



UNAP



**FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA
ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA**

TESIS

**IDENTIFICACIÓN DE LA HESPERIDINA AISLADA DEL ALBEDO DE
Citrus paradisi MACFADYEN (POMELO) POR SUS CARACTERÍSTICAS
FISICOQUÍMICAS Y ESPECTROMETRÍA UV**

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE
QUÍMICO FARMACÉUTICO**

PRESENTADO POR:

**AYDEE ROSA ESPERANZA GÁRATE RUÍZ
LIBETTI CAROLINA PANAIFO GUERRA**

ASESOR

Ing. CLETO JARA HERRERA, Mtro.

IQUITOS, PERÚ

2023

ACTA DE SUSTENTACIÓN



Facultad de Farmacia y Bioquímica
Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS N°040-2023-CGT-FFyB-UNAP

En el caserío de Nina Rumi, distrito de San Juan Bautista, departamento de Loreto, a los 04 días del mes de julio de 2023, a horas 16:00, se dio inicio a la sustentación pública de Tesis titulada "IDENTIFICACIÓN DE LA HESPERIDINA AISLADA DEL ALBEDO DE *Citrus paradisi* MACFADYEN (POMELO) POR SUS CARACTERÍSTICAS FÍSICOQUÍMICAS Y ESPECTROMETRÍA UV", aprobada con Resolución Decanal N°163-2023-FFyB-UNAP presentada por los bachilleres: **Aydee Rosa Esperanza Gárate Ruíz y Libetti Carolina Panaifo Guerra**, para optar el Título Profesional de Química Farmacéutica que otorga la Universidad de acuerdo con Ley y Estatuto.

El jurado calificador y dictaminador designado mediante Resolución Decanal N°271-2022-FFyB-UNAP, está integrada por:

- | | |
|---|------------|
| - Q.F. WILFREDO OSWALDO GUTIÉRREZ ALVARADO, Mtro. | Presidente |
| - Q.F. LENIN FERNÁNDEZ ARELLANO, Mtro. | Miembro |
| - Q.F. ROY ALEXANDER ALVAREZ MARREROS, Mtro. | Miembro |

Luego de haber escuchado con atención y formulado las preguntas necesarias, las cuales fueron respondidas: adecuadamente

El jurado después de las deliberaciones correspondientes, llegó a las siguientes conclusiones:

La sustentación pública de la tesis ha sido aprobada con la calificación buena

Estando los bachilleres aptos para obtener el Título Profesional de Química Farmacéutica.

Siendo las 18:00 se dio por terminado el acto académico


Q.F. WILFREDO OSWALDO GUTIÉRREZ ALVARADO, Mtro.
Presidente


Q.F. LENIN FERNÁNDEZ ARELLANO, Mtro.
Miembro


Q.F. ROY ALEXANDER ALVAREZ MARREROS, Mtro.
Miembro


Ing. CLETO JARA HERRERA, Mtro.
Asesor

Carretera Zungarococha – Nina Rumi
Correo electrónico: farmacia@unaiquitos.edu.pe
San Juan – Loreto – Perú. Celular: N°942917926

UNIVERSIDAD
LICENCIADA
RESOLUCIÓN N°012-2019-SUNEDU/CD

JURADOS Y ASESORES



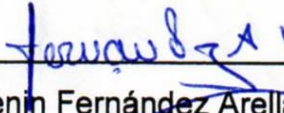
Q.F. Wilfredo Oswaldo Gutiérrez Alvarado, Mtro.
Presidente de Jurado calificador y dictaminador

CQFP: 01399



Q.F. Roy Alexander Alvarez Marreros, Mtro.
Miembro de Jurado calificador y dictaminador

CQFP: 07290



Q.F. Lenin Fernández Arellano, Mtro.
Miembro de Jurado calificador y dictaminador

CQFP:14332



Ing. Cleto Jara Herrera, Mtro.

Asesor

CIP: 63042

NOMBRE DEL TRABAJO

FFB_TESIS_GARATE RUIZ_PANAIFO
GUERRA.pdf

AUTOR

GARATE RUIZ / PANAIFO GUERRA

RECUENTO DE
PALABRAS

8173 Words

RECUENTO DE CARACTERES

42427 Characters

RECUENTO DE
PÁGINAS

33 Pages

TAMAÑO DEL ARCHIVO

325.9KB

FECHA DE ENTREGA

Aug 3, 2023 11:33 AM
GMT-5

FECHA DEL INFORME

Aug 3, 2023 11:34 AM GMT-5

● 7% de similitud general

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para cada

- base d6% Base de datos de Internet
- Base de datos de publicaciones
- Base de datos de Crossref Crossr
- Base de datos de contenido publicado de
- 3% Base de datos de trabajos entregados

● Excluir del Reporte de Similitud

- Material bibliográfico
- Coincidencia baja (menos de 10 palabras)

DEDICATORIA

En primera instancia a Dios, luz divina que me guía en mi caminar todos los días. A mi madre, por ser mi mayor fortaleza y apoyo, y con especial amor a mi hijo **Rainer Abdul**; por ser mi mayor motivación, mi vida misma y fuente inagotable de inspiración. Por último, a todos los futuros profesionales de la carrera que brindarán su trabajo al servicio de la salud y la vida.

Aydee Rosa Esperanza G. R.

La presente tesis está dedicada a Dios. Gracias a él he logrado concluir mi Carrera. A mis padres; a mi mamita linda y a mi papito **Mario**, aunque no esté físicamente con nosotros, sé que desde el cielo siempre me cuida y me guía para que todo me salga bien. Ellos siempre estuvieron a mi lado brindándome su apoyo y sus consejos para hacer de mí una mejor persona. A mis hijos **Jean y Vallery** por su amor incondicional que me dan la fuerza, motivación e inspiración para poder terminar mi Carrera.

A todas aquellas personas que de una y otra forma han contribuido para el logro de mis objetivos.

Libetti Carolina P. G.

AGRADECIMIENTO.

En primer lugar, agradecemos a Dios por proveernos de coraje, sensatez y sabiduría, para superar cada una de los obstáculos que fueron surgiendo en nuestro camino y así poder lograr nuestras metas y objetivos.

En segundo lugar, a nuestros padres, a nuestros hijos y a nuestras familias en general por estar junto a nosotros en los problemas que se dieron en el camino; por el apoyo incondicional moral y económico que nos brindaron desde que iniciamos nuestros estudios ya que sin ellos no podría haber sido posible todo lo que logramos.

En tercer lugar, a todos nuestros compañeros y profesores que nos animaron y ayudaron durante el trayecto de nuestra educación y más aún en este proyecto de investigación a nuestro asesor Ing. Cleto y al profesor Ing. Julio Arce por compartir sus conocimientos y trasmitirlo hacia nosotras. Muchísimas gracias

A todas aquellas personas que contribuyeron en nuestro proceso educativo, a las nuevas generaciones de estudiantes que tengan el deseo de investigar más acerca de los recursos naturales que la amazonia posee pero que puedan sacar adelante a nuestra querida y hermosa facultad con proyectos que afiancen el prestigio de la universidad.

Aydee Rosa Esperanza y Libetti Carolina

ÍNDICE

PORTADA	i
ACTA DE SUSTENTACIÓN	ii
JURADOS Y ASESORES	iii
AGRADECIMIENTO.	vi
ÍNDICE	vii
ÍNDICE DE FIGURAS	viii
RESUMEN	ix
ABSTRACT	x
INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO I: MARCO TEÓRICO	3
1.1. Antecedentes	3
1.2. Bases teóricas	5
1.2.1. Especie vegetal de estudio	5
1.2.3. Hesperidina	8
1.2.4. Métodos de extracción de la hesperidina	9
1.2.5. Determinación de los parámetros fisicoquímicos	11
1.2.6. Caracterización por espectrometría UV/visible	13
1.3. Definición de términos básicos	14
CAPÍTULO II: HIPÓTESIS Y VARIABLES	16
2.1. Formulación de hipótesis	16
2.2. Variables de estudio y su operacionalización	16
2.2.1 Variables de estudio	16
2.2.2. Operacionalización de las variables	17
CAPÍTULO III: METODOLOGÍA	18
3.1. Tipo y diseño	18
3.2. Diseño muestral	18
3.3. Procedimiento de recolección de datos	19
3.4. Procesamiento y análisis de datos	22

3.5. Aspectos éticos	24
CAPÍTULO IV: RESULTADOS	25
4.1. Características Físicoquímicas	25
4.2. Rendimiento de la hesperidina	25
4.3. características espectrométricas	26
CAPÍTULO V: DISCUSIÓN	27
CAPÍTULO VII: RECOMENDACIONES	31
CAPÍTULO VIII: REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	32
ANEXOS	38

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Biogénesis de la hesperidina (33). Elaborado en el programa ACD/ChemSketch	8
Figura 2. Diagrama de flujo en la obtención de hesperidina	19

RESUMEN

Esta investigación tuvo como objetivo identificar la hesperidina aislada del albedo de *Citrus paradisi* Macfadyen por estimación de las características fisicoquímicas y espectrométricas ultravioleta visible. El albedo de la especie fue recolectado en el poblado de Padre Cocha, Punchana, Maynas, Loreto. Se llevó a secado y luego pulverizada, fue pasada por malla 60 ASTM, se trabajó con doscientos gramos de muestra que se maceró en un sistema alcohol-agua (1:1) y solución de hidróxido de calcio al 10% en etanol (8:2), se filtró a presión reducida, se concentró y se dejó en reposo, precipitando cristales amorfos de color amarillo, se purificó lavando con agua destilada varias veces sobre papel filtro precipitando cristales blancos en forma de agujas. Las mediciones de las características fisicoquímicas fueron: Punto de fusión 262°C, Rotación específico $[\alpha]_D^{23} = -76^\circ C$ en piridina, mostró solubilidad en piridina, formamida y demetilformamida; por método de RAST el peso molecular fue 610,581 g/mol; Valores de Rf en cromatografía de papel bidimensional corrido en acetato de terbutilo (TBA) y ácido acético (HOAC) dieron 0,51 y 0,78 respectivamente; La medición espectrométrica en el equipo UV dio las siguientes longitudes de onda máxima: 283 y 327 nm usando como reactivo de desplazamiento al metanol, y en acetato de sodio y metanol se obtuvo 284 y 328 nm. Estos valores son similares con los de la literatura para la hesperidina. En consecuencia, la sustancia aislada del albedo de *C. paradisi* Macfadyen es hesperidina.

Palabras clave: *Citrus paradisi* Macfadyen, albedo, hesperidina, características fisicoquímicas, espectrometría UV-visible.

ABSTRACT

The objective of this research was to identify the hesperidin isolated from the albedo of *Citrus paradisi* Macfadyen by estimating the physicochemical and spectrometric ultraviolet-visible characteristics. The albedo of the species was collected in the town of Padre Cocha, Punchana, Maynas and Loreto. It was dried and then pulverized, passed through 60 mesh ASTM, two hundred grams of sample were macerated in an alcohol-water system (1:1) and 10% calcium hydroxide solution in ethanol (8:2), filtered under reduced pressure, concentrated, and left to stand, precipitating amorphous yellow crystals, purified by washing with distilled water +several times on filter paper precipitating white crystals in the form of needles. Measurements of physicochemical characteristics were: Melting point 262 °C, Specific rotation $[\alpha]_D^{23} = -76^\circ C$ in pyridine, showed solubility in pyridine, formamide, and dimethylformamide; by RAST method the molecular weight was 610,581 g/mol; Rf values in two-dimensional paper chromatography run on tert-butyl acetate (TBA) and acetic acid (HOAC) gave 0.51 and 0.78 respectively; Spectrometric measurement on UV equipment gave the following maximum wavelengths: 283 and 327 nm using methanol as the displacement reagent, and in sodium acetate and methanol 284 and 328 nm were obtained. These values are similar to those reported in the literature for hesperidin. Consequently, the substance isolated from the albedo of *C. paradisi* Macfadyen is hesperidin.

