en las tres épocas de cosecha fue la fructosa, en el caso de la glucosa se encontró en mayor porcentaje que la sacarosa excepto en la época de invierno donde la concentración de sacarosa fue mayor que la de glucosa.

En promedio se reporta que la toronja contiene 6.0-9.0% de carbohidratos totales. En el presente estudio se encontró que el promedio de carbohidratos totales por época de cosecha son los siguientes: invierno 10.45%, primavera 10.03% y otoño 6.68%. La relación fructosa:glucosa:sacarosa es 1:1:1 para jugos de toronja (Ting y Roussef, 1971), en la época de invierno la relación fue 1.5:1:1.2, en primavera fue de 1.3:1:0.5 y para otoño la relación entre los azúcares reductores fue aproximadamente 1.4:1, cabe mencionar que fue mínima la cantidad de sacarosa que se detectó. Como se sabe en contenido de los carbohidratos es muy variado por lo que no se puede tomar como parámetro para poder dar autenticidad a los jugos ya que pueden ser fácilmente adicionados hasta cumplir con el porcentaje que se exige por la norma mexicana NMX-F018-1968 para la elaboración de jugos de toronja.

En general se puede decir que aunque existe una diferencia de concentración de los diferentes azúcares en las diferentes épocas de cosecha, no existe una relación clara que pueda identificar la misma con el contenido de azúcares en el jugo de toronja Redblush, encontrándose los siguientes intervalos para cada carbohidrato.

Fructosa 3.84 – 5.22%, glucosa 2.69 – 3.65%, sacarosa 0.68 – 3.42%.

3.3.2 CONTENIDO DE CARBOHIDRATOS EN JUGOS DE NARANJA VALENCIA.

En la tabla 10 se muestra el promedio del contenido de carbohidratos en los jugos de Naranja Valencia analizados

Tabla 10. Promedio del contenido de carbohidratos en jugo de Naranja Valencia (g/100g de jugo).

Lote	Fecha	Época de cosecha	Fructosa	Glucosa	Sacarosa	Total	Grados Brix	Diferencia
1	13/02/02	Invierno	4.20	3.38	4.95	12.54	11.70	0.84
	Relación		1.3	1	1.5			
2	22/03/02	Primavera	3.53	3.13	4.82	11.49	13.50	2.00
	Relación		1.1	1	1.5			
3	09/07/02	Verano	3.04	2.24	6.13	11.42	11.80	0.37
	Relación		1.4	1	2.7			
4	09/07/02	Verano	3.46	4.03	5.79	13.29	13.50	0.20
	Relación		0.9	1	1.4			
5	26/11/01	Otoño	2.87	5.03	5.87	13.78		
	Relación		0.6	1	1.2			

De igual forma que en el caso de la toronja, la diferencia entre los grados Brix y el total de carbohidratos encontrados en los lotes de naranja fue pequeña; los grados Brix van de 11.7 °Bx a 13.5 °Bx, este intervalo concordo con el reportado en otros estudios que son de 7.2 °Bx a 14.4 °Bx (Maynard, 1971; White y Widmer, 1990).

El porcentaje de carbohidratos totales fue de 11.49% hasta 13.78%, esta cantidad de carbohidratos concordo con los sólidos solubles en el jugo de naranja encontrado en este estudio, posiblemente las condiciones mas benéficas de el clima en el país son responsables de los resultados obtenidos.

El valor en porcentaje de fructosa para los lotes estudiados fue de 2.87% a 4.20%, intervalo alto si se toma en cuenta que en otros estudios van de 2% a 2.9% (White y Widmer,

1990; Ting y Attaway, 1971; Maynard, 1971). Estos resultados también se sometieron a un análisis de varianza y a una prueba de Duncan (anexo 2); de éstos se pudo observar que existe diferencia significativa en la cantidad de fructosa de los lotes estudiados. Los lotes que se pudieron asociar fueron un lote de otoño y uno de verano (16 de octubre del 2001 y 9 de julio del 2003), un lote de primavera y otro de verano (22 de marzo del 2002 y 9 de julio del 2002); el lote de febrero tubo el valor más alto de todos. En otros estudios se ha mostrado que la cantidad de carbohidratos aumenta de invierno a primavera, pero se menciona que el aumento principal se da en la sacarosa mientras que los azúcares reductores permanecen casi sin cambio (White y Widmer, 1990; Ting y Attaway, 1971; Maynard, 1971). La forma en la que se asociaron los lotes no indica una tendencia clara de la variación de fructosa, por lo que se puede decir que no hay relación entre la época de cosecha y la concentración de fructosa en el jugo de naranja.

Los valores del porcentaje de glucosa fueron de 4.82% a 5.03%, estos valores también son altos, en otros estudios se reportan valores desde 1.5% hasta 2.9% (White y Widmer, 1990; Ting y Rouseff, 1971; Maynard, 1971). Estos resultados también fueron sometidos a un análisis de varianza y a una prueba de Duncan, donde se pudo observar que si hay diferencia significativa en la cantidad de glucosa de los lotes; en este caso solo se pudieron asociar dos lote de invierno (13 de febrero del 2002 y 22 de marzo de 2002). Los valores mostrados parecen indicar influencia de la época de cosecha, en la cantidad de glucosa en el jugo de naranja, pero no una relación definida entre estas.

En otros estudios los porcentajes de sacarosa van desde 3.5% hasta 6%, (White y Widmer, 1990; Ting y Attaway, 1971; Maynard, 1971) estos valores concuerdan con los obtenidos en este estudio, donde los valores obtenidos de 4.82% hasta 6.13%. El análisis de varianza mostró diferencia significativa entre los resultados de los lotes, y por medio de la prueba de Duncan se pudieron asociar los lotes de invierno y primavera (13 de febrero del 2002 y el 22 de marzo del 2002) y los lotes de verano con el de otoño (9 de julio del 2002 y 16 de octubre del 2001).

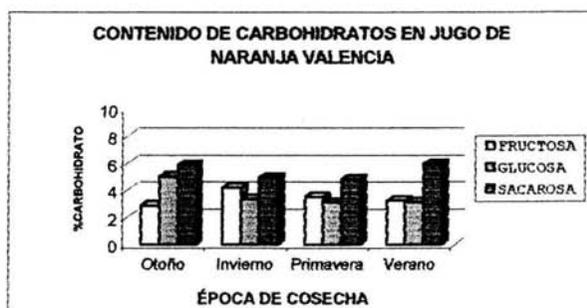
Como se mencionó en el caso de la toronja, la relación que se ha encontrado de (fructosa, glucosa, sacarosa) es 1:1:2; sin embargo, se ha visto que la fructosa casi siempre esta en mayor proporción que la glucosa en el jugo de naranja (White y Widmer, 1990; Ting y Attaway,

1971); en tres de los lotes que se presentan en este estudio se observa esta tendencia donde la glucosa es menor a la fructosa, el lote de verano tienen mayor cantidad de glucosa que de fructosa; sin embargo, se puede decir que la relación de carbohidratos fue parecida a la reportada por White y Widmer, 1990; Ting y Rouseff, 1971; Maynard, 1971.

Para poder verificar si existe alguna tendencia entre la época de cosecha y el contenido de carbohidratos se realizó una gráfica de barras.

En la Fig. 8 se presenta el porcentaje de carbohidratos por época del año, para el jugo de naranja.

Fig. 8. Influencia de la época de cosecha en el contenido de carbohidratos en el jugo de Naranja Valencia.



En naranjas maduras la cantidad de azúcares reductores es aproximadamente igual y son aproximadamente la mitad de sacarosa, de esta forma la relación fructosa, glucosa y sacarosa es aproximadamente 1:1:2 (Ting y Attaway, 1971). Se puede observar en la gráfica 8, en general esta tendencia se respeta para las cuatro épocas de cosecha, a excepción de otoño. Por lo tanto no se ve influencia de la época de cosecha en el contenido de carbohidratos en el jugo de naranja valencia.

Los intervalos de encontrados de carbohidratos para jugo de naranja valencia son los siguientes: Fructosa 2.87 – 4.20%, glucosa 2.24 – 5.03% y sacarosa de 4.82 – 6.13%.

3.3.3 CONTENIDO DE CARBOHIDRATOS EN JUGOS DE MANDARINA DANCY.

En la tabla 11 se presentan los resultados del contenido de carbohidratos en los jugos de mandarina Dancy estudiados.

Tabla 8. Promedio del contenido de carbohidratos en jugo de Mandarina Dancy (g/100g jugo).

Lote	Fecha	Época de cosecha	Fructosa g/100g	Glucosa g/100g	Sacarosa g/100g	Total	Grados Brix	Diferencia
1	17/01/02 CA	Invierno	3.38	4.67	5.12	13.18	13.0	0.18
	Relación		0.7	1	1.1			
2	17/01/02 Camión	Invierno	1.73	0.79	2.04	4.57	12.8	8.22
	Relación		2.2	1	2.6			
3	13/02/02	Invierno	3.45	3.69	5.21	12.36	12.8	0.43
	Relación		0.9	1	1.4			
4	22/03/02	Primavera	3.54	2.30	8.58	14.42	13.50	0.92
	Relación		1.5	1	3.7			
5	16/10/01	Otoño	3.60	2.31	5.91	11.83	8.2	3.63
	Relación		1.5	1	2.5			

Como se puede observar, el intervalo de grados Brix fué desde 8.2 hasta 13.5, mientras que en otros estudios se reportan valores de 10.6 °Bx (White y Widmer, 1990), esto puede parecer muy alto para frutos cítricos, pero se ha reportado un caso donde un lote de naranjas Navel alcanzó los 14.4 °Bx (Maynard, 1971). Uno de los lotes de invierno tiene una marcada diferencia entre carbohidratos totales y °Brix, sin embargo se han reportado datos de lotes de naranja con 4% y hasta 5% de diferencia entre ° Brix y carbohidratos.

