

Análisis del contenido en Carotenoides Florales de plantas que crecen en la Provincia de Buenos Aires (Argentina).

CLAUDIA LUISA NATALUCCI

*Cátedra de Botánica, Facultad de Ciencias Exactas,
Universidad Nacional de La Plata, Calles 47 y 115, La Plata 1900, Argentina*

RESUMEN. Se ha estudiado el contenido en carotenoides totales, carotenos y pigmentos monohidroxilados y dihidroxilados presentes en flores de especies que crecen en estado silvestre o que se cultivan en la provincia de Buenos Aires, entre las que se incluyen con propósitos comparativos las variedades de *Tagetes erecta* L. de flores amarillas y anaranjadas. Los carotenos predominan en seis de las especies estudiadas y las xantofilas en las trece restantes, entre las que se encuentra *Ranunculus repens* L., que exhibe el valor de carotenoides totales más alto, superior al de la variedad de *T. erecta* de flores anaranjadas.

SUMMARY. Analysis of the floral carotenoid content of plants growing in the Province of Buenos Aires (Argentina). Flowers of nineteen wild and cultivated species growing in the Province of Buenos Aires have been investigated for their total carotenoid, carotene, mono- and dihydroxycarotenoid contents. Yellow and orange floral varieties of *Tagetes erecta* L. were also studied for comparative purposes. Carotenes are the main fraction in six species and xanthophylls in the others. Within the latter is *Ranunculus repens* L., with a total carotenoid content even higher than the orange variety of *T. erecta*.

Los carotenoides constituyen un importante grupo de pigmentos naturales, de amplia distribución a través de todos los organismos vivos. Sin embargo su síntesis *de novo* la realizan únicamente plantas y bacterias, ya que los carotenoides aislados de tejidos animales resultan simplemente de la alteración enzimática (especialmente oxidación) de carotenoides vegetales obtenidos a través de la cadena trófica respectiva¹.

La estructura básica de los carotenoides refleja claramente su biosíntesis y está constituida por ocho unidades isoprenoides, en tanto que

una serie de dobles enlaces conjugados constituyen el cromóforo característico. La estructura acíclica básica C₄₀ puede ser modificada por hidrogenación, deshidrogenación, ciclación u oxidación. Químicamente se acostumbra a separarlos en dos grandes grupos: *carotenos*, de estructura hidrocarbonada y *oxicarotenoides* o *xantofilas*, con oxígeno en su molécula².

Una de las aplicaciones más corrientes de los carotenoides es su incorporación a alimentos y productos medicinales en carácter de colorantes. Si bien en un principio se los empleó en forma de extractos, hoy en día se

recurre principalmente al uso de carotenoides obtenidos por síntesis.

Cuando los carotenoides están presentes o son agregados a una ración animal dan color a los tejidos en los cuales se acumulan (función pigmentante). En los vacunos los carotenos son los responsables del color del tejido adiposo y de la leche, en tanto que en las aves son los oxicarotenoides los que se almacenan, tanto en hígado y grasa corporal como en huevos, piel y plumas.

Cuando los pigmentos sintetizados por las plantas son ingeridos por los animales pueden ser metabolizados de diferentes modos. Una transformación importante que se produce tanto en mamíferos como en aves, anfibios y peces es la conversión de ciertos carotenoides en vitamina A. La vitamina A es un compuesto exclusivamente animal, presente prácticamente en todas las especies, quienes sin embargo son incapaces de efectuar su síntesis *de novo*. Es ésta la razón fundamental de su inclusión o la de sus precursores en la dieta alimenticia³.

Las funciones de los carotenoides suelen dividirse en fotosintéticas y no fotosintéticas. En cuanto a la posible función de estos pigmentos en la fotosíntesis, se acepta que la luz absorbida por ellos es transferida a la clorofila *a*, que es la que absorbe a mayores longitudes de onda, lográndose así un mayor aprovechamiento del espectro.

Mucho se ha discutido acerca de las funciones no fotosintéticas de los carotenoides⁴. En bacterias y algas se

ha demostrado que protegen a las células del daño fotooxidativo, pero no existe evidencia experimental de que jueguen algún papel en fotorrespuestas tales como el fototropismo y la fototaxis. En las plantas superiores están ampliamente distribuidos en las estructuras reproductoras, sirviendo pasivamente a los mecanismos de polinización y dispersión, pero no hay pruebas de que intervengan en algún proceso metabólico vinculado a la reproducción. Esta relación sí fue comprobada en algunos hongos (Mucorales), en los que actúan como factores difusibles que inducen la diferenciación sexual de las cepas.