Keywords: *Citrus paradisi* Macfadyen, albedo, hesperidin, physicochemical parameters, ultraviolet-visible spectrometry.

INTRODUCCIÓN

Las enfermedades producidas por los efectos oxidativos son muchas, siendo los cardiovasculares, las neurodegenerativas, cancer, diabetes, las hepáticas (1), hipertensión, cirrosis (2) las más resaltantes. Además, está involucrada en la etiopatogenia de múltiples enfermedades crónico-degenerativas (1), las cuales vienen cobrando numerosas vidas humanas. Las enfermedades cardiovasculares son la causa de muerte del 25% de personas en el mundo (3), y en la mayoría de los países de Latinoamérica la mortalidad cardiovascular fluctúa entre 11,6 a 43,5%, en el Perú es de 11,9%, siendo la primera causa de muerte. Además, en Latinoamérica la prevalencia de la hipertensión arterial fluctúa entre 20 a 30% para la población adulta (4). Este problema de salud mundial, especialmente las enfermedades cardiovasculares está relacionado con el estrés oxidativo.

El aumento de las especies reactivas de oxígeno y nitrógeno (ROS/RNS), se le denomina estrés oxidativo, la cual crea un desbalance en los sistemas endógenos que disminuye la habilidad de protección antioxidante (5). Para proteger a la célula de los efectos dañinos del (ROS/RNS), se hacen terapias antioxidantes que consiste en suministrar dietas ricas en antioxidantes o fármacos (2) que ayuden a sintetizar enzimas antioxidantes (1) y previene o disminuye el desgaste de la función del organismo por el estrés oxidativo. Uno de los compuestos bioactivos que cumple esa función es la hesperidina presente en los cítricos (2).

La hesperidina tiene propiedad antioxidante, actúa contra las especies reactivas del oxígeno (ROS) cuando las concentraciones de estas son altas en el organismo (6), por lo que brindan efectos protectores sobre las funciones y la integridad del hígado, los riñones, el corazón y contra el deterioro de la memoria relacionado con la edad evitando demencia senil. Del mismo modo, se demostró que tiene efectos antiinflamatorio, antimicrobiano, antihipertensivo y antiulceroso (7,8). Por ello es utilizada en el tratamiento de la insuficiencia renal crónica, dermatitis varicosa, úlceras varicosas,

linfodema, hemorroides, varicoflebitis, trastornos retinianos vasculares, carcinogénesis (7–10).

Los flavonoides son moléculas polifenílicas, se encuentran en plantas vasculares en forma de glicósidos y se caracterizan por poseer una estructura benzo- γ -pirano (11). La narangina y hesperidina son los principales flavonoides en los cítricos (12). Este último es un flavonoide de gran repercusión, porque la deficiencia de esta sustancia en la dieta se ha relacionado con fugas capilares anormales, que causa dolores en las extremidades, debilidad y calambres nocturnos en las piernas (13).

De otro lado, para esta molécula, la literatura científica ha reportado las propiedades fisicoquímicas que tiene el compuesto puro, tales como: punto de fusión, peso molecular, rotación óptica, solubilidad, etc. (14–16), pero también los valores R_f en cromatografía de capa fina (TCL) en diferentes solventes de elución (10,17). Así como, los espectros de absorción que tiene en ultravioleta visible (UV/Vis) en diferentes solventes (17). Además, en estudios de investigación realizados sobre hesperidina, en varias especies de plantas se ha reportado valores R_f en (TCL), espectros de absorción en (UV/Vis) en diferentes solventes de resolución (12,18–21).

Asimismo, este espectro grande de propiedades etnomedicinales y farmacológicas de la hesperidina en la salud humana nos ha permitido abordar este estudio, en el que se aisló e identificó la molécula por sus características fisicoquímicas y espectrométricas; con el cual se espera ampliar la fuente de materia prima para obtener hesperidina y contribuir con alternativas naturales de antioxidantes, antiinflamatorios, antimicrobiales, antifúngicas, antiviral, anticancerígeno, antiulceroso, desórdenes hormonales, etc. en la prevención o tratamiento de las enfermedades y mejorar la salud pública.

CAPÍTULO I: MARCO TEÓRICO

1.1. Antecedentes

En el 2019, se trabajaron con cáscaras secas de pomelo que fue adquirido en un mercado local de frutas en Teherán (Irán), las cáscaras fueron sometidos a extracción con etanol y posteriormente liofilizados, el total de flavonoides se determinó por espectroscopía de masas. El extracto fenólico que se obtuvo fue de 117,7 μg expresado en ácido gálico/mg y el flavonoidal 39,3 μg de quercetina/mg. Además, informan que los alevines de pescado blanco sometidos a una dieta con el extracto liofilizado mejoraron considerablemente sus parámetros hemato-bioquímicos. El autor concluye que el extracto liofilizado presenta actividad antibacteriana y antioxidante, además, informa que el complemento de la dieta de pescado blanco del Caspio con el extracto de cáscara de pomelo (GPE) a 25 mg/kg de alimento podría contribuir en el crecimiento significativo de este pez (22).

En el 2017, se extrajo aceite esencial por hidrodestilación de la cáscara de fruta de *Citrus sinensis* (L.) Osbeck y de *Citrus paradisi* (Macfadyen), las muestras fueron colectadas en Noshahr y Namak Abrood Irán. Además, se usó el *T. castaneum* (Herbst) gorgojo de castaño hembra en el estadio de 1 a 7 días de desarrollo para evaluar la toxicidad del aceite. Los resultados de las pruebas de toxicidad de los aceites esenciales extraídos de estos dos cítricos resultaron positivos. El autor concluye que la actividad de disuasión de la oviposición del aceite esencial aumenta significativamente con el aumento de la concentración (23).

En el 2016, se evaluó la actividad larvicida del aceite esencial de *Citrus sinensis* y *Citrus paradisi*. El aceite esencial de las dos especies se extrajo por hidrodestilación de las cáscaras frescas de los frutos, estas fueron recolectadas en el Mercado de frutas de Idi-araba y Mushin, Lagos, Nigeria. El resultado de la evaluación de la actividad larvicida en el rango de 40 a 400 ppm fue eficaz contra *Anopheles gambiae* en el tercer estadio tardío de las larvas de vector de la malaria. El autor concluye que los aceites esenciales de

desechos agrícolas (cáscaras descartadas) de *C. sinensis* y *C. paradisi* actúan como fuertes agentes larvicidas y bioplaguicidas potencialmente factible para su uso contra *A. gambiae* en el manejo integrado de los vectores de la malaria para reducir el alto nivel de mortalidad asociado con esta plaga letal en las regiones tropicales (24).

En el 2016, se evaluó el efecto antiinflamatorio del jugo de frutas frescas de *Citrus sinensis* L., *Citrus paradisi* L. y sus combinaciones. Las muestras fueron adquiridas en el mercado local. Para evaluar la actividad antiinflamatoria se indujo el ácido trinitrobenceno sulfónico (TNBS) para provocar colitis en ratas. El resultado de la evaluación fue positivo para las dos especies. Los autores concluyen que el efecto antiinflamatorio del jugo de frutas de ambas especies demostró su efectividad e indican que puede estar relacionado con los flavonoides que poseen estos cítricos (25).

En el 2015, se aisló hesperidina de las cáscaras de *Citrus sinensis*. La muestra fue obtenida del restaurante universitario Tahri Mohammed y de los desechos del consumo doméstico. La cáscara fue desengrasada con éter de petróleo por reflujo y extraído con metanol, cristalizado en ácido acético diluido y purificado con dimetilformamida y cloroformo. El análisis del producto aislado fue por espectroscopia ultravioleta visible, infrarrojo y resonancia magnética nuclear. El valor de la medida del punto de fusión fue 268 °C, los valores R_f en solución de butanol: ácido acético: agua fue 0,6 en acetato de etilo 0,71 y en metanol: cloroformo 0,72. El espectro UV en metanol mostró los valores de longitud de onda máxima a 290, 315 y 345 nm. El autor concluye que las cáscaras desechadas de naranja pueden utilizarse económicamente en la producción de hesperidina pura de gran utilidad para su uso en formulaciones farmacéuticas (12).

En el 2010, hesperidina fue aislada de la cáscara del fruto de *Citrus unshiu* en solución de alcohol al 70% por extracción asistida por microondas (MAE). La muestra fue recolectada en el huerto de Mikkabicho en la prefectura de Shizuoka, Japón. El análisis del producto aislado fue por cromatografía líquida con detector de matriz de diodos analítico (HPLC-PAD). Inicialmente

lograron aislar 58,8 mg/g de hesperidina, después de recristalizar obtuvieron 47,7 mg/g. La absorbancia en solución de metanol al 70% fue a 284 nm. El autor concluye que la condición óptima para obtener la hesperidina por MAE es a una temperatura de calentamiento de 140 °C; tiempo de extracción de 8 min y el almacenamiento estático en una cámara frigorífica regulada a 5 °C duró 24h (21).

En el 2008, se aisló hesperidina de las cáscaras de *Citrus reticulata*. La muestra fue recolectada en Quzhou, provincia de Zhejiang, China, para aislar la hesperidina se usó metanol y un equipo ultrasónico. El análisis del producto aislado fue en un cromatógrafo líquido de alta resolución (HPLC), pero también en un espectrómetro UV/visible. El análisis en el espectrómetro mostró una absorbancia máxima en 283 nm en solución de MeOH y acetato de sodio. Los parámetros de extracción óptima fueron: frecuencia 60 kHz, tiempo 60 min y temperatura 40 °C. El autor concluye que el poder de absorción práctico de los materiales vegetales y un efecto de potencia débil implica considerar la zona activa y la distribución razonable de la potencia ultrasónica, lo que podría ser potencialmente beneficioso para la producción industrial de hesperidina (26).

1.2. Bases teóricas

1.2.1. Especie vegetal de estudio

a) Taxonomía

De acuerdo con el esquema de clasificación taxonómica de las plantas con flores establecida por Cronquist, esta especie tiene la siguiente clasificación (27):

Reino	: Plantae
Sub reino	: Trachobionta
División	: Magnoliophyta
Clase	: Magnoliopsida

Sub clase	: Rosidae
Familia	: Rutaceae
Género	: Citrus
Especie	: <i>Citrus paradisi</i> Macfadyen
Nombre Vulgar	: pomelo, toranja.

b) Descripción botánica

El pomelo es un árbol de tamaño mediano a grande con hojas compuestas de una lámina ovada elíptica glabra unida a un pecíolo de alas leves a anchas. Las espinas axilares cortas están presentes cuando la planta es muy joven, pero las ramas maduras de los árboles pueden no tener espinas o poseer espinas muy fuertes. La fruta de pomelo varía considerablemente de una selección a otra. La fruta puede ser achatada, globosa o piriforme y a veces, cuelga en racimos distintos. El diámetro de la fruta es generalmente de 9 a 12 cm y la cáscara puede ser gruesa o delgada. La pulpa está compuesta de vesículas de jugo medianas a grandes que pueden variar de amarillo pálido a rosado, en la mayoría de las frutas están presentes las semillas y algunas selecciones producen semillas monoembrionarias (28).

c) Distribución ecológica

Como fruto cítrico, es oriundo de Asia. Se cultiva principalmente en zonas tropicales y subtropicales (29). Los países con mayor producción a nivel mundial son Estados Unidos, Sudáfrica, China, Israel y México (30).

d) Usos e información etnobotánica

En la medicina tradicional el zumo de *C. paradisi* se usa para combatir resfriados y contra la caspa. Las semillas machacadas y extraídas con agua tibia como expectorante. (31)

1.2.2. flavonoides

Los flavonoides son compuestos fenólicos que tienen como estructura precursora el flavano (2-fenilcromano o 2-fenilbenzopirano). Los tipos de flavonoides son: flavonas, flavonoles, flavanonas. Este último se caracteriza por tener el grupo γ -pirano con un grupo ceto en posición 4 (11,32).

