



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

DETERMINACION DE BIOFLAVONOIDES Y
ESTEROIDES EN BEBIDAS QUE CONTENGAN
JUGO DE NARANJA

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA
P R E S E N T A :
SONIA YOLANDA LOEZA CORTES

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

MEXICO, D. F.

1994



Universidad Nacional
Autónoma de México



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 está 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.



EXAMENES PROFESIONALES
FAC. DE QUÍMICA

Jurado asignado:

Presidente Prof.: Felipe de Jesús Rodríguez Palacios

Vocal Prof.: Marco Antonio León Félix

Secretario Prof.: Francisco Javier Casillas Gómez

1er. suplente Prof.: María Elena Arteaga Cruz

2do. suplente Prof.: Miguel Ángel Hidalgo Torres

Sitio donde se desarrolló el tema: Laboratorio de investigación y desarrollo KRAFT GENERAL FOOD'S

Asesor de tema: Q.F.B. Francisco Javier Casillas Gómez

Sustentante: Sonia Yolanda Loeza Cortés

**Este trabajo, el esfuerzo, tiempo que representa lo dedico
de todo corazón:**

**A mi amado Ricardo, mi amigo y compañero,
gracias por tu apoyo, tu entrega diaria
gracias por tu amor...**

**A mis queridas hermanas Irma y Norma
gracias por su compañía y cariño, por su
esfuerzo diario; gracias por ser como son.**

A mis abuelitos:

**Francisco; gracias por tu ayuda, a la memoria
de Asunción, quien aún despues de su partida
me enseña en la vida con su ejemplo.**

**A mis hermanos pequeños: Carolina y
muy especialmente a mi pequeño y querido
David**

A nuestra Layla

A tí con todo mi Amor

**Con admiración y cariño al Ing. Fco. Javier Casillas G.
autor intelectual y director de este trabajo. Gracias por todo.**

A la ilustre Facultad de Química

A la U.N.A.M.

INDICE

I. INTRODUCCION.....	(2)
II. MARCO TEORICO	
II.I CARACTERISTICAS DE LA NARANJA Y SU JUGO.....	(5)
II.II COMPOSICION QUIMICA DE LA NARANJA Y SU JUGO.....	(9)
II.III FLAVONOIDES.....	(15)
II.IV ESTEROIDES.....	(19)
II.V ESPECTROFOTOMETRIA.....	(20)
III. JUSTIFICACION.....	(23)
IV. DESARROLLO EXPERIMENTAL	
IV.I OBJETIVO.....	(24)
IV.II DISEÑO EXPERIMENTAL.....	(25)
IV.III METODOLOGIA DE ANALISIS.....	(26)
V. RESULTADOS.....	(32)
VI. ANALISIS DE RESULTADOS.....	(48)
VII. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	(49)
VII. BIBLIOGRAFIA.....	(50)
XI. ANEXO.....	(55)

I. INTRODUCCION

El lugar de origen de las especies actuales de frutos cítricos, fué probablemente al sur de la cordillera del Himalaya; al noreste de la India. No se sabe cuando apareció la naranja por primera vez en los jardines chinos, pero algunos autores sugieren que la naranja dulce pudo desarrollarse por hibridación natural entre una mandarina (Kan) y una toronja (pomelo) cultivados en la región de Cantón.

La introducción de la naranja en Europa posiblemente se produjo mediante el intercambio entre comerciantes, que entablaron y mantuvieron rutas comerciales a través de la cuenca del Mediterráneo.

En el Continente Americano fué Cristóbal Colón quien llevó las semillas de las Islas Canarias hacia América durante su segundo viaje (1493) [13].

Posteriormente fueron difundidas, en primer lugar en Florida por Ponce de León y más tarde por misiones religiosas en Arizona (1769).

Las naranjas son apreciadas por su apariencia y olor así como por sus excelentes cualidades como alimento, además del gran número de derivados y productos en los que se emplea como ingrediente [3].

A partir del siglo pasado el cultivo y la producción mundial de los cítricos, en especial de la naranja, han aumentado continuamente; esta tendencia se mantiene actualmente, viéndose favorecida por un aumento en el consumo debido a la creación de mercados comunes que facilitan la distribución del fruto.

Historicamente en México uno de los cultivos más importantes ha sido el de la naranja y debido al constante aumento en la demanda, se esperan para el futuro incrementos significativos en la producción y exportación de naranja, así como en productos procesados y semiprocados a partir de este cítrico. En México los principales estados productores de naranja son: Veracruz, Tamaulipas, San Luis Potosí, Nuevo León y Sonora (figura 1), debido a esto se cosecha naranja en México prácticamente todo el año durante tres temporadas a saber: Máxima (septiembre - diciembre), Media (enero - febrero) y Mínima (marzo - julio). En la siguiente página se listan los valores de producción nacional de naranja durante algunos años de la década pasada.

PRODUCCION DE NARANJA EN MEXICO	
Año	Toneladas
1980	1'600,587
1984	865,478
1985	1'410,025
1986	1'663,438
1987	1'942,680
1988	2'268,870
1989	2'206,760
1990	2'400,000

Fuente Servicio Exterior de Agricultura USDA

La mayor parte de la producción nacional se comercializa en estado fresco, pero un porcentaje cada vez más importante se utiliza en la elaboración de bebidas. Este tipo de productos a base de jugo de naranja ocupan uno de los lugares más importantes dentro del mercado de bebidas en México.

Estudios de mercado realizados por diferentes instituciones revelan la importancia que dentro de este mercado ocupan las bebidas de naranja. Un estudio publicado por el departamento de mercadotecnia de Coca - Cola México sitúa a las bebidas con fruta como la cuarta en consumo de líquidos con una participación de 16.4 % del total del mercado nacional de bebidas [37].

PARTICIPACION DE BEBIDAS EN EL CONSUMO DE LIQUIDOS	
Agua natural	31.7 %
Lácteos	19.6 %
Refrescos	19.1 %
Bebidas de fruta	16.4 %
Café / Té	8.7 %
Otros (Incluye bebidas alcohólicas)	4.4 %

Recientemente Nielsen Co. publicó otro estudio mercadológico enfocado a bebidas [41], en el que denota que la participación de las naranjadas (bebidas de naranja) en el mercado de bebidas es de un 0.9% con un valor del orden de 195 mil millones de pesos aproximadamente. Estudios realizados por esta misma firma, acerca de los hábitos de consumo de este tipo de bebidas [40] que nos revela lo siguiente:

Estudio Nacional de Hábitos de Consumo de Naranjadas	
Clases que más las consumen	Media y Alta (A, B)
Sexo que más las consumen	Masculino
Edades entre las que más se consumen	7 - 24 años
Sustitutos de este tipo de bebidas	Refrescos, Agua natural
Principal razón para consumirlas	Por antojo
Promedio en días del consumo semanal	3.4 días

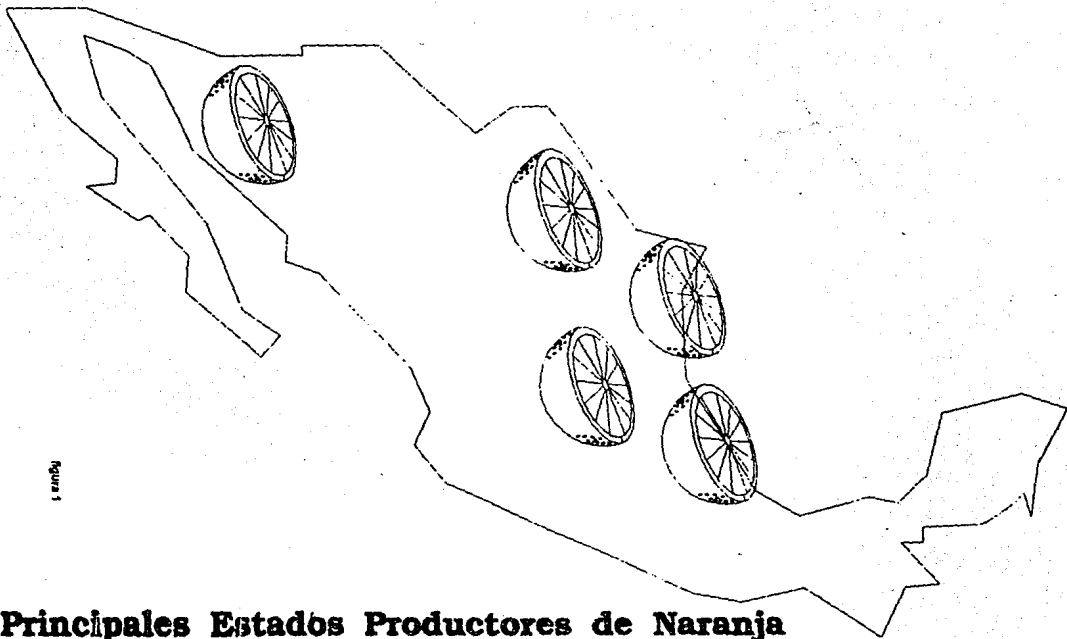


Figura 1

**Principales Estados Productores de Naranja
En la República Mexicana**

I. MARCO TEORICO

II.1 CARACTERISTICAS DE LA NARANJA Y SU JUGO

Existen principalmente dos variedades de naranja: la naranja dulce (*Citrus sinensis*) y la naranja agria (*Citrus aurantium*), la naranja dulce ocupa una posición dominante en la industria debido a su importancia económica en virtud de su alto consumo y aceptación; por lo que en adelante nos referiremos a ella como naranja. A continuación se presenta la clasificación taxonómica de la naranja según J.B.S. Braverman [3]:

CLASIFICACION TAXONOMICA DE LA NARANJA	
Orden	Geraniales
Suborden	Geranieas
Familia	Rutáceas
Subfamilia	Aurantioideas
Tribu	Citreas
Subtribu	Citríneas
Grupo	Cítricos verdaderos
Género	Citrus
Especie	<i>sinensis</i> L. Osbeck, <i>aurantium</i> v. <i>dulcis</i> L.
Variedades en México	Valencia, Criolla, San Miguel, Washington Navel

Anatómicamente la naranja se compone principalmente de tres fracciones, a saber: externa, intermedia e interna.

La parte externa que comprende la corteza consiste de una capa continua de células epidérmicas con una gruesa cutícula que confiere los estomas, debajo de esta se encuentra el flavedo también llamado epicarpio este último consiste en una capa parenquimantosa rica en cloroplastos que contienen numerosos sacos de aceite esencial. La intermedia: mesocarpio o albedo; es una capa blancuzca, esponjosa y parenquimantosa; compuesta de células de forma y tamaño irregulares con grandes espacios intercelulares llenos de aire, mismos que contiene el sistema vascular que suministra al fruto agua y nutrimentos.

La parte interna o endocarpio es la porción comestible principal y consiste en segmentos (carpelos o gajos) formados por un tejido de origen epidérmico, distribuidos alrededor de un corazón o médula blanda que forma el eje central, cuya composición es igual que la del albedo.

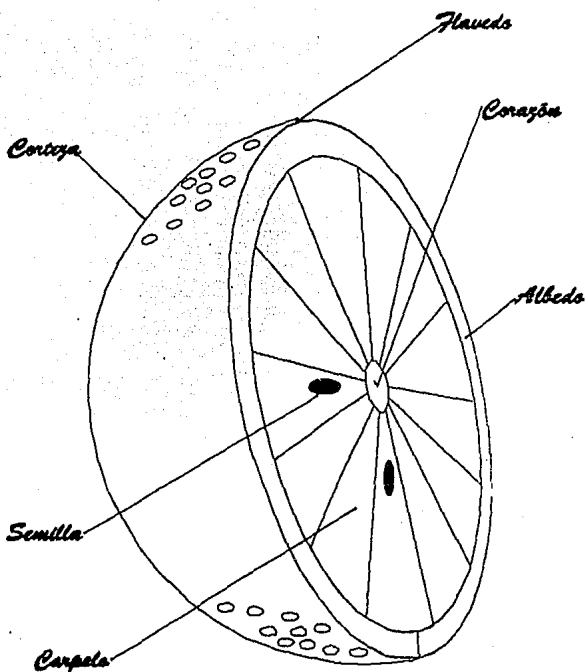
Estrechamente acopladas en el interior de los segmentos y unidas a las paredes con pequeñas papilas capilares se encuentran las vesículas multicelulares que son las que contiene el jugo. Este último es extraído por una gran variedad de medios manuales o mecánicos, de este proceso se obtiene dos fracciones: el bagazo que consiste en fragmentos de corteza, corazón semillas, etc. y, el jugo que usualmente es filtrado para separar la pulpa, la cual comprende fragmentos de tejido, segmentos de paredes, vesículas y algo de jugo, por lo que la calidad y cantidad de jugo dependerá tanto del proceso de extracción como de la finura del filtrado. En la página siguiente (figura 2) se pueden apreciar las estructuras que componen una naranja:

Mientras que los frutos cítricos han sido conocidos por muchas generaciones, los derivados que de ellos se obtienen, contrariamente a lo que ocurre con otros frutos (uva o manzana), son de desarrollo relativamente reciente. Esto se debe en parte a que los cítricos tienen una estructura compleja y composición heterogénea; por tanto mientras en la práctica se pueden trabajar fácilmente todos los demás frutos con prensas u otras máquinas que los reduzcan a pulpa o los desmenucen para obtener los productos finales, el empleo de los cítricos presenta problemas técnicos debido a que se hace necesario separarlos en sus componentes, además de que se requiere de cierta madurez del fruto para su utilización industrial óptima, y en los frutos cítricos dicha madurez no es la misma para cada uno de sus componentes.

Posteriormente se presenta un esquema (figura 3) propuesto por J.B.S.Braverman [3], referente a la utilización integral de los frutos cítricos, a la cual se le ha añadido la extracción de los bioflavonoides, que en la actualidad tienen una gran importancia en la industria debido a sus propiedades colorantes, edulcorantes, farmacológicas y terapéuticas. Los cítricos son procesados en productos de jugo en diversas regiones del mundo, este hecho propicia muy diversas condiciones en las cuales se producen y procesan, por lo cual dos zonas diferentes no pueden producir jugos idénticos. De ahí la necesidad de estandarizar la metodología de análisis, fijando rangos de especificaciones a fin de abarcar el mayor número posible de casos. La diferencia entre los frutos y los productos que de ellos se obtienen se debe en mayor o menor proporción a:

- Factores climáticos
- Variedad y región de procedencia del fruto
- Grado de madurez y almacenamiento del fruto
- Tamaño del fruto
- Estado nutricional del árbol
- Fertilización del suelo
- Empleo de pesticidas para horticultura
- Método de extracción del jugo

Este último a su vez depende de la maquinaria o equipo empleados, las técnicas de proceso, y de los estándares que gobiernen la calidad del jugo en cada país [9].



ESTRUCTURAS DE LA NARANJA

figura 2

II.II. COMPOSICION QUIMICA DE LA NARANJA Y SU JUGO

La proporción de las fracciones anatómicas que componen una naranja son las siguientes [9]:

Porcentaje Aproximado de los Componentes Anatómicos de la Naranja	
Cáscara	20 - 50 %
Flavado	10 - 15 %
Albedo	12 - 30 %
Endocarpio	50 - 80 %
Jugo	35 - 55 %
Bagazo	20 - 25 %

La composición química promedio de la naranja en forma de fruto (parte comestible) y como jugo se presentan a continuación [22]:

Composición Química Promedio de la Naranja		
COMPONENTE	FRUTO	JUGO
Agua	86.4 %	88.3 %
Carbohidratos	10.0 %	9.3 %
Proteínas	1.0 %	0.4 %
Cenizas	0.6 %	0.4 %
Fibra Cruda	0.7 %	0.1 %
Grasa	0.1 %	0.3 %
Energía (porción 100 g)	40 cal	37 cal

CONSTITUYENTES QUIMICOS DE LA NARANJA

CARBOHIDRATOS

Los carbohidratos que constituyen los frutos cítricos podemos dividirlos en dos grupos:

- Carbohidratos solubles
- Carbohidratos estructurales

Los carbohidratos solubles presentes en mayor proporción son: glucosa (D y B), fructosa y sacarosa, y en menor proporción galactosa. La xilosa y la ramnosa se encuentran presentes en trazas. En general, el contenido de sacarosa es menor que el total del contenido de azúcares reductores y va en aumento conforme el fruto madura.

Los carbohidratos estructurales como lo son las sustancias pécticas, alcanzan su mayor contenido durante los primeros meses de desarrollo, para declinar después conforme avanza la madurez. Estos están constituidos de pectina y protopectinas de diferentes grados de metilación así como por celulosa y hemicelulosa. La adulteración de jugos con extracto de bagazo o cáscara incrementa el contenido de carbohidratos estructurales, por lo que la detección de esta adulteración se realiza mediante el método de Pentosa Equivalente; generalmente los jugos de naranja dan valores equivalentes a 0.05 - 0.1 g de xilosa por 100 ml de jugo, mientras que extractos de bagazo dan valores tres veces superiores [3], [9].

ACIDOS

La acidez es un atributo importante ya que el sabor ácido es uno de los principales factores que determinan la aceptabilidad de los cítricos y sus jugos. La acidez de los frutos declina conforme progresa la maduración pero a partir de los últimos meses de la maduración la formación de ácidos combinados (sales) crea un efecto tampón lo que causa que la acidez se mantenga constante.

El ácido predominante es el ácido cítrico, siguiendo en importancia el ácido láctico y el málico. También se ha reportado la presencia de los ácidos quínico, clorogénico, citramálico, malónico y adipico, así como trazas de los ácidos isocítrico, aconítico y fosfórico, este último representa el 5% del contenido total de fosfato inorgánico en la naranja.

La adulteración de jugo de naranja a través de la adición de ácido cítrico puede detectarse trazando las curvas de valoración del ácido medidas potenciométricamente. Métodos más exactos para la detección de adulteración involucran variables como la correlación entre el contenido de ácido cítrico y el ácido L-málico, y el contenido de aminoácidos y de compuestos polifenólicos, mismas que no se ven afectadas por el almacenamiento del fruto, ni por los métodos de extracción o conservadores químicos en el jugo. [3], [9].

CONSTITUYENTES INORGANICOS

Los métodos clásicos de estimación del contenido de fruta en alimentos y bebidas se basan en la determinación de los constituyentes inorgánicos, como son las cenizas totales y alcalinidad de cenizas.

Los datos sobre sulfitos benzoatos y fosfatos pueden ser indicio de la adición de conservadores y adulterantes [5].

La determinación de los componentes inorgánicos como potasio, sodio y fósforo pueden indicar la procedencia del fruto debido a las diferencias regionales que estos componentes presentan.

En un estudio espectrofotográfico semicuantitativo del contenido mineral de las naranjas realizado en la década de los 60's, se reporta la presencia de los siguientes elementos: en cantidades menores al 1% en cenizas: Na, Si, Fe, Mn, B, Sr, y en menos del 0.01%: Cu, Li, Ti, Cr, V, Bi, Zr, Pb, Sn, Co, As, Ba, Mo, Ag, y Zn.[3], [9], [13].

VITAMINAS.

La vitamina C (ácido ascórbico) es la única vitamina presente en cantidades de requerimiento nutrimental. Sin embargo se ha reportado la presencia de biotina, carotenoides (beta caroteno), colina, ácido fólico, inositol, ácido nicotínico, pantoténico, piridoxina, riboflavina y tiamina.

Interesantes aplicaciones de algunos constituyentes vitamínicos han servido como índices para la detección y adulteración de jugo de naranja. Un ejemplo de esto lo constituye la determinación de ácido nicotínico mediante ensayo microbiológico [3], [9],[13].

COMPUESTOS NITROGENADOS

El contenido de nitrógeno en los cítricos depende del nivel de nitrógeno que tenga el árbol del cual hayan crecido.

Aunado a esto, la cantidad de nitrógeno en el fruto es variable dependiendo de su grado de madurez. Así el contenido de nitrógeno total del jugo se incrementa con la madurez y es más alto en naranjas de temporada tardía que en naranjas de temporada temprana o de media temporada.

Los compuestos nitrogenados están comprendidos por:

- Aminoácidos.
- Proteínas
- Bases nitrogenadas.
- Ácidos nucleicos.

Los aminoácidos representan más del 70% del nitrógeno soluble total de los jugos cítricos. La prolina es el aminoácido predominante en la mayoría de los cítricos. La concentración de arginina y el ácido gamma-aminobutírico se incrementa conforme progresa la madurez, mientras que los contenidos de asparagina, ácido aspártico, serina y treonina muestran muy pequeños cambios.

El contenido de nitrógeno protéico representa el 20% del nitrógeno total del fruto.

Los ácidos nucléicos presentes en los cítricos varían en naturaleza y cantidad dependiendo del estado de madurez del fruto y dependen del grado de crecimiento del mismo. En frutos jóvenes, el rRNA predomina pero durante el desarrollo decrece hasta igualarse con el mRNA. El tratamiento con etileno incrementa el mRNA mientras que el tratamiento con ácido giberélico retarda la pérdida de rRNA [9].

Además de los aminoácidos los compuestos nitrogenados solubles incluyen bases nitrogenadas como: betaina, putrescina, estaquidina, colina, etanolamina y amonía. La betaina ha sido recomendada como un compuesto indicador del contenido de jugo, el cual se correlaciona con los contenidos de aminoácidos (serina), compuestos polifenólicos, cenizas y fósforo.[8], [9].

Un descubrimiento recientemente sorprendente en la química de los cítricos fué la identificación de efedrina, un fármaco con actividad simpaticomimética, vasopresora y antihistamínica. Adicionalmente por medio de métodos de cromatografía en papel, se han encontrado también sinerina y octopamina [9].

ENZIMAS

Los cítricos contiene un gran número de enzimas, los grupos más importantes que de ellas se encuentran son: enzimas pectinólíticas, esterasas, fosfatasas, oxidoreductasas, nitroreductasas, carboxipeptidasas, además de la enzimas que participan en el ciclo del ácido tricarbóxico [9].

PIGMENTOS.

Los frutos cítricos inmaduros son generalmente verdes debido a la presencia de clorofila en el flavedo, El flavedo verde es por lo tanto capaz de fijar fotosintéticamente dióxido de carbono, el cual rinde productos similares a los que producen en la fotosíntesis que se efectúa en las hojas. Sin embargo, la fotosíntesis llevada al cabo en el fruto, no representa una contribución importante a su nutrición.

En cierto estado del desarrollo del fruto conocido como el "rompimiento del color", el flavedo comienza a cambiar de color verde a amarillo-naranja porque la clorofila desaparece y a este cambio lo acompaña la aparición de los pigmentos carotenoides. La adición de giberelato en naranjas maduras estimula la síntesis de protoclorofila, clorofila a, y en menor cantidad clorofila b, propiciando así el "reverdecido"; cuando se adiciona a naranjas verdes, el giberelato actúa retardando la destrucción de la clorofila.

Los pigmentos que principalmente se han encontrado en la naranja son: violaxantina, luteoxantina, filoeno, fitoflueno, y XI-caroteno así como trazas de β y β carotenos [3], [9].

El interés analítico en los pigmentos de los cítricos, se debe en parte al uso que estos compuestos tienen como indicadores para la determinación del contenido de jugo en productos de cítricos y, en parte, a la necesidad de detectar adulteraciones con carotenoides sintéticos o a la adulteración de un jugo de naranja con otros cítricos [9].

LIPIDOS.

La principal acumulación de lípidos en los frutos cítricos se encuentra en las semillas, las cuales contienen aceites entre los que predominan los ácidos grasos insaturados. Durante la maduración de los cítricos, el contenido de humedad decrece, mientras que el contenido de aceites se incrementa entre un 35-40% del peso seco de las semillas.

Los ácidos grasos más comúnmente encontrados en la naranja son: palmítico, esteárico, oléico, linoléico y linolénico [9].