La biosíntesis de los carotenoides transcurre a través de la vía metabólica de los terpenoides, cuya unidad básica es el isopentenil-pirofosfato ("Isopreno activo"), a partir del cual y por adiciones sucesivas la cadena terpenica se construye hasta el nivel de C_{20} , momento en el que dos unidades se condensan para dar lugar a la formación del esqueleto típico de 40 átomos de carbono. A partir de aquí y de acuerdo al carotenoide sintetizado se sucederán procesos de desaturación, ciclación y eventualmente de incorporación de oxígeno a la molécula⁵.

En las plantas superiores los carotenoides pueden ubicarse tanto en tejidos fotosintéticos como no fotosintéticos. Por lo general todos los clorénquimas contienen básicamente los mismos carotenoides, ubicados exclusivamente en los *grana* cloroplásticos bajo la forma de cromoproteínas. Con respecto a la presencia

de carotenoides en órganos con predominio de tejidos no fotosintéticos, sólo revisten importancia como fuente de pigmentos los de flores y frutos, ya que salvo excepciones (v.g. maíz, urucú), apenas existen trazas en las semillas.

La distribución de carotenoides en frutos ha sido revisada en detalle recientemente⁶. Con respecto a los carotenoides de origen floral se acompaña a continuación una nómina de las especies estudiadas, ordenada alfabéticamente por familias, géneros y especies: *Narcissus poeticus-recurvus*⁷ (Amaryllidaceae); *Impatiens noli-tangere*⁸⁻¹⁰ (Balsaminaceae); *Tecoma capensis*¹¹, *T. radicans*¹², y *T. stans*¹¹⁻¹³ (Bignoniaceae); *Achillea ageratum* L.¹⁴, *A. filipendulina* Lam.¹⁴, *Arnica montana*¹⁵, *Bidens ferulaefolia* DC¹⁴, *Calendula Arvensis*¹⁶, *C. officinalis*¹⁶⁻²¹, *Chrysanthemum Carinatum* Schousb.¹⁴, *Ch. coronarium* L.¹⁴, *Ch. segetum* L.¹⁴, *Coriopsis grandiflora* Nutt. ex Chapm.¹⁴, *C. tinctoria* Nutt.¹⁴, *C. verticillata* L.¹⁴, *Cosmidium brunette* Hort.¹⁴, *Crepis aurea*¹⁵, *C. capillaris* Wallr.¹⁴, *Dimorphoteca aurantiaca* Hort.^{19, 22}, *Doronicum carpathicum*²³, *Gazania rigens* (L.) R. Br.^{22, 24, 25}, *Gaillardia aristata* Pursch.¹⁴, *Gerbera jamesoni* Bolus ex Gard. Chron.²², *Helianthus annuus*^{9, 10}, *H. decapitatus* L.¹⁴, *Helichrysum bracteatum* Andr.¹⁴, *Hieracium aurantiacum* L.²², *H. filarszkyi*²⁶, *H. pilosella* L.²², *Hypochoeris radicata* L.²², *Layia elegans* Torr. et Gray¹⁴, *L. platyglossa* A. Gray¹⁴, *Leontodon autumnalis*⁸, *Rudbeckia speciosum* Hort. ex Link.¹⁴, *Santolina teretifolia* Sennen et Elias¹⁴, *S. viridis* Hort.¹⁴, *Senecio doronicum* L.¹⁹, *S. scandens*

