

DETERMINACIÓN POR HPLC DE FLAVANONAS EN JUGOS CÍTRICOS DE VARIEDADES CULTIVADAS EN SANTANDER

RESUMEN

Se estandarizó un método por cromatografía líquida de alta eficiencia, HPLC, para determinar simultáneamente la concentración de las flavanonas: naringina, hesperidina, naringenina y hesperetina, en los jugos de las variedades más representativas de mandarina, naranja, toronja, limón y lima, cultivadas en Santander. Las mayores concentraciones de naringina, hesperidina y naringenina, se encuentran en los jugos de toronja, mandarina y lima, respectivamente, y en ninguno de los jugos se detecta la hesperetina.

PALABRAS CLAVES: HPLC, flavanonas, jugos cítricos.

ABSTRACT

A method by high performance liquid chromatography, HPLC, was standardized for to determine simultaneously the concentration of the flavanones: naringin, hesperidin, naringenin and hesperetin, in the juices of the most representatives varieties of mandarin, orange, grapefruit, lemon and lime, cultivated in Santander. The highest concentration of naringin, hesperidin and naringenin, are found in the juices of grapefruit, mandarin and lime, respectively, and none of the juices analyzed contain hesperetin.

KEYWORDS: HPLC, flavanones, citrus juices.

PILAR ROJAS LLANES

Química
jenniferpilar@gmail.com

AIDÉ PEREA VILLAMIL

Doctora en Ciencias
Profesora Escuela de Química
Universidad Industrial de
Santander
aperea@uis.edu.co

CLAUDIA ORTÍZ LÓPEZ

Doctora en Ciencias
Directora Escuela de Bacteriología
y Laboratorio Clínico
Universidad Industrial de
Santander
ortizc@uis.edu.co

1. INTRODUCCIÓN

A nivel nacional, Santander ocupa el primero, tercero y cuarto puesto en la producción de mandarina, limón y naranja, respectivamente, esto indica su buen posicionamiento en el cultivo de cítricos [1]. Los cítricos contienen un gran número de compuestos que contribuyen a la salud. De hecho, hay más de 170 fitoquímicos bioactivos en una naranja [2], y entre ellos se encuentran los flavonoides, que tienen un amplio rango de efectos biológicos [3]. Las flavanonas son el subgrupo de flavonoides más abundantes en los jugos cítricos, y cada especie de cítrico se caracteriza por un modelo particular de flavanonas glicosídicas que puede ser separado por HPLC [4].

El objetivo del presente estudio fue determinar la concentración de naringina, hesperidina, naringenina y hesperetina en los jugos de las variedades más representativas de mandarina (Común, Oneco, Clementina y Arrayana), naranja (Valencia Campbell y Valencia Frost), toronja (Ica Hático y Star Ruby), limón Común y lima Tahití, cultivadas en Santander.

Como primer paso, se desarrolló un método por HPLC para la separación y determinación simultánea de las flavanonas en los extractos de los jugos cítricos; el método se estandarizó mediante la determinación de figuras analíticas de mérito [5], y posteriormente se analizaron los jugos. La preparación de muestras se llevó a cabo mediante una modificación de la polaridad con etanol anhidro [6]. La aplicación de este método proporciona información acerca de la composición en flavanonas de los jugos cítricos.

2. DESARROLLO EXPERIMENTAL

2.1 Análisis por HPLC

Los análisis se llevaron a cabo en el cromatógrafo líquido Agilent 1100, acoplado a una Chemstation HP. Se utilizó el detector de arreglo de diodos a 282 nm; la columna Eclipse XDB-C18 (150mm x 4,6mm x 5µm), la fase móvil conformada por agua:metanol:ácido acético (35:62,4:2,6 v/v/v) a 35°C; el flujo de 1,3 mL/min y el volumen de inyección de 5µL.

2.2 Validación del método

Para cada flavanona se determinaron las figuras analíticas de mérito [5] reportadas en la Tabla 1.

2.3 Muestreo

Las variedades analizadas se recolectaron en la vereda Peñas del municipio de Girón. Las frutas en estado de madurez óptimo, se lavaron con una solución de hipoclorito de sodio de 200 ppm, se secaron y se almacenaron a 10°C hasta su procesamiento.

2.4 Preparación de muestras

Se tomaron 2 mL de cada jugo y se mezclaron con 2 mL de etanol anhidro. La mezcla se centrifugó a 4000 rpm durante 20 minutos y el sobrenadante obtenido se filtró para su análisis por HPLC. Todas las muestras se prepararon por triplicado y los resultados se reportaron con su respectiva desviación estándar, Tabla 2. Los picos se identificaron comparándolos con los tiempos de retención de los estándares, Figura 1., y se cuantificó por el método del estándar externo.