COMPONENTES VOLATILES.

El aroma distintivo de las naranjas, y en general de los cítricos, se debe a la fracción volátil que de ellos se desprende a la atmósfera propiciada por aumentos de temperatura, daños en la corteza, etc. Los componentes encontrados en dicha fracción volátil de los frutos son principalmente: δ -limoneno, β -mirreno, α -pineno, acetaldehído, octanal, etanol y etilacetato, además se han identificado: butirato, hexanoato y octanoato; en la cera cuticular se han encontrado cloruro de metileno y sesquiterpenos como la valencina los cuales también contribuyen al aroma fresco de las naranjas. El aceite esencial de naranja contiene compuestos oxigenados de los cuales el principal componente es el linalool; sin embargo, los índices comerciales de calidad de los aceites esenciales se basan en el contenido de aldehídos saturados de cadena larga como el octanal, decanal y dodecanal, cuya concentración está influenciada por la precipitación pluvial de la región durante el desarrollo del fruto. El citral es el componente minoritario de los aceites de naranja. Así mismo han sido identificados compuestos carbonílicos como cetonas y un grupo de dialquilacroleínas. Los compuestos volátiles del jugo de naranja son generalmente similares al aceite esencial con excepción de que en el jugo están presentes una gran cantidad de alcoholes, aldehídos y ésteres saturados e insaturados de más de seis carbonos. El etilbutirato es el éster presente en mayor cantidad y su concentración se incrementa conforme avanza la madurez. También se ha encontrado además de linalool, y α -terpineol [9], [13], [21].

COMPUESTOS FENOLICOS SIMPLES.

Los compuestos fenólicos simples comprenden:

- Derivados del fluoroglucinol.
- Ácidos fenólicos.
- Cumarinas.

El fluoroglucinol rara vez se encuentra en la naturaleza sin embargo se ha aislado de naranjas su β -D-glucósido, la florina.

Los ácidos fenólicos simples identificados como constituyentes de los frutos cítricos son : el ácido gentsico, el cual se encuentra como éster de β -D-glucosa en naranjas infectadas por virus verde, por lo que su detección se emplea como diagnóstico para detectar naranjas infectadas con este virus; ac. clorogénico, ac.3-caféico, ésteres del ac.quinico, amidas sustituidas del ac.cinámico, y ferulolputrescina principalmente.

Las cumarinas están presentes en la corteza, jugo, y sáculos de aceite de los cítricos; en la naranja los compuestos cumarínicos presentes comúnmente son: Citropteno, bergaptol, isosimperatorina, aurapteno, y meranzina [9], [13].

II.III FLAVONOIDES.

Los flavonoides comprenden un extenso grupo de metabolitos secundarios de origen vegetal que tienen como estructura base a la 2- fenilbenzopirona. Su estructura química se esquematiza en la figura 4.

Cientos de flavonoides se han encontrado en la naturaleza, ellos se caracterizan de acuerdo al grado de insaturación, hidroxilación o metilación además del tipo de azúcar sustituido y el grado de combinación entre ellos (figura 5). A continuación se presenta la nomenclatura y estructura química de los flavonoides cítricos.[9]

NOMBRE COMUN	ESTRUCTURA QUIMICA
Acacetina	5,7-Dihidroxi-4'-metoxiflavona
Apigenina	4',5,7-Trihidroxiflavona
Auranetina	3,4',6,7,8-Pentametoxiflavona
Cirantina	Idéntica con Hesperidina
Citromlina	3',4',5,6,7,8-Hexametoxiflavanona
Cianidina	3,3',4',5,7-Pentametoxiflavilium ion
Crisoeriol	4',5,7-Trihidroxi-3'-metoxiflavona
Citrofoliosido	Idéntico con Poncirina
Delfinidina	3,3',4',5,5',7-Hexahidroxiflavilium ion
Didimina	Isosakuranetin-7-rutinósido
Dihidrokaempferol	3,4',5,7-Tetrahidroxiflavanona
Diosmetina	3',5,7-Trihidroxi-4'-metoxiflavona
Diosmina	Diosmetin-7-rutinósido
Eriocitrina	Eriodietiol-7-rutinósido
Eriodietiol	3',4',5,7-Tetrahidroxiflavanona
Fortunelina	Acacetina-7-neohesperidósido
Hesperetina	3',5,7-Trihidroxi-4'-metoxiflavanona
Hesperidina	Hesperetin-7-rutinósido
Isolimocitról	3,3',5,7-Tetrahidroxi-4'.5.8-trimetoxiflavona
Isoramnetina	3,4',5,7-Tetrahidroxi-3'-metoxiflavona
Isosakuranetina	5,7-Dihidroxi-4'-metoxiflavanona
Kaempferol	3,4',5,7-Tetrahidroxiflavona
Limocitrina	3,4',5,7-tetrahidroxi-3'.5.8-dimetoxiflavona
Limocitról	3,4',5,7-Tetrahidroxi-3'.5.8-trimetoxiflavona
Luteollina	3',4',5,7-Tetrahidroxiflavona

NOMBRE COMUN	ESTRUCTURA QUIMICA
Naringenina	4',5,7-Trihidroxiflavonona
Naringina	Naringenin-7-neohesperidósido
Nariturina	Naringenin-7-rutinósido
Neohesperidina	Hesperetin-7-neohesperidósido
Neoponcirina	Isosakuranetin-7-rutinósido
Nobiletina	3',4',5,6,7,8-Hexametoxiflavona
Poncirina	Isosakuranetin-7-neohesperidósido
Ponkanetina	Idénica con Tangeretina
Quercetina	3,3',4',5,7-Pentahidroxiflavona
Rofolina	Apigenin-7-neohesperidósido
Rutina	Quercetin-3-rutinósido
Sinensetina	3',4',5,6,7-Pentametoxiflavona
Sudachitina	4',5,7-Trihidroxil-3',6,8-trimetoxiflavona
Tangeretina	4',5,6,7,8-Pentametoxiflavona
Tetrametilesculetareina	4',5,6,7-Tetrametoxiflavona
Vitexina	Apigenin-8-C-glucósido

Los flavonoides de las plantas son de gran interés como componentes de la dieta humana y como agentes farmacológicos, ya que ellos tienen una actividad significativa en una gran variedad de sistemas celulares [26]. De los flavonoides presentes en los cítricos, las flavanonas generalmente predominan, a diferencia de éstas las flavonas y los 3-flavonoles relacionados se encuentran en muy pequeñas cantidades.

Las antocianinas (iones flavilium), están restringidas a una variedad del grupo. Solamente una chalcona y una aurona han sido detectadas pero no han podido ser aisladas. Leucoantocianinas, catequinas, isoflavonas y dehidrochalconas también han sido detectadas en cítricos.

Los flavonoides generalmente se encuentran como glucósidos son almacenados en las vacuolas y se distribuyen a través de todos los tejidos de los cítricos; contrariamente las flavonas metoxiladas y flavanonas se encuentran solamente como compuestos libres y únicamente en los sacos de aceite del flavedo de ciertos cítricos.

La hesperidina es el flavonoide predominante en la naranja. También se han encontrado: isosakuranetina, naringina, limocitrina, 8-C-glucósido de la diosmetina, citromitina y cirantina.

En la naranja se encuentran además flavonoides permetoxilados como la nobiletina, tangeretina, sinensetina y tetra-*o*-metilesculetareina [9]. [34].

La importancia de los flavonoides en la tecnología de los cítricos ha dado lugar a numerosos estudios que enfatizan los aspectos prácticos y un marcado interés en el papel fisiológico que juegan éstos compuestos, ya que representan más del 75% del total de los sólidos en los frutos cítricos.

Aún cuando la importancia funcional de los flavonoides en los cítricos es obscura, ya desde la década de los 60's se han reportado aspectos de la participación bioflavonoides (nobiletina, tangeretina y hesperidina principalmente), en la fisiología de la planta como es el efecto de la resistencia al padecimiento llamado "mal seco" causado por el hongo *Deuterophoma traqueiphila* que ataca la raíz, hojas y brotes del árbol cítrico [9], [35].

En cuanto a los aspectos de tecnología de los alimentos, los bioflavonoides están relacionados con problemas de amargor, cristalización y enzimas en jugos cítricos. También se ha encontrado que participan como antioxidantes debido a la "protección" que imparten al ácido ascórbico. Otro aspecto importante es el reciente empleo de las chalconas de bioflavonoides como edulcorantes potentes los cuales, ofrecen además la ventaja de ser de origen natural; esto último está de acuerdo con las tendencias actuales del mercado internacional. Desde el punto de vista analítico los bioflavonoides han sido propuestos como indicadores de la autenticidad del jugo cítrico, como medida de la adulteración de los mismos, así como para identificar la presencia de jugos cítricos en bebidas.[22], [24], [26], [28], [32], [33], [34], [36]. Históricamente se ha empleado diversos métodos de análisis en la detección de bioflavonoides. Uno de los más empleados (Davis, 1947), se basa en el color amarillo que desarrollan los glucósidos de flavanona en álcali, sin embargo, este método presenta el inconveniente de que bioflavonoides como la naringina, hesperidina y hesperetina no desarrollan color y por lo tanto, no pueden ser identificados por medio de este método. Otro método colorimétrico empleado es el de la "reacción de la cianidina" para flavanonas (Braverman, 1959), las cuales desarrollan un color rosa cuando son tratadas con magnesio y ácido clorhídrico; Esta reacción representa el fundamento del método de determinación de hesperidina en preparaciones de vitamina "P", en el que se efectúa una reacción específica colorida con borhidruro seguida de acidificación la cual ofrece resultados rápidos cuando se determinan flavonas en cantidades hasta de 0.02 mg/ml. Otro método empleado en la determinación de hesperidina (Nakabayashi, 1959) es la determinación del color formado por la reacción de hesperidina con dimetil-p-fenilendiamina en presencia de hipoclorito, leyendo a una longitud de onda de 630nm.

La cantidad de naringina se ha estimado (Gerngross, 1966) comparando visualmente con estándares, el color rojo sangre formado por la acción de 1-nitroso-2-naftol sobre extractos de albedo en presencia de ácido nítrico. También se han empleado métodos espectrofotométricos directos para la determinación de polifenoles totales: en 1963 Vandercook propuso un método de absorción a 326-332nm, el cual fue adoptado por la A.O.A.C en 1965.

Paralelamente se desarrollaron métodos cuantitativos de cromatografía en papel basados en la medida de la fluorescencia que producen naringina, prunina y derivados de naringina después de ser oxidados con cloruro de aluminio (Oashi, 1964). Con la evolución de la cromatografía en capa fina, se desarrollaron diversas técnicas para la determinación de bioflavonoides (1962, 1966, 1966). Más adelante, los aglucones de los bioflavonoides representaron el centro de interés y fue Vandercook en 1966 quien presentó una técnica basada en la hidrólisis enzimática de los bioflavonoides y posterior determinación cromatográfica de los aglucones complementada con análisis colorimétrico y densitométrico [9]. Recientemente se han propuesto métodos espectrales y para cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), en los cuales se basa parte de la metodología propuesta en el presente trabajo para determinar bioflavonoides en bebidas.[9], [10], [29], [32], [33], [34], [36].

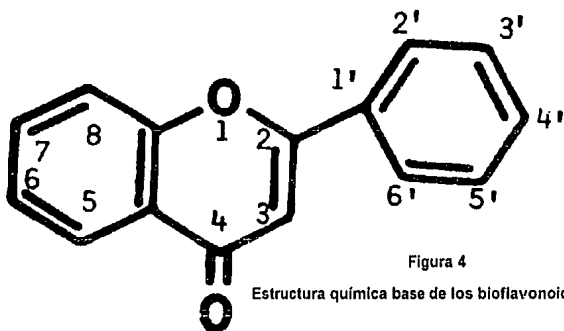


Figura 4

Estructura química base de los bioflavonoides

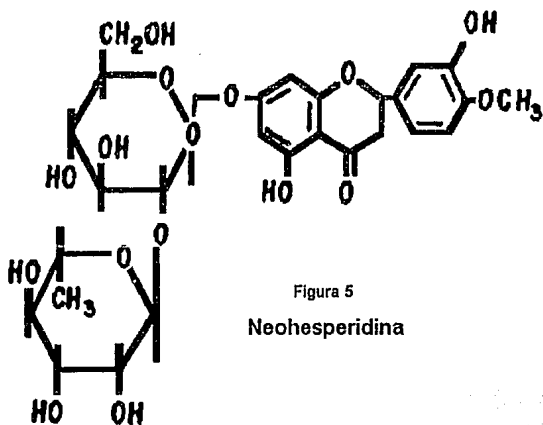


Figura 5

Neohesperidina

II.IV ESTEROIDES

Los esteroides son derivados del ciclo pentano perhidrofenantreno cuya estructura básica es la figura 6.

Los esteroides son sustancias cristalinas halladas en la materia no saponificable de las plantas y de los animales . Dentro de éste grupo se incluyen los derivados alcohólicos: los esteroides , de los cuales el colesterol es el principal esteroide del organismo animal . Los esteroides de las plantas son llamados también fitosteroides.

El esteroide que principalmente se ha encontrado en la cáscara, aceite y jugo de los cítricos; es el β -sitosterol, el cual se encuentra en forma natural como β -D-glucósido. En la naranja, a partir de los aceites no volátiles se han aislado pequeñas cantidades de colesterol y γ -sitosterol, acompañados de β -sitosterol [9].

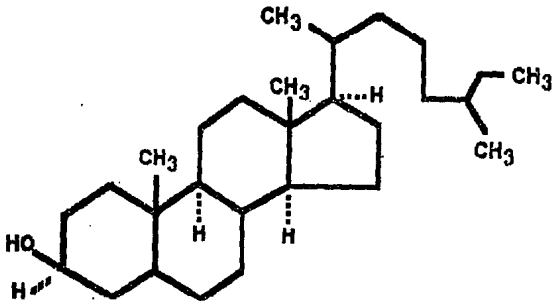


figura 6

II.V. ESPECTROFOTOMETRIA .

La espectrofotometría mide la absorción de cierta longitud de onda del espectro electromagnético por medio de la cual se puede detectar la presencia de un compuesto e incluso cuantificarla. En el análisis de los alimentos los métodos que generalmente se utilizan son aquellos que miden la emisión o la absorción de radiación a las longitudes de onda que corresponden al espectro ultravioleta (UV) , visible (VIS) o infrarrojo (IR)

La espectrofotometría UV-VIS es útil en el análisis de alimentos con propósitos de diagnóstico así como para seleccionar las longitudes de onda de absorción máxima para trabajo cuantitativo. La medición de la absorción a longitudes de onda comprendidas en el espectro ultravioleta se emplea para determinar la concentración de compuestos orgánicos que tiene cromóforos UV-energéticos.

Varios factores condicionan la eficiencia de los métodos de espectrofotometría, entre ellos se encuentran el procedimiento de purificación empleado para eliminar sustancias indeseables que puedan interferir; esto se puede lograr de diversas maneras como pueden ser: técnicas de separación con solventes, destilación, intercambio iónico, cromatografía, ajuste de pH, formación de complejos, etc. Además, la sustancia en estudio debe obedecer la Ley de Lambert-Beer tan fielmente como sea posible en un amplio intervalo de concentraciones a fin de que se pueda trazar una curva de calibración (absorbancia vs concentración) [8].

Para medir la absorción se emplean los espectrofotómetros, los cuales son diseñados para permitir la detección sensible de bandas de luz de longitud de onda en el intervalo que va desde el ultravioleta al infrarrojo cercano del espectro electromagnético, el cual se esquematiza en la figura 7.[16]:

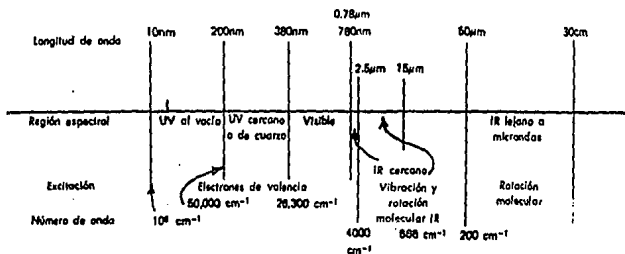


figura 7

ESPECTROFOTOMETRIA UV-VISIBLE.

La región del ultravioleta cercano se extiende desde los 190 hasta los 380nm y la visible de los 380 a los 780nm del espectro electromagnético (fig.anterior).

La absorción molecular en la región ultravioleta-visible del espectro depende de la estructura electrónica de la molécula. La energía total de una molécula es la suma de su energía electrónica, su energía vibracional y su energía rotacional. La magnitud de estas energías disminuye en el siguiente orden: Eelec.-> Evib.-> Erot. La energía absorbida en la región UV-VIS produce cambios en la energía electrónica de la molécula que resulta de las transiciones de los electrones de valencia. Dichas transiciones consisten en la excitación de un electrón desde un orbital molecular lleno, al siguiente orbital de energía mayor. La energía absorbida depende de la diferencia de energía entre el estado basal y el excitado, cuanto menor es la diferencia de energía, mayor es la longitud de onda de absorción. El exceso de energía en el estado excitado puede dar por resultado la disociación o ionización de la molécula o se puede reemitir en forma de luz o calor. Para muchas estructuras electrónicas, la absorción no ocurre en una porción fácilmente accesible de la región ultravioleta, sin embargo, se tiene una ventaja en cuanto a la selectividad de la absorción ultravioleta: los grupos característicos pueden reconocerse en moléculas de complejidad ampliamente variable.

Los espectros ultravioleta y visible se obtienen graficando la longitud de onda en función de la intensidad de la absorción (transmitancia o absorbancia).

ESPECTROFOTOMETRIA INFRARROJA

La espectrofotometría infrarroja (IR) al igual que la UV-VIS, mide la cantidad de luz absorbida por las moléculas, pero a una longitud de onda dada por una radiación infrarroja comprendida entre las regiones visible y microondas correspondientes a los 600 y 4000cm⁻¹ respectivamente (infrarrojo cercano).

El espectro infrarrojo de una molécula, aún cuando esta sea sumamente simple, puede resultar extremadamente complejo; sin embargo esta complejidad nos permite identificar compuestos por medio de la comparación pico a pico entre espectros de una muestra desconocida con una muestra auténtica. Esta comparación constituye una excelente prueba para la identificación ya que es poco probable que dos compuestos cualesquiera (excepto en el caso de enantiomorfos), proporcionen el mismo espectro infrarrojo.

Por otra parte, aún cuando el espectro infrarrojo es característico de toda molécula, resulta que ciertos grupos de átomos originan bandas a la misma frecuencia o a frecuencias cercanas entre sí en forma independiente de la estructura del resto de la molécula. Es la persistencia de estas estas bandas características la que nos permite obtener una información estructural útil mediante una simple inspección y referencia con tablas generalizadas de frecuencias de grupo características.

Una molécula orgánica absorbe la radiación infrarroja con frecuencias menores de aproximadamente 100cm^{-1} y la convierte en energía de rotación molecular.

Cuando esta energía es cuantificada, se obtiene un espectro de rotación molecular que consiste en líneas discretas. Si la molécula absorbe la radiación infrarroja entre los $10\ 000 - 100\ \text{cm}^{-1}$, la convierte en energía de vibración molecular. Esta absorción da en el espectro bandas en vez de líneas, debido a que un cambio de energía vibracional simple va acompañado de varios cambios de energía rotacional. Son éstas bandas de energía vibracional-rotacional, las que se presentan entre los $4000\text{-}600\text{cm}^{-1}$. La frecuencia o longitud de onda de la absorción depende de las masas relativas de los átomos, las constantes de las fuerzas de enlaces y la geometría de los átomos, las intensidades de banda se expresan como transmitancia o absorbancia.

Existen dos tipos de vibraciones moleculares: alargamiento y flexión. Una vibración de alargamiento representa un movimiento rítmico a lo largo del eje de enlace de tal modo que la distancia interatómica aumenta o disminuye. La vibración de flexión puede consistir en un cambio en los ángulos del enlace, entre los enlaces con un átomo común, o el movimiento de un grupo de átomos con respecto al restante de la molécula sin que se tenga el movimiento de los átomos en el grupo con respecto al otro.

Las vibraciones que se observan en el infrarrojo, son solo las que dan por resultado un cambio rítmico del momento dipolar de la molécula.

III. JUSTIFICACION

A últimas fechas existe el interés en la mayoría de los países del orbe, en disminuir la cantidad de bebidas de cítricos a las que se les agrega una gran proporción de jugo y/o fruto entero, propiciando la aparición de bebidas con un contenido de jugo o fruta natural del 50% o menos, por lo que se ha intensificado la colección de datos analíticos para frutos cítricos enteros, cáscaras, así como para sus jugos, con el objeto de verificar que dicho contenido de fruta en la bebida sea real [9].

En nuestro país, la Ley General de Salud define lo siguiente:

" Con la denominación de " Bebidas de _____ ", se entiende la bebida refrescante que contenga cuando menos 40% de jugo o pulpa de fruta, con excepción de la fruta que a esa concentración no sea aceptable para el consumidor. En el espacio en blanco, se hará figurar el nombre y porcentaje de la fruta o frutas que contenga" [39].

Así mismo las bebidas de naranja, por el hecho de reportar en la etiqueta que se les agrega jugo de naranja natural o reconstituido a partir de un concentrado, le confieren a la empresa que la produce ventajas en precio e imagen.

En el mercado nacional, día con día surgen numerosas bebidas de naranja, las cuales se incrementarán aún más mediante la apertura lograda a través del tratado de libre comercio con Estados Unidos y Canadá, los tratados comerciales con países Latinoamericanos, y con nuevos mercados en Japón y Europa.

En teoría los tratados beneficiaran el mercado de las bebidas de naranja; Estados Unidos que es el mayor mercado mundial para la naranja y productos derivados de la misma, desgravara a 15 años la importación de jugo de naranja congelado y concentrado procedente de México, de hecho este año (1994) con la puesta en vigor del TLC se redujo en 50% el gravamen que anteriormente se imponía (para una cuota de 40 millones de galones de jugo), posterior a este año se desgravará linealmente. Sin embargo estas condiciones favorables podrían revertirse, ya que la mayoría de las bebidas de naranja no cumplen con la calidad exigida en los mercados estadounidense y canadiense, en caso de que no se diseñe una adecuada estrategia comercial que abarque el cultivo de la naranja, uso controlado de plaguicidas, una adecuada producción, aseguramiento de una alta calidad; así como una buena comercialización de los productos de naranja, México podría pasar de exportador potencial a importador de bebidas de naranja.

En México actualmente se está diseñando una Norma Oficial que regule las bebidas de fruta existentes en el mercado mexicano, por ello es necesario contar con una metodología confiable y reproducible para determinar el contenido real de jugo de naranja natural en bebidas de naranja a fin de obtener una calidad uniforme en dichos productos y así lograr un nivel de competitividad tal que asegure la exportación de los mismos.

IV. DESARROLLO EXPERIMENTAL.

IV.1 OBJETIVOS.

OBJETIVO INMEDIATO

Evaluar, seleccionar e implementar las técnicas analíticas que permitan determinar la cantidad de jugo presente en diferentes tipos de bebidas de naranja a fin de detectar posibles adulteraciones.

OBJETIVO MEDIATO

Establecer las bases para la elaboración de una Norma Mexicana de contenido de jugo en bebidas.

IV. II DISEÑO EXPERIMENTAL.

REFERENCIAS: Se elaboró jugo de naranja en el laboratorio apartir de naranjas valencia de tres de las regiones productoras mas importantes en nuestro país; Montemorelos, Nuevo León; Río verde, San Luis Potosí y El Alamo, Veracruz. Apartir de los jugos se prepararon diluciones de 10, 15, 25, y 50%

MUESTRAS COMERCIALES: Se eligieron 14 marcas comerciales de las que se encontraron presentes en tiendas de autoservicio del área metropolitana en el momento del estudio mismas que a continuación se listan: Acapulco, Ami, Bèbere (1L), Bèbere (1Gal), Boing, Cappy, Coali, Frutsi, Gigante, Pau- Pau, Safari, Tropicana, Vallefrutada, Yipsi, a los cuales se les asignó una clave aleatoria para su análisis.