Buch. - Ham.²², *Solidago canadensis* L.¹⁴, *Tagetes erecta* L.^{22, 27, 28}, *T. patula* L.^{22, 28, 29}, *Tanacetum vulgare* L.¹⁴, *Taraxacum kok-saghyz* Rodin¹⁴, *T. officinale*^{9, 10, 30, 31}, *Tragopogon pratensis* L.^{14, 19, 32}, *Ursinia calenduliflora* Benth. et Hooker¹⁴ y *Venidium decurrens* Less.¹⁴ (Compositae); *Sinapis officinalis*¹⁹ (Cruciferae); *Iris pseudacorus*³³ (Iridaceae); *Astragalus peterfii*³⁴, *Delonix regia*³⁵, *Lotus corniculatus*¹⁵, *Sarothamnus scoparius*³⁶ y *Spartium junceum* L.³⁷ (Leguminosae); *Lilium amabile*³⁸, *L. Davidi* var. *Willmottiae*³⁸, *L. leichteinii* var. *maximowiczii*³⁸, *L. Maxwill*³⁸ y *Narthecium ossifragum*³⁹ (Liliaceae); *Viscum album*⁴⁰ (Lorantaceae); *Liriodendron* sp.⁴¹ y *Magnolia* sp.⁴¹ (Magnoliaceae); *Hibiscus syriacus* L.⁴² (Malvaceae); *Strelitzia reginae*⁴³ (Musaceae); *Oenothera* spp.⁴⁴ (Oenotheraceae); *Osmanthus fragrans*⁴⁵ (Oleaceae); *Chelidonium majus* L.⁴⁶ (Papaveraceae); *Grevillea robusta* Cunningham⁴⁷ (Proteaceae); *Adonis aestivalis*⁴⁸, *Caltha palustris* L.¹⁹⁻⁴⁹, *Ranunculus acer*^{8, 10, 32}, *R. arvensis* L.¹⁹, *R. carpaticus*²³, *R. ficaria*⁵⁰, y *Trollius europaeus* L.¹⁹ (Ranunculaceae); *Rosa foetida*⁵¹ (Rosaceae); *Brugmansia aurea*⁵² y *Physallis alkekengi*⁵³ (Solanaceae); *Mimulus cupreus*⁵⁴, *M. longiflorus* Grant⁵⁵, *M. tigrinus*⁵⁴, *Torenia bailloni*⁵⁶, y *T. fournieri*⁵⁶ (Scrophulariaceae); *Tropaeolum majus*⁵⁷ (Tropaeolaceae) y *Viola tricolor*⁵⁸ (Violaceae).

MATERIAL

Se seleccionaron flores completas (excepcionalmente pétalos o la inflorescencia entera) de plantas que crecen en la provincia de Buenos Aires:

Bidens laevis (L.) B.S.P., *Chrysanthemum frutescens* L., *Hypochoeris radicata* L., *Picris echioides* L., *Senecio brasiliensis* (Spreng.) Less. var. *tripartitus* (DC.) Baker, *S. petasites* DC., *Solidago chilensis* Meyen, *Sonchus asper* (L.) Hill, *Tagetes erecta* L. y *Wedelia glauca* (Ort.) Hoffmann (Compositae); *Brassica rapa* L. subsp. *sylvestris* (L.) Hanchen, *Rapistrum rugosum* (L.) All. y *Sinapis arvensis* L. var. *schkuhriana* (Reichenb.) Hagenb. (Cruciferae); *Iris pseudacorus* L. (Iridaceae); *Lotus corniculatus* L. var. *tenuifolius* L. y *Spartium junceum* L. (Leguminosae); *Oenothera affinis* Camb. (Oenotheraceae); *Jasminum mezyi* Hance (Oleaceae) y *Ranunculus repens* L. (Ranunculaceae).

El material fue mantenido a -20°C hasta el momento de ser liofilizado, luego de lo cual se pulverizó y conservó también a -20°C al abrigo de la luz y la humedad.

MÉTODOS

Extracción de los pigmentos. En las flores las xantofilas se hallan parcial o totalmente esterificadas, por lo que debió adoptarse una técnica que combinara la extracción con una saponificación en caliente de los ésteres presentes²⁸. Para ello se colocan 200 mg de material seco en un balón con 30 ml de solución extractante (hexano-acetona-alcohol absoluto-tolueno, 10:7:6:7), se adiciona 1 ml de agua y se agita durante un minuto. Se agregan 2 ml de hidróxido de potasio (40 % en metanol) y se continúa agitando otro minuto. El balón que

contiene la muestra, provisto de un refrigerante a reflujo, se mantiene durante 20 minutos en un baño a 56°C y luego se deja enfriar hasta temperatura ambiente.

El extractivo así obtenido se trasvasa a una ampolla de decantación y el balón se lava con 30 ml de hexano y luego con igual volumen de sulfato de sodio al 10 %. Los líquidos de lavado se incorporan a la ampolla, la que es agitada durante un minuto y luego conservada en la oscuridad durante una hora para permitir la separación de las fases. La fase acuosa inferior es eliminada. Si la cantidad de pigmentos es escasa, el extractivo se concentra en evaporador rotatorio hasta un volumen adecuado.

Fraccionamiento cromatográfico.

Se efectúa por cromatografía en columna, con aplicación de vacío⁵⁹. El equipo está compuesto básicamente por una columna de vidrio de 30 x 1,25 cm. rematada en un tubo capilar de 10 x 0,2 cm. La columna se llena con una mezcla de Kieselgel G y Kieselgur G (1:1) que se compacta por aplicación de vacío hasta una altura de 7 cm, a la que se adiciona una capa de sulfato de sodio anhidro de 2 cm. Los eluatos se recogen en un kitasato conectado a una bomba de vacío.