Es necesario mencionar que el del lote 2 presenta valores particularmente bajos y no coinciden con los datos obtenidos en este estudio, ya sea para esta o las demás frutas; sin embargo, Ting y Attaway en su estudio presentan datos con valores similares con los obtenidos en este lote en particular, estos datos se presentan en la tabla 12:

Fruta	Glucosa g/100g de jugo	Fructosa g/100g de jugo	Sacarosa g/100g de jugo	Total g/100g de jugo
Mandarina	1.0	1.6	5.0	7.6

Esto lleva a concluir que hay una gran variedad de factores que influyen en el contenido de carbohidratos en jugos de cítricos

El intervalo de fructosa fue de 1.73% hasta 3.60%, una vez mas los valores resultaron mas altos que lo reportado en otros estudios, excepto el lote 2; los datos reportados van de 1.5% hasta 2.7% (Ting y Rouseff, 1971; White y Widmer, 1990; Braverman, 1949). El análisis de varianza (anexo 2) indica que si existe diferencia significativa en el porcentaje de fructosa de cada lote; la prueba de Duncan asocia el lote de otoño y tres lotes de invierno, es decir, todos los lotes a excepción del ya mencionado lote de invierno. Estos datos indican que la época de cosecha no influye en la cantidad de fructosa, ya que no se puede observar una tendencia clara de aumento o disminución del azúcar.

El porcentaje de glucosa encontrado va de 0.79% a 4.67%, otros valores reportados tienen un intervalo de 1.0% hasta 2.47% (White y Widmer, 1990; Ting y Attaway, 1971; Maynard, 1971). El análisis de varianza mostró que existe diferencia significativa entre las muestras, la prueba de Duncan indicó similitudes entre el lote de otoño y un lote de invierno. A pesar de que los datos pueden parecer erráticos, es necesario notar que los lotes con mayor concentración de glucosa son los de invierno (exceptuando el antes mencionado lote de invierno), mientras que los valores encontrados en los lotes de otoño e invierno son menores (en tal caso la mitad del valor de enero).

El intervalo encontrado en el porcentaje de sacarosa (2.04% a 8.58%) excedió un poco el reportado en otros estudios, este es de 5.0% a 7.89% ((White y Widmer, 1990; Ting y Attaway, 1971; Maynard, 1971).. Por medio del análisis de varianza se pudo observar que

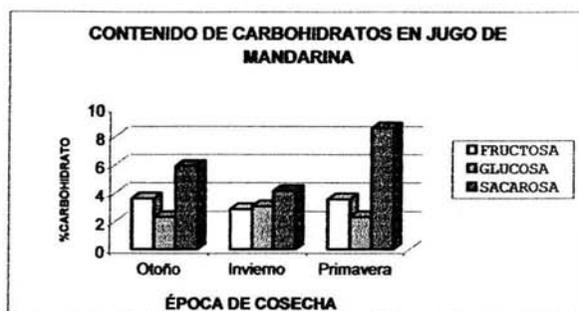
existe diferencia significativa entre los valores encontrados, y por medio de la prueba de Duncan se pudieron asociar dos de los lotes de invierno (17 de enero de 2002 y 13 de febrero de 2002).

En los resultados de otro lote de invierno se puede observar que la cantidad de sacarosa es mayor que la obtenida en los demás lotes, sin embargo hay evidencia en jugo de mandarina donde esa diferencia (entre sacarosa y carbohidratos reductores) es mayor que la obtenida en este estudio, sin embargo, no se hace mención de la época de cosecha cuando se obtuvo este resultado.

Los porcentajes de carbohidratos obtenidos para esta fruta presentaron un comportamiento similar al de los jugos de naranja y otros estudios donde los reductores se encuentran en menor proporción que la sacarosa (White y Widmer, 1990; Ting y Attaway, 1971;).)sin embargo, Ting y Attaway, en 1971, mencionan que en mandarinas maduras la cantidad de sacarosa puede ser mayor que en otras frutas cítricas.

Para poder verificar si existe alguna tendencia entre la época del año y el contenido de carbohidratos se realizó una gráfica de barras que se presenta en la figura 9.

Fig. 9. Influencia de la época de cosecha en el contenido de carbohidratos en el jugo de mandarina.



En las mandarinas maduras se ha encontrado una relación fructosa:glucosa:sacarosa aproximadamente 1:1:2 (Ting y Rouseff, 1971). En la gráfica 9 se puede ver para las épocas de otoño e invierno que presentan en general esta tendencia.

No se puede observar una tendencia clara de incremento o disminución del porcentaje de carbohidratos en los jugos de mandarina Dancy analizados, por lo que se afirma que no existe relación entre la época de cosecha y la concentración de carbohidratos; encontrándose los siguientes intervalos: fructosa: 1.73 – 3.60%, glucosa: 0.79 – 4.67% y sacarosa: 2.04 – 8.58%

3.4 CONTENIDO DE FLAVONAS GLUCOSILADAS EN CÍTRICOS.

Para cuantificar las flavonas glucosiladas se realizaron curvas de calibración con soluciones estándar de hesperedina, neohesperedina y naringina, las cuales se muestran en el anexo1.

3.4.1 CONTENIDO DE FLAVONAS GLUCOSILADAS EN JUGO DE TORONJA REDBLUSH.

El perfil típico del contenido de flavonas glucosiladas en jugo de toronja se presenta en la Fig. 10. Es importante destacar las señales de 10.08 min. donde eluye la hesperedina, 11.61 min. para la neohesperedina y 12.2 min. para la naringina.

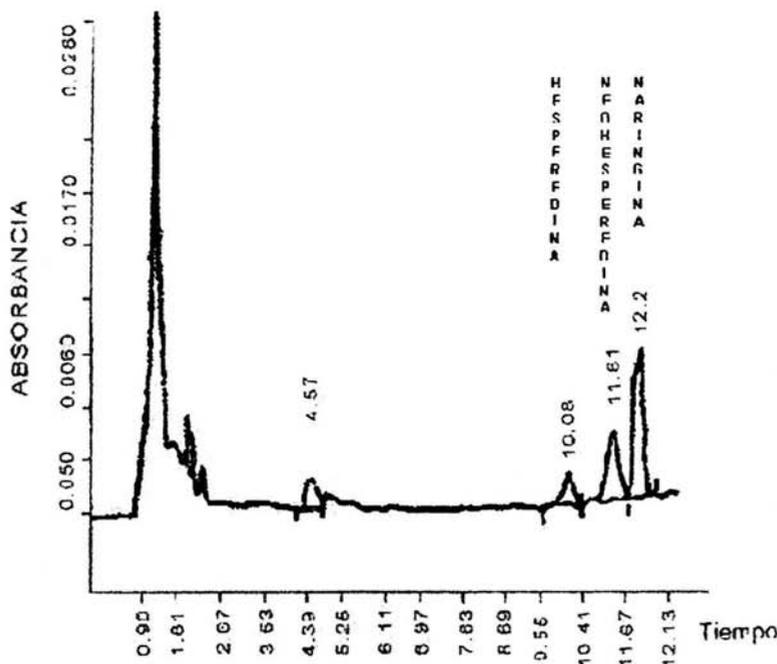


Fig10 Perfil cromatografico de flavonas glucosiladas en jugo de toronja.

En la tabla 13 se muestran los promedios de las concentraciones de hesperedina, neohesperedina y naringina de tres extracciones por triplicado para los lotes de jugo de toronja (n=9).

Tabla 13. Promedio de la concentración de flavonas glucosiladas para cada uno de 6 los lotes de jugo de Toronja Redblush.

Lote	Época de cosecha	Conc.Hesperedina ppm	Conc.Neohesperedina ppm	Conc.Naringina ppm
1	Otoño	4.658	37.351	247.175
2	Invierno	4.764	31.447	250.704
3	Invierno	5.131	29.042	246.581
4	Primavera	5.038	18.633	237.806
5	Primavera	5.222	50.567	301.361
6	Primavera	5.287	42.996	284.504

En la toronja las flavonas glucosiladas que se han encontrado son: narirutina, naringina, neohesperedina, porcirina y algunas especies contienen hesperedina, la naringina es la flavona que predomina en el jugo de toronja (Fennema, 1995).

La naringina es la flavona mas representativa en el jugo de toronja, encontrándose que su concentración permanece constante al igual que la hesperedina para las tres épocas de cosecha, analizadas. Si bien es cierto que el sabor amargo en el jugo de toronja es apreciado por algunos consumidores, también es la principal razón por la que su consumo no se ha generalizado. Aunque un bajo nivel de naringina es deseable para identificar el sabor característico del jugo de toronja el problema se presenta cuando el nivel de concentración esta por arriba de 700 ppm (mg/L). Generalmente esto ocurre cuando la fruta se somete a una excesiva extracción mecánica para tratar de obtener altos rendimientos de jugo.

En el análisis estadístico para la naringina no se encontró diferencia significativa, siendo el intervalo de 237-301 ppm. Se ha encontrado que esta flavona es la más abundante en el jugo de toronja. Pierre en 1993, reportó los intervalos de las concentraciones de naringina en jugos de toronja de la Florida es de 138-227 y de las de Israel de 336-675 ppm.

Las concentraciones de naringina se encuentran dentro de los intervalos reportados para esta flavona.

Se pudo observar que para la flavona glucosilada hesperidina, conforme avanza la época de cosecha la concentración de ésta se va incrementando, esta tendencia se puede apreciar incluso en los cuatro lotes de primavera, este comportamiento es congruente con lo obtenido en el barrido espectrofotométrico de cada uno de estos lotes.

Para comprobar si existe diferencia significativa entre las épocas de cosecha se realizó un análisis de varianza (anexo 2), en el caso de encontrar diferencia significativa se aplicó la prueba estadística de Duncan, para ver si es posible agrupar las concentraciones obtenidas.

En el análisis estadístico para hesperidina no se encontró diferencia significativa; el intervalo que se encontró para hesperidina de las tres épocas de cosecha es de 4.65-5.28 ppm.

Estudios realizados por Pierre en 1993, reporto las concentraciones de hesperidina de dos variedades de toronja, las de la Florida y las de Israel. Para las de la Florida el intervalo es de 59-73 ppm y las de Israel de 103-122 ppm. En México, no se cuenta con información sobre la cuantificación de estos compuestos y como se puede ver, el valor de concentración en este estudio es mucho menor la cantidad de hesperidina. Existen varios factores que son importantes y que influyen en la concentración, como lo son, variedad, clima, época de cosecha, temperatura, estado de madurez, entre otros (Jear, 1976).

El contenido de neohesperidina en el jugo de toronja para las diferentes épocas de cosecha, presentó variación en los lotes estudiados, esto se puede ver con los cuatro lotes de primavera donde las concentraciones fueron distintas. Esta flavona siempre se ha encontrado en el jugo de toronja, las concentraciones calculadas fueron de 18-42 ppm, este intervalo es amplio por lo que se realizó el análisis de varianza encontrándose que existe diferencia significativa, al aplicar la prueba de Duncan se lograron agrupar solo 2 lotes el de invierno y uno de primavera (lote 2 y 3). Las concentraciones de neohesperidina reportadas por Pierre en 1993 para las de la Florida de 4.4-7.9 ppm y las de Israel de 6.9-24.4 ppm. De igual forma que en la hesperidina existen otros factores que afectan la concentración como los antes mencionados.