BEBIDAS DE NARANJA PRESENTES EN EL MERCADO	
CLAVE	% JUGO REPORTADO
333	42
363	33
376	55
377	55
637	15
663	50
667	n/r
673	23
677	42
737	42
763	42
767	50
775	42
777	41

IV.III METODOLOGIA DE ANALISIS.

Se desarrolló un metodo de análisis tomando como base técnicas analíticas publicadas recientemente en el Journal de la A.O.A.C. [33], [34], [35] referentes a la caracterización y detección de adulteración de jugos de naranja .

Se efectuaron dos tipos de pruebas, una de ellas a la que llamamos prueba presuntiva, de la que se obtiene un espectro UV-VIS, con la cual se busca obtener una visión global de la bebida y así tener indicios de la presencia de bioflavonoides en la muestra; y una segunda prueba denominada confirmativa que consiste en sucesivas extracciones con solventes para eliminar las interferencias presentes y separar dos grupos de bioflavonoides: las flavonas metoxiladas y los glucósidos de flavanona para posteriormente obtener el espectro de cada uno de ellos. Paralelamente se analizó cada una de las fracciones obtenidas a lo largo de dicha extracción en el espectrofotómetro infrarrojo con el fin de detectar trazas de esteroides y entrecruzando datos, confirmar los resultados obtenidos en la detección de los bioflavonoides.

1. PRUEBA PRESUNTIVA DE LA PRESENCIA DE BIOFLAVONOIDES EN UNA BEBIDA DE NARANJA.

Fundamento:

Partiendo de la base de que los bioflavonoides presentan propiedades espectrales, las muestras de jugos y bebidas de naranja en estudio se oxidarán en condiciones ligeras con peróxido de hidrógeno al 1% y calentamiento suave para eliminar las principales interferencias en el espectro sin afectar la absorción de los bioflavonoides. Posteriormente se agregará etanol absoluto a la muestra ya oxidada en proporción 90:10 para precipitar pectinas y sólidos ; con la solución cristalina resultante se barrerá la región UV-VIS entre 216 y 500 nm, esperando encontrar el perfil característico del jugo de naranja reportado en la literatura, con un máximo de absorción a 280 nm [10], [33], [34].

EXPERIMENTAL

REACTIVOS:

- Etanol absoluto.

- Peróxido de hidrógeno al 30%.

MUESTRAS:

- Jugo de naranja preparado en el laboratorio y sus diluciones.
- Bebidas de naranja comerciales.

MATERIAL Y EQUIPO:

- Espectrofotómetro UV-VIS (Beckman Du-65 con impresora).
- Centrífuga (IEC Clinical Centrifuge).
- Baño María a temperatura constante (Thelco Modelo 85).
- Material de vidrio.

PRUEBA PRESUNTIVA.

1. Tomar 0.25ml de peróxido de hidrógeno al 30% y aforar a 25ml con el jugo o bebida que se va a analizar.
2. Calentar en Baño María (B.M.) a 60° C durante 10 min.
3. Enfriar rápidamente hasta temperatura ambiente (25 °C) en un baño de agua fría.
4. Tomar 5ml de esta solución y aforar a 50ml con etanol absoluto.
5. Centrifugar a 1500 RPM durante 10 min.
6. Decantar la solución cristalina.
7. Barrer el espectro UV-VIS entre las longitudes de onda de 500-216nm a una velocidad de carta de 500nm/seg, con una escala de 0-2.5 de Absorbancia (A) empleando como blanco etanol absoluto agua (90:10).

En la siguiente página se encuentra el diagrama de bloques de la prueba presuntiva.

PRUEBA PRESUNTIVA

**OXIDAR LA MUESTRA
CON H₂O₂ AL 1%**

**CALENTAR A BAÑO
MARIA**

**TOMAR 5 ML Y AFORAR
A 50ML CON ETANOL
ABSOLUTO**

CENTRIFUGAR

**BARRER EL ESPECTRO
UV/VIS**

2. PRUEBA CONFIRMATIVA DE LA PRESENCIA DE BIOFLAVONOIDES EN UNA BEBIDA DE NARANJA.

FUNDAMENTO

Se realizará una extracción con solventes basada en las diferencias de polaridad entre los componentes de la muestra y los bioflavonoides mismos para obtener dos fracciones: una, conteniendo las flavonas metoxiladas y otra los glucósidos de flavanona; como primer paso de la extracción se ajustará la muestra de jugo de naranja o bebida a pH 4, se le agregará cloruro de sodio como buffer y para facilitar la extracción; acto seguido se extraerán con éter dietílico el benzoato y sorbato presentes en las bebidas, los cuales representan las principales interferencias en el espectro ya que estos compuestos presentan máximos de absorción muy cercanos a los de los bioflavonoides.

Posteriormente se adiciona metanol absoluto, el cual provee junto con el agua, una fase propicia para la disolución de los bioflavonoides y así poder extraer con hexano compuestos no polares como son los carotenos y compuestos relacionados. Los bioflavonoides contenidos en la fase metanol-acuosa comprenden principalmente: flavonas metoxiladas y glucósidos de flavanona los cuales guardan entre sí diferencias de polaridad. Con cloruro de metileno (menos polar) se extraerán las flavonas metoxiladas, quedando en la fase remanente los glucósidos de flavanona. De estas dos últimas fases se obtendrá un barrido del espectro en la región UV-VIS.

Paralelamente rastreará la presencia de esteroides en cada una de las fases obtenidas en la extracción con solventes por medio de la espectrofotometría IR.

EXPERIMENTAL

REACTIVOS:

- Metanol absoluto
- Cloruro de metileno
- Etér dietílico
- Hexano
- Solución saturada de cloruro de sodio.
- Acido clorhídrico 0.1N
- Hidróxido de sodio 0.1N

MUESTRAS:

- Jugo de naranja preparado en el laboratorio y diluciones de éste (diluciones al 10, 16, 25 y 50%).
- Bebidas de naranja comerciales.

MATERIAL Y EQUIPO:

- Espectrofotómetro UV-VIS (Beckman Du-65 con impresora).
- Espectrofotómetro IR (Nicolet model 205).
- Potenciómetro (Corning Mod.7).
- Material de vidrio.

2. PRUEBA CONFIRMATIVA:

1. Tomar 5ml de muestra, agregar 20ml de agua destilada.
2. Ajustar potenciométricamente a pH 4 empleando ácido clorhídrico 0.1N o hidróxido de sodio 0.1N, según sea el caso.
3. Añadir 0.5 ml de solución saturada de cloruro de sodio y transferir a un embudo de separación de 125ml.
4. Extraer con tres porciones de éter dietílico de 25ml c/u.
5. Hacer un barrido del espectro IR de la fase etérea (fase superior).
6. Añadir a la fase acuosa (inferior) 45ml de metanol absoluto y extraer con dos porciones de hexano con 35ml c/u.
7. Hacer un barrido del espectro IR de la fase oleosa (fase superior).
8. Extraer la fase metanol-acuosa (fase inferior) con dos porciones de cloruro de metileno, la primera de 50ml y la segunda de 25ml.
9. La fase metanol-acuosa (fase superior) contiene los glucósidos flavonoides, hacer un barrido del espectro UV- VIS e IR de ésta fase.
10. La fase de cloruro de metileno (fase inferior) contiene las flavonas metoxiladas, de igual forma que la fase superior, hacerle un barrido UV-VIS e IR.

Los barridos espectrofotométricos deberán correrse bajo los siguientes parámetros:

- Barrido UV-VIS:

Región del espectro desde 216 hasta 640nm

Velocidad de la carta: 600nm/seg.

Escala glucósidos flavonoides : -2.5 unidades de Absorbancia.

Blanco:metanol-Agua(46:25)

Escala flavonas metoxiladas: .0-0.1 de absorbancia

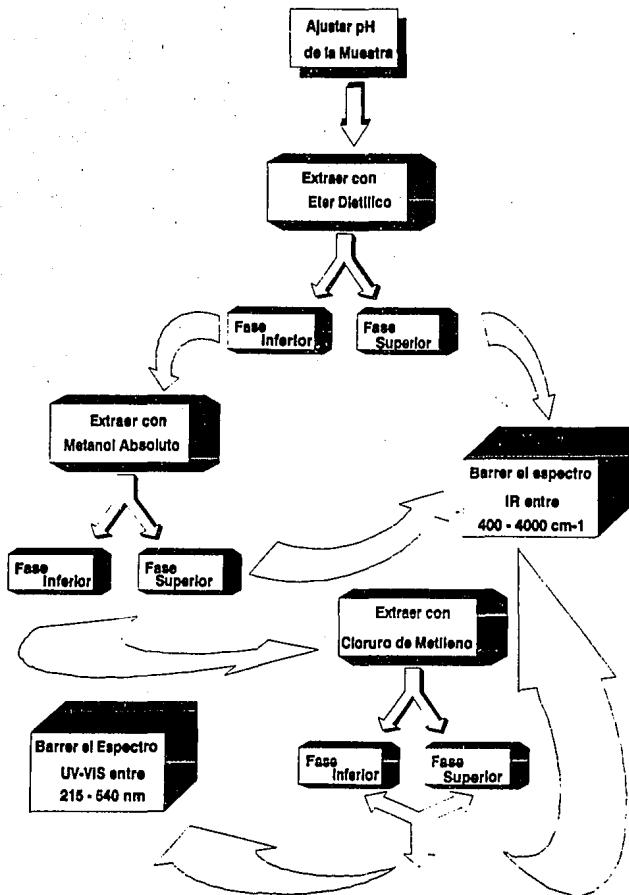
Blanco: cloruro de metileno

- Barrido IR:

Región del espectro desde 400 hasta 4000cm⁻¹

Blanco: solvente mayoritario de la fase que se va a leer.

Prueba Confirmativa



V. RESULTADOS

Las metodologías reportadas en la literatura para la determinación de Bioflavonoides rindieron espectros bien definidos para las muestras de jugos naturales, no así para las muestras de bebidas comerciales las cuales presentaron interferencias en la zona del espectro en estudio (280 nm); estas interferencias son causadas principalmente por: el ácido cítrico, benzoato y sorbato que absorben a longitudes cercanas a 280 nm.

Debido a ésto fué necesario modificar las técnicas originales, a fin de eliminar al máximo las interferencias y obtener espectros definidos.

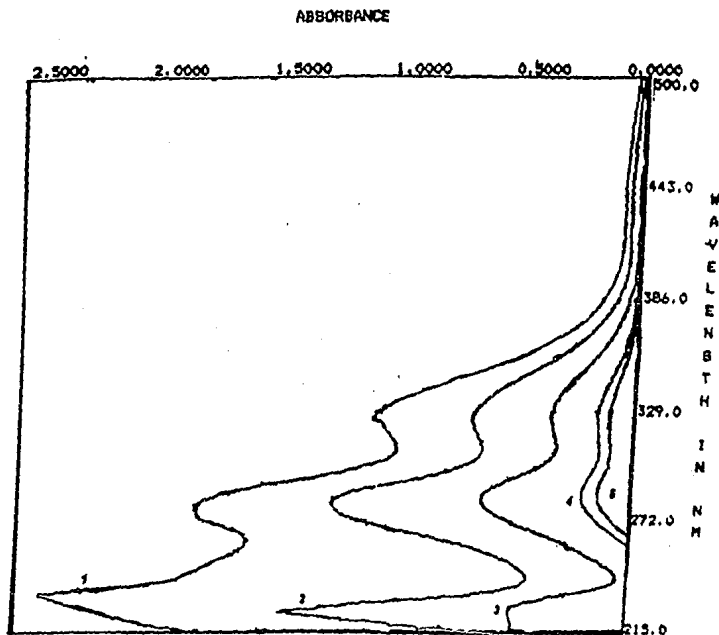
Con el objeto de corroborar los resultados obtenidos, se preparó una solución acuosa con 1% p/v de naringina y se corrieron las pruebas presuntiva y confirmativa para delimitar la efectividad del método, obteniéndose un resultado satisfactorio.

En cuanto al análisis infrarrojo acoplado a la técnica para detectar la presencia de esteroides únicamente se obtuvieron los espectros correspondientes al jugo de naranja de Nuevo León al 100%; para cada una de las fracciones obtenidas en la extracción con solventes de la prueba confirmativa, para compararlos con los espectros obtenidos de la extracción del jugo de naranja y con los de una solución al 1% de naringina, y restando en cada caso la absorción del solvente con lo cual se determinaría si es apropiado el método y entonces proceder a aplicarlo a las muestras comerciales.

El total de los espectros UV-VIS e IR obtenidos con las técnicas analíticas propuestas se encuentran en el anexo.

A partir de los espectros de las muestras de jugos naturales se obtuvieron los valores de absorbancia a 280 nm para los diferentes porcentajes de jugo; tanto para la prueba presuntiva como para la confirmativa, posteriormente la absorbancia de las tres muestras de jugo natural para cada porcentaje de jugo se promedió, comparándose dicho promedio contra los valores obtenidos para las muestras comerciales a fin de estimar la cantidad de jugo de naranja presente en cada caso.

En los espectros obtenidos de la prueba confirmativa tanto para flavonas metoxiladas como para glucósidos de flavanona, todos los productos comerciales presentaron, en mayor ó menor proporción, máximos de absorción a 280 nm.

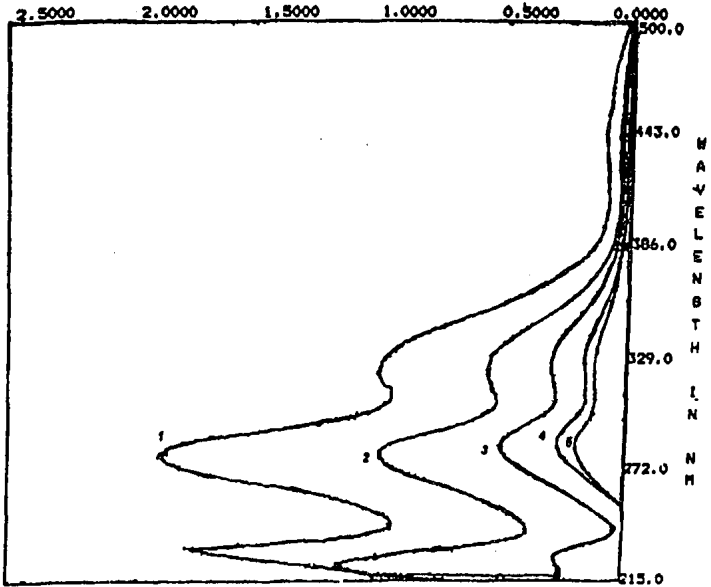


Scan Speed: 500 nm/min

- 1) 100 % Jugo
- 2) 50 % Jugo
- 3) 25 % Jugo
- 4) 15 % Jugo
- 5) 10 % Jugo

Espectro UV-VIS		No.
Muestra: NARANJA EL ALAMO, VER.		
Condiciones: Peróxido(30s) al 1% 60°C X 10 min.	Fase: Etanol Absoluto	

ABSORBANCE

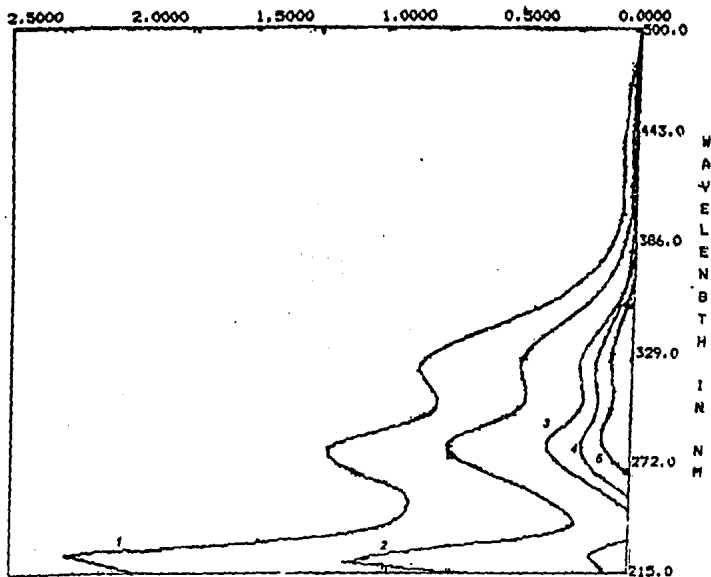


Scan Speed: 500 nm/min

- 1) 100 % Jugo
- 2) 50 % Jugo
- 3) 25 % Jugo
- 4) 15 % Jugo
- 5) 10 % Jugo

Espectro UV-VIS	No.
Muestra: NARANJA MCNTEMORELOS, NL.	
Condiciones: Peróxido(30%) al 1% 50 °C x 10 min.	Fase: Etanol Absoluto

ABSORBANCE



Scan Speed: 500 nm/min

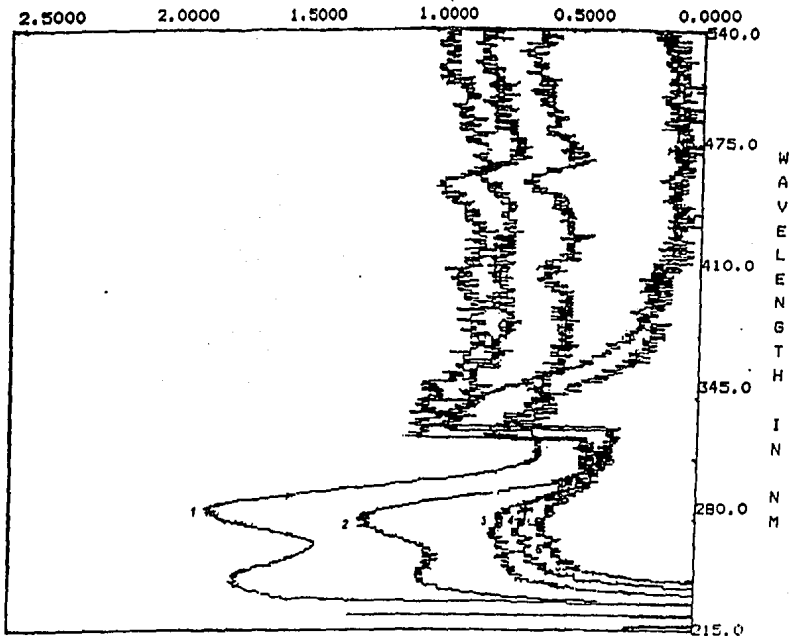
- 1) 100 % jugo
- 2) 50 % jugo
- 3) 25 % jugo
- 4) 15 % jugo
- 5) 10 % jugo

Espectro UV-VIS	No.
Muestra: NARANJA RIO VERDE, SLP.	
Condiciones: Peróxido(30S) a1 1S 80 °C X 10 min.	Fase: Etano) Absoluto

PRUEBA PRESUNTIVA

% DE JUGO	ABSORBANCIA (280 NM)			
	EL ALAMO	MONTEMORELOS	RIO VERDE	PROMEDIO
10%	0.25	0.22	0.15	0.21
15%	0.35	0.29	0.21	0.28
25%	0.62	0.50	0.37	0.50
50%	1.21	1.00	0.75	0.99
100%	1.78	1.90	1.22	1.87

ABSORBANCE

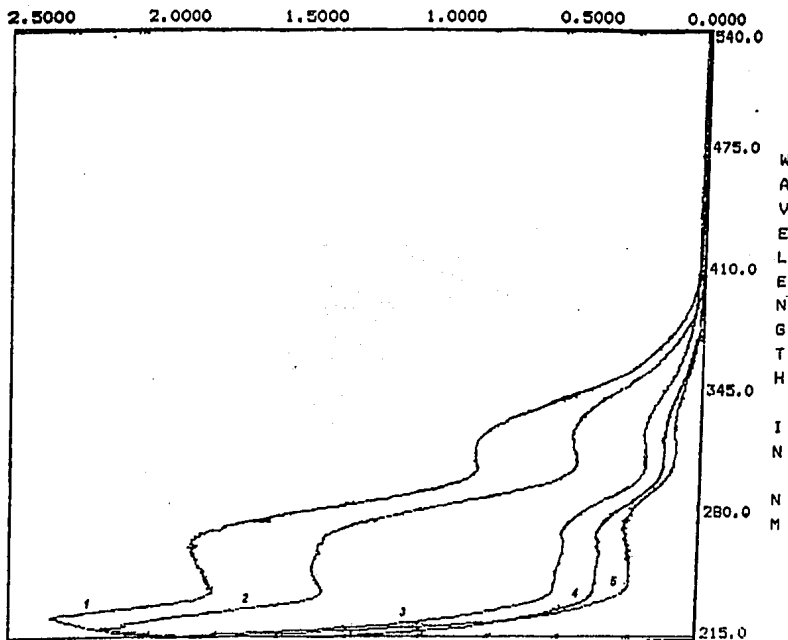


Scan Speed: 500 nm/min

- 1) 100 % jugo
- 2) 50 % jugo
- 3) 25 % jugo
- 4) 15 % jugo
- 5) 10 % jugo

Espectro UV-VIS		No.
Muestra: NARANJA EL ALAMO, VER.		
FLAVONAS METOXILADAS		Fase: Cloruro de Metileno

ABSORBANCE

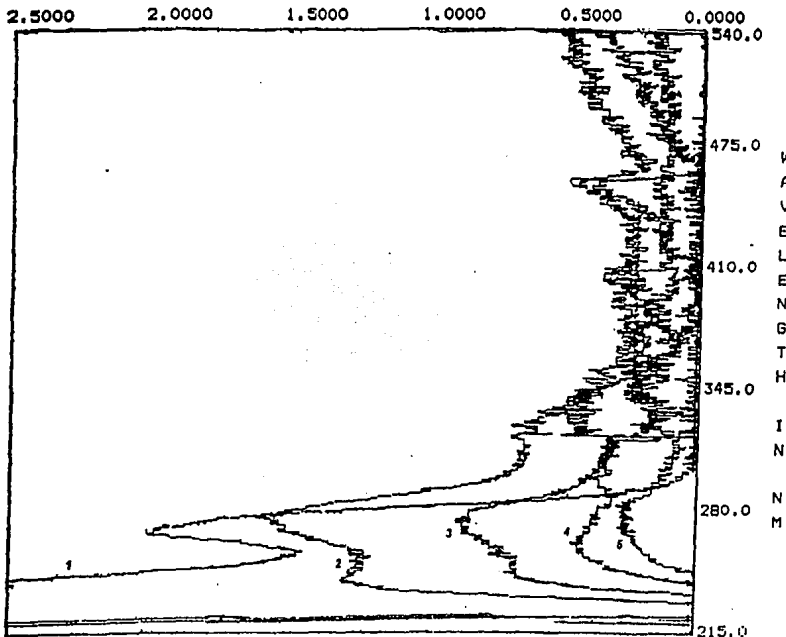


Scan Speed: 500 nm/min

- 1) 100 % jugo
- 2) 50 % jugo
- 3) 25 % jugo
- 4) 15 % jugo
- 5) 10 % jugo

Espectro UV-VIS		No.
Muestra: NARANJA EL ALAMO VER.		
GLUCOSIDOS FLAVONOIDES		Fase: Metanol - Agua (45:25)