3. RESULTADOS

Compuesto	t _R (min)	r, t _R (min)	r, A (mUA)	%R (μg/mL)	R ²	b	LOD (μg/mL)	LOQ (μg/mL)
Naringina	4,18	0,07	0,29	96,00 ± 2,65	0,9999	5,80	0,06	0,13
Hesperidina	5,01	1,29	3,45	93,00 ± 3,61	0,9995	6,42	0,09	0,17
Naringenina	14,30	0,77	2,36	93,33 ± 2,08	0,9970	15,63	0,05	0,11
Hesperetina	18,80	0,36	0,22	89,33 ± 2,52	0,9996	15,30	0,06	0,12

Tabla 1. Figuras analíticas de mérito

t_R: Tiempo de retención; r, t_R: Repetibilidad para tiempos de retención; r, A: Repetibilidad para áreas; Repetibilidad: Precisión; %R: Porcentaje de recuperación ± Desviación estándar (n=3); R²: Coeficiente de determinación: Linealidad; b: Pendiente: Sensibilidad; LOD: Límite de detección; LOQ: Límite de cuantificación.

JUGO	NARINGINA (μg/mL) ^a	HESPERIDINA (μg/mL)	NARINGENINA (μg/mL)	HESPERETINA (μg/mL)
Toronja Ica Hático	192,17 ± 5,25	4,44 ± 0,17	4,97 ± 0,02	ND ^b
Toronja Star Ruby	179,31 ± 1,97	3,43 ± 0,09	2,77 ± 0,07	ND
Naranja Valencia Campbell	3,40 ± 0,09	44,89 ± 1,38	2,44 ± 0,10	ND
Naranja Valencia Frost	3,28 ± 0,14	50,13 ± 0,58	2,58 ± 0,09	ND
Limón Común	5,79 ± 0,15	59,30 ± 0,78	7,95 ± 0,22	ND
Lima Tahití	7,74 ± 0,18	33,85 ± 1,23	17,75 ± 0,47	ND
Mandarina Común	ND.	159,71 ± 1,08	2,36 ± 0,09	ND
Mandarina Arrayana	ND.	122,69 ± 3,36	2,74 ± 0,24	ND
Mandarina Clementina	ND.	105,78 ± 3,85	ND.	ND
Mandarina Oneco	ND.	84,26 ± 2,50	2,17 ± 0,10	ND

Tabla 2. Concentración de flavanonas en jugos cítricos. ^a Promedio ± Desviación estándar (n=3); ^b No detectable

Los resultados reportados en la Tabla 1, demuestran que el método estandarizado cumple con los requisitos establecidos por las Buenas Prácticas de Laboratorio en cuanto a desarrollo y validación de métodos.

La Tabla 2 indica que las mayores concentraciones de naringina, hesperidina y naringenina, se encuentran en los jugos de toronja Ica Hático, mandarina Común y lima Tahití, respectivamente.

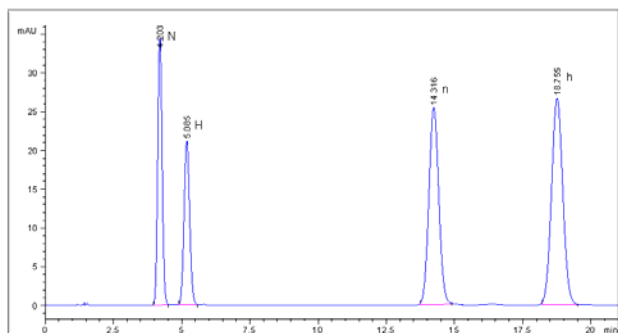


Figura 1. Cromatograma correspondiente a la determinación simultánea de los estándares. Naringina; H: Hesperidina; n: naringenina; h: hesperetina.

4. CONCLUSIONES

El método por HPLC estandarizado en este trabajo, permite la determinación simultánea de naringina, hesperidina, naringenina y hesperetina en jugos cítricos.

Las mayores concentraciones de naringina, hesperidina y naringenina se encuentran en los jugos de toronja, mandarina y lima, respectivamente. En ninguno de los jugos analizados se detecta la hesperetina.

5. BIBLIOGRAFÍA

- [1] Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, Observatorio Agrociencias Colombia. La cadena de cítricos en Colombia: Una mirada global de su estructura y dinámica 1991-2005. 61 páginas, Bogotá: 2005. Disponible en <http://www.agrociencias.gov.co>.
- [2] WANG, Y-C., CHUANG, Y-C., & KU, Y-H. Quantitation of bioactive compounds in citrus fruits cultivated in Taiwan. *Food Chemistry*. 2006; doi:10.1016/j.foodchem.2006.06.057.
- [3] ERLUND, Iris. Review of the flavonoids quercetin, hesperetin, and naringenin. Dietary sources, bioactivities, bioavailability, and epidemiology. *Nutrition Research*. 2004; 24: 851-874.
- [4] BILBAO, M.L. et al. Determination of flavonoids in a Citrus fruit extract by LC-DAD and LC-MS. *Food Chemistry*. 2007; 101:1742-1747.
- [5] BURGESS, Christopher. Valid Analytical Method and Procedure. 87 páginas, Royal Society of Chemistry, Cambridge, 2000.
- [6] CHIEN, P.J., SHEU, F., & SHYU, Y.T. Monitoring Enzymatic Debitting in Grapefruit Juice by High Performance Liquid Chromatography. *Journal of Food and Drug Analysis*. 2005; 9(2): 115-120.