La muestra (5 ml del extractivo o de su solución concentrada) se deposita en el extremo de la columna e inmediatamente se fracciona por el agregado de mezclas de hexano-acetona (96:4, 90:10, 80:20), lo que permite la separación sucesiva de carotenos (C), monohidroxipigmentos (MHP) y dihidroxipigmentos (DHP).

Valoración espectrofotométrica.

Para determinar la cantidad de carotenoides se mide la absorbancia de cada una de las fracciones separadas por cromatografía. Las lecturas se efectúan a 436 nm (C) y 474 nm (MHP y DHP). La siguiente fórmula permite calcular el contenido de carotenoides expresado en mg/g de muestra seca:

$$\frac{A}{a \cdot l \cdot d}$$

- A: absorbancia de la solución
 a: coeficiente de extinción específico/10 (196 para carotenos y 236 para xantofilas)
 l: longitud de la celda (1 cm).
 d: factor de dilución.

RESULTADOS Y CONCLUSIONES

La información sobre el contenido en carotenoides totales (CT), carotenos (C), pigmentos monohidroxiados (MHP) y dihidroxilados (DHP) de las especies estudiadas se consigna en la tabla I, en la que los resultados se expresan como miligramos de pigmento por gramo de peso seco de muestra, determinándose asimismo la cantidad relativa de cada uno de ellos. La tabla II ofrece una expresión gráfica de los valores obtenidos: en la parte superior se representa para cada especie el contenido en carotenoides totales y en la inferior la relación porcentual de las tres fracciones.

E S P E C I E S E S T U D I A D A S	CANTIDAD DE PIGMENTOS (mg/g de muestra seca)				CANTIDAD RELATIVA DE CADA PIGMENTO		
	CT	C	MHP	DHP	C	MHP	DHP
COMPOSITAE							
<i>Bidens laevis</i> (L.) B.S.P.	1,21	0,14	0,39	0,68	11,6	32,2	56,2
<i>Chrysanthemum frutescens</i> L.	1,88	0,36	0,97	0,55	19,1	51,6	29,3
<i>Hypochoeris radicata</i> L.	0,94	0,84	0,02	0,08	89,4	2,1	8,5
<i>Picris echioides</i> L.	1,07	1,02	0,02	0,03	95,3	1,9	2,8
<i>Senecio brasiliensis</i> (Spreng.) Less. var. <i>tripartitus</i> (DC.) Baker	1,33	0,02	0,04	1,27	1,5	3,0	95,5
<i>Senecio petasites</i> DC.	0,85	0,83	0,01	0,01	97,7	1,2	1,1
<i>Solidago chilensis</i> Meyen	0,33	0,01	0,03	0,29	3,0	9,1	87,9
<i>Sonchus asper</i> (L.) Hill	1,20	0,03	0,15	1,02	2,5	12,5	85,0
<i>Tagetes erecta</i> L. (fl. anaranjadas)	4,67	0,07	0,83	3,77	1,5	17,8	80,7
<i>Tagetes erecta</i> L. (fl. amarillas)	1,23	0,03	0,27	0,93	2,4	22,0	75,6
<i>Wedelia glauca</i> (Ort.) Hoffmann	0,90	0,76	0,01	0,13	84,4	1,1	14,5
CRUCIFERAE							
<i>Brassica rapa</i> L. subsp. <i>sylvestris</i> (L.) Hanchen.	1,41	tr.	tr.	1,41	tr.	tr.	100,0
<i>Rapistrum rugosum</i> (L.) All.	0,37	0,02	0,03	0,32	5,4	8,1	86,5
<i>Sinapis arvensis</i> L. var. <i>schkuhriana</i> (Reichenb.) Hagenb.	0,81	0,05	0,04	0,72	6,2	4,9	88,9
IRIDACEAE							
<i>Iris pseudacorus</i> L.	2,24	0,10	0,24	1,90	4,5	10,7	84,8
LEGUMINOSAE							
<i>Lotus corniculatus</i> L. var. <i>tenuifolius</i> L.	1,18	1,08	0,01	0,09	91,5	0,9	7,6
<i>Spartium junceum</i> L.	0,53	0,48	0,01	0,04	90,6	1,9	7,5
GENOTHERACEAE							
<i>Oenothera affinis</i> Camb.	1,41	0,07	0,33	1,01	5,0	23,4	71,6
OLEACEAE							
<i>Jasminum mezyi</i> Hance	0,60	tr.	0,04	0,56	tr.	6,7	93,3
RANUNCULACEAE							
<i>Ranunculus repens</i> L.	6,50	0,04	0,06	6,40	0,6	0,9	98,5