ABSORBANCE

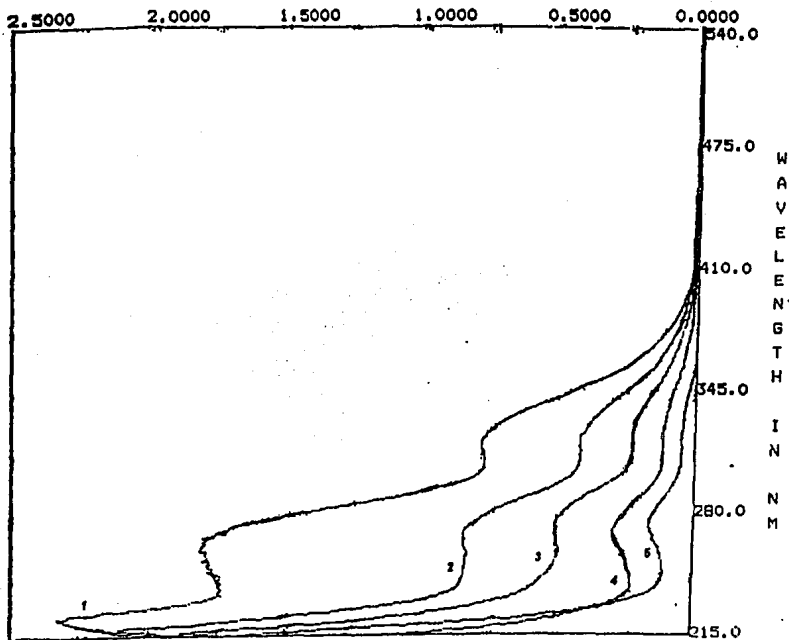


Scan Speed: 500 nm/min

- 1) 100 % Jugo
- 2) 50 % Jugo
- 3) 25 % Jugo
- 4) 15 % Jugo
- 5) 10 % Jugo

Espectro UV-VIS	No.
Muestra: NARANJA MONTEMORELOS, NL.	
FLAVONAS METOXILADAS	Fase: Cloruro de Metileno

ABSORBANCE



Scan Speed: 500 nm/min

- 1) 100 % jugo
- 2) 50 % jugo
- 3) 25 % jugo
- 4) 15 % jugo
- 5) 10 % jugo

Espectro UV-VIS	No.
Muestra: NARANJA MONTEMORELOS, NL.	
GLUCOSIDOS FLAVONOIDES	Fase: Metanol - Agua (45:25)

ABSORBANCE

2.5000

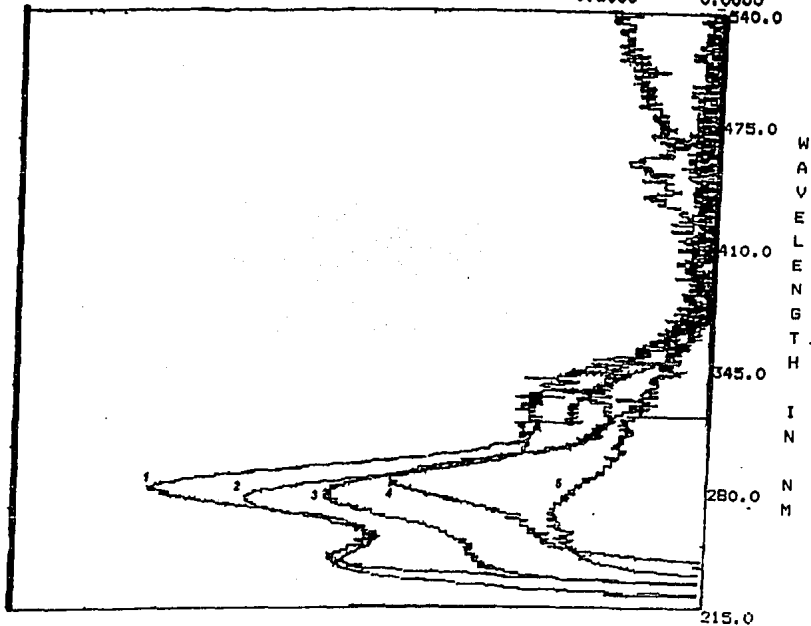
2.0000

1.5000

1.0000

0.5000

0.0000

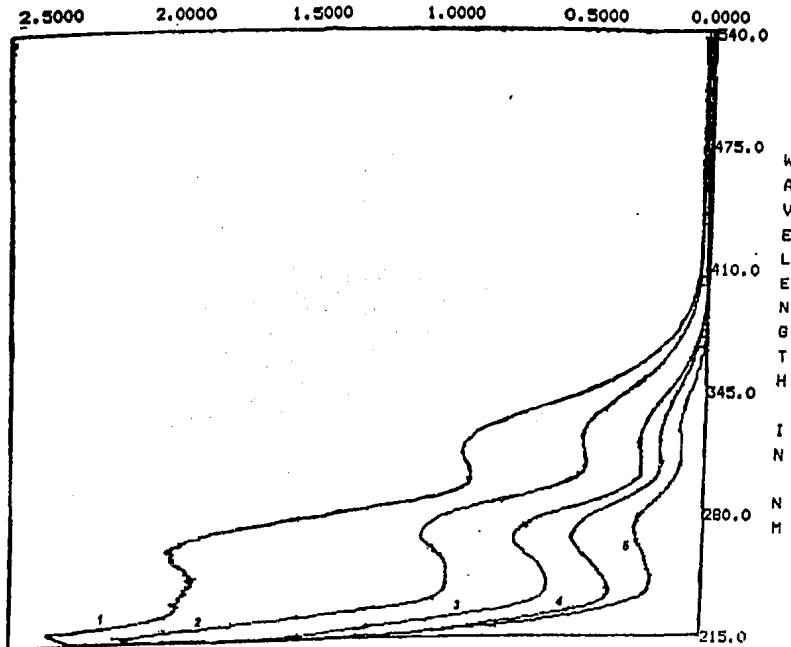


Scan Speed: 500 nm/min

- 1) 100 % Jugo
- 2) 50 % Jugo
- 3) 25 % Jugo
- 4) 15 % Jugo
- 5) 10 % Jugo

Espectro UV-VIS	No.
Muestra: NARANJA RIO VERDE, SLP.	
FLAVONAS METOXILADAS	Fase: Cloruro de Metileno

ABSORBANCE



Scan Speed: 500 nm/min

- 1) 100 % Jugo
- 2) 50 % Jugo
- 3) 25 % Jugo
- 4) 15 % Jugo
- 5) 10 % Jugo

Espectro UV-VIS	No.
Muestra: NARANJA RIO VERDE, SLP.	
GLUCOSIDOS FLAVONOIDES	Fase: Metanol - Agua (45:25)

PRUEBA CONFIRMATIVA

% DE JUGO	GRUPO	ABSORBANCIA			
		EL ALAMO	MONTEMORELOS	RIO VERDE	PROMEDIO
10%	FLAVONAS	0.02	0.01	0.02	0.02
	GLUCOSIDOS	0.28	0.19	0.3	0.26
15%	FLAVONAS	0.03	0.02	0.05	0.03
	GLUCOSIDOS	0.37	0.28	0.5	0.38
25%	FLAVONAS	0.03	0.03	0.06	0.04
	GLUCOSIDOS	0.49	0.53	0.7	0.57
50%	FLAVONAS	0.5	0.06	0.07	0.07 **
	GLUCOSIDOS	1.38	0.84	1.2	1.14
100%	FLAVONAS	12.2	0.08	0.08	0.08 **
	GLUCOSIDOS	1.82	1.82	1.97	1.87

** NO SE CONSIDERO EL VALOR DE EL ALAMO

Con base en los datos obtenidos en la prueba confirmativa y con el fin de obtener un método rápido para que a partir de los datos de absorbancia de flavonas y glucósidos de cualquier muestra de bebida de jugo de naranja, se determine la cantidad de jugo presente en dicha muestra, se propone la creación de una gráfica que englobe los resultados de la prueba confirmativa.

Esta consiste en una gráfica XY cuya variable Independiente (X) es el contenido de jugo en porcentaje y la variable dependiente (Y) un factor que hemos llamado Factor de Absorbancia, este factor se obtiene de multiplicar el valor de absorbancia de flavonas (leído a 280 nm) por el valor de absorbancia de glucósidos a (280 nm); dicho valores de absorbancia son los promedios correspondientes a cada porcentaje de jugo considerando los tres tipos de jugos estudiados durante la prueba confirmativa (El Alamo, Montemorelos, y Rio Verde).

Por ejemplo:

Tenemos que para un 10 % de jugo el valor de la absorbancia de flavonas (a 280 nm) es de 0.02, la absorbancia de glucosidos (a 280 nm) es de 0.26 y por lo tanto el Factor de Absorbancia es de 0.0052.

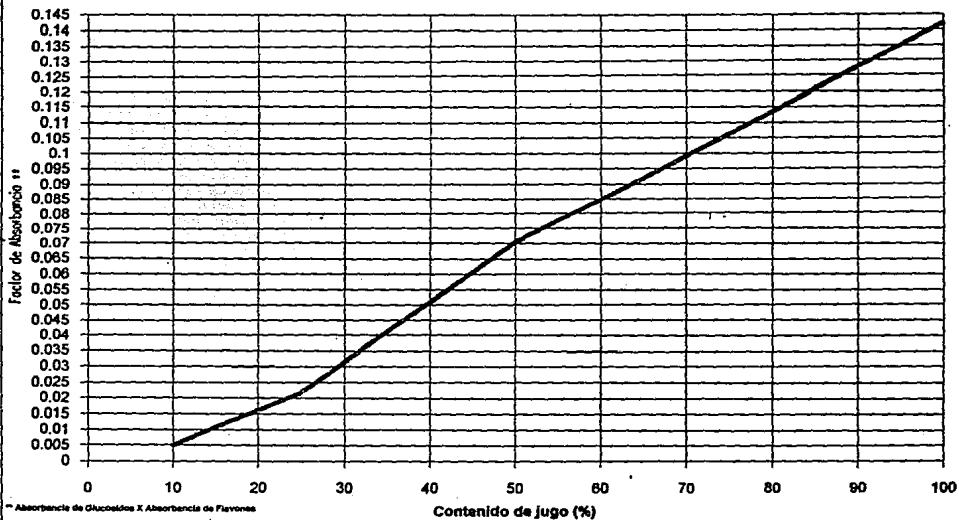
$$\text{Factor de Absorbancia} = \text{Absorbancia de flavonas} \cdot \text{Absorbancia de glucósidos}$$

$$\text{Factor de Absorbancia (10 \% de jugo)} = 0.02 \cdot 0.26 = 0.0052$$

Mediante la fórmula anterior se obtiene el valor del Factor de Absorbancia para el total de los porcentajes de contenido de jugo (10, 15, 25, 50, 100 %), se grafican y así se tiene un método gráfico con el que con sólo saber el valor de absorción de flavonas y glucósidos; mediante la prueba confirmativa, en cualquier muestra de bebida que contenga jugo de naranja, rápidamente se puede estimar el contenido real de jugo de naranja en la bebida.

En la siguiente página se presenta la gráfica propuesta para determinar el contenido de jugo en bebidas de naranja.

Determinación de contenido de jugo en bebidas de naranja.

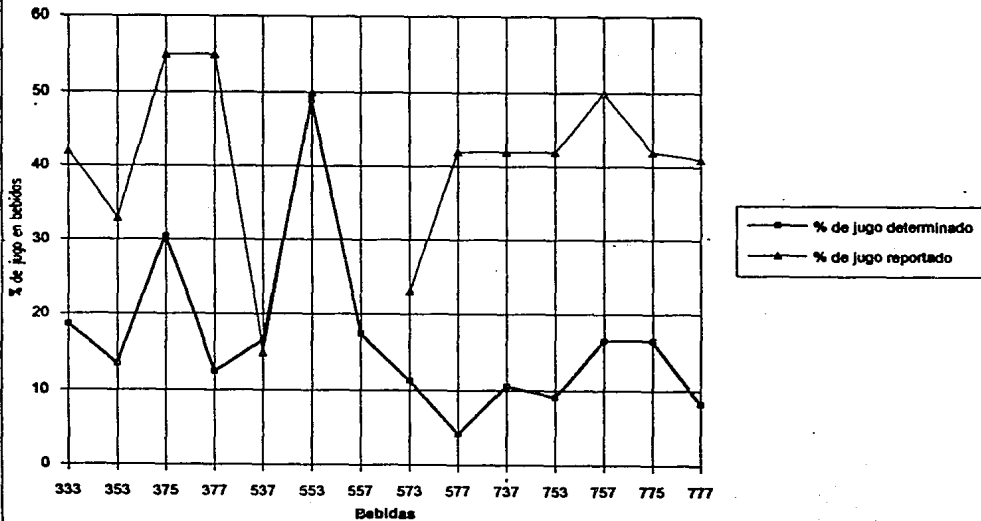


Utilizando la gráfica para determinación de contenido de jugo en bebidas de naranja y con base a los valores de absorbancia para flavonas y glucósidos obtenidos en las muestras comerciales mediante las metodologías de análisis propuestas, se determina la cantidad de jugo presente en cada bebida; estos valores así como una gráfica comparativa entre el contenido de jugo reportado y el contenido de jugo determinado se presentan a continuación:

BEBIDAS DE NARANJA PRESENTES EN EL MERCADO				
CLAVE DE LA BEBIDA	ABSORBANCIA FLAVONAS	ABSORBANCIA GLUCOSIDOS	% DE JUGO REPORTADO	% DE JUGO DETERMINADO
333	0.04	0.44	42	18.63
353	0.03	0.31	33	13.57
375	0.05	0.74	55	30.47
377	0.03	0.26	55	12.47
537	0.03	0.47	15	16.50
553	0.08	0.84	50	48.89
557	0.03	0.52	N/R	17.41
573	0.03	0.24	23	11.29
577	0.03	0.01	42	4.08
737	0.02	0.22	42	10.59
753	0.02	0.10	42	9.12
757	0.03	0.47	50	16.50
775	0.03	0.47	42	16.50
777	0.01	0.06	41	8.27

N/R =no reporta

Comparativo de contenido de jugo de naranja.



VI. ANALISIS DE RESULTADOS.

Comparando los espectros obtenidos en la prueba presuntiva de las muestras comerciales vs las muestras de jugo de naranja, se definen dos grupos:

- I. Espectros definidos, con un máximo de absorción a 280 nm.
- II. Espectros que presentan interferencias en la zona de estudio. (alrededor de 280 nm).

Se puede observar que las muestras analizadas de las bebidas comerciales 333, 353, 376, 637, 663, 767, 776 presentan absorbancias correspondientes a cantidades de jugo similares o muy cercanas a las reportadas en la etiqueta, incluso para productos como 663, 776 se registran absorbancias que corresponden a un contenido de jugo mayor que el reportado en la etiqueta, esto tal vez se debe a que se haya empleado en la obtención del jugo y/o concentrado un método de extracción que propicie una mayor cantidad de bioflavonoides en el producto.

Cabe señalar que la mayoría de las muestras arriba mencionadas pertenecen al grupo I de la prueba presuntiva (espectros definidos), sin embargo las muestras de 333, 776 debido probablemente a que les agregaron una mayor cantidad de conservador pertenecen al grupo II, esto nos hace sospechar que tal vez la absorción observada en los espectros de la prueba confirmativa no es debida a los bioflavonoides sino a la presencia de interferencias no removidas durante la extracción.

Las muestras restantes además de presentar espectros no definidos en la prueba presuntiva I, en la prueba confirmativa presentan una mínima absorción a 280 nm, lo que nos da como resultado que el porcentaje de real de jugo (calculado) esté muy por debajo de la cantidad de jugo que reportan; este hecho puede deberse principalmente a los siguientes factores:

- Una cantidad mínima de jugo añadida, o bien que la bebida no contenga jugo de naranja y la absorción resultante se deba a:
- Adición de suero de jugo (pulp-wash).
- Eliminación incompleta de las interferencias.
- Absorción proveniente de aceite esencial de naranja como parte del saborizante agregado a la bebida.

En los espectros infrarrojos no se observa que las bandas diferentes entre la fase del extracto de naringinina (flavonoides) el solvente puro y la fase del extracto del jugo de naranja, correspondan a las bandas características del colesterol, cuyo espectro se ilustra en el anexo; esto probablemente se deba a que, aun cuando es posible detectar trazas de un compuesto con espectroscopia infrarroja, la complejidad de los extractos analizados enmascara las bandas que pudieran provenir de algún esteroide, esto aunado a la baja concentración en la que se espera encontrar dichos esteroides en la fase extraída. Este problema puede solucionarse empleando metodologías de preparación de la muestra específicas para esteroides en las que se eliminen el mayor número de interferencias, además de requerir un análisis mediante técnicas de separación (cromatografías)

VII. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.

De acuerdo a los objetivos propuestos se implementaron dos técnicas analíticas para determinar la cantidad de jugo presente en bebidas de naranja. La prueba presuntiva es una metodología sencilla para tener indicios de bioflavonoides en bebidas de naranja, y otra más compleja; prueba confirmativa, con la que podemos verificar la presencia de los bioflavonoides y mediante los datos obtenidos en la misma inferir el contenido de jugo en bebidas de naranja. Sin embargo consideramos que es necesario complementar los resultados obtenidos efectuando un análisis integral de las muestras comerciales que comprendan otros parámetros importantes, como son: azúcares, ácidos orgánicos, minerales, aminoácidos, etc. a fin entrecruzar datos y obtener una visión global de la composición del producto para poder emitir un juicio más certero acerca del contenido real de jugo en la bebida de naranja.

Por otra parte es necesario analizar una mayor cantidad de muestras de jugo de naranja de diferentes regiones y temporadas para obtener un rango de variabilidad del contenido de bioflavonoides el cual nos genere resultados más exactos.

Consideramos necesario que en futuras investigaciones se cuantifique la cantidad de bioflavonoides para lo cual se recomienda emplear curvas de calibración. Así mismo sería conveniente realizar una separación cromatográfica en cada una de las dos fracciones separadas (flavonas metoxiladas y glucósidos de flavanona) para obtener el perfil de cada uno de los dos principales grupos de bioflavonoides, caracterizando así la composición tipo para el jugo de naranja y poder determinar la autenticidad a niveles más sensibles.

Adicionalmente sería recomendable determinar la absorción que aporta el aceite esencial de naranja exprimido en frío para eliminar la absorción con la que contribuye el saborizante agregado a la bebida.

En cuanto a los esteroides sería conveniente modificar la metodología a fin de obtener niveles de concentración de esteroides detectables analíticamente, para lo cual sugerimos obtener el extracto insaponificable de la materia grasa extraída de la bebida y analizarlo por cromatografía de gases o cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC).

VIII. BIBLIOGRAFIA:

1. ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMIST (A.O.A.C.).
Oficial Methods Of Análisis. 44th edition; Virginia, E.U.A; 1984.
2. BADUI DERGAL SALVADOR. Diccionario de la Tecnología de los Alimentos. Alhambra Mexicana; 1a. edición. México; 1988.
3. BRAVERMAN J.B.S. Los Agrios y sus Derivados. Aguilar S.A. de Ediciones. Madrid, España; 1952.
4. COX H. E. & PEARSON. The Chemical Analysis of Foods. The Chemical Publishing Co., Inc. 1th. edition. New York, U.S.A.; 1962.
5. EGAN H., KIRK R., SAWYER . Análisis Químico de Alimentos de Pearson . CECSA. México; 1987.
6. FURIA T. E. & BELLANCA N. Fenaroli's Handbook of Flavor Ingredients. CRC Press. 2th. edition. U.S.A.; 1975.
7. HART F. L. & JOHNSTONE F. H. Análisis Moderno de los Alimentos. Acribia. Zaragoza, España; 1971.
8. HEFTMANN ERICH. Modern Methods of Steroid Analysis. Academic Press. U.S.A.; 1973.
9. KEEFORD J. F. & CHANDLER B. V. The Chemical Constituents of Citrus Fruits. Academic Press. New York, U.S.A.; 1970.
10. MABRY T. J., MARKHAM K. R., THOMAS M. B. The Sistematic Identification of Flavonoids. Springer-Verlag. U.S.A.; 1970.
11. MORRIS M. JACOBS. The Chemical Analysis of Foods and Food Products. Robert E. Kieger Publishing Co., Inc. 3th. edition.

12. NAGY S., SHAW P. E., VELDHUIS M. K. Citrus Science and Technology. The AVI Publishing Co., Inc. 3th. edition. U.S.A.; 1977.
13. NELSON P. E. & TRESSLER D. K. Fruit and Vegetable Juice Processing and Technology. The AVI Publishing Co., Inc. 3th. edition. U.S.A.; 1980.
14. POUCHERT CHARLES J. The Aldrich Library of Infrared Spectra. Aldrich Chemical Co., Inc. Edition III. U.S.A.; 1981.
15. STEWART K. K. & WHITAKER J. R. Modern Methods of Food Analysis. The AVI Publishing Co., Inc. U.S.A.; 1984.
16. SILVERSTEIN R. M., BASSLER G. C., MORRIL T. C. Identificación Espectrofotométrica de Compuestos Orgánicos. Diana. 1a. edición. México; 1980.
17. TRESSLER D. K. & MAYNARD J. A. Fruit and Vegetable Juice Processing Technology. The AVI Publishing Co., Inc. 2th edition. U.S.A.; 1971.
18. WOODMAN A. G. Food Analysis. Mc. Graw Hill Book Co., Inc. London; 1941.
19. WATT BERENICE K. & MERRILL ANNABEL L. Composition of Foods. United States Department of Agriculture. Washington, D. C.; 1975.
20. ADATIA R., COOK M. An Improved Method for Esteroid Profile Analysis Using Capillary Gas Chromatography. Chromatographia. Vol.25; No.7; Julio 1988: 598-602.
21. ALBEROLA J., IZQUIERDO L. La Fracción Aromática del Zumo de Naranja, Componentes Identificados. Rev. Agroquím. Tecnol. Aliment. 20(1) : 79-86.

22. ARISTOY M. C., ET AL. Characterization of Spanish Orange Juice for Variables Used in Purity Control. *J. Agric. Food. Chem.* 1989, 37: 596-600.
23. BAIOCCHI C., ET AL. HPLC in the Investigation of Taxonomic Problems Classification of Polar Genotypes. *Cromatographia*. Vol.29; No.7 /3; April 1980: 355-362.
24. BRAUSE A. R., ET AL. Verification of Authenticity of Orange Juice. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* Vol.67; No.73; 1984 535-539.
25. BROWN M. B. & COHEN E. Discussion of Statistical Methods for Determining Purity of Citrus Juice. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* Vol.66; No.3; 1983: 781-788.
26. DONDI F., ET AL. Chromatographic Behaviour of Flavonoid Compounds in Reversed-Phase HPLC Systems. *Chromatographia*. Vol.25; No.5; Mayo 1988: 423-429.
27. DYREMARK A. & ERICSSON M. An LCEC Method for the Analysis of Synthetic Aminoacids in Fruit Juices. *Chromatographia*. Vol.29; No.1/2; January 1990: 51-54.
28. GAYDOU E. M., BIANCHINI JEAN PIERRE & RANDRIAMHARISOA R. Orange and Mandarin Peel Oils Differentiation Using Polimethoxilated Flavone Composition. *J. Agric. Food. Chem.* 1987; 35: 525-529.
29. LEE H. S. & WROLSTAD R. E. Apple Juice Composition: Sugar, Nonvolatile Acids, and Phenolic Profiles. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* Vol.71, No.4, 1988.
30. NAVARRO J. L., DIAZ L. S., GASQUE F. Determinación de Limonina en Zumo de Naranja por Cromatografía Líquida de Alta Resolución. *Rev. Agroquím. Tecnol. Aliment.* 23(2); 1983: 276-280.