La cuantificación por cromatografía líquida de estas tres flavonas es importante ya que son las más representativas, por lo que los perfiles de flavonas son utilizados por muchos laboratorios para el control de calidad, ya que representa una huella digital del jugo de la fruta cítrica y se puede utilizar para caracterizar variedades o sustancias agregadas. Se puede identificar si existe lavado de pulpa y mezcla de cítricos aparte de las características organolépticas como el sabor.

De acuerdo a los valores obtenidos para cada una de las flavonas glucosiladas analizadas en el jugo de toronja Redblush se puede establecer que la concentración de estas se comporta independientemente a la época de cosecha.

3.4.2 CONTENIDO DE FLAVONAS GLUCOSILADAS EN JUGO DE NARANJA VALENCIA.

En la Fig. 11. se muestra el perfil típico del contenido de flavonas glucosiladas en jugo de naranja Valencia. Es importante destacar la señal de 10.1min. donde eluye la hesperedina y de 11.01 min. donde eluye la neohesperedina, así mismo se encontró en 12.58 min. una señal que no se pudo identificar.

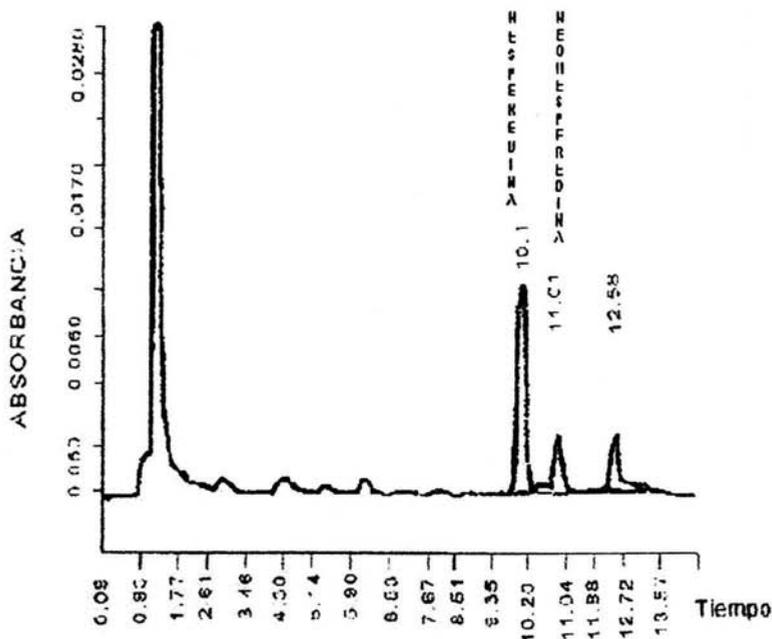


Fig.11 Perfil cromatográfico de flavonas glucosiladas en Jugo de naranja.

Los resultados de flavonas glucosiladas obtenidos en jugos de naranja se muestran en la tabla 14.

Tabla 14. Promedio de la concentración de flavonas glucosiladas para cada uno de 6 los lotes de naranja.

Lote	Época de cosecha	Conc.Hesperedina ppm	Conc.Neohesperedina ppm
1	Invierno	288.700	13.197
2	Primavera	176.658	19.508
3	Verano	283.143	42.850
4	Verano	349.183	31.383
5	Otoño	236.389	26.567
6	Otoño	131.606	20.381

Se reporta que la naranja contiene narirutina, hesperidina, neohesperidina y didimina; la hesperidina es la flavona glucosilada que se encuentra en mayor cantidad, es insípida y después de su hidrólisis se obtienen como productos hesperitina, ramnosa y glucosa (Pupin, 1998).

En el jugo de naranja Valencia se pudo observar que, para la flavona glucosilada hesperidina, que es la mayoritaria, no mostró una tendencia clara a aumentar o disminuir la concentración conforme avanza la época de cosecha, incluso en lotes de la misma época no se pudo ver ninguna tendencia. Huet en 1962, demostró que el contenido de flavonoides en naranjas y toronjas disminuye en ciertas temporadas mientras que en otra se mantiene constante, en otros estudios realizados por Pupin y colaboradores en 1997, reportaron el contenido de hesperidina en variedades de naranja valencia del Brasil que es entre 194-321 ppm, mientras que en las naranjas agrias de la Florida la hesperidina se encuentra en muy baja concentración 9.9 ppm. (Pierre, 1993). El intervalo obtenido para la naranja Valencia en el presente estudio es de 131-349 ppm.

Se puede decir que los valores encontrados en este trabajo son semejantes a lo reportado por Pupin en 1997.

Se realizó un análisis estadístico (anexo 2), para la flavona hesperidina, para verificar si había diferencia significativa en la concentración de las diferentes épocas de cosecha, como si existió diferencia se aplicó la prueba de Duncan para ver si era posible agruparlos, y se encontró que solo en dos lotes, uno de la época de invierno (Lote 1) y uno de la época de verano (lote 3), no se encontró diferencia significativa en cuanto a la concentración, para los lotes 2, 4, 5 y 6 se puede decir que son independientes. Por lo que se concluyó que no hay relación entre la concentración y la época de cosecha.

Para la flavona glucosilada neohesperidina en el jugo de naranja se encontró, que de invierno, primavera y hasta verano ésta se incrementa, después de esta época comienza a disminuir, es importante señalar que dentro de la misma época hubo diferencia en concentración por lo que es relativa esta tendencia, aunque esta flavona no es la mas abundante, es de las mas representativas e importantes ya que siempre se encuentra en el jugo de naranja y debido a que

tiene un sabor amargo a diferencia de la hesperidina que es insípida, es importante conocer su concentración para el control de calidad del jugo de naranja.

Pierre en 1993, reportó que la concentración de neohesperedina para las naranjas de la Florida es de 266 ppm. La concentración obtenida se encontró en un intervalo de 13-42 ppm la cual es considerablemente menor. En general estas diferencias se pueden explicar debido a que hay diversos factores como clima, estado de madurez, variedad, condiciones de cultivo, almacenamiento, procesamiento, los cuales son factores que influyen en las concentraciones de estas flavonas.

Se le realizó un análisis estadístico al jugo de naranja Valencia (anexo 2), y se encontró diferencia significativa, aplicando la prueba de Duncan se agruparon los lotes 2 y 6 que no muestran diferencia significativa, los demás lotes (1, 3, 4 y 5), se puede decir que son independientes para el contenido de neohesperedina.

Esta flavona es de las más representativas y en México no se cuenta con este tipo de información, por lo que es importante tener un valor promedio de acuerdo a la época de cosecha y de esta forma establecer parámetros que sirvan para caracterizar a dichas frutas. Los resultados obtenidos en este estudio indicaron que no hay relación entre la época de cosecha y la concentración de neohesperedina.

3.4.3 CONTENIDO DE FLAVONAS GLUCOSILADAS EN JUGO DE MANDARINA DANCY.

En la Fig. 12. se muestra el perfil típico del contenido de flavonas glucosiladas en jugo de mandarina Dancy. La señal de 9.12 min. no se sabe que flavona corresponde debido a que no se contó con estándar para su identificación. Es importante destacar la señal de 10.64 min. donde eluye la hesperidina y 11.4 min. donde eluye la neohesperidina.

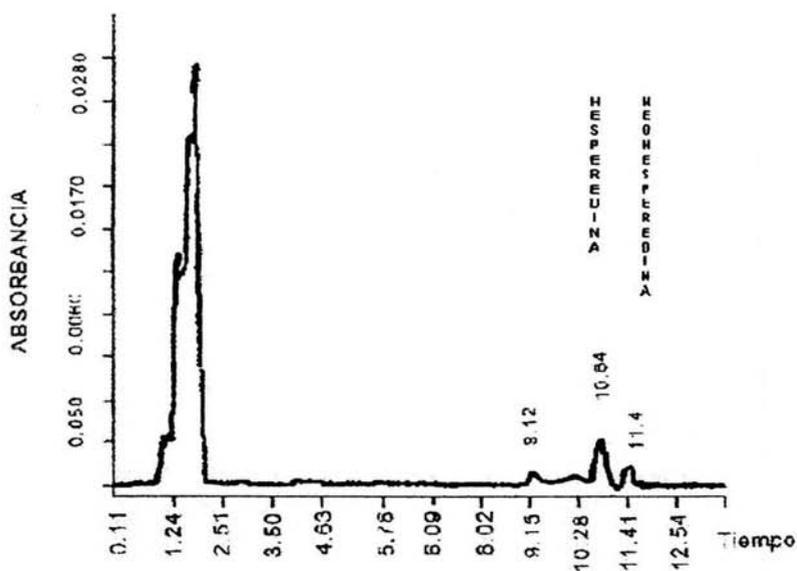


Fig.12 Perfil cromatografico de flavonas glucosiladas en jugo de mandarina

Los resultados de flavonas glucosiladas obtenidos en jugos de mandarina se muestran en la tabla 15.

Tabla 15. Promedio de la concentración de flavonas glucosiladas para cada uno de 6 los lotes de mandarina.

Lote	Época de cosecha	Conc.Hesperedina ppm	Conc.Neohesperedina ppm
1	Invierno	913.418	73.871
2	Invierno	711.407	41.443
3	Invierno	590.615	44.188
4	Primavera	692.514	275.358
5	Otoño	703.488	32.336
6	Otoño	882.503	154.661

En las mandarinas se han identificado las siguientes flavonas: narirutina, hesperedina, neohesperedina, tangerina y sinensetina (Rouseff, 1990).

La hesperedina es la flavona que siempre esta presente en la mandarina y su determinación es importante para poder evaluar la autenticidad de estos jugos.

En el jugo de mandarina, para la flavona hesperedina, se puede observar que durante la época de invierno esta comienza a disminuir, pero de primavera a otoño comienza a aumentar de nuevo la concentración, el intervalo que se encontró de hesperedina en el presente estudio es de 590-913 ppm, Wilfried en 1997, reportó los contenidos de hesperedina en la mandarina de diferentes países siendo los siguientes, Brasil 500.9 ppm, Israel 125.3 ppm, Florida 405.1 y 419.6 ppm, Argentina 258.3 ppm y España 407.1 ppm respectivamente. Las concentraciones de todos los lotes estudiados fueron mayores que los valores reportados en estudios anteriores.