Biogénesis de las flavononas

El grupo de origen metabólico mixto de los flavonoides se ha explicado por marcaje isotópico, esta técnica ha expuesto que los 6 carbonos del anillo B de la flavona o 2-fenil benzopirona y 3 del anillo C de naturaleza pirano proceden del ácido Shikimico o del ácido cinámico, pero también por sus hidroxiderivados, el ácido cumárico (33,34).

Los 6 átomos de carbono del anillo A provienen de la vía de las acetogeninas o poli β -cetoácidos, actualmente se habla con certeza que la construcción del esqueleto flavonoidal inicia como una cadena policétida, donde el ácido p-cumárico actúa como unidad iniciadora, posteriormente es extendido con 3 fragmentos de mevalonato (33,34).

El plegamiento por aldolización intermolecular lleva a un tipo de acil trifenoles que por acción de la chalcona isomerasa (CHI) se transforma en flavonona o dihidroflavonona. La hesperidina, como todas las flavononas se forman a través de dos vías, la del Shikimato y la del aceto como se muestra en la figura 1 (33,34).

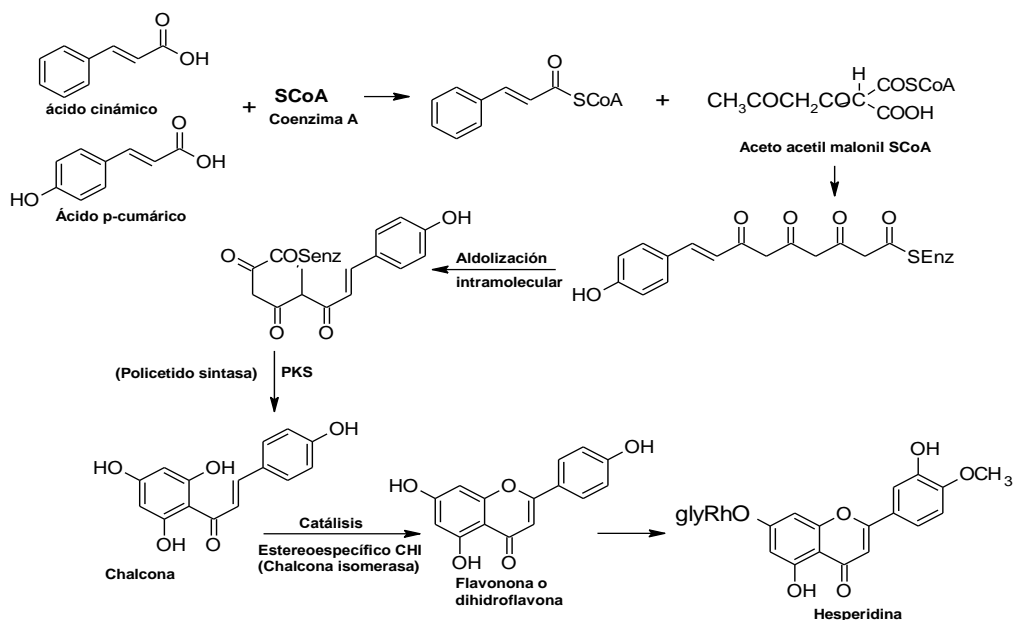


Figura 1. Biogénesis de la hesperidina (33). Elaborado en el programa ACD/ChemSketch

1.2.3. Hesperidina

Es uno de los bioflavonoides que se encuentra en cantidades apreciables en las hojas y frutos del género Citrus (10,12). Es una sustancia inodora, su identificación es únicamente a través de una búsqueda cromatográfica cuando se revela con reactivos cromógenos o cuando en cromatografía de papel se usa luz ultra violeta ayudado con vapor de amoníaco (35). Da un intenso color rojo cuando se prueba con reactivo de shinoda (Mg/HCl) y tiene un intenso sabor amargo (15).

La hesperidina es una flavanona que se caracteriza por haber perdido el doble enlace α, β en el anillo C de la cetopirona, es un rhamonoglucósido de la hesperitina, el sustituyente en la posición 7 en la molécula de hesperitina unido a este es un O-rhamnoglucósido (35).

Usos

La hesperidina se usa para el tratamiento de la insuficiencia renal crónica, dermatitis varicosa, úlceras varicosas, linfodema, hemorroides, varicoflebitis, trastornos retinianos vasculares, carcinogénesis. Se demostró que tiene

efectos antiinflamatorio, antimicrobiano, antihipertensivo y antiulceroso. Además, tiene propiedades antioxidantes, por lo que brinda efectos protectores sobre las funciones y la integridad del hígado, los riñones, el corazón y contra el deterioro de la memoria relacionado con la edad evitando demencia senil (7–10).

Propiedades fisicoquímicas.

Desde el punto de vista fisicoquímico hesperidina manifiesta las propiedades siguientes (10): peso molecular de 610,55 g/mol, punto de fusión es 258-262 °C, rotación específica $[\alpha]_D^{23} = -76^\circ$ en piridina, posee forma cristalina con agujas dendríticas, soluble en formamida, dimetilformamida a 60 °C, débilmente soluble en metanol, insoluble en cloroformo, benceno, acetona, ampliamente soluble en álcalis diluidas y piridina. El valor de Rf en cromatografía de papel bidimensional corrido en acetato de terbutilo es 0,51 y en ácido acético 0,78 (10,17).

Espectrometría UV- Visible de la hesperidina

La molécula de hesperidina absorbe radiación ultravioleta por los dienos conjugado del grupo fenólico A y B y el grupo pirona (C), además de los grupos Oxhidrilos que contiene. El espectro UV de todas las flavonas que tiene grupos oxidrilos en anillo A, muestran desplazamiento batocrómico de la banda II con NaOMe, el espectro UV en este reactivo de desplazamiento exhibe un desplazamiento batocrómico de la banda principal de absorción (banda II) de cerca de 35 nm para 5,7 dihidroflavononas, la Hesperidina tiene un grupo oxhidrilo en posición 5 (17), en metanol (MeOH) usado como reactivo de desplazamiento se observa dos bandas de absorción de longitud de onda máxima de 283, 326 nm (17). En NaOMe usado como reactivo de desplazamiento se observa tres longitudes de ondas máxima a 242, 286, 356 nm y en acetato de sodio se observan dos bandas a 284, 328 nm (17).

1.2.4. Métodos de extracción de la hesperidina

Tradicionalmente ha sido obtenido de la cáscara de los cítricos usando extracción alcalina, la cáscara es picada y lavada para remover el sólido soluble, luego es licuado con agua en solución de hidróxido de sodio a pH 11-11,5 (9,21).

La hesperidina y la naringina se separa simultáneamente de las cáscaras secas de *Citrus aurantium* o de *C. paradisi* Macfadyen desengrasando con éter de petróleo y luego macerando en etanol. La solución etanólica filtrada es tratada con acetato de plomo, el precipitado formado se filtra y el filtrado obtenido se hace reaccionar con ácido sulfhídrico para eliminar el plomo como sulfato de plomo se filtra, el filtrado se lleva a presión reducida hasta que se forma un líquido siruposo al que se le refrigera y se forma un precipitado que se recristaliza, la naringina en agua si lo hubiera forma placas amargas cuyo punto de fusión es 83 °C, mientras las hesperidina en agua forma cristales monoclinicos (forma de agujas) que tiene un punto de fusión de 258-262 °C, ambas sustancias son separadas por calentamiento a 84 °C en forma líquida naringina se elimina en base a la diferencia de temperatura (15,33).

La extracción se inicia desengrasando la cáscara del Citrus (naranja) con éter de petróleo para eliminar sustancias grasas. La cáscara es reducida a finas partículas para realizar la extracción alcalina con $\text{Ca}(\text{OH})_2$. Luego, se acidifica el extracto. A continuación, la hesperidina impura se purifica con formamida, en cuya sustancia es soluble. Después, se pasa por una columna rellena con celita (36). La reducción del volumen se realizó por medio de presión reducida. La hesperidina inmediatamente precipita con buen rendimiento y alta pureza (10,37).

Mediante otro procedimiento, la hesperidina se aísla del albedo de la cáscara de naranja cortándola en trozos pequeños. Se toma 10 g de la cáscara y se macera en 40 ml de una mezcla de metanol: agua (H_2O) (1:1). Luego, se agrega 5 ml hidróxido de sodio (NaOH) al 10% durante 24 horas para su maceración. Se filtra, se concentra hasta el 50% de su volumen y se deja precipitar. Después, el precipitado es filtrado y lavado con agua destilada hasta obtener una reacción neutra. Se deja secar y con el producto se realiza

la cromatografía de capa delgada sobre placas de sílica gel GF254. Posteriormente, se usa como solvente una mezcla de butanol: ácido acético: agua (4:1:5). Finalmente, la hesperidina se identifica por determinación de sus características fisicoquímicas y espectrométricas (10,13).

1.2.5. Determinación de los parámetros fisicoquímicos

A. Punto de fusión

El punto de fusión mide el intervalo de temperatura en el cual la molécula cristalina de una sustancia, por efecto del incremento de temperatura, pasa de su estado sólido a su estado líquido. Es una temperatura de transición entre el sólido y el líquido.

Es un método que se utiliza para probar la identidad de una sustancia conocida. Así mismo, para el reconocimiento de otra desconocida, en el caso de que los dos sólidos, uno conocido y otro desconocido, se mezclen, y si los puntos de fusión son idénticos, se trata de una misma sustancia (14).

En un inicio se usaba el aparato de Thiele. Luego, con el de Maquenne, un método un poco más limitado. Después se usaron equipos de mayor precisión tales como el aparato Fisher-Johns, el aparato Nalge-Axe/Rod con microscopio incorporado, actualmente el aparato más moderno es el FISATOM431D con microscopio (4x) y lectura automática. El punto de fusión de la hesperidina es 258-262 °C (14).

B. Rotación específica

Se mide a sustancias ópticamente activas como hesperidina, una molécula que gira al plano de la luz polarizada hacia la izquierda en forma levógira. el aparato en el que se mide la rotación óptica se llama polarímetro y determina el sentido de rotación de la sustancia ópticamente activa que experimenta un cambio del ángulo de la luz linealmente polarizada

El polarímetro tiene una luz con longitud de onda estándar que corresponde a la línea verde del mercurio cuyo valor es de 546,1 nm. La temperatura

estándar de medición es a 20 °C. el valor de la rotación óptica en el polarímetro se calcula mediante la fórmula siguiente (14):

$$[\alpha]_{\lambda}^T = \frac{\alpha}{bC}$$

a = Rotación observada en grados

b = espesor de la capa en centímetros

C = concentración del sólido en $\frac{g}{100} ml$

Para medir este ángulo se disuelve 300mg de la muestra en 15 ml de piridina, si la sustancia analizada es hesperidina el poder rotatorio es $[\alpha]_D^{20} = -76^{\circ}$ (10).