31. NORDBY H. E. & NAGY S. Fatty Acid Profiles of Citrus Juice and Seed Lipids. *Phytochemistry*, Vol.8; 1969: 2027-2038.
32. PERFETTI G. A., ET AL. Liquid Chromatographic Methodology for the Characterization of Orange Juice. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* Vol.71; No.3; 1988: 469-473.
33. PETRUS D. R. & ATTAWAY J. A. Spectral Characteristics of Florida Orange Juice and Orange Pulpwash. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* Vol.68; No.6; 1985: 1202-1206.
34. PETRUS D. R. & ATTAWAY J. A. Visible and Ultraviolet Absorption and Fluorescence Excitation and Emission Characteristics of Florida Orange Juice and Orange Pulpwash: Detection of Adulteration. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* Vol.63; No.6; 1980: 1317-1331.
35. REYO A. & SAVAL S. Los Flavonoides en la tecnología de los Cítricos *Tec.Alimen.(Méx.)*, Vol.25, No.4; 1990.
36. VELDHIUS M. K., SWIFT L. J., & SCOTT W. C. Fully-Methoxylated Flavones in Florida Orange Juices. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* Vol.18; No.4; 1970: 590-593.
37. COCA-COLA DE MEXICO. Depto de Mercadotecnia: Informe 1989. México; 1989.
38. COMISION NACIONAL DE FRUTICULTURA (CONAFRUT). PRM-CNF-8. México, D.F. ; diciembre 1987.
39. DIARIO OFICIAL DE LA FEDERACION. Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Control Sanitario de Actividades, Productos y Servicios. Título Decimotercero: Capítulo I. Bebidas No Alcohólicas. México, D. F.; Lunes 18 de enero de 1988: 88-89.

40. LEY DEL IMPUESTO ESPECIAL SOBRE PRODUCCION Y SERVICIOS. Capítulo I.
Tasas del Impuesto.

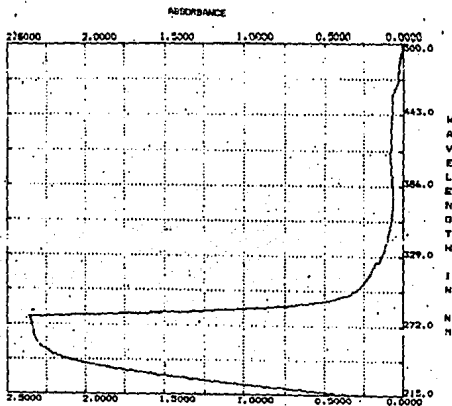
41. NIELSEN COMPANY, A.C. Estudio Nacional de Hábitos de Consumo de
Bebidas Frías y Calientes. México; 1990.

42. INSTITUTO MEXICANO DE COMERCIO EXTERIOR (INCE). Anuarios
Estadísticos del Comercio Exterior de los Estados Unidos Mexicanos.
México; 1983-1985.

43. CONTRERAS RODRIGUEZ MARIA DE LOURDES. TESINA. Base para un
Anteproyecto de Norma Oficial Mexicana, Clasificación y Definiciones de
Bebidas No Alcoholicas. 1988.

ANEXO

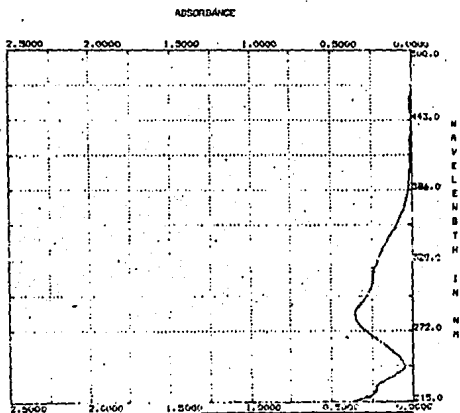
BECKMAN
DU-65 SPECTROPHOTOMETER



Scan Speed: 500 nm/min

Espectro UV-VIS		No.
Muestras: 3 3 3		Jugo 425
Condiciones: Peróxido(30%) al 1% 80°C x 10 min.		Fase: Etanol Absoluto

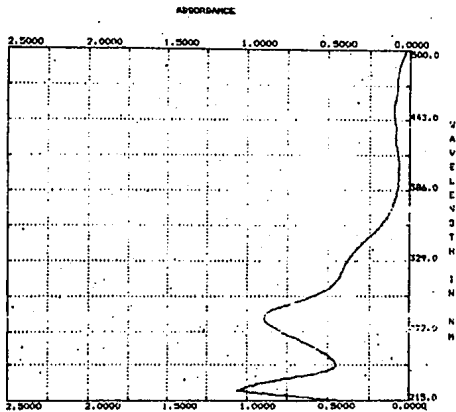
BECKMAN
DU-65 SPECTROPHOTOMETER



Scan Speed: 500 nm/min

Espectro UV-VIS		No.
Muestras: 3 3 3		Jugo 315
Condiciones: Peróxido(10%) al 1% 80°C x 10 min.		Fase: Etanol Absoluto

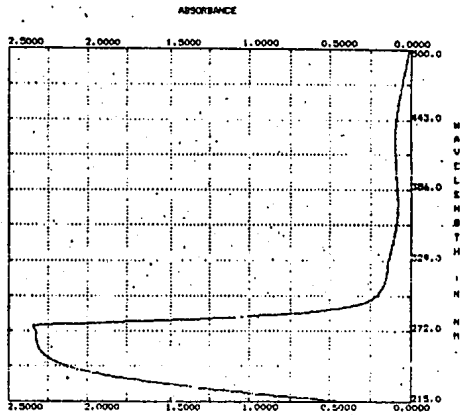
BECKMAN
DU-65 SPECTROPHOTOMETER



Scan Speed: 500 nm/min

Espectro UV-VIS		No.
Muestra:	375	Jugo SSS
Condiciones: Peróxido(30%) al 1% 80°C ± 10 min.		Fase: Etanol Absoluto

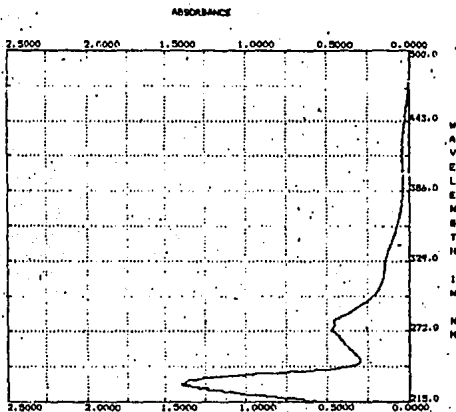
BECKMAN
DU-65 SPECTROPHOTOMETER



Scan Speed: 500 nm/min

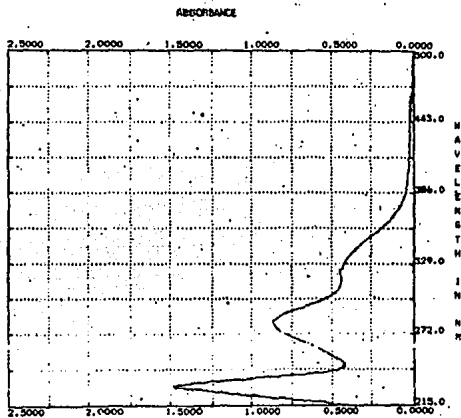
Espectro UV-VIS		No.
Muestra:	377	Jugo SSS
Condiciones: Peróxido(30%) al 1% 80°C ± 10 min.		Fase: Etanol Absoluto

BECKMAN
DU-65 SPECTROPHOTOMETER



Espectro UV-VIS	No.
Nuestra: 537	Jugo 198
Condiciones: Perdido(10%) al 18 80°C x 10 min.	Fases: Etanol Absoluto

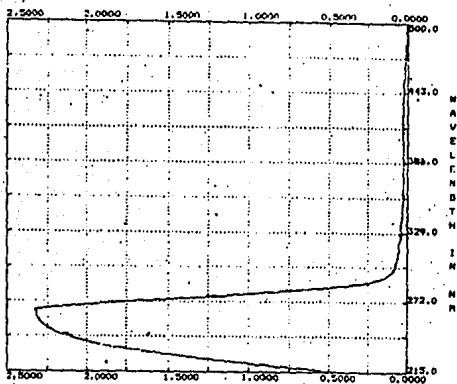
BECKMAN
DU-65 SPECTROPHOTOMETER



Espectro UV-VIS	No.
Nuestra: 553	Jugo 198
Condiciones: Perdido(10%) al 18 80°C x 10 min.	Fases: Etanol Absoluto

BECKMAN
DU-65 SPECTROPHOTOMETER

ABSORBANCE

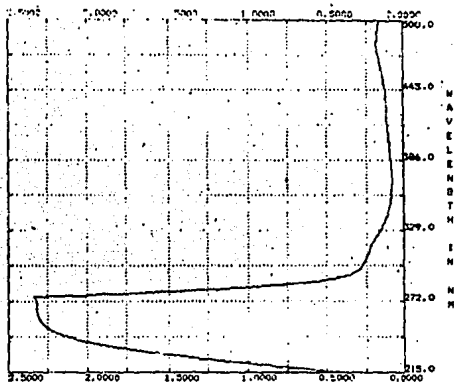


Scan Speed: 500 nm/min

Espectro UV-VIS	No.
Muestra: 557	Jugo - 5
Condiciones: Peróxido(10%) al 1% 60°C 1 to min.	Fase: Etanol Absoluto

BECKMAN
DU-65 SPECTROPHOTOMETER

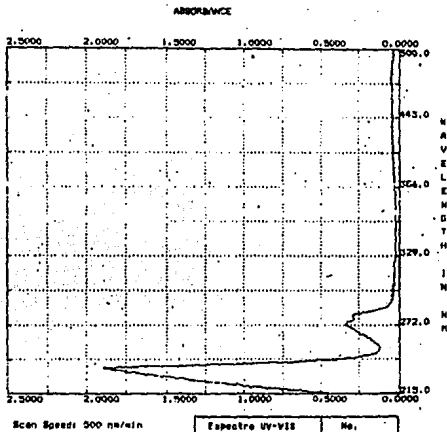
ABSORBANCE



Scan Speed: 500 nm/min

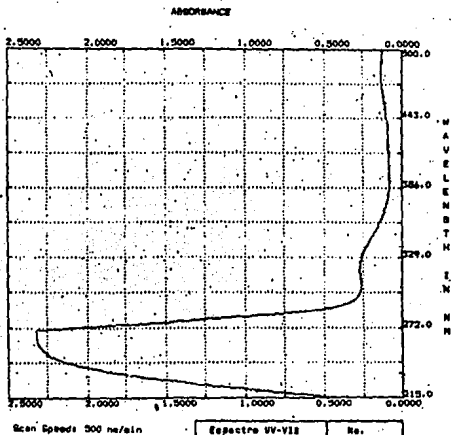
Espectro UV-VIS	No.
Muestra: 573	Jugo 21%
Condiciones: Peróxido(10%) al 1% 60°C 1 to min.	Fase: Etanol Absoluto

BECKMAN
DU-65 SPECTROPHOTOMETER



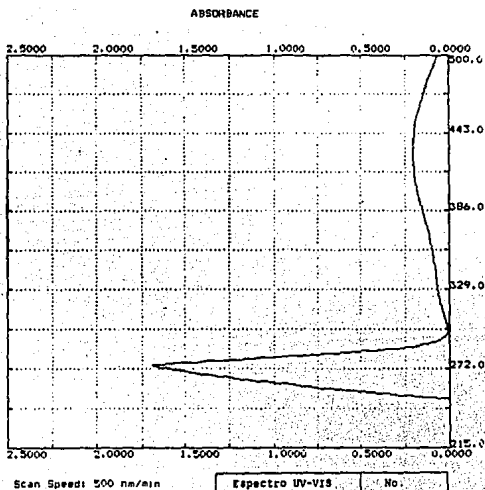
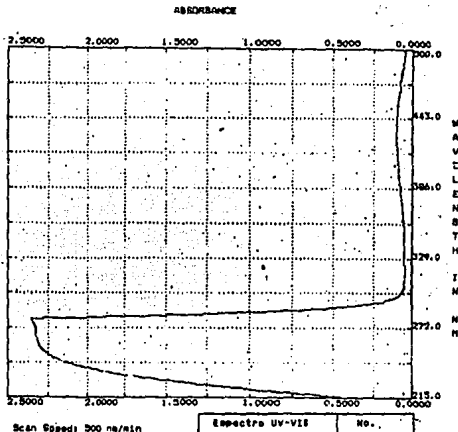
Espectro UV-VIS	No.
Nuestra:	Jugo
577	425
Condición: Pérdido(10%) al 15 80°C E 10 min.	Fase: Etanol Absoluto

BECKMAN
DU-65 SPECTROPHOTOMETER

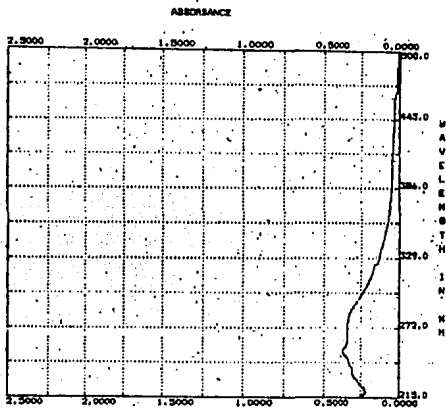


Espectro UV-VIS	No.
Nuestra:	Jugo
737	425
Condición: Pérdido(10%) al 15 80°C E 10 min.	Fase: Etanol Absoluto

BECKMAN
DU-65 SPECTROPHOTOMETER



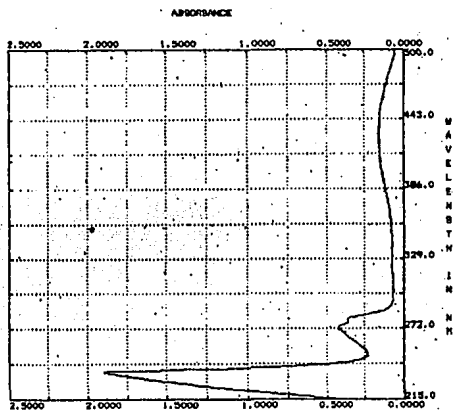
BECKMAN
DU-65 SPECTROPHOTOMETER



Scan Speed: 500 nm/min

Espectro UV-VIS	No.
Muestras 775	Jugo 418
Condiciones: Peróxido(30%) al 1% 80°C x 10 min.	Fases: Etanol Absoluto

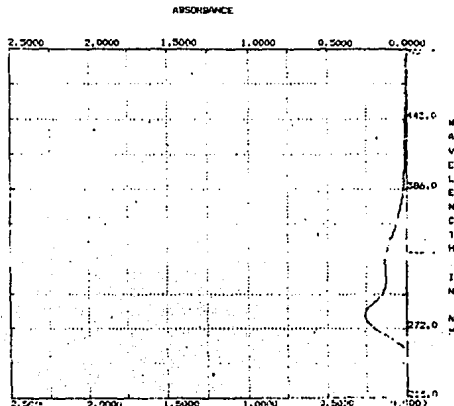
BECKMAN
DU-65 SPECTROPHOTOMETER



Scan Speed: 500 nm/min

Espectro UV-VIS	No.
Muestras 777	Jugo 418
Condiciones: Peróxido(30%) al 1% 80°C x 10 min.	Fases: Etanol Absoluto

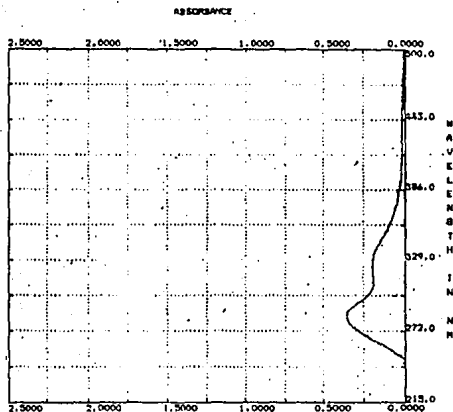
BECKMAN
DU-65 SPECTROPHOTOMETER



Scan Speed: 500 nm/min

Espectro UV-VIS	No.
Muestra: NARANJA EL ALAMO, VER.	Jugo 105
Condiciones: Peróxido(10%) al 1% 60°C x 15 min.	Fase: Etanol Absoluto

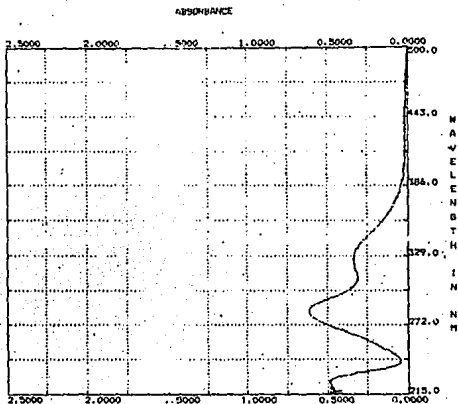
BECKMAN
DU-65 SPECTROPHOTOMETER



Scan Speed: 500 nm/min

Espectro UV-VIS	No.
Muestra: NARANJA EL ALAMO, VER.	Jugo 138
Condiciones: Peróxido(10%) al 1% 60°C x 15 min.	Fase: Etanol Absoluto

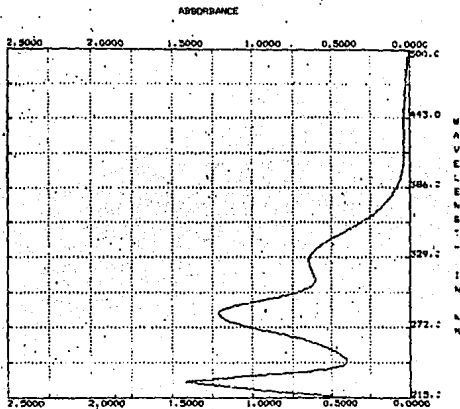
BECKMAN
DU-65 SPECTROPHOTOMETER



Scan Speed: 500 nm/min

Espectro UV-VIS	No.
Muestra: NARANJA EL ALAMO, VER.	Jugo 25%
Condiciones: Peróxido(10%) a 1% 80°C x 10 min.	Fase: Etanol Absoluto

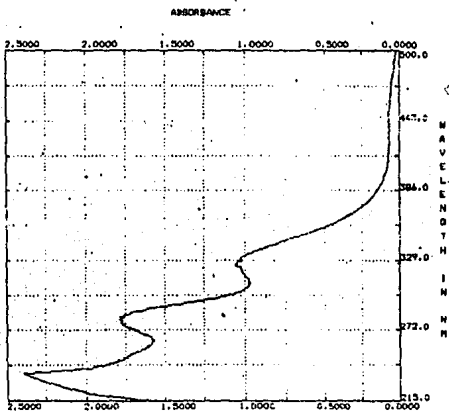
BECKMAN
DU-65 SPECTROPHOTOMETER



Scan Speed: 500 nm/min

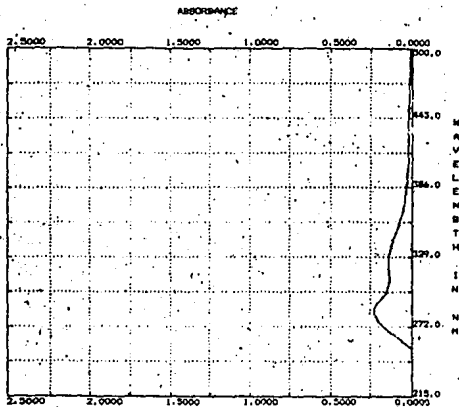
Espectro UV-VIS	No.
Muestra: NARANJA EL ALAMO, VER.	Jugo 50%
Condiciones: Peróxido(30%) a 1% 80°C x 10 min.	Fase: Etanol Absoluto

DECKMAN
DU-65 SPECTROPHOTOMETER



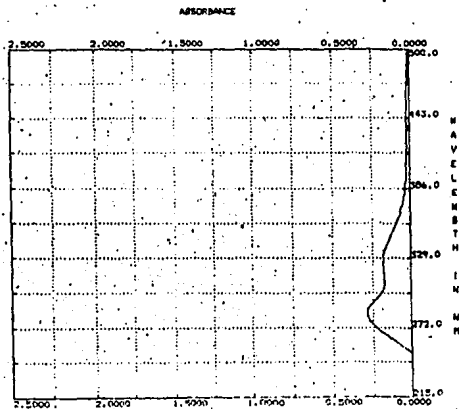
Espectro Uv-Vis	No.
Muestra: NABANJA EL ALAMO, YTS.	Jugo 1085
Condiciones: Peróxido(30%) al 1% 80°C 10 min.	Fase: Etanol Absoluto

DU-45 SPECTROPHOTOMETER



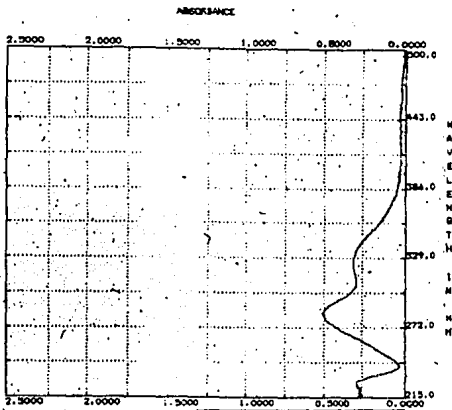
Espectro UV-VIS	No.
Muestra: NARANJA MONTENEGRO, ML.	Jugo 10%
Condiciones: Peróxido(30%) a 1% 80 °C x 10 min.	Fase: Etanol Absoluto

BECKMAN
DU-45 SPECTROPHOTOMETER



Espectro UV-VIS	No.
Muestra: NARANJA MONTENEGRO, ML.	Jugo 10%
Condiciones: Peróxido(30%) a 1% 80 °C x 10 min.	Fase: Etanol Absoluto

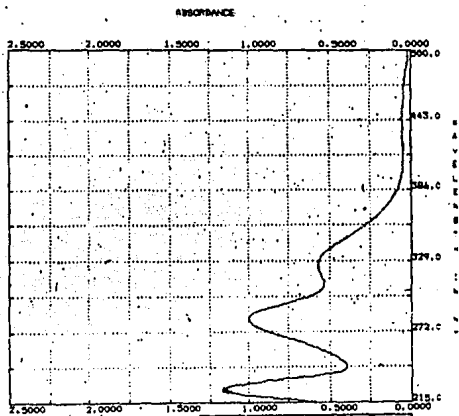
BECKMAN
DU-65 SPECTROPHOTOMETER



Scan Speed: 500 nm/min

Espectro UV-VIS	No.
Muestra: HARAMJA MONTENORELOS, NL.	Jugo 25%
Condiciones: Perdido(30s) al 1% 60 °C x 10 min.	Fase: Etanol Absoluto

BECKMAN
DU-65 SPECTROPHOTOMETER

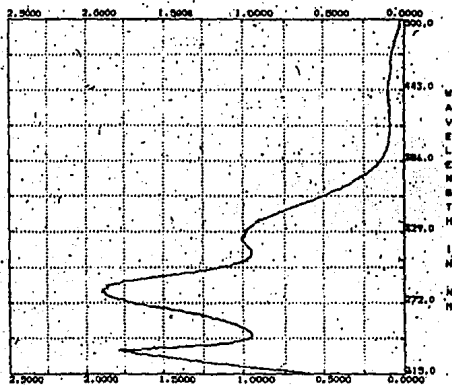


Scan Speed: 500 nm/min

Espectro UV-VIS	No.
Muestra: HARAMJA MONTENORELOS, NL.	Jugo 50%
Condiciones: Perdido(30s) al 1% 60 °C x 10 min.	Fase: Etanol Absoluto

BECKMAN
DU-45 SPECTROPHOTOMETER

ABSORBANCE

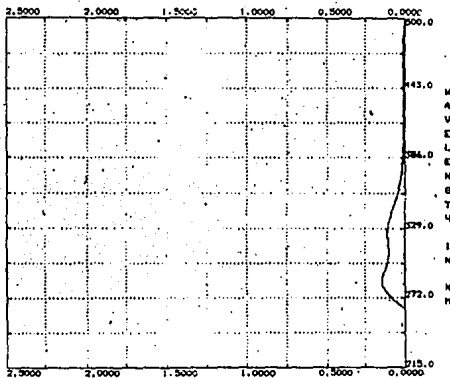


Scan Speed: 300 nm/min

Espectro UV-VIS	No.
Muestra: MARMALA MONTENOSIELOS, NL.	JUN 1968
Condicioness: Paredido(200) al 15 20 °C Y 10 Min.	Fases: Etanol Absoluta