El contenido de hesperedina se ve influenciado dependiendo del estado de madurez y variedad, cabe mencionar que los jugos analizados se les determinó grados Brix y pH para tener un estimado del grado de madurez y que todos los lotes fueran homogéneos, pero existen otros factores como las practicas de cultivo, condiciones climáticas, época de cosecha, entre otras,

como no se cuenta con este tipo de información en variedades mexicanas es importante comenzar a tener parámetros para definir los valores que se tienen en estas variedades.

Al realizar el análisis estadístico se encontró que existe diferencia significativa, es importante resaltar que hay diferencia entre lotes de la misma época de cosecha, lo que dificulta la interpretación de la variación de la concentración de acuerdo a la época, se realizó la prueba estadística Duncan para tratar de asociarlos; se observó que hay lotes de diferentes épocas que no muestran diferencia significativa (lotes 2, 4 y 5),

La presencia de la neohesperedina en el jugo de mandarina, en este caso fue muy heterogéneo no se pudo establecer una tendencia del comportamiento de la concentración durante las diferentes épocas de cosecha, esta flavona ha sido detectada en otras variedades sin embargo no se ha cuantificado. La concentración de neohesperedina que se encontró en el presente estudio es bastante amplio que va desde 32.33 ppm a 275.358 ppm.

Como se puede observar, cada jugo cítrico estudiado tiene un intervalo de flavonas glucosiladas característico, lo que puede ayudar a establecer un perfil de compuestos flavonoides particular de cada jugo y de esta manera comenzar a caracterizar las frutas cítricas que se cultivan y utilizan para la elaboración de jugos en nuestro país. Una vez establecidos estos parámetros propios de cada jugo podrán ser usados en la verificación de la autenticidad de jugos comerciales.

3.5 ISÓTOPOS ESTABLES DE CARBONO 13 ($\Delta^{13}\text{C}_{\text{PDB}}\text{‰}$).

3.5.1 ISÓTOPOS ESTABLES DE CARBONO 13 ($\Delta^{13}\text{C}_{\text{PDB}}\text{‰}$) EN JUGO Y PULPA DE TORONJA RED BLUSH.

En la tabla 16 se muestran los promedios (triplicado), de la relación de carbono ($\text{C}^{12/13}$), de jugo y pulpa de Toronja Redblush.

Tabla 16. Relación de carbono ($\text{C}^{12/13}$), en jugo de Toronja Redblush.

Lote	Fecha	Época de cosecha	$\delta^{13}\text{C}_{\text{PDB}}\text{‰}$ Jugo	$\delta^{13}\text{C}_{\text{PDB}}\text{‰}$ Pulpa	Diferencia Pulpa-Jugo
1	26/11/01	Otoño	-28.163	-28.305	0.142
2	13/02/02	Invierno	-25.110	-27.920	2.810
3	22/03/02	Primavera	-27.353	-28.980	1.627
4	30/04/02	Primavera	-25.606	-27.445	1.839

Las variaciones en la relación $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ para azúcares de diferentes plantas se deben a combinaciones de fraccionamientos ambientales y bioquímicos que suceden en la hoja de la planta durante la fotosíntesis (O'Leary, 1993). En primer lugar, la difusión del dióxido de carbono hacia el sitio de carboxilación afectada por el hecho de que las plantas varían la apertura de sus estomas para controlar la pérdida de agua. La discriminación de isótopos contra ^{13}C está relacionada con la disponibilidad de agua, de tal forma que una alta disponibilidad de agua implica una disminución proporcional de carbono 13. En segundo lugar, la reacción de carboxilación, por sí misma, contribuye a producir diferencias entre los isótopos, porque se usan diferentes enzimas (ribulosa-1,5-bisfosfatocarboxilasa / oxigenasa y fosfoenolpiruvato carboxilasa) en naranja y caña de azúcar o maíz, respectivamente, para fijar el dióxido de carbono (Farquhar y Lloyd, 1993).

Simpkins et al., 1999; Antolovich et al, 2001; Koziat et al, 1992; Donner y Bills, 1981, han reportado valores de $\delta^{13}\text{C}$ que caen entre -22 y -24 , para jugos cítricos principalmente, en otros estudios se han encontrado valores reportados en donde el promedio es, efectivamente, de -24 , pero los intervalos van desde -22.5 hasta -27.3 (Simpkins et al, 2000), estos resultados se

han publicado tomando en cuenta factores principalmente geográficos y variedad entre otros que son importantes ya que dependiendo de estos son los valores que se obtienen para cada país.

Los resultados obtenidos para los jugos de toronja Redblush en este estudio se encontraron en un intervalo de -25 a -28 , los cuales están dentro de lo reportado (Simpkins et al., 1999; Antolovich et al, 2001; Koziet et al, 1992; Donner y Bills, 1981). Por lo que se pudo observar que la época de cosecha no tiene relación con los valores de relación de isótopos estables de carbono 13.

3.5.2 ISÓTOPOS ESTABLES DE CARBONO 13 ($\Delta^{13}C_{PDB}\%$) EN JUGO Y PULPA DE NARANJA VALENCIA.

En la tabla 17 se muestran los promedios (triplicado), de la relación de carbono ($C^{12/13}$), de jugo y pulpa de Naranja Valencia.

Tabla 17. Relación de carbono ($C^{12/13}$), en jugo de naranja Valencia.

Lote	Fecha	Época de cosecha	$\delta^{13}C_{PDB}\%$ Jugo	$\delta^{13}C_{PDB}\%$ Pulpa	Diferencia Pulpa-Jugo
1	16/10/01	Otoño	-27.413	-28.670	1.257
2	13/02/02	Invierno	-26.713	-28.020	1.307
3	09/07/02 verde	Verano	-26.565	-27.745	1.180
4	09/07/02 amar.	Verano	-27.980	-28.275	0.295

Se pudo observar que el comportamiento de los lotes de naranja Valencia de las diferentes épocas de cosecha, es uniforme, tanto en el jugo como para la pulpa es decir, presentan un intervalo pequeño, este comportamiento era el esperado ya que no tienen por que variar los valores del $\delta^{13}C$, debido a que la proporción de isótopos estables ($^{13}C/^{12}C$) contenidos en los cítricos son típicos de su origen o de su procedencia y en mucho menor escala de los posteriores procesos industriales que sufren. En general la proporción isotópica de origen se mantiene, por lo cual permite identificar su fuente, y de la misma forma la adulteración por adición de azúcares provenientes de plantas que siguen el ciclo del C4. En 1988, Donner

concluyó que cualquier jugo de naranja que tuviera un valor de $\delta^{13}\text{C}$ más negativo que -22.1 partes por trillón (ppt), se podía considerar no adulterado.

Donner y Bills en 1987, reportaron un intervalo para valores $\delta^{13}\text{C}$ que va de -23.3 hasta -25.6 , en este estudio se incluyeron lotes provenientes de México, y los valores resultantes fueron -23.4 y -25.2 , estos valores concuerdan con el promedio (-24.5 ± 0.591) de sus 42 muestras (Donner y Bills, 1981). Este intervalo es un poco mayor a los valores reportados por Antolovich veinte años después, donde la naranja estadounidense tiene como resultado un valor de -25.1 , la brasileña de -25.6 y las variedades centroamericanas tienen valores que promedian cerca de -27 . Pero hay que tomar en cuenta que las condiciones geográficas que influyen en esta determinación y de aquí las diferencias en los resultados entre países.

El intervalo encontrado en el presente estudio fue de -25 a -28 ppt, por lo que se puede decir que no existe variación del contenido de isótopos estables de carbono 13 ($\delta^{13}\text{C}$) durante las diferentes épocas de cosecha para el jugo de naranja Valencia, este intervalo se encuentra dentro de los valores reportados (Simpkins et al., 1999; Antolovich et al, 2001; Koziel et al, 1992; Donner y Bills, 1981).

3.5.3 ISÓTOPOS ESTABLES DE CARBONO 13 ($\Delta^{13}\text{C}_{\text{PDB}}\%$) EN JUGO Y PULPA DE MANDARINA DANCY.

En la tabla 18 se muestran los promedios (triplicado), de la relación de carbono ($\text{C}^{12/13}$), de jugo y pulpa para mandarina Dancy.

Tabla 18. Relación de carbono ($\text{C}^{12/13}$), en jugo de mandarina Dancy.

Lote	Fecha	Época de cosecha	$\delta^{13}\text{C}_{\text{PDB}}\%$ Jugo	$\delta^{13}\text{C}_{\text{PDB}}\%$ Pulpa	Diferencia Pulpa-Jugo
1	16/10/01	Otoño	-28.893	-31.245	2.352
2	26/11/01	Otoño	-27.060	-29.375	2.315
3	17/01/02 CA	Invierno	-27.023	-27.740	0.717
4	17/01/02 C	Invierno	-27.500	-28.070	0.570
5	13/02/02	Invierno	-27.685	-28.290	0.605
6	22/03/02	Primavera	-26.826	-28.415	1.589

El descubrimiento de una correlación entre el contenido de $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ en azúcares y otras sub-fracciones del jugo, ha conducido a un mejoramiento significativo en la capacidad de diagnóstico del análisis de la relación de isótopos estables de carbono (ARIEC). La diferencia entre valores de la relación $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ de carbohidratos totales e incluso pulpa o ácidos orgánicos es mayormente consistente con los azúcares que tienen un poco menos del isótopo mas pesado que otras subfracción. La adición de azúcar de caña o de jarabe de maíz afectará esta diferencia, haciendo al análisis útil para una correlación interna en países donde la adición de ácido cítrico y/o pulpa no esta permitido (Simpkins et al, 1999).

Como se puede observar la relación de isótopos estables de carbono 13 ($\delta^{13}\text{C}$), para el jugo de mandarina se encuentra en un intervalo de -26.8 a -28.8 en donde un lote de otoño y los 3 de invierno están entre los -27 a -28 que es el intervalo donde generalmente se encuentra este tipo de cítrico.

En general se puede decir que no existe diferencia entre la época de cosecha y el contenido de isótopos estables de carbono 13 ($\delta^{13}\text{C}$).

Una de las prácticas comunes en la elaboración de jugos de frutas es la adición de azúcar de caña. La mejor manera de poder detectar adulteraciones en jugos y néctares es el uso combinado de análisis isotópico y no isotópico.