C. Solubilidad

La solubilidad es la capacidad de un soluto de disolverse en un solvente y formar una solución homogénea. La hesperidina es soluble en dimetilformamida calentado a 60 °C y formamida. Es débilmente soluble en ácido acético caliente, metanol y agua. Es insoluble en acetona, benceno, cloroforma. Altamente soluble en álcalis (sales de sodio) (10,15).

D. Valor (Rf)

Mide la relación entre la distancia recorrida por el soluto y por el diluyente desde el origen de la placa o desde el origen del papel. Para determinar se realiza en cromatografía bidimensional de papel Whatmann #3. Primero se corre en acetato de terbutilo cuyo valor es de 0,51 y en el mismo papel haciendo girar 90° y usando como reactivo ácido acético, se obtiene un valor de 0,78 (17,38). Estos valores se calculan con la siguiente formula:

$$Rf = \frac{\text{Distancia del soluto}}{\text{Distancia del solvente}}$$

E. Peso molecular por el método de RAST

Se aplica este método cuando no se dispone de aparatos de espectrometría de resonancia magnética nuclear y de espectrometría de masa que mide el pico padre de una sustancia que es igual a peso molecular de la misma.

El procedimiento para determinar el peso molecular de una sustancia está descrito por (14,39,40), está basado en la depresión del punto de fusión del D-camphor. Consiste en mezclar el D-camphor puro con la muestra y luego se funde la mezcla en un tubo, se enfría y luego se pulveriza. Estos se introducen en el equipo FISATOM 431D cuya pantalla visor muestra con exactitud el punto de fusión de la mezcla (14).

Luego se halla la diferencia de temperatura ΔT , restando el punto de fusión del D-camphor puro con el punto de fusión de la mezcla del D-camphor con la muestra. Siendo ya conocido como datos experimentales el peso de la muestra del compuesto de estudio y la constante molar del descenso del punto de fusión del D-camphor $k=39,7$ (14). El peso molecular del compuesto se halla con la expresión siguiente: (14)

$$M = \frac{K \cdot w \cdot 100}{\Delta T \cdot W}$$

K: Constante molar del descenso del punto de fusión del D-Camphor

w: Peso del compuesto desconocido

W: Peso del D-Camphor

Según IUPAC, peso molecular de hesperidina es 610,1898 g/mol.

1.2.6. Caracterización por espectrometría UV/visible

La molécula de hesperidina absorbe radiación ultravioleta por los dienos conjugado de los grupos fenólicos A y B, y el grupo pirona (C), de la estructura de la flavanona y también de los grupos oxidrilos presentes en las posiciones 5, 7 y 4'. El espectro UV en un reactivo de desplazamiento exhibe un desplazamiento batocrómico de la banda principal de absorción (banda II) de cerca de 35 nm para 5,7 dihidroflavononas.

La Hesperidina es una flavanona glucosídica que posee dienos conjugados en el heterociclo benzopirona y en el anillo bencénico sustituido en posiciones 3 con un grupo OH y en 5 con un grupo metoxilo, como tal el espectro UV de todas las flavononas y dihidroflavonoles con hidroxilación del anillo A muestra

un desplazamiento batocrómico de la banda II con metanoato de sodio. La Hesperidina tiene un grupo oxhidrilo en posición 5.

Mediciones realizadas utilizando reactivos de desplazamiento dan los siguientes resultados: en etanol, se observan dos bandas de absorción cuyas longitudes de onda máxima se pueden distinguir a 286 y 330 nm (10,37). En metanol (MeOH) se observan dos bandas de absorción de longitudes de onda máxima a 283 y 326 nm. En metanoato de sodio (NaOMe) se observan tres bandas de absorción de longitudes de onda máxima a 242, 286 y 356 nm. En acetato de sodio se observan dos bandas, a 284 y 328 nm. En tricloruro de aluminio y metanol (MeOH) se observan dos bandas de absorción de longitud de onda máxima a 308 y 383 nm (17). De este modo, es posible identificar la hesperidina usando cualquiera de los citados reactivos de desplazamiento.

1.3. Definición de términos básicos

Albedo. Es la parte intermedia blanca del fruto conocido como mesocarpio que está protegida por exocarpo o flavedo, en el pomelo el albedo es una capa gruesa, esponjosa y succulenta que rodea los gajos su función es proteger al endocarpo, es la parte del fruto donde se halla la hesperidina (41).

Flavonoides. Los flavonoides son compuestos polifenólicos que se caracterizan por tener estructura venzo- γ -pirano. Asimismo, estos compuestos se encuentran repartidos en el reino vegetal en forma de glucósidos, en plantas vasculares. (11)

Flavanonas son compuestos que se encuentran en pequeñas cantidades comparado con otros flavonoides, razón por la cual son desestimados. Sin embargo, como glicósidos son más conocidos tales como: narangina y hesperidina, que se encuentran en la cáscara de los frutos de cítricos (11).

Hesperidina. Es un flavonoide que se encuentra en cantidades apreciables en las hojas y frutos del género Citrus. Tiene sabor amargo y de amplia

actividad como antioxidante, antiinflamatorio y anticancerígeno. Así mismo, tiene acción cardiovascular (10,12).

Características fisicoquímicas. Son aquellos que caracterizan a la molécula de hesperidina y solo son propias de esta, tales como punto de fusión, rotación específica, valores de Rf, solubilidad y peso molecular (10,14,17).

Características espectrométricas. Son aquellas mediciones relacionadas a la emisión de fotones utilizando la luz solar de la región visible del espectro y en el ultravioleta cercano (UV). (10,14,17).

CAPÍTULO II: HIPÓTESIS Y VARIABLES

2.1. Formulación de hipótesis

El albedo de *Citrus paradisi* Macfadyen contiene hesperidina que puede ser identificada por sus características fisicoquímicas y por espectrometría.

2.2. Variables de estudio y su operacionalización

2.2.1 Variables de estudio

Aislamiento de hesperidina. Operaciones que involucran varios pasos para aislar y purificar la hesperidina a partir del mesocarpio de los frutos de *C. paradisi* Macfadyen en el laboratorio.

Identificación de la hesperidina. Se identificó mediante la medición de sus características fisicoquímicas que son únicas de la molécula, tales como punto de fusión, rotación específica, valores de R_f, solubilidad y peso molecular y las longitudes máximas del pico o picos absorción en un espectrómetro UV/Visible.

2.2.2. Operacionalización de las variables

VARIABLES DE ESTUDIO	Definición operacional	Tipo por su naturaleza	Indicadores	Escala de medición	categoría	Valores de las categorías	Medios de verificación
Aislamiento de la hesperidina	La hesperidina fue aislada del albedo de <i>C. paradisi</i> Macfadyen en medio de una solución alcalina de Ca(OH) ₂ alcohólico-acuoso. El producto puro fue sometido a análisis fisicoquímicos y espectroscópicas.	Cuantitativa	Peso (g)	Razón	Ninguna	Ninguna	Cristales de hesoperidina
Identificación de la hesperidina	Se comprobó la identidad de la molécula por medición de sus características fisicoquímicas sobresalientes y por espectrometría en la región del ultravioleta visible.	Cuantitativa	Temperatura (°C)	Razón	Ninguna	Ninguna	Registro, temperatura de fusión en el equipo FISATOM31D
			Ángulo de giro (grados)	Razón	Ninguna	Ninguna	Registro de rotación óptica en el polarímetro (solvente piridina).
			Valor Rf (%)	Razón	Ninguna	Ninguna	Cálculo de valores de Rf (anexo 5)
		Peso molecular (g/mol)	Razón	Ninguna	Ninguna	Cálculo peso molecular (anexo 6)	
		Cuantitativa	Nanómetro (nm)	Razón	Ninguna	Ninguna	Espectro de hesperidina (anexo 2)

CAPÍTULO III: METODOLOGÍA

3.1. Tipo y diseño

El tipo de investigación cuantitativo por que se mide las características fisicoquímicas características: punto de fusión, índice de refracción, solubilidad y peso molecular y por ser una molécula con dienos conjugados y grupos auxocromicos, se determina por espectrometría UV/visible las longitudes de onda máxima de las absorbancias moleculares con aparatos de alta presión y confiabilidad. Se define desde el punto de vista de su sistematización como un proceso algorítmico, porque sigue un conjunto de caminos críticos hasta llega al resultado final (42).

El diseño de investigación fue descriptivo porque incidió en el establecimiento de comparaciones entre el valor obtenido mediante las mediciones experimentales y su grado de precisión y exactitud con los resultados de estas moléculas obtenidas de otras especies que obran en la literatura científica. Asimismo, los datos fueron recabados a la medida que se procesaba la materia prima (albedo) en el laboratorio, este procedimiento no se puede aleatorizar porque la hesperidina está presente en todo el órgano vegetal estudiado (albedo).

3.2. Diseño muestral

En este trabajo los grupos de estudio no se toman siguiendo criterios aleatorios porque el albedo que es la materia prima del que se aísla la hesperidina “*per se*” e invariablemente en todas ellas está presente la hesperidina por la cual no se requiere tener grupo de control (42).

Población de estudio

Está constituido por los frutos de todos los árboles de *C. paradisi* Macfadyen que se encuentran en un sembrío agrícola del caserío de Padre Cocha, Región Loreto.

Tamaño de la Muestra.

La elección de la muestra fue por conveniencia, se seleccionó tres arboles con frutos maduros de las cuales se recolectó 10 kg del fruto de *C. paradisi* Macfadyen de las cuales solo se usó 200 g de albedo seco.

Criterio de selección

Criterio de inclusión. Árboles robustos de aproximadamente 2 metros de alto con tallos gruesos y frutos maduros voluminosos, etc.

Criterio de exclusión. Árboles deteriorados, frutos infectados por hongos, etc.

3.3. Procedimiento de recolección de datos

El procedimiento que se siguió para la recolección de datos empieza desde el tratamiento de la materia prima, el aislamiento y purificación de la hesperidina y finalmente su caracterización. Los pasos se muestran en el diagrama siguiente (figura 3).