BECKMAN
DU-65 SPECTROPHOTOMETER

ABSORBANCE

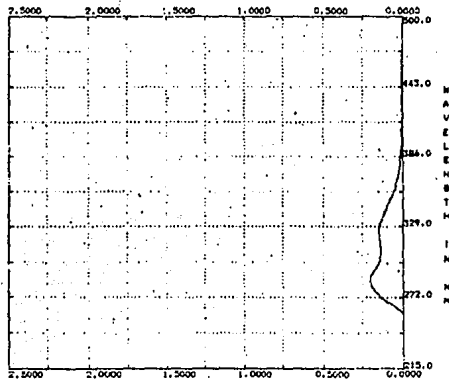


Scan Speed: 500 nm/min

Espectro UV-VIS	No.
Muestra: NARANJA RIO VERDE, SLP.	Jugo 186
Condiciones: Peróxido(10%) a 1% 60 °C x 10 min.	Fase: Etanol Absoluto

BECKMAN
DU-65 SPECTROPHOTOMETER

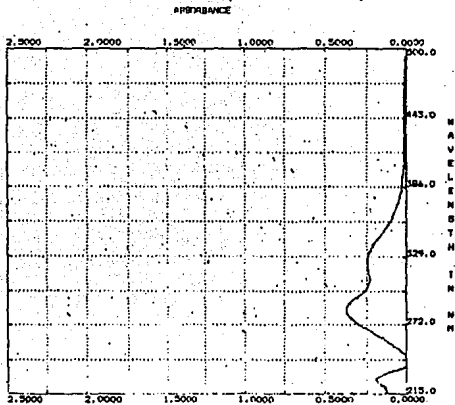
ABSORBANCE



Scan Speed: 500 nm/min

Espectro UV-VIS	No.
Muestra: NARANJA RIO VERDE, SLP.	Jugo 185
Condiciones: Peróxido(10%) a 1% 60 °C x 10 min.	Fase: Etanol Absoluto

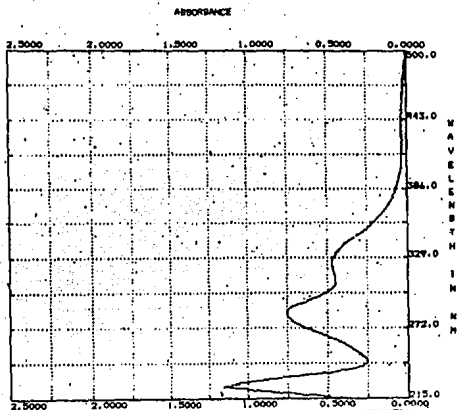
BECKMAN
DU-65 SPECTROPHOTOMETER



Scan Speed: 500 m/min

Espectro UV-VIS	No.
Muestra: NARANJA RIO VERDE, SLP.	Jugo 10%
Condiciones: Peróxido(10%) al 1% 60 °C 1 10 min.	Fase: Etanol Absoluto

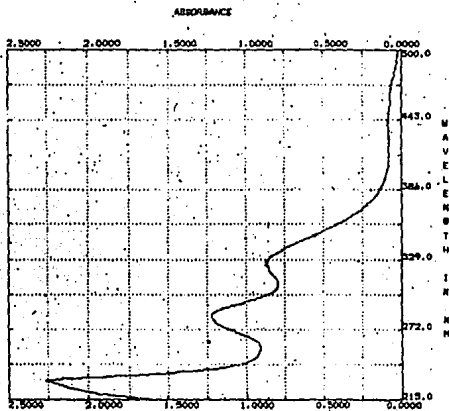
BECKMAN
DU-65 SPECTROPHOTOMETER



Scan Speed: 500 m/min

Espectro UV-VIS	No.
Muestra: NARANJA RIO VERDE, SLP.	Jugo 10%
Condiciones: Peróxido(10%) al 1% 60 °C 1 10 min.	Fase: Etanol Absoluto

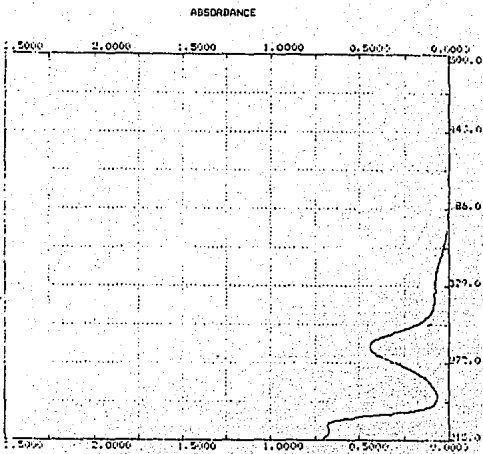
**BECKMAN
DU-6B SPECTROPHOTOMETER**



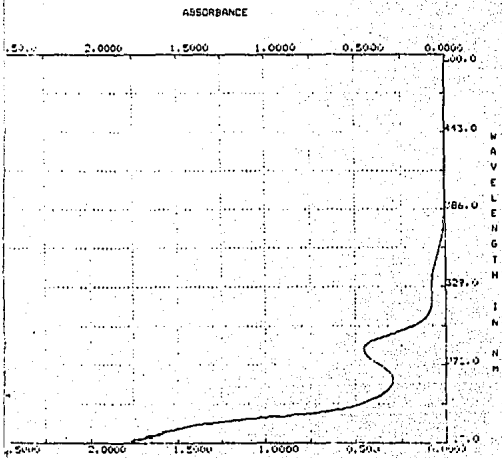
Scan Speed: 500 nm/min

Espectro UV-VIS	No.
Muestra: MASAMIA RIO VERDE, R.P.	Jugo 1809
Condiciones: Perfido(10%) al 1% 60°C X 18 min.	Fase: Etanol Absoluto

ECKMAN
DU-65 SPECTROPHOTOMETER



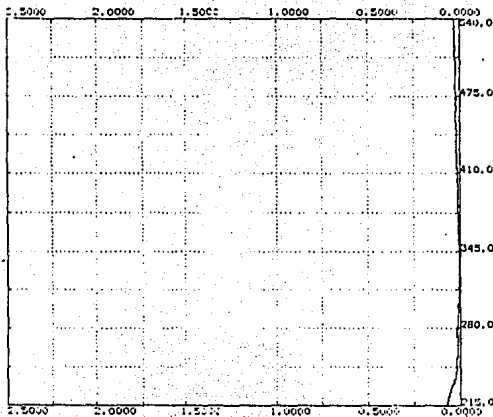
Espectro UV-VIS		No.
Muestra:	NARINGINA (85 % pura)	Conc. 1.0 mg
Condiciones:	Sin oxidar.	Fase: Etanol Absoluto



Espectro UV-VIS		No.
Muestra:	NARINGINA (85 % pura)	Conc. 1.0 mg
Condiciones:	Peróxido(30%) al 1% 60°C X 10 min.	Fase: Etanol Absoluto

BECKMAN
DU-65 SPECTROPHOTOMETER

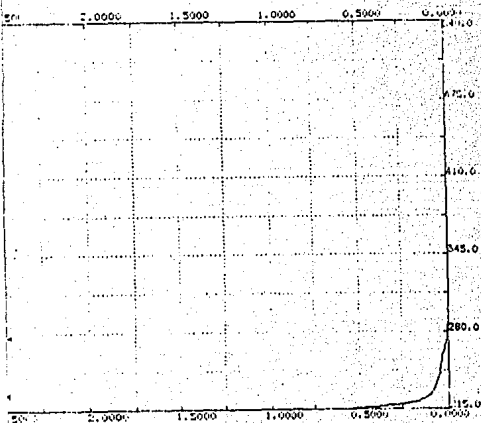
ABSORBANCE



Scan Speed: 500 nm/min

Espectro UV-VIS		No.	
Muestra: NARINGINA (85 % pura)		Conc. 1.0 mg	
Condiciones: Extracción con solventes.		Fase: Eter dietílico	

ABSORBANCE

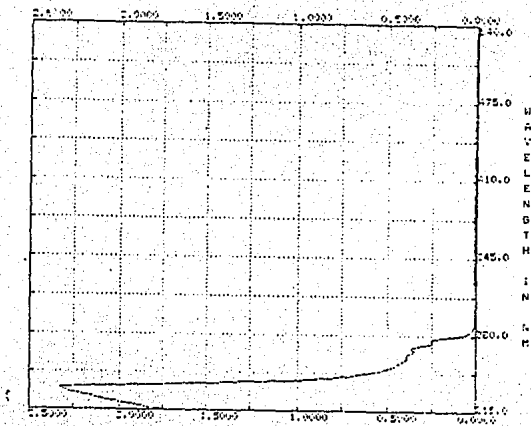


Scan Speed: 500 nm/min

Espectro UV-VIS		No.	
Muestra: NARINGINA (85 % pura)		Conc. 1.0 mg	
Condiciones: Extracción con solventes.		Fase: Hexano	

BECKMAN
DU-65 SPECTROPHOTOMETER

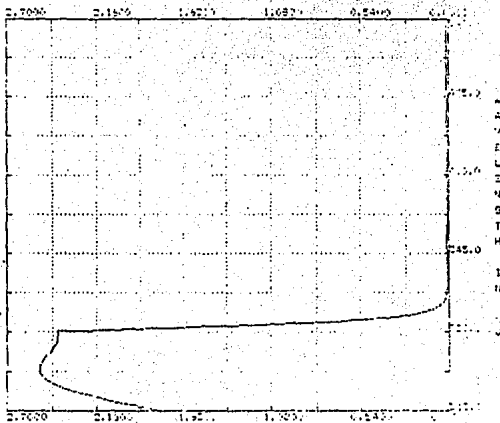
ABSORBANCE



Scan Speed: 500 nm/min

Espectro UV-VIS	No.
Muestra: BENZOATO DE SODIO	Conc: 0.1%
Fase: Etanol absoluto	

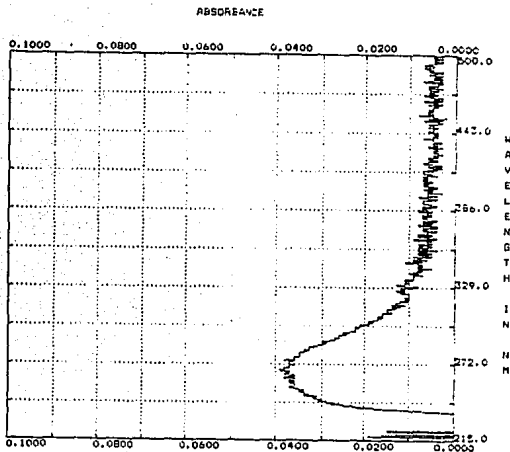
ABSORBANCE



Scan Speed: 500 nm/min

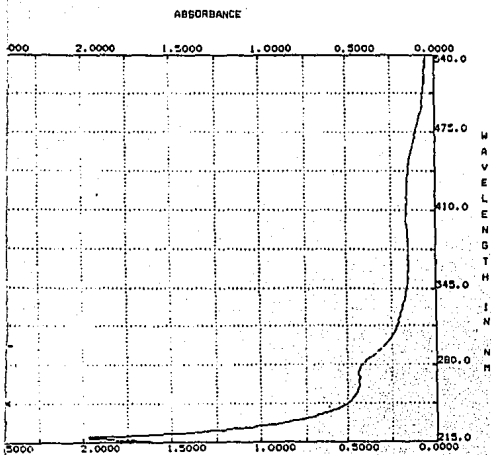
Espectro UV-VIS	No.
Muestra: SULFATO DE POTASIO	Conc: 0.1%

BECKMAN
DU-65 SPECTROPHOTOMETER



Scan Speed: 500 nm/min

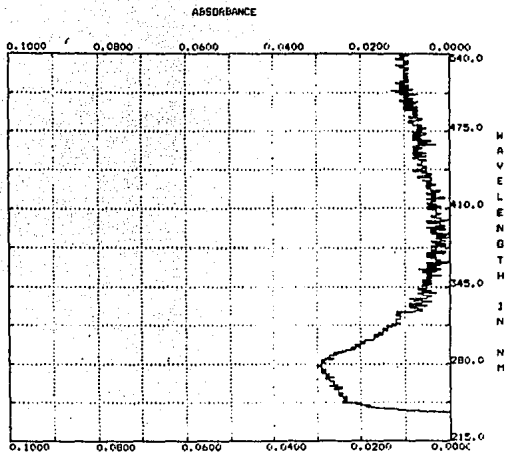
Espectro UV-VIS	No.
Muestra: 333	Jugo 42%
FLAVONAS MITOXILADAS	Fase: Cloruro de Metileno



Scan Speed: 500 nm/min

Espectro UV-VIS	No.
Muestra: 333	Jugo 42%
MUCICIDOS	Fase: Metanol

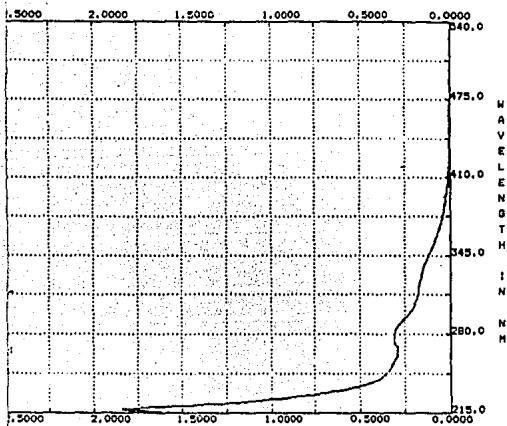
BECKMAN
DU-65 SPECTROPHOTOMETER



Scan Speed: 500 m/min

Espectro UV-VIS		No.
Muestra:	333	Jugo 33%
FLAVONOIDES METOXILADAS		Base: Cloruro de Metileno

ABSORBANCE

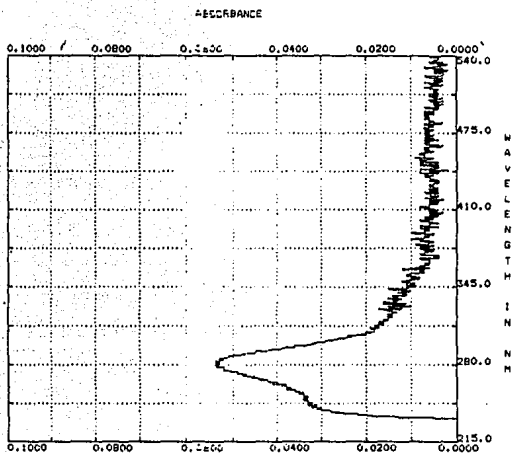


Scan Speed: 500 m/min

Espectro UV-VIS		No.
Muestra:	333	Jugo 33%

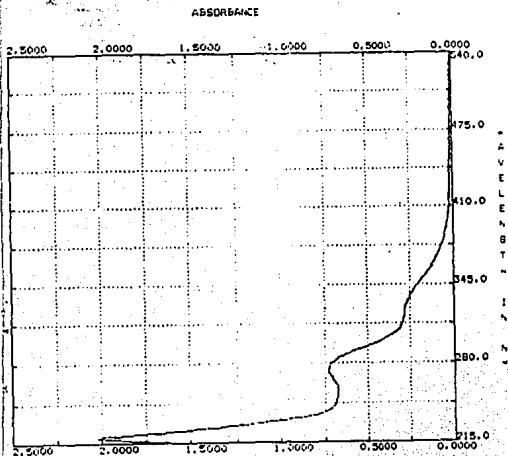
F344

BECKMAN
DU-45 SPECTROPHOTOMETER



Scan Speed: 500 nm/min

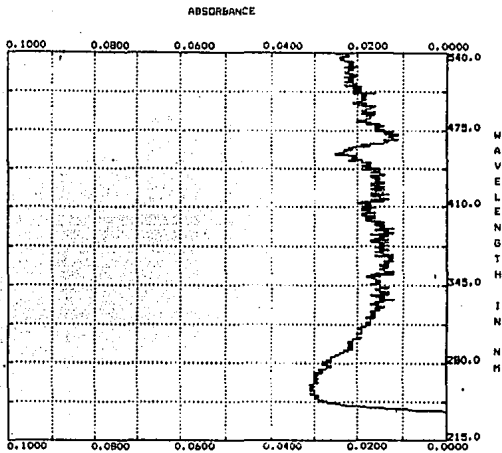
Espectro UV-VIS	No.
Muestra: 375	Jugo 55%
FLAVONAS METOXILADAS	Fase: Cloruro de Metileno



Scan Speed: 500 nm/min

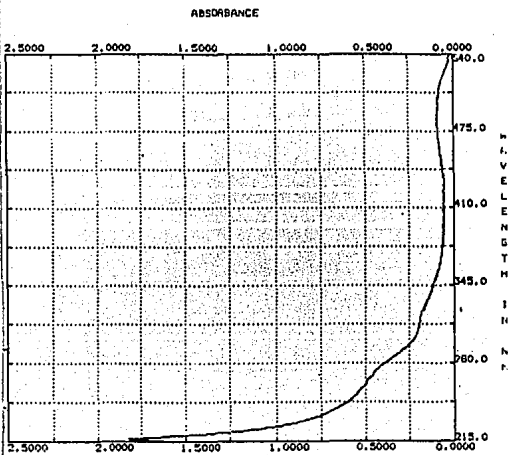
Espectro UV-VIS	No.
Muestra: 375	Jugo 55%
FLAVONAS METOXILADAS	Fase: Metanol

BECKMAN
DU-65 SPECTROPHOTOMETER



Scan Speed: 500 nm/min

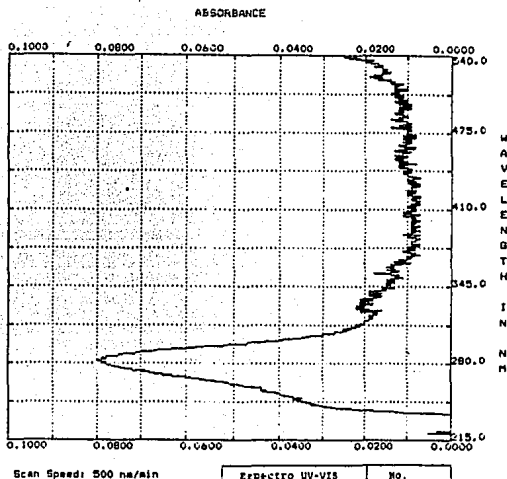
Espectro UV-VIS	No.
Muestra: 537	Jugo 15%
FLAVONAS METILADAS	Fase: Cloruro de Metileno



Scan Speed: 500 nm/min

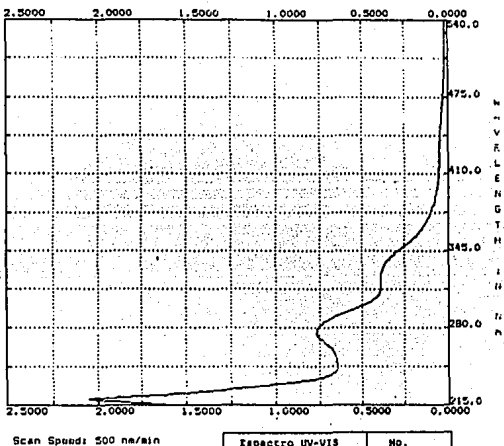
Espectro UV-VIS	No.
Muestra: 537	Jugo 15%
GLUCOSIDOS	Fase: Metanol

BECKMAN
DU-65 SPECTROPHOTOMETER



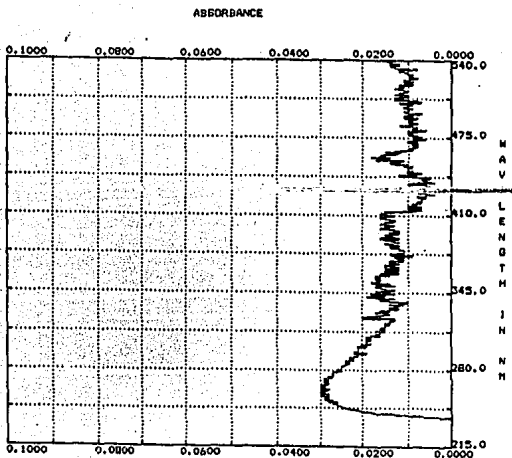
Espectro UV-VIS	No.
Muestra: 553	Jugo 50%
FLAVONAS METOXILADAS	Fase: Cloruro de Metileno

ABSORBANCE



Espectro UV-VIS	No.
Muestra: 553	Jugo 50%
GLUCOSIDOS FLAVONÓICOS	Fase: Metanol - Agua (45:25)

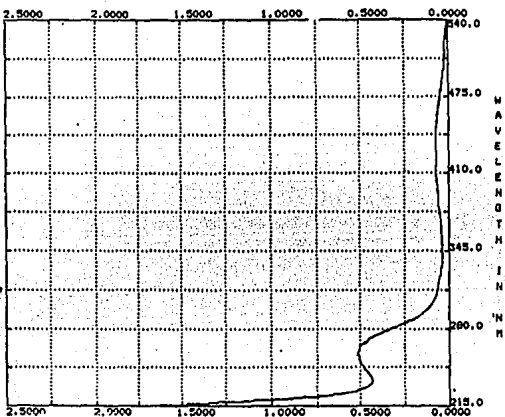
BECKMAN
DU-65 SPECTROPHOTOMETER



Scan Speed: 500 nm/min

Espectro UV-VIS	No.
Muestra: 557	Jugo - 8
FLAVONAS METOXILADAS	Fase: Cloruro de Metileno

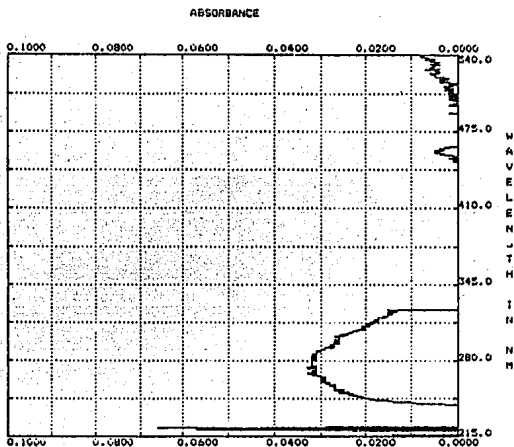
ABSORBANCE



Scan Speed: 500 nm/min

Espectro UV-VIS	No.
Muestra: 557	Jugo - 8
CLUCOSIDOS	Fase: Metanol

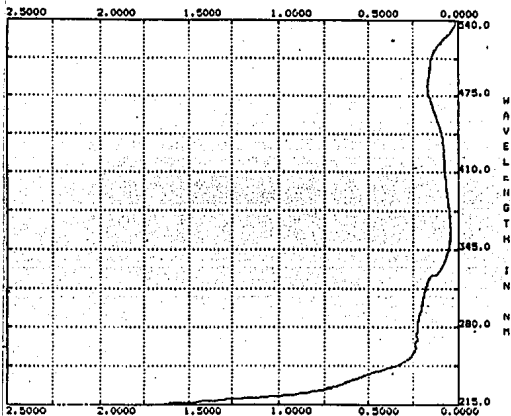
BECKMAN
DU-65 SPECTROPHOTOMETER



Scan Speed: 500 nm/min

Espectro UV-VIS	No.
Muestra: 573	Jugo 234
FLAVONAS METOXILADAS	Fase: Cloruro de Metileno