En México no se tienen información del $\delta^{13}\text{C}$ sobre las variedades de frutas que se utilizan para la elaboración de jugos por lo que los objetivos de este estudio incluyen el establecer un intervalo para las variedades mexicanas que son utilizadas para la elaboración de jugos, por lo que se compararon los resultados para los tres cítricos con los valores encontrados en la literatura, tomando como modelo las variedades de naranjas estudiadas anteriormente.

Para obtener un mejor estudio, también se determinó la relación $\delta^{13}\text{C}$ en las pulpas de cada jugo de toronja Redblush, naranja Valencia y mandarina Dancy. Estos datos ayudan a obtener una caracterización más completa de los jugos de frutas cítricas de este trabajo.

Los intervalos del isótopo de carbono proveen importantes métodos de diferenciación entre los edulcorantes derivados del C3 (como la remolacha y los frutos cítricos) y los derivados del C4 (como la caña y maíz) (González et al, 1999). Una vez establecidos los intervalos de las variedades de cítricos nacionales que se utilizan para la elaboración de jugos, eventualmente se puede implementar esta característica para su uso en la verificación de la autenticidad de las materias primas usadas en la elaboración de jugos.

CONCLUSIONES.

- Se corroboró que los barridos espectrofotométricos son un análisis rápido y práctico del cual se obtiene información importante, ya que son una huella digital de cada jugo y permite detectar la presencia o ausencia de los compuestos de interés para el estudio de los jugos naturales.
- La época de cosecha no presentó influencia sobre el contenido de carbohidratos en los tres jugos cítricos.
- La relación en general de carbohidratos (fructosa:glucosa:sacarosa), para el jugo de toronja Redblush fue de 1.5:1:0.5, para naranja Valencia de 1:1:1.5 y en mandarina Dancy de 1.5:1:2.
- En el jugo de toronja Redblush se identificaron tres flavonas, con un intervalo de concentración para hesperedina de 4.65 a 5.28 ppm, para neohesperedina de 18.63 a 50.56 ppm y para naringina de 2.37 a 301.36ppm.
- En el jugo de naranja Valencia se identificaron dos flavonas, el intervalo de hesperedina de 176.65 a 349.18 ppm y neohesperedina de 13.19 a 42.85 ppm.
- Para el jugo de mandarina Dancy se identificaron hesperedina de 590.61 a 913.41 ppm y neohesperedina de 41.44 a 154.66.
- La época de cosecha en general no influyó sobre el contenido de flavonas glucosiladas.
- En la relación de isótopos estables de carbono 13 , la época de cosecha no presentó influencia de en los jugos de toronja, mandarina y naranja.

- Los intervalos de carbono 13, encontrados para los jugos fueron de -25 a -28 ppt, para toronja Redblush, de -26.5 a -28 para el jugo de naranja Valencia y de -27 a -29 para el jugo de mandarina Dancy.
- Ninguno de los análisis realizados en este trabajo son determinantes, por si mismos para detectar adulteraciones en jugos de fruta; un estudio completo es aquel en donde cada uno de los análisis complementa los resultados de los demás.

RECOMENDACIÓN.

Es necesario tener un control más riguroso sobre los parámetros (variedad, estado de madurez, época de cosecha, clima, entre otros), con el fin de obtener datos más completos y de esta forma tener valores más representativos de los componentes de los jugos de frutas nacionales.

BIBLIOGRAFIA.

1. Antolovich, Michael; Li, Xai; Robards, Kevin. (2001). Detection of Adulteration in Australian Orange Juices by Stable Carbon Isotope Ratio Analysis (SCIRA). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 119. 2622-2626.
2. Arana Rodríguez A. (2002), Estudio cromatográfico de compuestos flavonoides para evaluar autenticidad en jugo de naranja y toronja. UNAM. Facultad de Química. Tesis Licenciatura
3. Aserca. (1998), "Apoyos y servicios a la comercialización agropecuaria" *Claridades Agropecuarias*". 63:4-6.
4. Baduí, D.S. (1996) *Química de los Alimentos*. Longman de México Editores.3ª Reimpresión. México. pp.282-289.
5. Belitz H.-D. y W. Grosch. 1997. *Química de los Alimentos*. 2ª edición. Editorial Acribia, S.A., Zaragoza, España. pp. 901-907.
6. Bender, M. N., (1971), Variation in the $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ratios of plants in Relation to the Pathway of Photosynthetic Carbon Dioxide Fixation. *Phytochemistry*. 10:1239:1244.
7. Braverman, J.B.S. (1949). *Citrus Products, Chemical Composition and Chemical Technology*. Interscience Publishers Inc. Nueva York.
8. Cienfuegos Alvarado, Edith. (1994). Determinación del origen de la miel de abeja utilizadno su composición isotópica de carbono 13. UNAM, Facultad de química. Tesis Maestría en Ciencias químicas (Química Analítica).
9. *Claridades agropecuarias* #19. 1995. La naranja en la citricultura nacional. Marzo,4,16. www.infoaserca.gob.mx
10. *Claridades agropecuarias* #70. 1999. De nuestra cosecha.Junio 1, 3, 23 y 36. www.infoaserca.gob.mx
11. Craig, H. (1957). Isotopic standards for carbon and oxygen and correction factors for mass-spectrometric analysis of carbon dioxide, *Geochim. Cosmochim Acta.*, 12:133-149.
12. Doner, L. W., Ajie, H. O. y Sternberg, L. S. L. (1987). "Detecting Sugar Beet Syrups in orange juice by D/H and O/O Analysis of sucrose". *Journal Agricultural Food Chemistry*. 35 (4):610-612.
13. Donner, L. W.; Bills, D. D. (1981). Stable Carbon Isotope Ratios in Orange Juice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 29.803-804.

14. E. European Committee for Standardization. Fruit and vegetable juices. 1996.,
Determination of the stable carbon isotope ratio ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) of sugars from fruit juices –
Meted using isotope ratio mass spectrometry. Ref. No. EVN 12140:1996.
15. Farquhar, G. D., & Lloyd, J. (1993). Carbon and oxygen isotope effects in the exchange
of carbon dioxide between terrestrial plants and the atmosphere. In J. R. Ehleringer, A. E.
Hall, & G. D. Farquhar, Stable isotopes and plant carbon-water relations (pp. 47-70). San
Diego: Academic Press.
16. Fennema O. R. (1995), Fruit science and technology. Ed. Acribia. España. pp. 39-49,
669.
17. Flores Ceballos Raúl. (1998). “Estudio analítico del jugo de mandarinas nacionales”.
UNAM. Facultad de Química. Tesis Licenciatura.
18. González, J.; Remaud, G.; Jamin, E; Naulet, N.; Martín, G. G. Specific natural isotope
profile studied by isotope ratio mass spectrometry (SNIP-IRMS): C-13/C-12 ratios of
fructose, glucose and sucrose for improbad detection of sugar addition to pineapple juices
and concentrates. (1999). J. Agric. Food Chem. 47, 2316-2321.
19. Hirano, S. (1970). Relations of fruit size of satsuma mandarin to the sugar and acid
contents. Journal of the Japanese Society for Horticulture Science, 48 (2), 162-168.
20. Infoagro. El cultivo de la mandarina 2002.
www.infoagro.com.
21. Infoagro. El cultivo de las naranjas 2000.
www.infoagro.com.
22. Infoagro. El cultivo de los pomelos. 2002
www.infoagro.com
23. Jear Claude Cheffer. (1976). Introducción a la Bioquímica y Tecnología de los
Alimentos. Ed. Acribia, Zaragoza, España. pp. 135-146.
24. Johnson, R.L. y Chandler, B.V., (1982). Reduction of bitterness and acidity in grapefruit
juice by adsorptive processes. Journal Science Food Agriculture 33:287-293.
25. Kefford, J. F., (1970). The Chemical Constituents of Citrus Fruit. Advances in Food
Research. Supplement 2. Ed. Academia Press. New York. 116-123.
26. Koziet, J; Rossman, A; Martin, G. J. y Ashuvst, P.R. (1993). Determination of Carbon 13
Content of Sugar of fruit and vegetable Juices. Analytica Chimica Acta. 271. 31-38.
Elsevier Publishers. BV, Amsterdam

27. Krueger, D. A., (1993). Sample Preparation Bias in Carbon Stable Isotope Ratio Analysis of fruit juice and sweeteners. *Journal Association of Official Analytical Chemistry*. 76(12):418-420
28. Kuneman, D.W., Braddock, J.K y Mc Chesney, L.L. (1988). "HPLC Profile of Amino Acids in fruit juices as their (1-fluoro-2-4-dinitrophenyl)-5-1-arginine Amine Derivates" *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 36 (1):6-9.
29. Maynard, Jocelyn y Tressler, Donlad. *Fruits and Vegetable Juice Processing Technology*. 2° Ed. AVI Publishing Co. 1971 Westport, Connecticut.
30. Merken y Becher. (2000). Measurement of food flavonoids by high performance liquid chromatography: A review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*., 48: 577-599.
31. Norma del Codex para el zumo (jugo) de naranja conservado por medios físicos exclusivamente. CODEX STAN. 45-1981.
www.codexalimentarius.net
32. Norma del Codex para el zumo (jugo) de pomelo conservado por medios físicos exclusivamente. CODEX STAN. 46-1981.
www.codexalimentarius.net
33. Norma Mexicana NMX-F-018-1968. Calidad para el jugo de toronja.
www.economia-nmx.gob.mx
34. Norma Mexicana NMX-F-118-1984. Alimentos y bebidas no alcohólicas-jugo de naranja envasado.
www.economia-nmx.gob.mx
35. O'Leary, M. H. (1993). Biochemical basis of carbon isotope fractionation. In J. R. Ehleringer, A. E. Hall, & G. D. Farquhar, *Stable isotopes and plant carbon-water relations* (pp. 19-28). San Diego: Academic Press.
36. Petrus, D.R. y Nagy, S. (1983). Spectrophotometric and Spectrofluorometric Characterization of orange juices and related products. *Instrumental analysis of foods*, ed. por Charalambos G e Inglett G., Ed. *Recent Progres*.2:149-155.
37. Petrus, D.R. y Dougherty, M.H., (1973). Visible and ultraviolet analysis of orange juice. *Journal of Food Science*, 38:659.
38. Pierre M. (1993). Column liquid chromatographic determination of flavanone glycosides in Citrus. *Journal of Chromatography*, 634:129-134.
39. Pierre M. (1998). Simultaneous separation of flavones glycosides and polymethoxylated flavones in citrus juice using liquid chromatography. *Journal of Chromatography*.178:145-152.