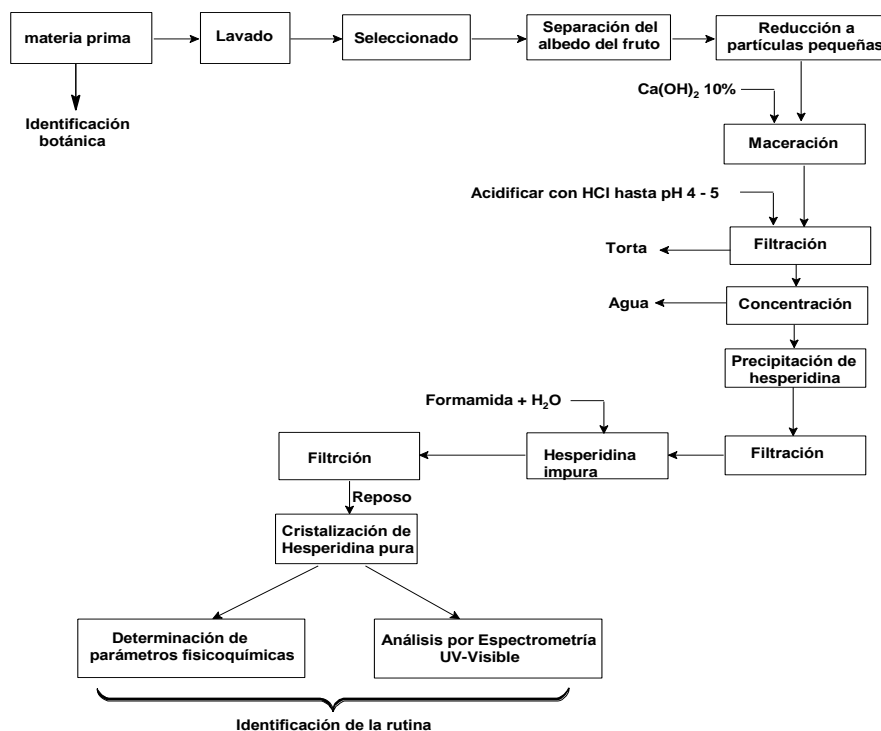


Figura 2. Diagrama de flujo en la obtención de hesperidina

A. Recolección de la muestra

La muestra fue recolectada en el caserío de Padre Cocha, distrito de Punchana, provincia de Maynas, región Loreto. Cuyos datos georreferenciales son las siguientes 3° 45' 30" S; 73° 16' 05" O; altitud 120 msnm.

Se documentó el estudio con tomas fotográficas, las frutas colectadas se colocaron en bolsas plásticas y se transportó al laboratorio de Fitoquímica y Productos Naturales de la Facultad de Ingeniería Química de la UNAP.

A.2. Certificación de la especie vegetal

Para la identificación se cortó una rama de la planta con hojas, flores y frutos del huerto de *C. paradis* Macfadyen del caserío de Padre Cocha, la identificación fue realizada en el Herbarium Amazonense CIRNA-UNAP por el especialista, e emitió el certificado correspondiente (ver anexo 1).

A.3. Preparación de la muestra y limpieza

Los frutos se lavaron con agua limpia para eliminar la suciedad adherida al exocarpo y se secaron con una franela.

A.4. Separación del albedo.

El exocarpo (flavedo) se separó del mesocarpo (albedo) con un cuchillo fino y afilado y luego del albedo se quitó el endocarpo donde se halla los sacos que retienen el zumo en vejigas y la semilla entre tabiques radiales. Después, se redujo a trozos pequeños, se secó y se obtuvo 1,5 kg de muestra seca. Se pasaron por el molino y se redujo a polvo, para luego tamizarse en tamiz 60 ASTM hasta obtener partículas de tamaño uniforme. Para el procesamiento sólo se usó 200 g.

A.5. Maceración

Los 200 g de muestra se puso en un matraz Erlenmeyer de dos litros de capacidad y se agregó 800 ml de solución de hidróxido de calcio al 10%. Se dejó macerar 24 horas a temperatura del laboratorio.

A.6. Filtración

El macerado se llevó a filtración con embudo Buchner sobre lo que se puso una capa de celita (tierra de diatoma remojado). Se recoge un filtrado color amarillo naranja, se acidificó con ácido clorhídrico concentrado hasta alcanzar un pH 4.

A.7. Obtención de la hesperidina

Después de la acidificación, el filtrado se concentró por evaporación hasta 1/3 de su volumen, se dejó en reposo por 24 horas donde se observó un precipitado de color amarillo (hesperidina impura) en el fondo de la cubeta de cristalización, se filtró para separar de la fase acuosa, se lavó varias veces con agua en el embudo buchner al vacío accionado por una bomba, sobre el filtro del embudo quedó retenido un polvo amorfo.

A.8. Cristalización

El polvo amorfo se cristalizó con formamida (7 ml/g) calentándolo a 60° C por 30 minutos. Se añadió agua y se dejó en reposo. Finalmente, aparecieron unos cristales de color amarillo. Se pesó en una balanza analítica obteniéndose 2,562 g con los cuales se encontró el rendimiento y se determinaron las características fisicoquímicas y espectrométricas.

3.4. Procesamiento y análisis de datos

Rendimiento

El rendimiento de hesperidina de *C. paradisi* Macfadyen se determinó aplicando la proporcionalidad entre el peso obtenido de la hesperidina y la materia prima utilizada para el proceso cuyo rendimiento fue de 1,281% en base seca.

Características fisicoquímicas

Punto de fusión

Se determinó en el equipo FISATOM 431 D de la facultad de Ingeniería Química. Se puso en un tubo capilar unos cristales de la muestra, se ubicó horizontalmente en el área de calefacción y se observó en la pantalla el valor de 262 °C en el momento en el que los cristales (sólidos) pasaban al estado líquido.

Rotación específica

Para determinar la rotación específica se usó un polarímetro. Se disolvió 0,3 g de la muestra en 15 ml de piridina y se llenó el tubo del polarímetro. El prisma analizador barre la muestra. El detector fotoeléctrico indica el valor de rotación específica de la muestra, el cual fue de $[\alpha]_D^{20} = -76^\circ$. Este valor nos indica que la sustancia tiene una estructura levógira.

Valor Rf en cromatografía de papel bidimensional

Se corrió en papel Whatmann N° 3 MM de dimensiones 50 x 50 cm se aplicó la muestra disuelta en piridina en un trazado largo en la línea de origen. La cromatografía de papel fue descendente. Se colocó el papel en una cuba cromatográfica donde se halla el solvente a 8 cm del borde superior del papel. Primero, se usó como solvente TBA, que es una solución de butanol terciario:

ácido acético: agua (3:1:1), en forma vertical descendente. Posteriormente, se usó como solvente HOAC, que es una solución de ácido acético glacial y agua (15:85). En ambos casos los solventes corrieron 40 cm desde el origen. El soluto con el primer solvente se desplazó 20,40 cm, mientras que con el segundo solvente el soluto se desplazó 31,20 cm luego de haber movido la posición del papel a 90°. Con estos valores se calculó el Rf que dio un valor de 0,51 y 0,78 respectivamente, estas pruebas se realizaron por duplicado.

Solubilidad

Se trabajo con 5 mg de hesperidina por cada experimento y 5 ml de cada solvente, piridina, formamida y dimetilformamida, en los tres tipos de solventes se solubilizó la muestra hasta formar una solución homogénea.

Peso molecular por el método de RAST

Par determinar el peso molecular se procedió de acuerdo al procedimiento indicado por (14,39,40), se mezcló de D-camphor puro con la muestra de estudio, luego se fundió, se enfrió y se pulverizó, se cogió una pequeña muestra de este y se determinó directamente el punto de fusión en el aparato FISATOM 431D que tiene una pantalla visora donde se lee automáticamente la temperatura de la mezcla del compuesto de estudio y D-camphor. Cuando se observó un líquido completamente limpio y transparente, el visor de la pantalla mostro el valor de 173,248 °C que es el punto de fusión de la mezcla. Con esta temperatura y la temperatura del punto de fusión del D-camphor puro se halló la diferencia de temperatura, realizando una simple resta se obtuvo el valor de $\Delta T=6,502$. Con estos datos se determinó el peso molecular de rutina dio un valor de 610,7692 g/mol (ver anexo 6).

Características espectrométricas

Medición de longitudes de onda máxima

Se realizó en un equipo 2800 Spectrophometer. Se disolvió 5 mg de hesperidina en metanol, y se llenó la cubeta de cuarzo y se introdujo en el área de muestra del equipo. En otra cubeta se colocó solo metanol. Cuando se activa el área de detención, los tubos fotomultiplicadores comienzan a necesitar un voltaje proporcional a la energía incidente de los detectores. Se despeja y se van identificando los picos que son bandas de absorción cuyas longitudes de onda máxima se refiere. Los resultados fueron los siguientes: $\lambda_{\text{máx}}$ 283 y 326 nm. Después, se preparó una solución de acetato de sodio más metanol (ver anexo 2) y se procedió del mismo modo al anterior. Se dio lectura a las longitudes de onda y fueron los siguientes: $\lambda_{\text{máx}}$ 284 y 328 nm (17).

3.5. Aspectos éticos

La especie *C. paradisi* Macfadyen, no fue amenazada en su dinámica de crecimiento y propagación, porque la muestra se extrajo del fruto maduro en época de cosecha, el fruto es el órgano de la planta que se genera continuamente durante la vida del árbol en el periodo de fructificación. No se corta en ningún momento de su vida útil.

CAPÍTULO IV: RESULTADOS

4.1. Características Fisicoquímicas

Los valores de los parámetros fisicoquímicos encontrados de hesperidina aislada y de la muestra auténtica, se muestran en la tabla 1.

Tabla 1. Propiedades fisicoquímicas de la hesperidina aislada de *C. paradisi* y de muestra auténtica.

Propiedades fisicoquímicas	Valores	
	Hesperidina aislada	Hesperidina auténtica (estándar)
Cristales amorfos	Polvo color amarillo	
Cristales puros	Agujas dendríticas amarillo pálido	Agujas dendríticas amarillo pálido (10)
Punto de fusión	262 °C.	258 – 262 °C (10).
Rotación óptica: en piridina	$[\alpha]_D^{23} = -76^\circ$	$[\alpha]_D^{23} = -76^\circ$ (10)
Solubilidad	Piridina, formamida y dimetilformamida	Piridina, soluciones alcalinas, formamida y dimetilformamida (10,13).
Valores Rf en TBA	0,51	0,51 (17).
Valor Rf en HOAC	0,78	0,78 (17).
Peso molecular (g/mol)	610,581 ± 0,90055	610,55 (10).

Ver anexos: 5 y 6

4.2. Rendimiento de la hesperidina

Se trabajó con 200 g de muestra seca de albedo de *C. paradisi*, se obtuvo 2,562 g de hesperidina, se obtuvo un rendimiento de 1,281% (ver anexo 4).

4.3. características espectrométricas

En la siguiente tabla se muestran los valores de longitud de onda de absorción máxima de la hesperidina aislada y muestra auténtica en diferentes solventes.

Espectro en UV/visible	Muestra aislada ($\lambda_{m\acute{a}x}$)	Muestra auténtica (estándar) ($\lambda_{m\acute{a}x}$)
Espectro: En metanol	283 y 327 nm.	283 y 326 nm (17)
Espectro: En metanol y acetato de sodio	284 y 328 nm.	284 y 328 nm (17)

El barrido de la muestra en el equipo UV/visible utilizando como solvente de resolución Metanol dio las longitudes de onda siguiente: $\lambda_{m\acute{a}x}$: 283, 327 nm, _{MeOH} pero en metanol: acetato de sodio las bandas de absorción se desplazaron 1 nm a la derecha, efecto batocrómico (desplazamiento a la derecha).

CAPÍTULO V: DISCUSIÓN

La hesperidina está presente en todos los cítricos y su extracción se hace usando varios métodos. Para extraer la hesperidina de *C. paradisi* se usó el método convencional (38,43), pero se incrementó el tiempo de maceración con agitación intermitente. También, hesperidina fue aislada de otras especies de citrus, se usó éter de petróleo, acetato de plomo para separar las pectinas y ácido sulfhídrico (15), asimismo, se usó metanol e hidróxido de sodio al 10% (37). Además, se usaron métodos más sofisticados, tales como: extracción asistida por ultrasonido (26,44), por microondas (21,43–45), con etanol/agua y purificado con resina absorbente a presión atmosférico (20), con resinas para la absorción y desorción tales como: resina de estireno-divinilbenceno (SDVB) con eluyente alcalino (36), con resina polimérico macrorreticular no funcionalizada (FPX66, Amberlite) agua como eluyente (20) y en Sephadex G-25 fino también agua como eluyente (46).