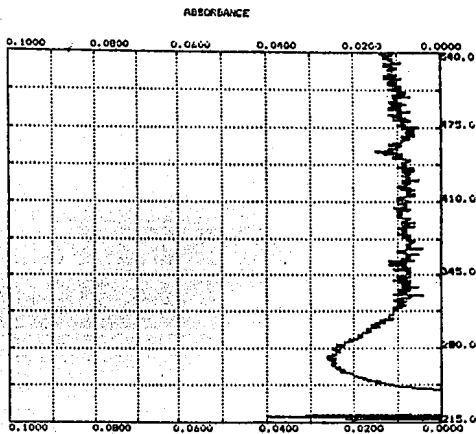
ABSORBANCE



Scan Speed: 500 nm/min

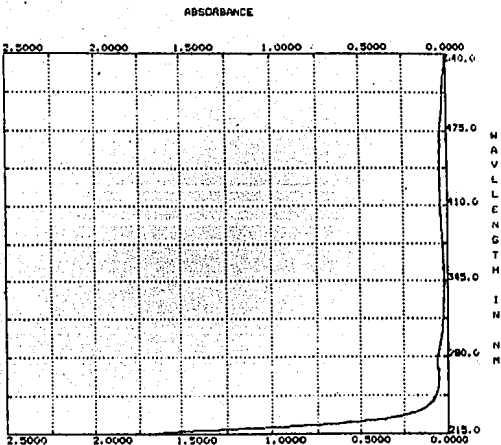
Espectro UV-VIS	No.
Muestra: 573	Jugo 234
GLUCOSIDOS FLAVONICOS	Fase: Metanol - Cloruro de Metileno

BECKMAN
DU-65 SPECTROPHOTOMETER



Scan Speed: 500 nm/min

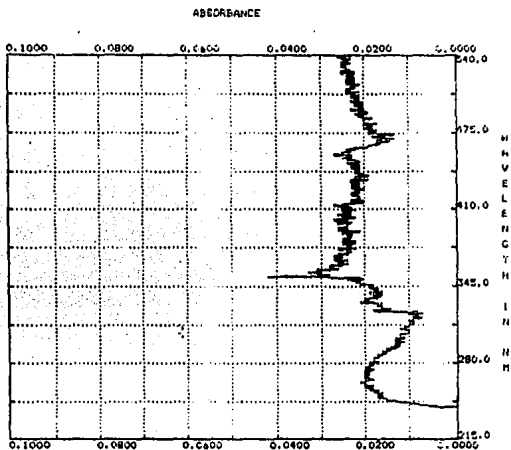
Espectro UV-VIS	No.
Muestra: 577	Jugo 42%
FLAVONAS METOXILADAS	Fase: Cloruro de Metileno



Scan Speed: 500 nm/min

Espectro UV-VIS	No.
Muestra: 577	Jugo 42%

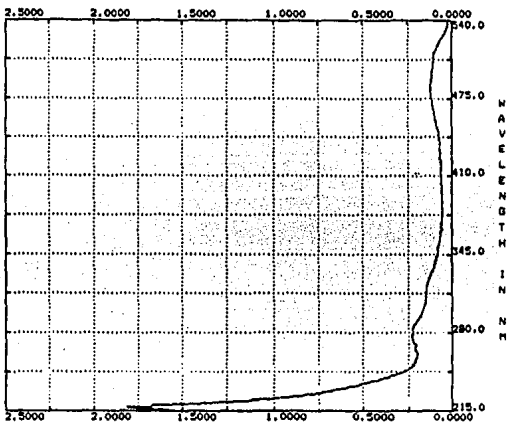
BECKMAN
DU-65 SPECTROPHOTOMETER



Scan Speed: 500 nm/min

Espectro UV-VIS	No.
Muestra: 737	Jugo 42%
FLAVONAS METOXILADAS	Fase: Cloruro de Metileno

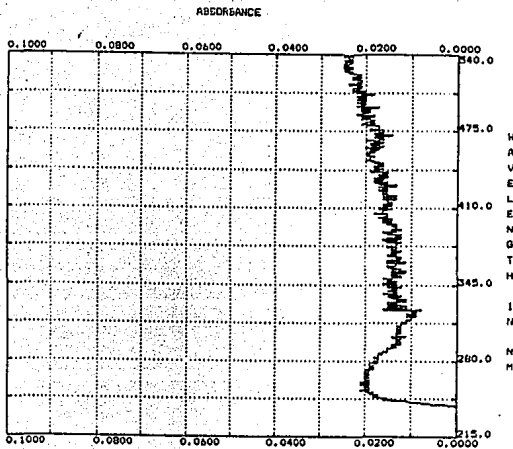
ABSORBANCE



Scan Speed: 500 nm/min

Espectro UV-VIS	No.
Muestra: 737	Jugo 42%
GLUCOSIDOS	Fase: Metanol

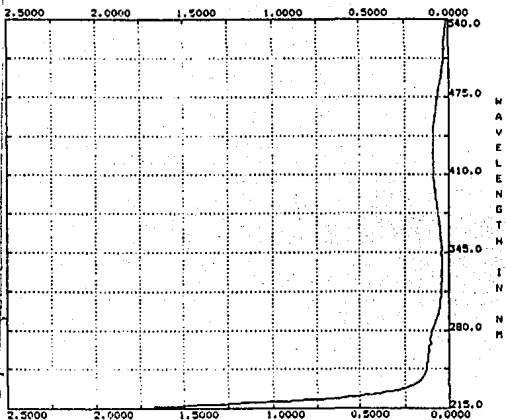
BECKMAN
DU-65 SPECTROPHOTOMETER



Scan Speed: 500 nm/min

Espectro UV-VIS	No.
Muestra: 753	Jugo 42%
FLAVONAS METOXILADAS	Fase: Cloruro de Metileno

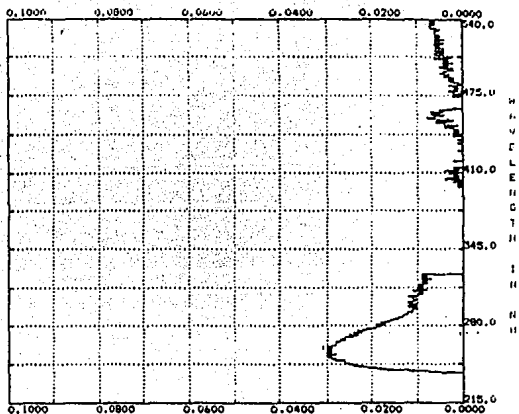
ABSORBANCE



Scan Speed: 500 nm/min

Espectro UV-VIS	No.
Muestra: 753	Jugo 42%
GLUCOSIDOS FLAVONOS	Fase: Metanol - 4-1125-11

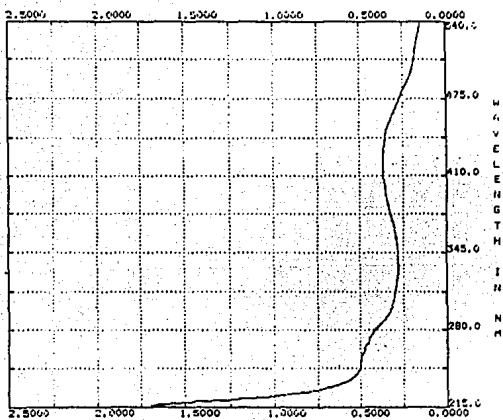
ABSORBANCE



Scan Speed: 500 nm/min

Espectro UV-VIS	No.
Muestra: 757	Jugo 50%
FLAVONAS METOXILADAS	Fase: Cloruro de Metileno

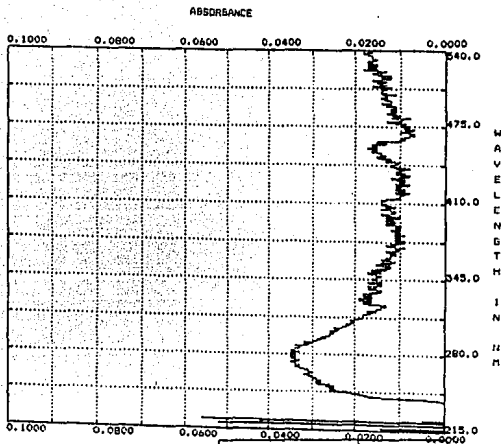
ABSORBANCE



Scan Speed: 500 nm/min

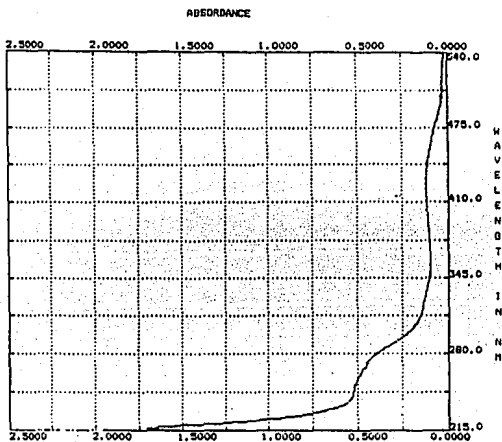
Espectro UV-VIS	No.
Muestra: 757	Jugo 50%
GLUCOSIDOS FLAVONOIDES	Fase: Metanol - Acido 45-55%

BECKMAN
DU-65 SPECTROPHOTOMETER



Scan Speed: 500 nm/min

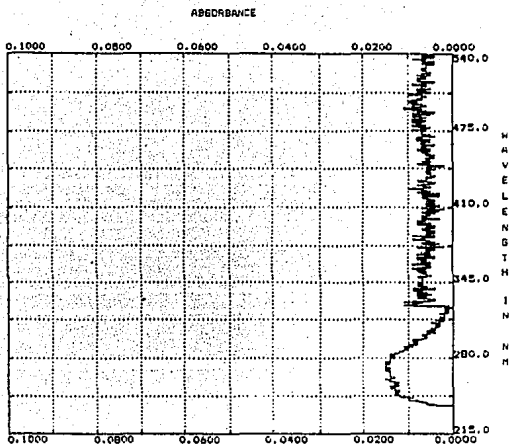
Espectro UV-VIS		No.	
Muestra:	775	Jugo	42%
FLAVONAS METOXILADAS		Fase: Cloruro de Metileno	



Scan Speed: 500 nm/min

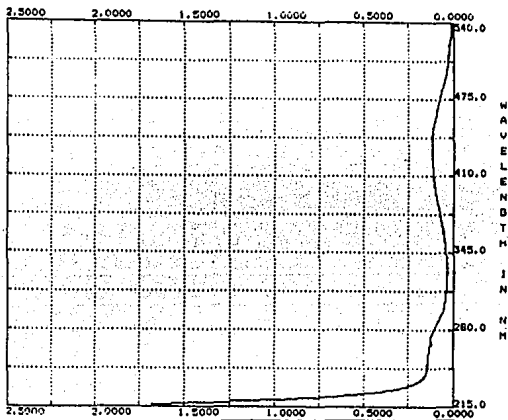
Espectro UV-VIS		No.	
Muestra:	775	Jugo	42%
GLUCOSIDOS FLAVONOIDES		Fase: Metanol - A74.45 751	

DU-65 SPECTROPHOTOMETER



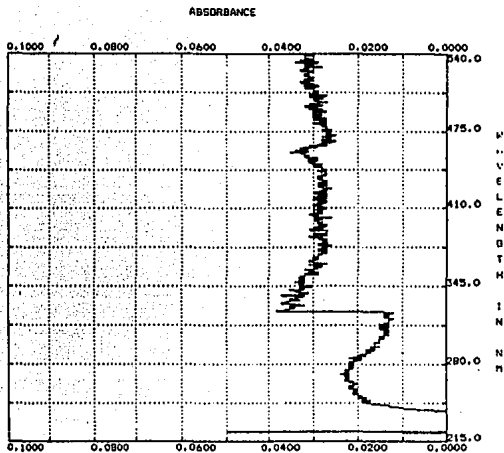
Espectro UV-VIS	No.
Muestra: 777	Jugo 411
FLAVONAS METOXILADAS	Fase: Cloruro de Metileno

ABSORBANCE



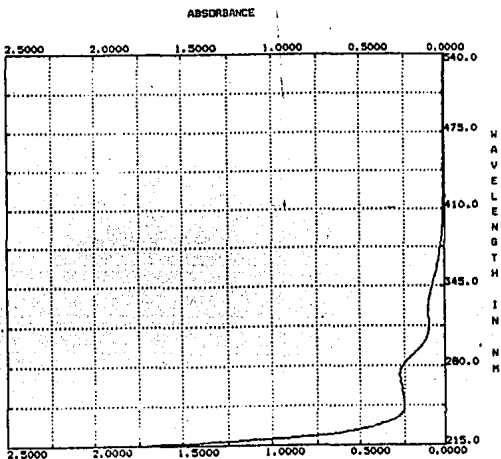
Espectro UV-VIS	No.
Muestra: 777	Jugo 411
GLUCOSIDOS FLAVONOIDES	Fase: Metanol - Aqua(45:25)

BECKMAN
DU-65 SPECTROPHOTOMETER



Scan Speed: 500 nm/min

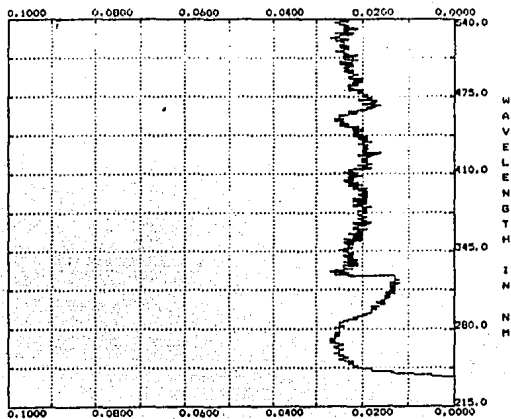
Espectro UV-VIS	No.
Muestra: NARANJA EL ALAMO, VER.	Jugo 10%
FLAVONAS METILADAS	Fase: Cloruro de Metileno



Scan Speed: 500 nm/min

Espectro UV-VIS	No.
Muestra: NARANJA EL ALAMO, VER.	Jugo 10%
GLUCOSIDOS FLAVONOIDES	Fase: Metanol - Agua (4:1)

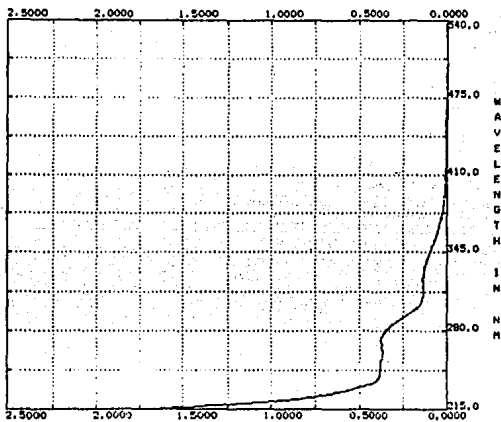
ABSORBANCE



Scan Speed: 500 nm/min

Espectro UV-VIS	No.
Muestra: NARANJA EL ALAMO, VER.	Jugo 15%
FLAVONAS METOXILADAS	Fase: Cloruro de Metileno

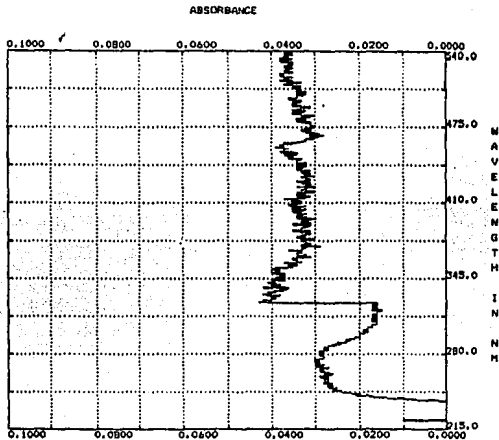
ABSORBANCE



Scan Speed: 500 nm/min

Espectro UV-VIS	No.
Muestra: NARANJA EL ALAMO VER.	Jugo 15%
GLUCOSIDOS FLAVONOIDES	Fase: Metanol - Ajuv (45:25)

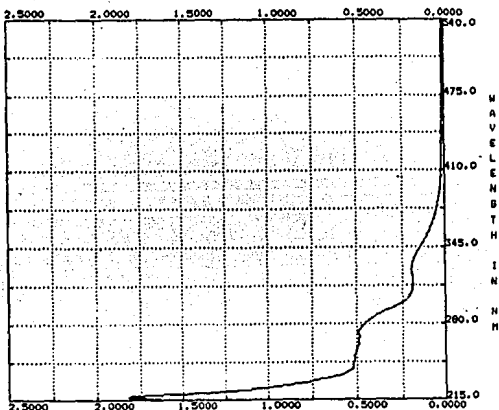
BECKMAN
DU-65 SPECTROPHOTOMETER



Scan Speed: 500 nm/min

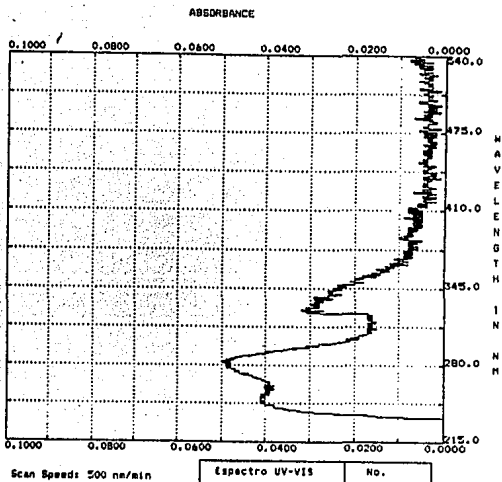
Espectro UV-VIS	No.
Muestra: NARANJA EL ALAMO, VER.	Jugo 25%
FLAVONAS METILADAS	Fase: Cloruro de Metileno

ABSORBANCE

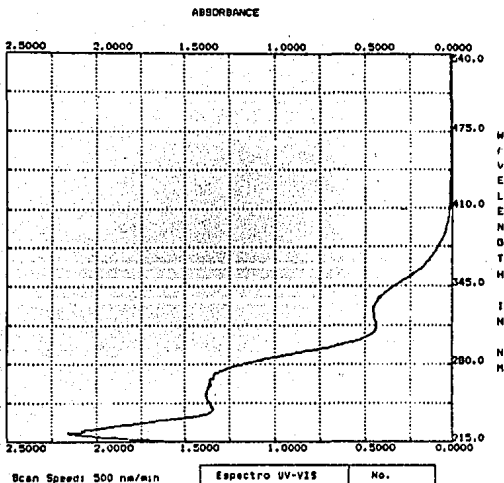


Scan Speed: 500 nm/min

Espectro UV-VIS	No.
Muestra: NARANJA EL ALAMO VER.	Jugo 25%
GLUCOSIDOS FLAVONOIDES	Fase: Metanol - AguA (45:25)

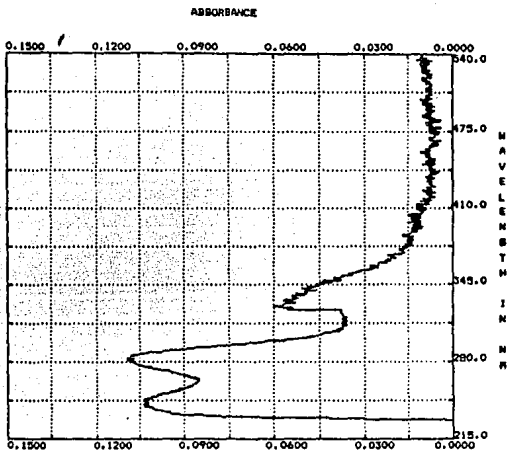


Espectro UV-VIS	No.
Muestra: NARANJA EL ALAMO, VER.	Jugo 50%
FLAVONAS METOXILADAS	Fase: Cloruro de Metileno



Espectro UV-VIS	No.
Muestra: NARANJA EL ALAMO VER.	Jugo 50%
GLUCOSIDOS FLAVONOIDES	Fase: Metanol - Agua (4:1)

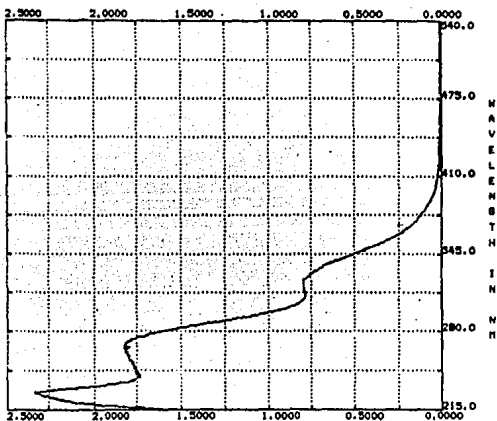
BECKMAN
DU-65 SPECTROPHOTOMETER



Scan Speed: 500 nm/min

Espectro UV-VIS	No.
Muestra: NARANJA EL ALAMO, VER.	Jugo 100%
FLAVONAS MITOXILADAS	Fase: Cloruro de Metileno

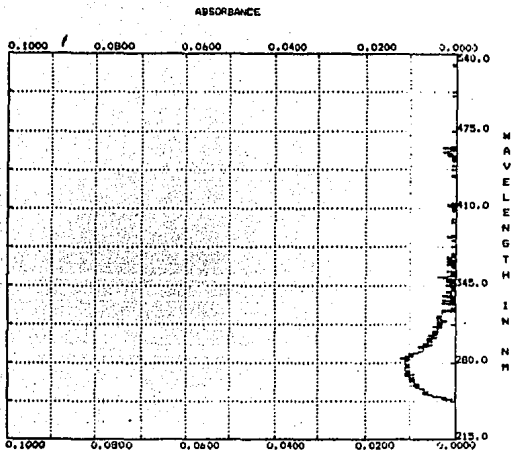
ABSORBANCE



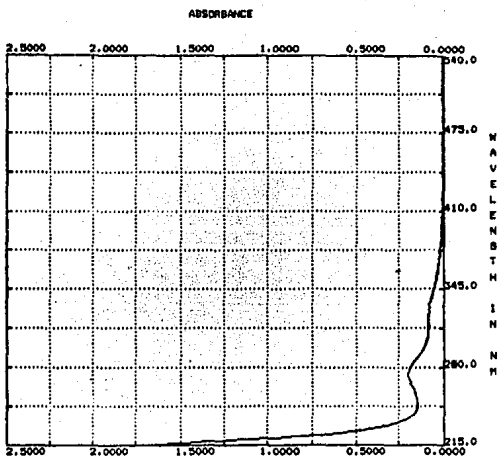
Scan Speed: 500 nm/min

Espectro UV-VIS	No.
Muestra: NARANJA EL ALAMO VER.	Jugo 100%
GLUCOSIDOS FLAVONOIDES	Fase: Metanol - Agua (45:25)

DU-65 SPECTROPHOTOMETER

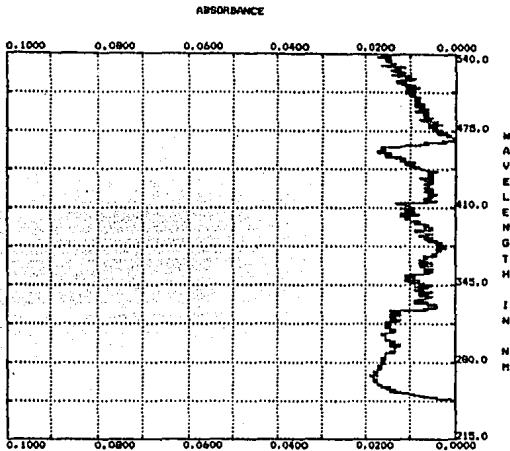


Espectro UV-VIS	No.
Muestra: NARANJA MONTENEGRO, NL.	Jugo 10%
FLAVONAS METOXILADAS	Fase: Cloruro de Metileno