40. Pupin A. M. (1998). Flavanone glycosides in Brazilian orange juices. *Food Chemistry*. 61:117.
41. Rouseff, R. L. (1990). "Bitterness in food and beverages". Elsevier Science Publishers. Netherlands. pp.163-168.
42. SAGAR. 1990. "Sistema – producto Naranja". Datos básicos., pp. 43-47.
43. Simpikins, P. y Harrison, G. (2000). Stable carbon isotope ratio analysis of Australian orange juices, *Food Chemistry*, 70. 385-390.
44. Shuhmann, W. (1985). Chromatographic determinations of sugars and starch in a diet composite reference material. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 33. 531 – 536.
45. Smith, B.N. y Epstein, S. (1971). Two Categories of $^{12}\text{C}/^{13}\text{C}$ ratios for higher plants. *Plant Physiol.*, 47: 380-384.
46. Ting S. V. y Rouseff R.L. (1971 9. Determination of some methoxylated flavones in citrus juices by high performance liquid chromatography. *Journal of Food Science*, 44:135-140.
47. White, Richard D. y Widmer, Wilbur W. 1990. Application of High Performance Anion-Exchange Chromatography with pulsed Amperometric Detection of Sugar Analysis in Citrus Juices. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 38. 1918-1921
48. Wrolstad, R. E.; Shallenberger, R. S. Free Sugars and Sorbitol in Fruits-A Compilation from the Literature. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 1981, 64-91.

ANEXO I.

CARBOHIDRATOS.

En la tabla 1 se muestran los valores de las regresiones lineales para la cuantificación de carbohidratos.

Tabla 1. Curva Patrón de carbohidratos (HPLC)

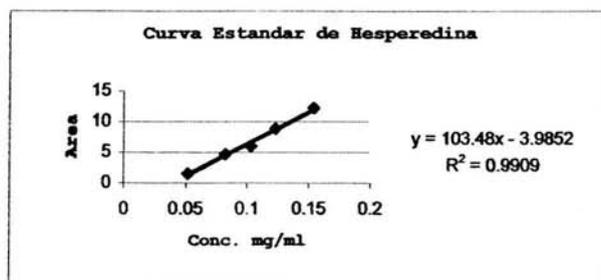
Azúcar	Pendiente	Ordenada al origen	Factor de regresión
Fructosa	90580	9548.1	0.9925
Glucosa	155509	95209	0.9629
Sacarosa	126687	40089	0.9814

FLAVONAS GLUCOSILADAS.

Para cuantificar la concentración de hesperedina, neohesperedina y naringina en los jugos se realizaron las respectivas curvas patrón, los resultados se muestran en las tablas 2, 3 y 4.

Tabla 2. Curva estándar de Hesperedina.

Concentración (mg/mL)	Área	Desviación Estándar	Coefficiente de variación
0.0515	1.56	0.109	6.98
0.0824	4.68	0.210	4.48
0.1030	5.99	0.189	3.15
0.1230	8.83	0.190	2.15
0.1540	12.19	0.221	1.81

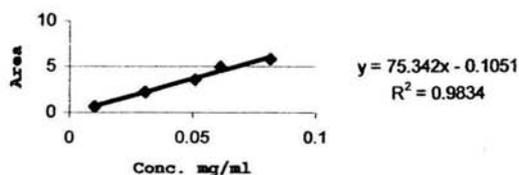


Resultados correspondientes para Neohesperidina se presentan en la tabla 3.

Tabla 3. Curva estándar de Neohesperidina.

Concentración (mg/mL)	Área	Desviación Estándar	Coefficiente de variación
0.0102	0.61	0.036	5.90
0.0306	2.2	0.128	5.81
0.0510	3.56	0.198	5.56
0.0612	4.96	0.137	2.76
0.0816	5.82	0.140	2.40

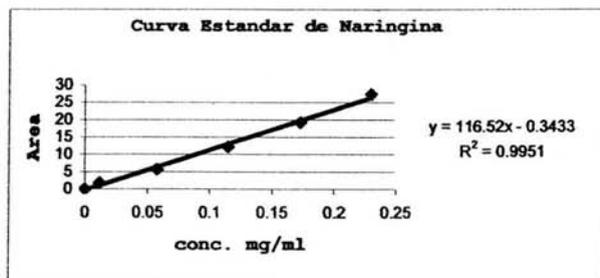
Curva Estandar de Neohesperidina



Resultados correspondientes para Naringina se muestran en la tabla 4.

Tabla 4. Curva estándar de Naringina.

Concentración (mg/mL)	Área	Desviación Estándar	Coefficiente de variación
0.0115	1.73	0.102	5.89
0.0575	5.68	0.285	5.01
0.115	12.22	0.564	4.61
0.1725	19.3	0.537	2.78
0.23	27.35	0.751	2.74



ANEXO II

ANÁLISIS ESTADÍSTICO PARA CARBOHIDRATOS.

JUGO DE NARANJA.

ANÁLISIS DE VARIANZA.

FRUCTOSA	N	Media	Desviación Estándar	Error Estándar	Intervalo de confianza al 95%		Mínimo	Máximo
					Limite Inferior	Limite Superior		
1 16/10/2001	4	2.874	0.158	0.079	2.622	3.127	2.682	3.071
2 13/02/2002	4	4.208	0.238	0.119	3.828	4.587	4.011	4.551
3 22/03/2002	4	3.537	0.162	0.081	3.279	3.795	3.366	3.756
4 09/07/2002	4	3.041	0.182	0.091	2.750	3.331	2.886	3.245
5 09/07/2002	4	3.469	0.169	0.084	3.200	3.738	3.238	3.637
Total	20	3.426	0.503	0.112	3.190	3.662	2.682	4.551

ANOVA

FRUCTOSA	Suma de Cuadrados	df	Medio de Cuadrados	F	Sig.
Entre Grupos	4.313	4	1.078	31.617	0
Dentro de Grupos	0.512	15	0.034		
Total	4.824	19			

PRUEBA DE DUNCAN

FRUCTOSA	LOTE	N	$\alpha = .05$		
			1	2	3
Student-Newman-Keuls	1 16/10/2001	4	2.874		
	4 09/07/2002	4	3.041		
	5 09/07/2002	4		3.469	
	3 22/03/2002	4		3.537	
	2 13/02/2002	4			4.208
	Sig.			0.222	0.610
DUNCAN	1 16/10/2001	4	2.874		
	4 09/07/2002	4	3.041		
	5 09/07/2002	4		3.469	
	3 22/03/2002	4		3.537	
	2 13/02/2002	4			4.208
	Sig.			0.222	0.61

ANÁLISIS DE VARIANZA

GLUCOSA	N	Media	Desviación Estándar	Error Estándar	Intervalo de Confianza al 95%		Mínimo	Máximo
					Limite Inferior	Limite Superior		
1 16/10/2001	4	5.034	0.228	0.114	4.671	5.397	4.740	5.251
2 13/02/2002	4	3.388	0.265	0.132	2.967	3.810	3.018	3.593
3 22/03/2002	4	3.130	0.169	0.084	2.860	3.400	2.926	3.331
4 09/07/02	4	2.245	0.150	0.075	2.006	2.483	2.092	2.375
5 09/07/02	4	4.035	0.209	0.104	3.701	4.369	3.721	4.155
Total	20	3.567	0.973	0.217	3.111	4.022	2.092	5.251

ANOVA

GLUCOSA	Suma de Cuadrados	df	Media de Cuadrados	F	Sig.
Entre Grupos	17.371	4	4.343	99.78	0
Dentro de Grupos	0.653	15	0.043		
Total	18.024	19			

PRUEBA DE DUNCAN

GLUCOSA		N	$\alpha = .05$			
LOTE			1	2	3	4
Student-Newman-Keuls	4 09/07/2002 Amarillo	4	2.245			
	3 22/03/2002	4		3.130		
	2 13/02/2002	4		3.388		
	5 09/07/2002 Verde	4			4.035	
	1 16/10/2001	4				5.034
	Sig.			1	0.1	1
DUNCAN	4 09/07/2002 Amarillo	4	2.245			
	3 22/03/2002	4		3.130		
	2 13/02/2002	4		3.388		
	5 09/07/2002 Verde	4			4.035	
	1 16/10/2001	4				5.034
	Sig.			1	0.1	1

ANÁLISIS DE VARIANZA

SACAROSA	N	Media	Desviación Estándar	Error Estándar	Intervalo de Confianza al 95%		Mínimo	Máximo
					Limite Inferior	Limite Superior		
1 16/10/2001	4	5.874	0.622	0.311	4.884	6.864	5.344	6.595
2 13/02/2002	4	4.960	0.122	0.061	4.766	5.154	4.794	5.077
3 22/03/2002	4	4.820	0.308	0.154	4.381	5.363	4.433	5.141
4 09/07/2002	4	6.134	0.183	0.091	5.842	6.426	5.939	6.380
5 09/07/2002	4	5.793	0.239	0.119	-5.411	6.175	5.469	5.979
Total	20	5.527	0.607	0.135	5.242	5.811	4.433	6.595

ANOVA

SACAROSA	Suma de Cuadrados	df	Media de Cuadrados	F	Sig.
Entre Grupos	5.241	4	1.31	11.129	0
Dentro de Grupos	1.766	15	0.118		
Total	7.007	19			

PRUEBA DE DUNCAN

SACAROSA	LOTE	N	$\alpha = .05$	
			1	2
Student-Newman-Keuls	3 22/03/2002	4	4.872	
	2 13/02/2002	4	4.960	
	5 09/07/2002	4		5.793
	1 16/10/2001	4		5.874
	4 09/07/2002	4		6.134
	Sig.			0.723
DUNCAN	3 22/03/2002	4	4.872	
	2 13/02/2002	4	4.960	
	5 09/07/2002	4		5.793
	1 16/10/2001	4		5.874
	4 09/07/2002	4		6.134
	Sig.			0.723

JUGO DE MANDARINA

ANÁLISIS DE VARIANZA

FRUCTOSA	N	Media	Desviación Estándar	Error Estándar	Intervalo de Confianza al 95%		Mínimo	Máximo
					Límite Inferior	Límite Superior		
1 16/10/2001	4	3.601	0.193	0.096	3.293	3.909	3.387	3.854
2 17/01/20 02-CA	4	3.380	0.096	0.0481	4.971	5.278	3.981	4.184
3 17/01/20 02-CM	4	1.738	0.187	0.0938	1.439	2.036	1.577	1.964
4 13/02/20 02	4	3.457	0.145	0.0728	3.226	3.689	3.256	3.601
5 22/03/20 02	4	3.544	0.111	0.055	3.367	3.720	3.471	3.706
Total	20	3.493	1.109	0.248	2.974	4.0125	1.577	5.184