Si bien, son métodos con las que se puede extraer la hesperidina, pero algunos métodos usan reactivos como el plomo, que no es adecuado si el producto va ser usado para consumo humano. Por otra parte, en países subdesarrollados como el Perú, el uso de tecnologías más costosas es poco utilizable para fines de producción. Pero el método que se usó para extraer la hesperidina de *C. paradisi* es barato y los solventes usados como el etanol no es perjudicial para la salud humana.

El porcentaje de hesperidina encontrado en *C. paradisi* fue de 1,28%, mientras que en *Citrus latifolia* (limón persa) fue de 0,33 g/ml, pero evaporado a presión reducida aumentó a 0,97 g/ml (20); en cáscara de *Citrus sinensis* (naranja roja) entre 1,35 a 1,86% (36). En cáscaras de *C. reticulata* (mandarina) 1,75%, en *C. clementina* (clementina) y *C. sinensis* (naranja dulce) 2,4% (12); en *Citrus unshiu* 58,6 mg/g (21) y en *Citrus reticulata* $92,94 \pm 1,23$ mg/g (47). El rendimiento en *C. paradisi* es menor al de la mandarina, clementina y naranja dulce, pero con las otras especies de *Citrus* tiene un valor promedio. Además, el rendimiento de hesperidina se ve afectado por la metodología usada para su aislamiento. Sin embargo, *C. Paradisi* por tener mayor biomasa que las

otras especies sería una fuente importante para extraer hesperidina con fines medicinales.

El punto de fusión, es otra propiedad que le caracteriza a los sólidos. El punto de fusión de la hesperidina aislada de *C. paradisi* fue a 262 °C grados de temperatura, mientras que Lahmer reporta 268 °C para cristales de color naranja de hesperidina aislada de *C. sinensis*, este mismo autor señala que los cristales de hesperidina purificada de color blanco fue entre 240-253 °C (12), entre tanto, Cabello reporta para esta misma especie *C. sinensis* valores entre 261 – 263 °C (37) y los cristales amorfos de color amarillo de hesperidina aislados de *C. sinensis* mostro valores entre 250 – 252 °C (9). El punto de fusión reportado por Cabello para hesperidina es concordante con el valor que se reporta en nuestro estudio, sin embargo, los valores reportados por los otros autores son diferentes, esta diferencia puede deberse a las impurezas presentes en las muestras de análisis.

De otro lado, la prueba de solubilidad de hesperidina fue positivo en piridina, formamida y dimetilformamida, pero Cabello reporta que la hesperidina es soluble en solventes como el etanol, ácido acético y álcalis diluidos (37). El conocimiento de la solubilidad de un compuesto permite el uso adecuado de un solvente para el aislamiento de un compuesto y los procedimientos a tener en consideración, especialmente cuando se trata de aislar un componente de fuente de plantas.

La cromatografía de capa fina (TLC) sirve para examinar como marcador la calidad de los productos naturales (18). La hesperidina aislada de *C. paradisi* se identificó en cromatografía de papel bidimensional, los valores R_f que mostró en TBA fue 0,51 y en HOAC 0,78; mientras que Lahmer encontró el valor de 0,6 en butanol: ácido acético: agua (12) y en acetato de etilo: ácido fórmico: agua el valor fue de 0,68 y en HOAC 0,78 (19). Los valores R_f para hesperidina varía de acuerdo al tipo de solvente usado para la detección, cuando se usa el mismo tipo de solvente, los valores de R_f son iguales, esto demuestra que la molécula analizada es la misma.

Los espectros de absorción en UV/Vis de la hesperidina extraída de *C. paradisi* en metanol fue a 283, 327 nm, pero en metanol y acetato de sodio a 284, 328 nm. Asimismo, la hesperidina aislada de *C. sinensis* en metanol fue a 290, 315 y 345 nm (12), 284, 328 nm (9), 220 sh, 285 nm (48), pero en etanol fue a 286, 330 nm (37). De otro lado, los espectros de absorción con el uso de diferentes solventes varían, en metanoato de sodio (NaOMe) a 243, 286, 356 nm, en (AlCl₃) a 307, 386 nm, en (AlCl₃/HCl) a 304, 378 nm, en (NaOAc) a 284, 328 nm y en (NaOAc/H₃BO₃) a 284, 328 nm (9). Los espectros de absorción máxima de hesperidina encontrados por otros autores con el uso de metanol son similares al de nuestro trabajo, pero si se usa diferentes solventes varía estos espectros de absorción. Además, estas bandas se desplazan a la derecha (batocrrómico) o la izquierda (hipsocrómico) con mezcla de solventes mejorando la resolución de las bandas de absorción de un componente.

Por otro lado, el análisis por cromatografía líquida de alta resolución, en el cromatograma la hesperidina mostró un pico a 8 minutos (36). Asimismo, una muestra estándar de hesperidina mostro un pico a 9,1 minutos (26) y a 13,4 minutos (47), pero en cromatografía líquida de fase inversa (RPLC) mostro un pico a 36,6 minutos (48). Estos métodos son más precisos, que los métodos simples usados para identificar una molécula en particular.

Por otra parte, el peso molecular de rutina aislada de *C. paradisi* encontrado por el método de RAST fue similar al valor reportado por la literatura (16), con un error de 0,005%. Además, Cabello reportó para hesperidina un valor de 610,39 g/mol (37). Pero, con el uso de análisis más sofisticados a través de IR y HNMR y ¹³CNMR, Lahmer determinó con mayor precisión la estructura molecular y el peso molecular de la hesperidina (12). El método de determinación de ambos estudios difiere enormemente, a pesar de ello, el grado de exactitud que se logró fue de 99,55%. Por otro lado, los análisis más sofisticados tendrán mayor ventaja sobre los métodos indirectos, en cuanto a la exactitud de los resultados que se obtendrán.

CAPÍTULO VI: CONCLUSIONES

Los albedos del *Citrus paradisi* Macfadyen “pomelo” contienen hesperidina con un rendimiento superior al 1%, los parámetros fisicoquímicos determinados como el punto de fusión, la rotación óptica en piridina, solubilidad (en piridina, formamida y dimetilformamida), el peso molecular y su cromatografía; así como sus características espectrofotométricas expresadas en longitud de onda se encuentran dentro de los rangos establecidos por el estándar de la referencia bibliográfica.

CAPÍTULO VII: RECOMENDACIONES

A la Facultad de Farmacia y Bioquímica (UNAP) desarrollar métodos alternativos confiables y económicos para la utilización de *Citrus paradisi* Macfadyen como fuente de hesperidina con el propósito de elaborar productos fitoterapéuticos.

Pero también realizar estudios de la hesperidina en otras líneas, cosmética, alimentos, etc. con fines de diversificar su uso de hasta molécula tan importante para la salud humana. Además, desarrollar un proyecto de producción educativa para diseñar y construir un prototipo de planta piloto para la obtención de hesperidina.

Como todos los cítricos contienen hesperidina con lo cual es posible utilizar una mezcla de los albedos de naranja, de pomelo, de limón dulce, de limón, de sidra, de limón rojizo, etc., para extraer esta sustancia y que permitiría cubrir la demanda insatisfecha de materia prima. A la facultad de Agronomía desarrollar un programa para la siembra intensiva tanto del *Citrus paradisi* Macfadyen como de otras variedades de cítricos. De esta forma, se podrá disponer de la materia prima necesaria para la obtención de hesperidina y así aportar un valor agregado.

CAPÍTULO VIII: REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Sánchez V, Méndez, N. Estrés oxidativo, antioxidantes y enfermedad. Rev Invest Med Sur Mex, [Internet]. 2013 [citado 2023 Jun 25];20(3):161-8. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/medsur/ms-2013/ms133e.pdf>.
2. Elejalde JI. Estrés oxidativo, enfermedades y tratamientos antioxidantes [Internet]. Vol. 18(6)326-35, Anales de Medicina Interna. 2001. Disponible en: https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0212-71992001000600010
3. Organización Mundial de la Salud. Información general sobre la hipertensión en el mundo. Oms [Internet]. 2013 [citado 2023 Jun 25]; Disponible en: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/87679/WHO_DCO_WHD_2013.2_spa.pdf?sequence=1&isAllowed=y
4. Armas de Hernández MJ, Armas MC, Hernández R. La hipertensión en Latinoamérica. Revista Latinoamericana de Hipertensión [Internet]. 2006 [citado 2023 Jun 17];1(1):10-7. Disponible en: <https://www.redalyc.org/comocitar.oa?id=170217078002>
5. Hidalgo MÁ. Estrés oxidativo y antioxidantes. Av en Investig Agropecu [Internet]. 2018;22(1):29–46. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=83757421004>
6. Circu ML, Aw TY. Reactive oxygen species, cellular redox systems, and apoptosis. Free Radic Biol Med [Internet]. 2010;48(6):749–62. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2009.12.022>
7. Ganeshpurkar A, Saluja A. The pharmacological potential of hesperidin. Indian J Biochem Biophys [Internet]. 2019 Aug [citado 2023 Sep 12];56(4):287–300. Disponible en: <https://nopr.niscpr.res.in/bitstream/123456789/49535/3/IJB%2056%284%29%20287-300.pdf>.
8. Ross SA, Ziska DS, Zhao K, ElSohly MA. Variance of common flavonoids by brand of grapefruit juice. Fitoterapia [Internet]. 2000 Apr 1 [citado 2023 Sep 12];71(2):154–61. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0367326X99001318?via%3Dihub>

9. Al-Ashaal HA, El-Sheltawy ST. Antioxidant capacity of hesperidin from Citrus peel using electron spin resonance and cytotoxic activity against human carcinoma cell lines. *Pharm Biol* [Internet]. 2011;49(3):276–82. Disponible en: <https://www.tandfonline.com/doi/epdf/10.3109/13880209.2010.509734?needAccess=true&role=button>.
10. Stecher PG. *The Merck Index*. Sixth prin. Merck, editor. New York: Merck y CO, Inc, Rahway N.Y USA; 1975.
11. Cartaya O, Reynaldo I. Reseña bibliográfica Flavonoides: Características químicas y aplicaciones. *Cultivos tropicales* [Internet]. 2001 [citado 2023 Sep 12];22(2):5–14. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/1932/193215009001.pdf>
12. Lahmer N, Belboukhari N, Cheriti A, Sekkoum K. Hesperidin and hesperitin preparation and purification from Citrus sinensis peels. *Der Pharma Chemica* [Internet]. 2015 [citado 2023 Sep 12];7(2):1–4. Disponible en: <https://www.derpharmachemica.com/pharma-chemica/hesperidin-and-hesperitin-preparation-and-purification-from-citrus-sinensis-peels.pdf>
13. Garg A, Garg S, Zaneveld LJD, Singla AK. Chemistry and pharmacology of the Citrus bioflavonoid hesperidin. *Phytotherapy Research* [Internet]. 2001 Oct 23 [citado 2023 Sep 12];15(8):655–69. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1002/ptr.1074>.
14. Shriner RL, Fuson RC, Curtin DY. *Systematic identification of organic compounds*. Quinta Edi. New York: Editorial Wiley N.Y; 1965.
15. Dominguez XA. *Métodos de investigación fitoquímica*. Primera Ed. Mexico: Limusa; 1979. 281 p.
16. Sigma-Aldrich C. *Catalog handbook of fine chemical*. 2020.
17. Mabry TJ, Markham KR, Thomas MB. *The systematic identification of flavonoids*. Primera ed. Spring-Verlag. New York: primg-Verlag; 1970. 320 p.
18. Chen Y, Li L, Xu R, Li F, Gu L, Liu H, et al. Characterization of natural herbal medicines by thin-layer chromatography combined with laser ablation-assisted direct analysis in real-time mass spectrometry. *J Chromatogr A* [Internet]. 2021;1654:462461. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2021.462461>