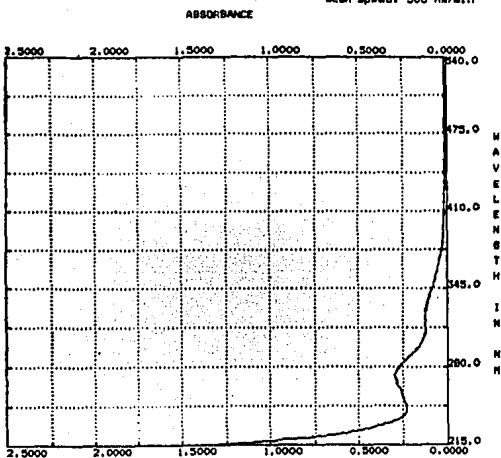


Espectro UV-VIS	No.
Muestra: NARANJA MONTENEGRO, NL.	Jugo 10%
GLUCOSIDOS FLAVONOIDES	Fase: Metanol - Agua (45:55)

DU-65 SPECTROPHOTOMETER

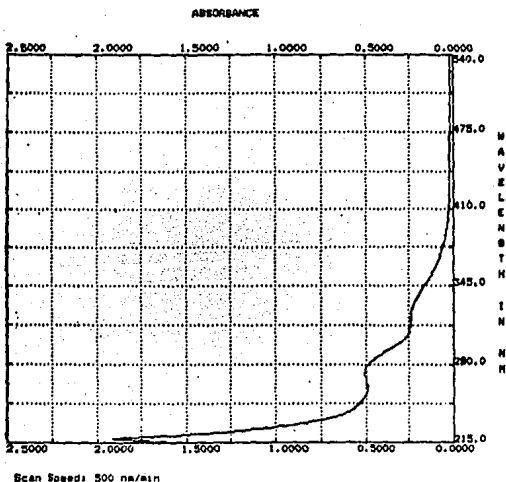
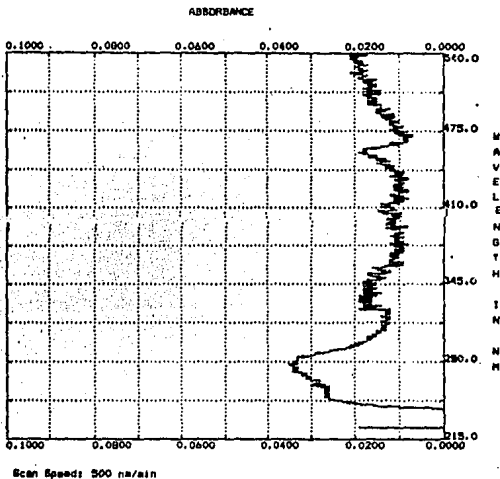


Espectro UV-VIS		No.
Muestras: NARANJA MONTEMORELOS, ML.		Jugo 15%
FLAVONAS METOXILADAS		Fase: Cloruro de Metileno



Espectro UV-VIS		No.
Muestras: NARANJA MONTEMORELOS, ML.		Jugo 15%
GLUCOSIDOS FLAVONICIDOS		Fase: Metanol - Agua (45:55)

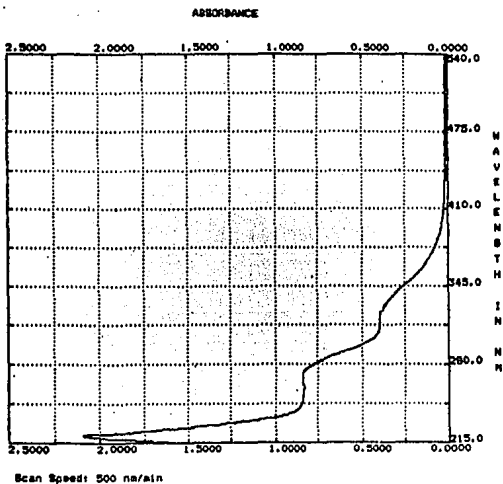
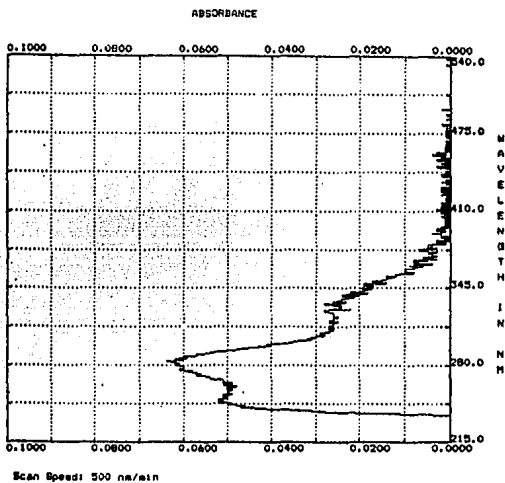
DU-65 SPECTROPHOTOMETER



Espectro UV-VIS	No.
Muestra: NARANJA MONTENORELOS, NL.	Jugo 25%
FLAVONAS METOXILADAS	Fase: Cloruro de Metileno

Espectro UV-VIS	No.
Muestra: NARANJA MONTENORELOS, NL.	Jugo 25%
GLUCOSIDOS FLAVONOIDES	Fase: Metanol - Agua (45:25)

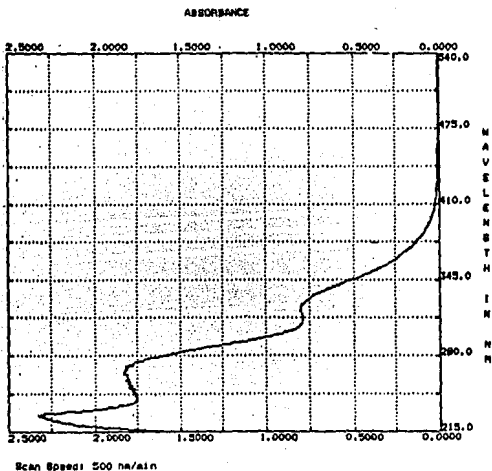
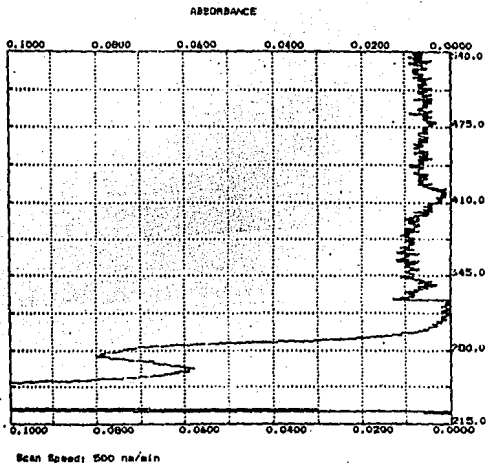
DU-65 SPECTROPHOTOMETER



Espectro UV-VIS	No.
Muestra: NARANJA MONTERELOS, NL.	Jugo 50%
FLAVONAS METOXILADAS	Fase: Cloruro de Metileno

Espectro UV-VIS	No.
Muestra: NARANJA MONTERELOS, NL.	Jugo 50%
GLUCOSIDOS FLAVONOIDES	Fase: Metanol - Agua (43:25)

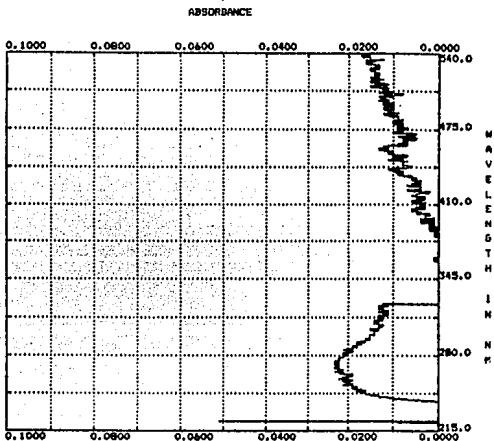
DU-600 SPECTROPHOTOMETER



Espectro UV-VIS	No.
Muestra: NARANJA MONTENORELOS, NL.	Jugo 100%
FLAVONAS METOXILADAS	Fase: Cloruro de Metileno

Espectro UV-VIS	No.
Muestra: NARANJA MONTENORELOS, NL.	Jugo 100%
GLUCOSIDOS FLAVONOIDEOS	Fase: Metanol - Agua (45:75)

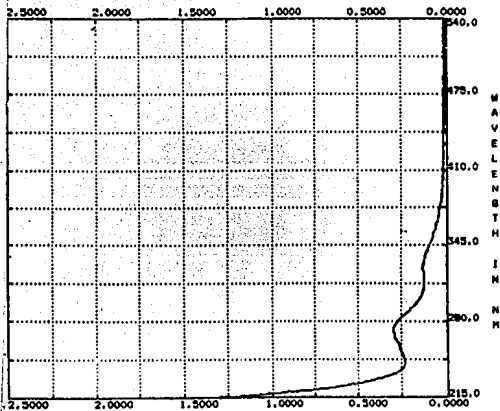
BECKMAN
DU-65 SPECTROPHOTOMETER



Scan Speed: 500 nm/min

Espectro UV-VIS	No.
Muestra: NARANJA RIO VERDE, SLP.	Jugo 10%
FLAVONAS METOXILADAS	Fase: Cloruro de Metileno

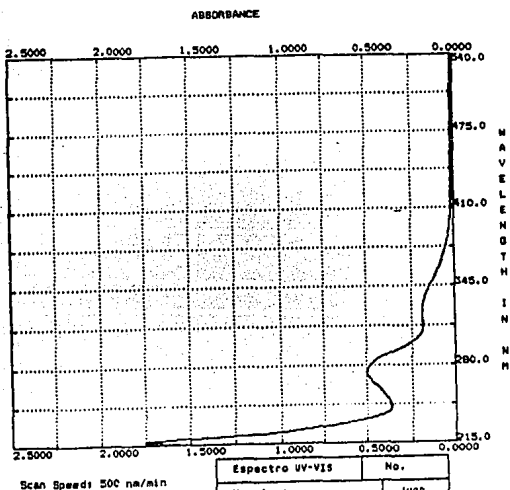
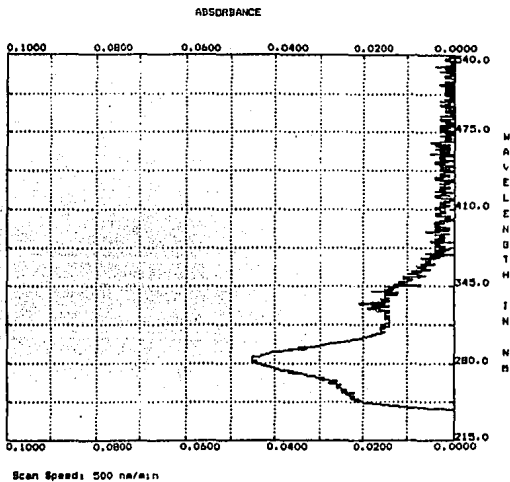
ABSORBANCE



Scan Speed: 500 nm/min

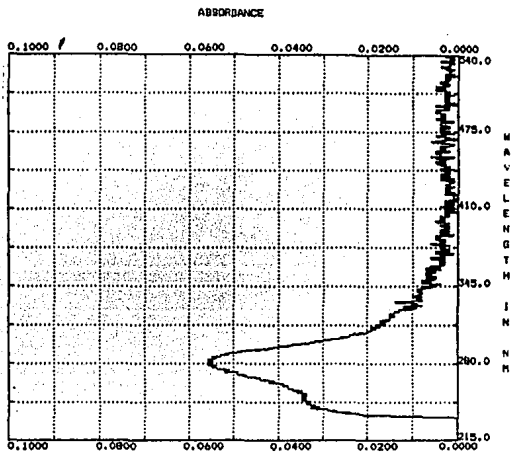
Espectro UV-VIS	No.
Muestra: NARANJA RIO VERDE, SLP.	Jugo 10%
GLUCOSIDOS FLAVONOIDES	Fase: Metanol - Agua (4:1:25)

DU-65 SPECTROPHOTOMETER



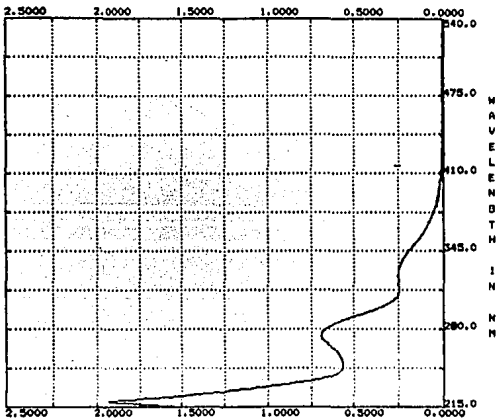
Espectro UV-VIS	No.
Muestra: NARANJA RIO VERDE, SLP.	Jugo 155
FLAVONAS METOXILADAS	Fase: Cloruro de Metileno

Espectro UV-VIS	No.
Muestra: NARANJA RIO VERDE, SLP.	Jugo 155
GLUCOSIDOS FLAVONOIDES	Fase: Metanol - Agua (45:25)



Espectro UV-VIS	No.
Muestra: NARANJA RIO VERDE, SLP.	Jugo 25%
FLAVONAS METOXILADAS	Fase: Cloruro de Metileno

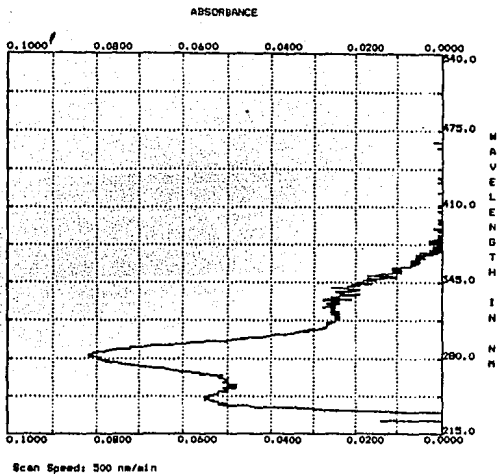
ABSORBANCE



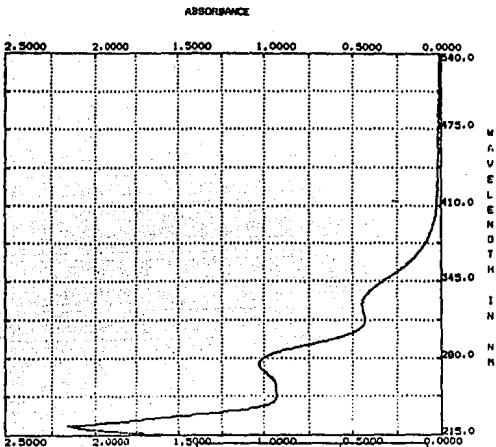
Espectro UV-VIS	No.
Muestra: NARANJA RIO VERDE, SLP.	Jugo 25%
GLUCOSIDOS FLAVONOIDES	Fase: Metanol - Agua (4:1:2)

ESTA YESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

BECKMAN
DU-65 SPECTROPHOTOMETER



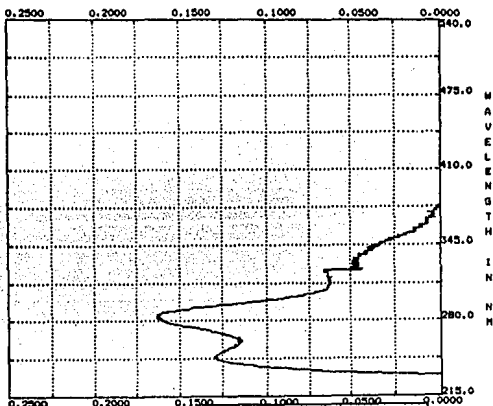
Espectro UV-VIS	No.
Muestra: NARANJA RIO VERDE, SLP.	Jugo 50%
FLAVONAS METOXILADAS	Fase: Cloruro de Metileno



Espectro UV-VIS	No.
Muestra: NARANJA RIO VERDE, SLP.	Jugo 50%
GLUCOSIDOS FLAVONOIDES	Fase: Metanol - Agua (45:25)

BECKMAN
DU-65 SPECTROPHOTOMETER

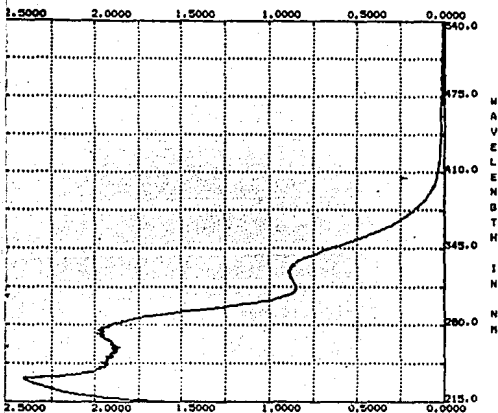
ABSORBANCE



Scan Speed: 500 nm/min

Espectro UV-VIS	No.
Muestra: NARANJA RIO VERDE, SLP.	Jugo 100%
FLAVONAS METOXILADAS	Fase: Cloruro de Metileno

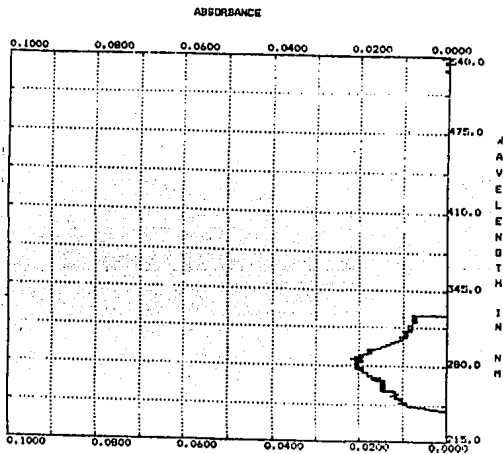
ABSORBANCE



Scan Speed: 500 nm/min

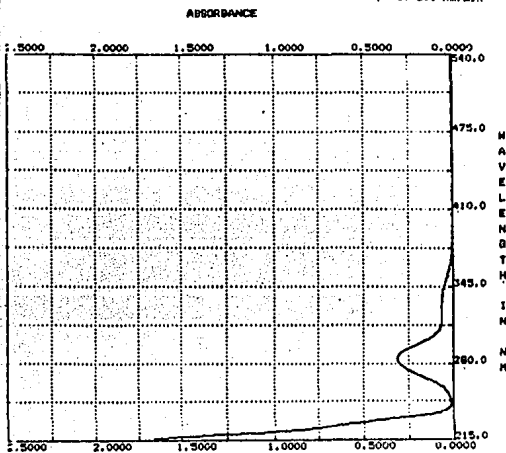
Espectro UV-VIS	No.
Muestra: NARANJA RIO VERDE, SLP.	Jugo 100%
GLUCOSIDOS FLAVONOIDES	Fase: Metanol - Agua (45:75)

BECKMAN
DU-65 SPECTROPHOTOMETER



Scan Speed: 500 nm/min

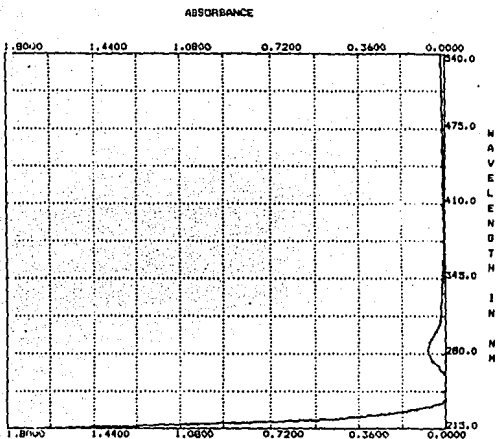
Espectro UV-VIS		No.
Muestra: MARINGINA (85 % pura)	Conc. 1.0 mg	
Condiciones: Extracción con solventes.	Fase: Cloruro de metileno	



Scan Speed: 500 nm/min

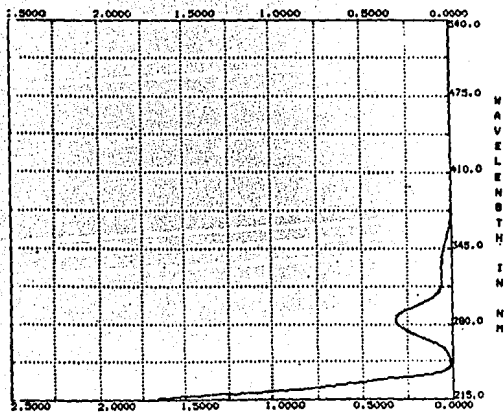
Espectro UV-VIS		No.
Muestra: MARINGINA (85 % pura)	Conc. 1.0 mg	
Condiciones: Extracción con solventes.	Fase: Metanol-Agua (45-25)	

BECKMAN
DU-65 SPECTROPHOTOMETER



Scan Speed: 500 nm/min

ABSORBANCE

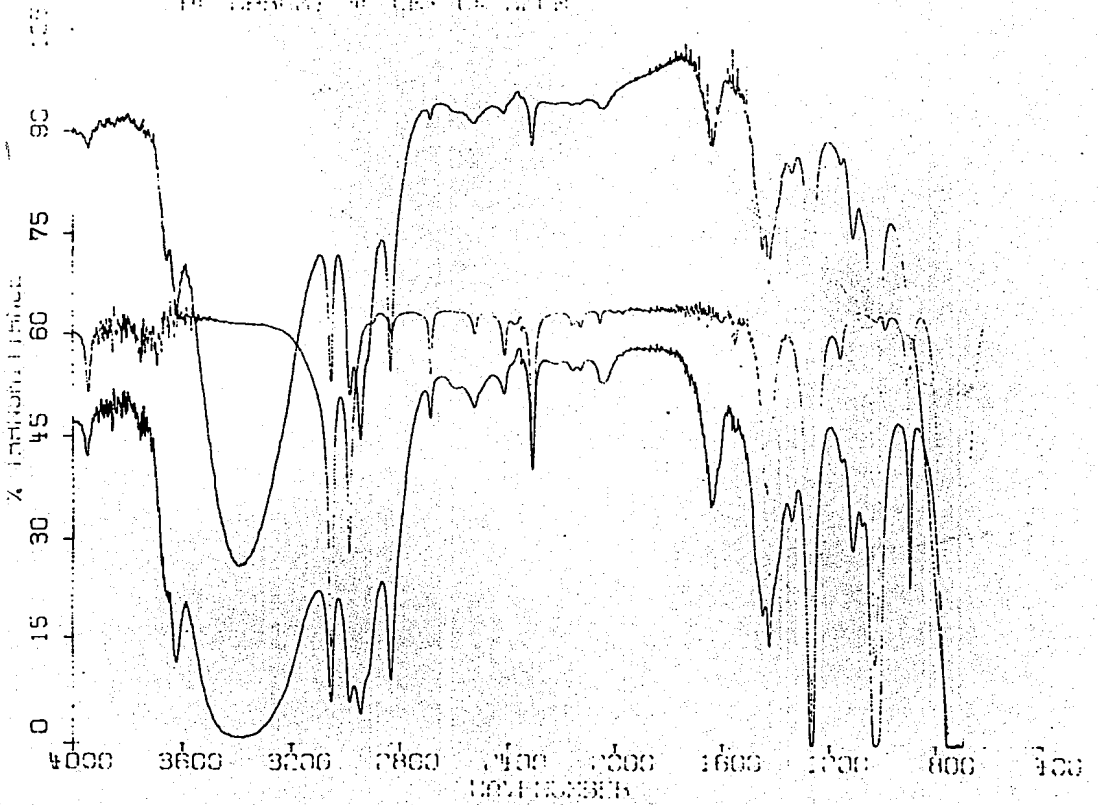


Scan Speed: 500 nm/min

Espectro UV-VIS		No.
Muestra:	NARINGINA (0.2 mg pura)	Conc. 0.2 mg
Condiciones:	Extracción con solventes.	Fase: Metanol-Agua (45-25)

Espectro UV-VIS		No.
Muestra:	NARINGINA (1.0 mg pura)	Conc. 1.0 mg
Condiciones:	Extracción con solventes.	Fase: Metanol-Agua (45-25)

IR SPECTRUM OF POLYMER



PHARMA: (C) 1988