ANOVA

FRUCTOSA	Suma de Cuadrados	df	Media de Cuadrados	F	Sig
Entre Grupos	23.032	4	5.758	249.406	0
Dentro de Grupos	0.346	15	0.023		
Total	23.379	19			

PRUEBA DE DUNCAN

FRUCTOSA	LOTE	N	$\alpha = .05$	
			1	2
Student-Newman-Keuls	3 17/01/2002-CM	4	1.738	
	4 13/02/2002	4		3.457
	5 22/03/2002	4		3.544
	1 16/10/2001	4		3.601
	2 17/01/2002- CA	4		3.38
	Sig.			1
Duncan	3 17/01/2002-CM	4	1.738	
	4 13/02/2002	4		3.457
	5 22/03/2002	4		3.544
	1 16/10/2001	4		3.601
	2 17/01/2002- CA	4		3.38
	Sig.			1

ANÁLISIS DE VARIANZA

GLUCOSA	N	Media	Desviación Estándar	Error Estándar	Intervalo de Confianza al 95%		Mínimo	Máximo
					Limite Inferior	Limite Superior		
1 16/10/2001	4	2.317	0.130	0.0654	2.109	2.526	2.148	2.431
2 17/01/2002- CA	4	4.673	0.239	0.119	4.292	5.054	4.447	4.979
3 17/01/2002-CM	4	0.795	0.238	0.011	0.586	0.662	0.602	0.647
4 13/02/2002	4	3.695	0.045	0.022	3.623	3.767	3.655	3.751
5 22/03/2002	4	2.305	0.199	0.099	1.987	2.623	2.089	2.479
Total	20	2.723	1.420	0.317	2.058	3.388	0.602	4.979

ANOVA

GLUCOSA	Suma de Cuadrados	df	Media de Cuadrados	F	Sig.
Entre Grupos	37.974	4	9.493	405.989	0
Dentro de Grupos	0.351	15	0.023		
Total	38.325	19			

ANÁLISIS DE VARIANZA

SACAROSA	N	Media	Desviación Estándar	Error Estándar	Intervalo de Confianza al 95%		Mínimo	Máximo
					Limite Inferior	Limite Superior		
1 16/10/2001	4	5.911	0.378	0.189	5.308	6.513	5.557	6.447
2 17/01/2002- CA	4	5.120	0.085	0.042	3.249	3.522	3.321	3.507
3 17/01/2002-CM	4	2.040	0.200	0.100	1.722	2.358	1.795	2.250
4 13/02/2002	4	5.215	0.115	0.0578	5.031	5.399	5.067	5.340
5 22/03/2002	4	8.579	0.051	0.025	8.497	8.662	8.533	8.653
Total	20	5.026	2.303	0.515	3.948	6.104	1.795	8.653

ANOVA

SACAROSA	Suma de Cuadrados	df	Media de Cuadrados	F	Sig.
Entre Grupos	100.211	4	25.053	605.725	0
Dentro de Grupos	0.62	15	0.041		
Total	100.831	19			

PRUEBA DE DUNCAN

SACAROSA	LOTE	N	Subset for alpha = .05			
			1	2	3	4
Student-Newman-Keuls	3 17/01/2002-CM	4	2.040			
	2 17/01/2002- CA	4		5.12		
	4 13/02/2002	4		5.21		
	1 16/10/2001	4			5.911	
	5 22/03/2002	4				8.579
	Sig.		1	2	1	1
DUNCAN	3 17/01/2002	4	2.040			
	2 17/01/2002- CA	4		5.12		
	4 13/02/2002	4		5.215		
	1 16/10/2001	4			5.911	
	5 22/03/2002	4				8.579
	Sig.		1	2	1	1

JUGO DE TORONJA.

ANÁLISIS DE VARIANZA

FRUCTOSA	N	Media	Desviación Estándar	Error Estándar	Intervalo de Confianza al 95%		Mínimo	Máximo
					Limite Inferior	Limite Superior		
1 16/10/2001	4	3.844	0.081	0.040	3.714	3.973	3.726	3.897
2 13/02/2002	4	4.166	0.191	0.095	3.860	4.471	3.912	4.336
3 14/03/2002	4	3.920	0.178	0.089	3.635	4.204	3.761	4.088
4 22/03/2002	4	5.224	0.049	0.024	5.145	5.302	5.181	5.281
5 30/03/2002	4	4.904	0.121	0.060	4.572	4.958	4.657	4.904
Total	20	4.383	0.557	0.124	4.123	4.644	3.726	5.281

ANOVA

FRUCTOSA	Suma de Cuadrados	df	Media de Cuadrados	F	Sig.
Entre Grupos	5.621	4	1.405	75.904	0
Dentro de Grupos	0.278	15	0.018		
Total	5.898	19			

PRUEBA DE DUNCAN

FRUCTOSA	LOTE	N	Subset for alpha = .05		
			1	2	3
Student-Newman-Keuls	1 16/10/2001	4	3.844		
	3 14/03/2002	4	3.920		
	2 13/02/2002	4		4.904	
	5 30/04/2002	4		4.765	
	4 22/03/2002	4			5.224
	Sig.		0.441	2	1
DUNCAN	1 16/10/2001	4	3.844		
	3 14/03/2002	4	3.920		
	2 13/02/2002	4		4.904	
	5 30/04/2002	4		4.765	
	4 22/03/2002	4			5.224
	Sig.		0.441	2	1

ANÁLISIS DE VARIANZA

GLUCOSA	N	Media	Desviación Estándar	Error Estándar	Intervalo de Confianza al 95%		Mínimo	Máximo
					Limite Inferior	Limite Superior		
1 16/10/2001	4	2.698	0.135	0.067	2.482	2.914	2.565	2.818
2 13/02/2002	4	2.864	0.072	0.036	2.748	2.979	2.812	2.969
3 14/03/2002	4	2.893	0.048	0.024	2.816	2.969	2.828	2.944
4 22/03/2002	4	4.229	0.090	0.045	4.084	4.373	4.106	4.324
5 30/04/2002	4	3.594	0.066	0.033	3.488	3.699	3.523	3.659
Total	20	3.255	0.595	0.133	2.976	3.534	2.565	4.324

ANOVA

GLUCOSA	Suma de Cuadrados	df	Media de Cuadrados	F	Sig.
Entre Grupos	6.628	4	1.657	214.198	0
Dentro de Grupos	0.116	15	0.077		
Total	6.744	19			

ANÁLISIS DE VARIANZA

SACAROSA	N	Media	Desviación Estándar	Error Estándar	Intervalo de confianza al 95%		Mínimo	Máximo
					Limite Inferior	Limite Superior		
1 16/10/20 01	4	0.139	0.13	0.066	0.118	0.160	0.127	0.158
2 13/02/2002	4	3.425	0.73	0.036	3.309	3.542	3.351	3.520
3 14/03/2002	4	0.733	0.193	0.096	0.425	1.041	0.488	0.930
4 22/03/2002	4	2.585	0.036	0.018	2.527	2.644	2.551	2.637
5 30/04/2002	4	1.995	0.122	0.061	1.801	2.190	1.841	2.127
Total	20	1.776	1.234	0.275	1.198	2.353	0.127	3.520

ANOVA

SACAROSA	Suma de Cuadrados	df	Media de Cuadrados	F	Sig.
Entre Grupos	28.768	4	7.192	606.964	0
Dentro de Grupos	0.178	15	0.011		
Total	28.946	19			

PRUEBA DE DUNCAN

SACAROSA	LOTE	N	$\alpha = .05$				
			1	2	3	4	5
Student-Newman-Keuls	1 16/10/20 01	4	0.139				
	3 14/03/2002	4		0.733			
	5 30/04/2002	4			1.995		
	4 22/03/2002	4				2.585	
	2 13/02/2002	4					3.425
	Sig.		1	1	1	1	1
DUNCAN	1 16/10/2001	4	0.139				
	3 14/03/2002	4		0.733			
	5 30/04/2002	4			1.995		
	4 22/03/2002	4				2.585	
	2 13/02/2002	4					3.425
	Sig.		1	1	1	1	1

FLAVONAS GLUCOSILADAS.

JUGO DE MANDARINA

ANÁLISIS DE VARIANZA.

HESPEREDINA	N	Media	Desviación Estándar	Error Estándar	Intervalo de confianza al 95%		Mínimo	Máximo
					Limite Inferior	Limite Superior		
1 16/10/2001	9	88.252	3.700	1.233	85.407	91.096	84.05	93.56
2 26/11/2001	9	70.351	1.250	0.416	69.390	71.312	68.46	71.83
3 17/01/2002	9	91.343	1.246	0.415	90.385	92.301	89.48	93.07
4 17/01/2002	9	71.141	1.840	0.613	69.726	72.555	69.03	75.12
5 13/02/2002	9	59.061	1.594	0.531	57.835	60.286	55.87	61.14
6 14/03/2002	9	69.252	2.550	0.850	67.291	71.212	65.52	73.08
Total	54	74.900	11.598	1.578	71.734	78.066	55.87	93.56

ANOVA

HESPEREDINA	Suma de Cuadrados	df	Media de Cuadrados	F	Sig.
Entre Grupos	6896.29	5	1379.258	282.991	0
Dentro de Grupos	233.945	48	4.874		
Total	7130.235	53			

PRUEBA DE DUNCAN

HESPEREDINA	LOTE	N	$\alpha = .05$			
			1	2	3	4
Student-Newman-Keuls	5 13/02/2002	9	59.061			
	6 14/03/2002	9		69.252		
	2 26/11/2001	9		70.351		
	4 17/01/2002	9		71.141		
	1 16/10/2001	9			88.252	
	3 17/01/2002	9				91.343
	Sig.			1	0.176	1
DUNCAN	5 13/02/2002	9	59.061			
	6 14/03/2002	9		69.252		
	2 26/11/2001	9		70.351		
	4 17/01/2002	9		71.141		
	1 16/10/2001	9			88.252	
	3 17/01/2002	9				91.343
	Sig.			1	0.092	1

ANÁLISIS DE VARIANZA.