19. Husni E, Ismed F, Afriyandi D. Standardization study of simplicia and extract of calamondin (*Citrus microcarpa bunge*) peel, quantification of hesperidin and antibacterial assay. *Pharmacognosy Journal* [Internet]. 2020 May 6 [citado 2023 Mar 10];12(4):777–83. Disponible en: <https://pdfs.semanticscholar.org/bd18/f6fc4a9d6b347ffb9e3e819d081c9f3c02ad.pdf>.
20. Padilla JD, Ruiz P, Velázquez MN, Bravo S, Guatemala G, Lugo E, et al. Extracción y purificación de hesperidina a partir de la cáscara de limón persa (*Citrus latifolia*) y limón Mexicano (*Citrus aurantifolia*). In: XXXII Encuentro Nacional y II Congreso Internacional AMIDIQ [Internet]. Mexico; 2012. p. 3499–503. Disponible en: https://ciatej.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1023/213/1/7memoria_en_Extenso_Purificacion_Hesperidina.pdf
21. Inoue T, Tsubaki S, Ogawa K, Onishi K, Azuma J ichi. Isolation of hesperidin from peels of thinned Citrus unshiu fruits by microwave-assisted extraction. *Food Chem* [Internet]. 2010 Nov [citado 2023 Apr 10];123(2):542–7. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.04.051>
22. Samavat Z, Shamsaie Mehrgan M, Jamili S, Soltani M, Hosseini Shekarabi SP. Determination of grapefruit (*Citrus paradisi*) peel extract bio-active substances and its application in Caspian white fish (*Rutilus frisii kutum*) diet: Growth, haemato-biochemical parameters and intestinal morphology. *Aquac Res* [Internet]. 2019 Nov [citado 2023 Jul 9];50(9):2496–504. Disponible en: <https://doi.org/10.1111/are.14204>
23. Heidari F, Sarailoo MH, Ghasemi V, Nadimi A. Toxic and oviposition deterrence activities of essential oils from *Citrus sinensis* (L.) Osbeck and *Citrus paradisi* (Macfarlane) fruit peel against adults of *Tribolium castaneum* (Herbst). *J Crop Prot* [Internet]. 2017 Apr 8 [citado 2023 Mar 23];6(1):79–88. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.18869/modares.jcp.6.1.79>.
24. Okunowo WO, Afolabi LO, Oyedeji AO, Matanmi E, Awodele O. Larvicidal activity of essential oil from *Citrus sinensis* and *Citrus paradisi* against *Anopheles gambiae*. *Biokemistri* [Internet]. 2016 [citado 2023 Apr 30];28(281):16–23. Disponible en: <https://www.ajol.info/index.php/biokem/article/download/192795/181920/0>.

25. Khan R, Mallick N, Feroz Z. Anti-inflammatory effects of Citrus sinensis L., Citrus paradisi L. and their combinations. Pak J Pharm Sci [Internet]. 2016 May;29(3):843–52. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27166529/>
26. Ma Y, Ye X, Hao Y, Xu G, Xu G, Liu D. Ultrasound-assisted extraction of hesperidin from Penggan (Citrus reticulata) peel. Ultrason Sonochem [Internet]. 2008 Mar;15(3):227–32. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1350417707000636?via%3Dihub>
27. Cronquist AJ. The Evolution of and Classification of flowering Plant. Garden TNYBU, editor. New York; 1988.
28. Bowman KD, Gmitter Jr. FG. Caribbean forbidden fruit: grapefruit's missing Link with the Past and Bridge to the Future? Fruit Var J [Internet]. 1990 Jan;44(4):41–4. Disponible en: https://www.pubhort.org/aps/44/v44_n1_a9.htm.
29. Dominguez Gento A. Manual básico de citricultura ecológica [Internet]. 2010. p. 92. Disponible en: https://redivia.gva.es/bitstream/handle/20.500.11939/7670/2010_Domínguez-Gento_Manual.pdf?sequence=1&isAllowed=y
30. De la Rosa-Hernández M, Wong-Paz JE, Muñiz-Márquez DB, Carrillo-Inungaray ML, Sánchez-González JM. Compuestos fenólicos bioactivos de la toronja (Citrus paradisi) y su importancia en la industria farmacéutica y alimentaria. Rev Mex Ciencias Farm [Internet]. 2016;47(2):22–35. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=57956610003>
31. Soukup J. Vocabulario de los nombres vulgares de la Flora peruana y catálogo de géneros. Segunda Ed Catálogo de géneros [Internet]. 1987; Segunda Edición:446. Disponible en: https://www.samorini.it/doc1/alt_aut/sz/soukup-vocabulario-de-los-nombres-vulgares-de-la-flora-peruana.pdf.
32. Middleton EJ, Kandaswami C, Theoharides T. The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease, and cancer. Pharmacol Rev. 2000;52(4):673–751. Disponible en: <https://europepmc.org/article/med/11121513>

33. Alberto Marco J. Química de los productos naturales. S.A S, editor. Madrid - España; 2006. 288 p. Disponible en :https://www.casadellibro.com/libro-quimica-de-los-productos-naturales/9788497564038/1099767?awc=21491_1694809949_020be21fb39f75ad2d95a816c69e3a99&utm_source=awin&utm_campaign=922583&utm_medium=afiliados&utm_content=TakeAds%20GmbH%20-%20Incentive
34. Díaz Arévalo KJ, Rodríguez Córdova SA, Jara Herrera C (asesor). Aislamiento del kaempferol de *Uncaria guianensis* (Aubl) Gmel por arrastre de vapor. Universidad Nacional de la Amazonía Peruana; 2019. Disponible en: <http://repositorio.unapiquitos.edu.pe/handle/20.500.12737/6401>
35. Harborne JB. Phytochemical methods. Chapman AH, editor. London; 1973.
36. Di Mauro A, Fallico B, Passerini A, Rapisarda P, Maccarone E. Recovery of hesperidin from orange peel by concentration of extracts on styrene-divinylbenzene resin. *J Agric Food Chem.* 1999;47(10):4391–7.
37. Cabello I, Callo N. Obtención de la hesperidina de la cáscara de naranja. *Revista de Química [Internet].* 1997 Jun [citado 2023 Apr 12];XI(1):105–8. Disponible en: <https://revistas.pucp.edu.pe/index.php/quimica/article/view/5274/5268>.
38. Ikan R. Natural Products. A Laboratory guide. Ilustrada. Press A, editor. 1991. 360 p.
39. Okieimen FE, Aigbodion AI. Studies in molecular weight determination of rubber seed oil alkyds. *Ind Crops Prod [Internet].* 1997 May 16;6(2):155–61. Disponible en: [https://doi.org/10.1016/S0926-6690\(96\)00209-9](https://doi.org/10.1016/S0926-6690(96)00209-9)
40. Furniss BS, Hannaford AJ, Smith PWG, Atchell AR. Vogel's Textbook of Practical Organic Chemistry. 5th Edition, Pearson Education, London. Longman Scientific & Technical [Internet]. 1996;6(2):1540. Disponible en: https://faculty.ksu.edu.sa/sites/default/files/vogel_-_practical_organic_chemistry_5th_edition.pdf
41. Font Qued P. Botánica pintoresca: La ciencia de las plantas al alcance de todos. España: Ediciones Península; 2014. 736 p.

42. Hernandez Sampieri R, Fernandez Collado C, Baptista Lucio M del P. Metodología de la investigación. Quinta Edi. Interamericana Editores SADC., editor. México: McGraw Hill; 2010. 656 p. Disponible en <https://www.icmujeres.gob.mx/wp-content/uploads/2020/05/Sampieri.Met.Inv.pdf>
43. Caputo L, Quintieri L, Cavalluzzi MM, Lentini G, Habtemariam S. Antimicrobial and antibiofilm activities of citrus water-extracts obtained by microwave-assisted and conventional methods. *Biomedicines*. 2018;6(2):1–14. Disponible en: <https://www.mdpi.com/2227-9059/6/2/70>
44. Dar NG, Hussain A, Paracha GM, Akhter S. Evaluation of Different Techniques for Extraction of Antioxidants as Bioactive Compounds from Citrus Peels (Industrial by Products). *Am J Agric Environ Sci*. 2015;15(4):676–82. Disponible en: [https://www.idosi.org/aejaes/jaes15\(4\)15/28.pdf](https://www.idosi.org/aejaes/jaes15(4)15/28.pdf)
45. Saifullah M, McCullum R, Vuong Q. Maximising extraction yields of gallic acid and hesperetin from lemon myrtle (*Backhousia citriodora*) leaf using microwave assisted extraction. *Results Chem* [Internet]. 2020;2(September):100080. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.rechem.2020.100080>
46. Coffin D. Method for the isolation and identification of the flavanone glycosides of citrus fruit juices. *J Agric Food Chem* [Internet]. 1971 May 1 [citado 2023 Jun 9];19(3):513–6. Disponible en: <https://doi.org/10.1021/jf60175a014>.
47. Safdar MN, Kausar T, Jabbar S, Mumtaz A, Ahad K, Saddozai AA. Extraction and quantification of polyphenols from kinnow (*Citrus reticulata* L.) peel using ultrasound and maceration techniques. *J Food Drug Anal* [Internet]. 2017;25(3):488–500. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfda.2016.07.010>
48. Swatsitang P, Tucker G, Robards K, Jardine D. Isolation and identification of phenolic compounds in *Citrus sinensis*. *Anal Chim Acta* [Internet]. 2000 Jul 24 [citado 2023 Jun 22];417(2):231–40. Disponible en: [https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(00\)00937-5](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(00)00937-5).

ANEXOS

ANEXO N° 1. Identificación botánica de la planta



UNAP

Centro de Investigación de
Recursos Naturales
Herbarium Amazonense — AMAZ

INSTITUCIÓN CIENTÍFICA NACIONAL DEPOSITARIA DE MATERIAL BIOLÓGICO
CÓDIGO DE AUTORIZACIÓN AUT-ICND-2017-005

CONSTANCIA n.º 33-2022 AMAZ-UNAP

El Coordinador del Herbarium Amazonense (AMAZ) del CIRNA, de la Universidad Nacional de la Amazonía Peruana

HACE CONSTAR:

Que, la muestra botánica presentada por **AYDE ROSA ESPERANZA GÁRATE RUÍZ y LIBETTI CAROLINA PANAIFO GUERRA** bachilleres de la **Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Facultad de Farmacia y Bioquímica** de la **Universidad Nacional de la Amazonía Peruana** pertenece al proyecto de tesis de pre grado titulado **“Identificación de la Hesperidina Aislada del Albedo de *Citrus paradisi* Macfad. (pomelo) por sus características fisicoquímicas y espectrometría UV”**; ha sido **DETERMINADA** en este centro de investigación y enseñanza **Herbarium Amazonense-AMAZ-CIRNA-UNAP** como se indica a continuación:

N°	FAMILIA	ESPECIE	AUTOR	NOMBRE COMÚN
01	RUTACEAE	<i>Citrus paradisi</i>	Macfad.	“pomelo”

Determinador: Ing. Juan Celidonio Ruiz Macedo

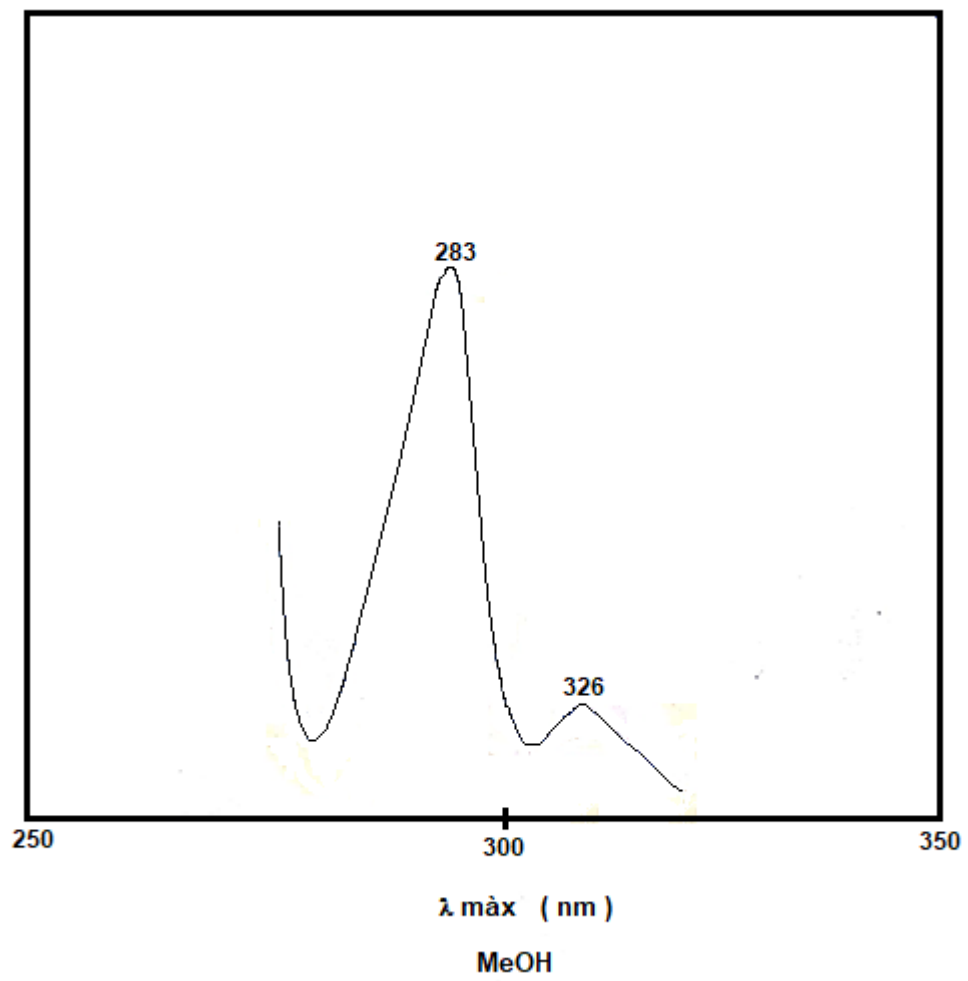
A los veinte días del mes de setiembre del año dos mil veintidós, se expide la presente constancia a los interesados para los fines que se estime conveniente.

Atentamente,

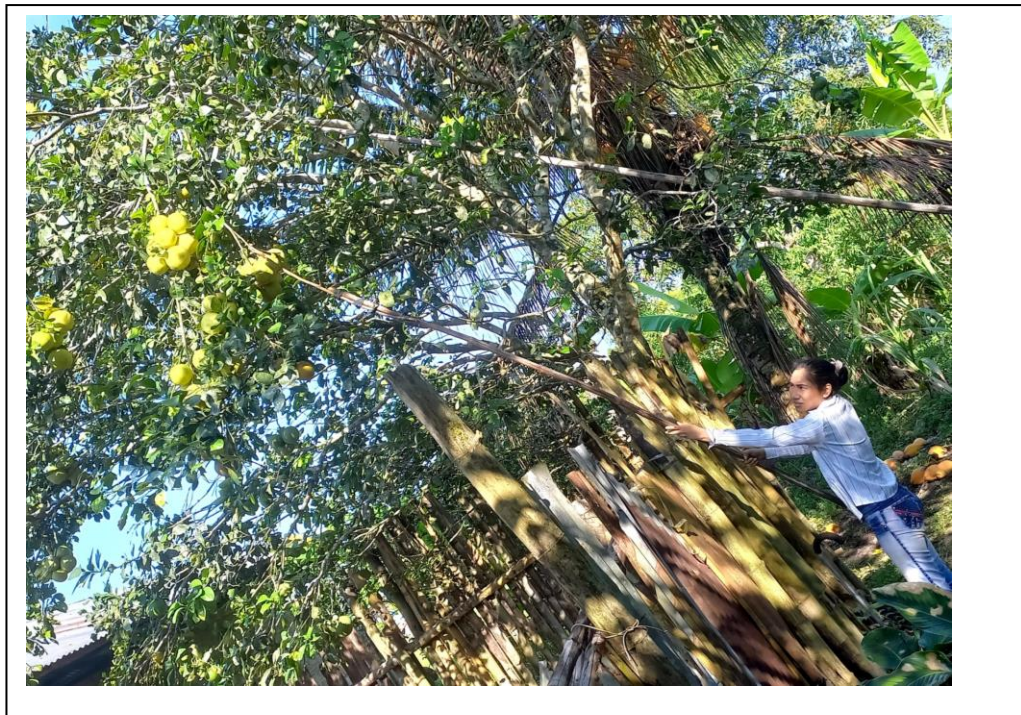
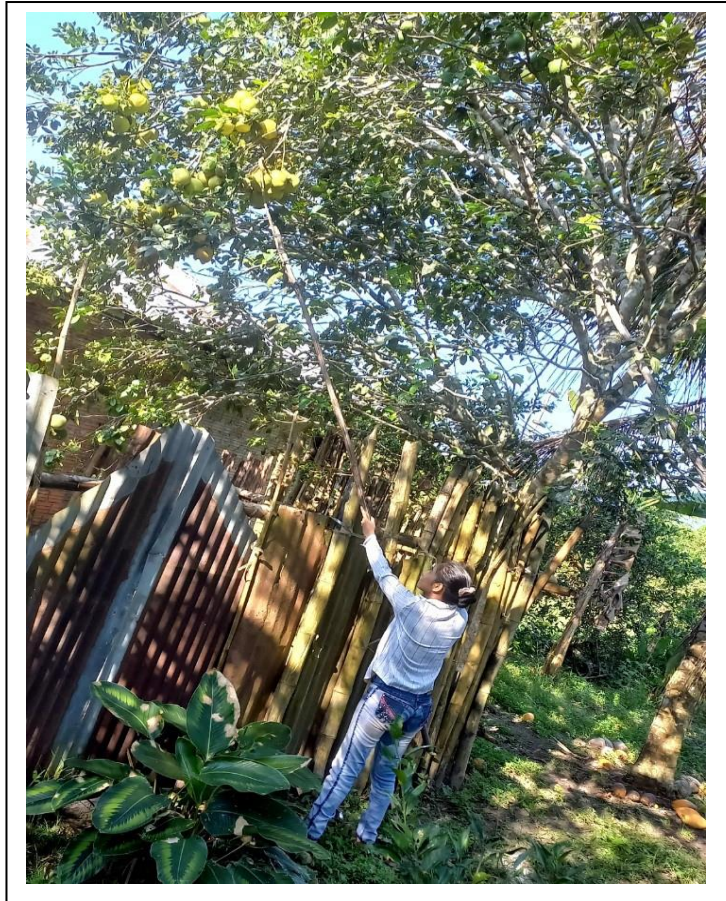

Richard J. Auaranca Acostupa
Coordinador Herbarium Amazonense



ANEXO N°. 2. Espectro de Hesperidina



ANEXO 3. Fotografía de la planta



Anexo 4. Cálculo de rendimiento de Hesperidina

Se calcula estableciendo una relación entre el peso de rutina obtenida sobre el peso de la materia prima utilizado en forma porcentual.

$$\%rendimiento = \frac{\textit{Peso de Vitexina obtenida}}{\textit{Peso de la materia prima}} \cdot 100$$

Materia prima utilizada 200 gramos de serrín, se obtuvo 2,562 gramos de Hesperidina, el cálculo es el siguiente:

$$\%rendimiento = \frac{2,562 \text{ g}}{200 \text{ g}} \cdot 100 = 1,281\%$$

Anexo 5. Determinación de los vales de Rf de Hesperidina

A. Sobre papel Watmann # 3, solvente de corrida TBA [butanol terciario: ácido acético glacial: agua (3:1:1)]. Los valores de las distancias corridas por el soluto y solvente fueron las siguientes:

Distancia de corrido del soluto 20,40 cm

Distancia de corrido del solvente 40,00 cm

$$Rf = \frac{\text{Distancia de corrida del soluto}}{\text{Distancia de corrida del solvente}}$$

$$Rf = \frac{20,40}{40,00} = 0,51$$

B. Sobre papel Watmann # 3, HOAc (ácido acético glacial 15 ml y agua 85 ml), se pone el papel en posición de giro de 90 grado. Los valores de las distancias corridas por el soluto y solvente fueron las siguientes:

Distancia de corrido del soluto 31,20 cm

Distancia de corrido del solvente 40,00 cm

$$Rf = \frac{31,20}{40,00} = 0,78$$

Anexo 6. Determinación del peso molecular de Hesperidina

Punto de fusión del D-camphor: 179,75°C

Punto de fusión de la mezcla del componente y D-camphor: 173,248°C

Se halla la diferencia del punto de fusión

$$\Delta T = 179,75 - 173,248 = 6,502$$

Aplicando la formula

$$M = \frac{k \cdot p \cdot 1000}{\Delta T \cdot P}$$

Sabiendo que

K= Depresión molar del D-camphor 39,7

w= peso de la muestra 50 mg= 0,05 g

W= peso del D-camphor 0,5 g

$$\Delta T = 6,5$$

$$M = \frac{39,7 \cdot 0,05 \cdot 1000}{6,502 \cdot 0,5} = \frac{1985}{3,251} = 610,581$$

M=610,581 g/mol

Se determinaron el porcentaje de error la relación al peso molecular de hesperidina 610,55 g/mol promedio del modo siguiente

$$\%Error = \left(\frac{\text{Peso molecular experimental} - \text{Peso molecular real}}{\text{Peso molecular experimental}} \right) \cdot 100$$
$$\%Error = \frac{610,581 - 610,55}{610,581} \times 100 = \frac{0,031}{610,581} = 0,005$$

Encontramos que el margen de error es de $\pm 0,005$ un valor relativamente bajo, que significa que la muestra analizada con el peso molecular de 610,581 es el que corresponde a hesperidina.