NEOHESPEREDINA	N	Media	Desviación Estándar	Error Estándar	Intervalo de confianza al 95%		Mínimo	Máximo
					Limite Inferior	Limite Superior		
1 16/10/2001	9	15.468	2.466	0.822	13.573	17.364	12.71	18.8
2 26/11/2001	9	3.236	0.470	0.156	2.874	3.598	2.73	4.04
3 17/01/2002	9	7.388	0.449	0.149	7.043	7.734	6.85	8.10
4 17/01/2002	9	4.146	0.275	0.186	3.935	4.358	3.50	4.36
5 13/02/2002	9	4.42	0.687	0.229	3.891	4.948	3.24	5.06
6 14/03/2002	9	27.536	2.485	0.828	25.626	29.446	21.28	29.51
	5							
Total	4	10.366	8.899	1.211	7.937	12.795	2.73	29.51

ANOVA

NEOHESPEREDINA	Suma de Cuadrados	df	Media de Cuadrados	F	Sig.
Entre Grupos	4091.372	5	818.274	371.131	0
Dentro de Grupos	105.831	48	2.205		
Total	4197.203	53			

PRUEBA DE DUNCAN

NEOHESPEREDINA	LOTE	N	$\alpha = .05$			
			1	2	3	4
Student-Newman-Keuls	2 26/11/2001	9	3.236			
	4 17/01/2002	9	4.146			
	5 13/02/2002	9	4.420			
	3 17/01/2002	9		7.388		
	1 16/10/2001	9			15.468	
	6 14/03/2002	9				27.536
	Sig.		0.219	1	1	1
DUNCAN	2 26/11/2001	9	3.236			
	4 17/01/2002	9	4.146			
	5 13/02/2002	9	4.420			
	3 17/01/2002	9		7.388		
	1 16/10/2001	9			15.468	
	6 14/03/2002	9				27.536
	Sig.		0.116	1	1	1

JUGO DE NARANJA.

ANÁLISIS DE VARIANZA.

HESPEREDINA	N	Media	Desviación Estándar	Error Estándar	Intervalo de Confianza al 95%		Mínimo	Máximo
					Limite Inferior	Limite Superior		
1 16/10/2001	9	13.161	1.373	0.457	12.105	14.216	10.53	15.46
2 26/11/2001	9	23.640	5.633	1.877	19.309	27.970	16.86	35.35
3 13/02/2002	9	28.872	9.327	3.109	21.702	36.041	20.71	42.21
4 14/03/2002	9	17.667	1.334	0.444	16.642	18.693	14.51	18.81
5 09/07/2002	9	28.315	1.029	0.343	27.524	29.106	26.47	29.84
6 09/07/2002	9	34.922	1.437	0.479	33.817	36.027	33.29	37.07
Total	54	24.429	8.543	1.162	22.097	26.761	10.53	42.21

ANOVA

HESPEREDINA	Suma de Cuadrados	df	Media de Cuadrados	F	Sig.
Entre Gropos	2864.315	5	572.863	27.382	0
Dentro de Gropos	1004.201	48	20.921		
Total	3868.515	53			

PRUEBA DE DUNCAN

HESPEREDINA	LOTE	N	$\alpha = .05$				
			1	2	3	4	5
Student-Newman-Keuls	1 16/10/2001	9	13.161				
	4 14/03/2002	9		17.667			
	2 26/11/2001	9			23.640		
	5 09/07/2002	9				28.315	
	3 13/02/2002	9					28.872
	6 09/07/2002	9					34.922
	Sig.		1	1	1	0.797	1
Duncan	1 16/10/2001	9	13.161				
	4 14/03/2002	9		17.667			
	2 26/11/2001	9			23.640		
	5 09/07/2002	9				28.315	
	3 13/02/2002	9					28.872
	6 09/07/2002	9					34.922
	Sig.		1	1	1	0.797	1

ANÁLISIS DE VARIANZA.

NEOHESPEREDINA	N	Media	Desviación Estándar	Error Estándar	Intervalo de Confianza al 95%		Mínimo	Máximo
					Límite Inferior	Límite Superior		
1 16/10/2001	9	2.038	0.409	0.136	1.724	2.353	1.25	2.63
2 26/11/2001	9	2.657	0.376	0.125	2.368	2.947	2.1	3.24
3 13/02/2002	9	1.321	0.175	0.110	1.186	1.455	1.03	1.47
4 14/03/2002	9	1.953	0.132	0.106	1.851	2.055	1.75	2.1
5 09/07/2002	9	4.285	0.286	0.148	4.064	4.506	3.85	4.72
6 09/07/2002	9	3.141	0.259	0.132	2.941	3.340	2.73	3.47
Total	54	2.566	1.005	0.136	2.291	2.840	1.03	4.72

ANOVA

NEOHESPEREDINA	Suma de Cuadrados	df	Media de Cuadrados	F	Sig.
Entre Grupos	49.491	5	9.898	116.958	0
Dentro de Grupos	4.062	48	8.460		
Total	53.553	53			

PRUEBA DE DUNCAN

NEOHESPIRIDINA	LOTE	N	$\alpha = .05$				
			1	2	3	4	5
Student-Newman-Keuls	3 13/02/2002	9	1.321				
	4 14/03/2002	9		1.953			
	1 16/10/2001	9		2.038			
	2 26/11/2001	9			2.657		
	6 09/07/2002 verde	9				3.141	
	5 09/07/2002 amarilla	9					4.285
	Sig.		1	0.536	1	1	1
DUNCAN	3 13/02/2002	9	1.321				
	4 14/03/2002	9		1.953			
	1 16/10/2001	9		2.038			
	2 26/11/2001	9			2.657		
	6 09/07/2002 verde	9				3.141	
	5 09/07/2002 amarilla	9					4.285
	Sig.		1	0.536	1	1	1

JUGO DE TORONJA.

ANÁLISIS DE VARIANZA.

HESPEREDINA	N	Media	Desviación Estándar	Error Estándar	Intervalo de Confianza al 95%		Mínimo	Máximo
					Limite Inferior	Limite Superior		
1 26/11/2001	9	18.427	2.398	0.799	16.584	20.271	15.23	23.58
2 13/02/2002	9	20.841	1.687	0.562	19.544	22.137	18.27	23.14
3 14/03/2002	9	28.848	1.564	0.521	27.646	30.051	26.55	30.96
4 22/03/2002	9	26.555	0.975	0.325	25.805	27.305	25.10	27.88
5 30/04/2002	9	30.962	2.052	0.684	29.384	32.539	28.09	34.65
6 07/05/2002	9	32.408	2.178	0.726	30.734	34.083	28.80	36.18
Total	54	26.340	5.466	0.743	24.848	27.832	15.23	36.18

ANOVA

HESPEREDINA	Suma de Cuadrados	df	Media de Cuadrados	F	Sig.
Entre Grupos	1416.405	5	283.281	81.106	0
Dentro de Grupos	167.651	48	3.493		
Total	1584.056	53			

PRUEBA DE DUNCAN

HESPEREDINA	LOTE	N	$\alpha = .05$				
			1	2	3	4	5
Student-Newman-Keuls	1 26/11/2001	9	18.427				
	2 13/02/2002	9		20.841			
	4 22/03/2002	9			26.555		
	3 14/03/2002	9				28.848	
	5 30/04/2002	9					30.962
	6 07/05/2002	9					32.408
	Sig.		1	1	1	1	0.107
Duncan	1 26/11/2001	9	18.427				
	2 13/02/2002	9		20.841			
	4 22/03/2002	9			26.555		
	3 14/03/2002	9				28.848	
	5 30/04/2002	9					30.962
	6 07/05/2002	9					32.408
	Sig.		1	1	1	1	0.107

ANÁLISIS DE VARIANZA

NEOHESPEREDINA	N	Media	Desviación Estándar	Error Estándar	Intervalo de Confianza al 95%		Mínimo	Máximo
					Limite Inferior	Limite Superior		
1 26/11/2001	9	3.736	0.312	0.104	3.496	3.976	3.28	4.20
2 13/02/2002	9	3.144	0.408	0.136	2.830	3.458	2.52	3.79
3 14/03/2002	9	2.905	0.576	0.192	2.462	3.348	2.26	3.79
4 22/03/2002	9	1.863	0.365	0.121	1.582	2.144	1.33	2.46
5 30/04/2002	9	5.045	0.603	0.201	4.581	5.509	4.10	5.84
6 07/05/2002	9	4.277	0.434	0.144	3.944	4.611	3.49	4.82
Total	54	3.495	1.117	0.152	3.190	3.800	1.33	5.84

ANOVA

NEOHESPEREDINA	Suma de Cuadrados	df	Media de Cuadrados	F	Sig.
Entre Grupos	55.872	5	11.174	52.28	0
Dentro de Grupos	10.26	48	0.214		
Total	66.132	53			

PRUEBA DE DUNCAN

NEOHESPEREDINA		N	$\alpha = .05$				
	LOTE		1	2	3	4	5
Student-Newman-Keuls	4 22/03/2002	9	1.863				
	3 14/03/2002	9		2.905			
	2 13/02/2002	9		3.144			
	1 26/11/2001	9			3.736		
	6 07/05/2002	9				4.277	
	5 30/04/2002	9					5.045
	Sig.		1	0.278	1	1	1
DUNCAN	4 22/03/2002	9	1.863				
	3 14/03/2002	9		2.905			
	2 13/02/2002	9		3.144			
	1 26/11/2001	9			3.736		
	6 07/05/2002	9				4.277	
	5 30/04/2002	9					5.045
	Sig.		1	0.278	1	1	1

ANOVA

NARINGINA	Suma de Cuadrados	df	Media de Cuadrados	F	Sig.
Entre Grupos	237.879	5	47.576	18.172	0
Dentro de Grupos	125.67	48	2.618		
Total	363.549	53			

PRUEBA DE DUNCAN

NARINGINA	LOTE	N	$\alpha = .05$	
			1	2
Student-Newman-Keuls	4 22/03/2002	9	2.3781	
	3 14/03/2002	9	2.466	
	1 26/11/2001	9	2.4718	
	2 13/02/2002	9	2.5073	
	6 07/05/2002	9		2.8482
	5 30/04/2002	9		3.017
	Sig.		0.338	0.700
DUNCAN	4 22/03/2002	9	2.3781	
	3 14/03/2002	9	2.466	
	1 26/11/2001	9	2.4718	
	2 13/02/2002	9	2.5073	
	6 07/05/2002	9		2.8782
	5 30/04/2002	9		3.017
	Sig.		0.128	0.700