CT: carotenoides totales, C: carotenos, MHP: pigmentos monohidroxiados, DHP: pigmentos dihidroxilados, tr.: trazas

Tabla I. Expresión numérica de los resultados

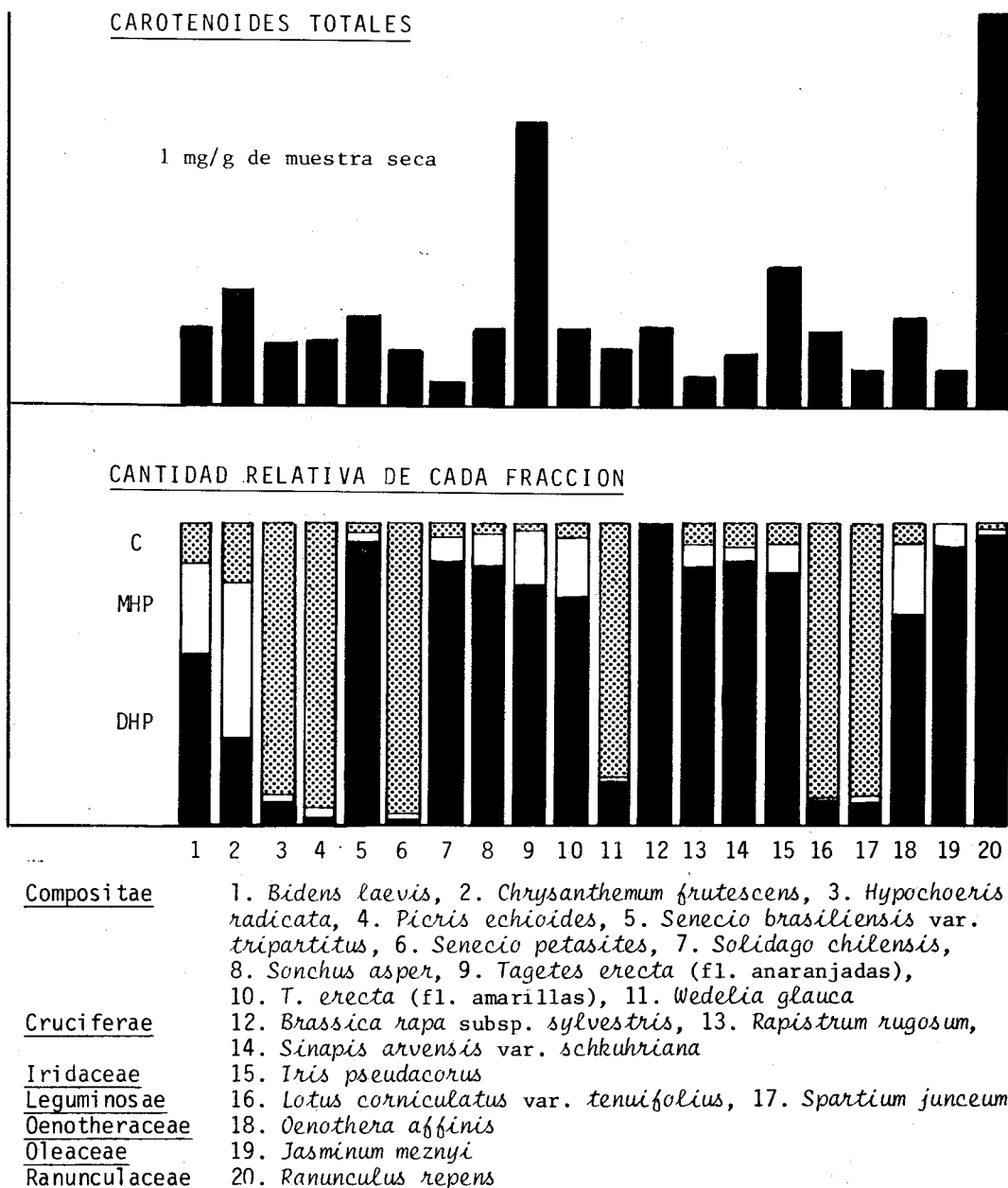


Tabla II. Expresión gráfica de los resultados

Existen estudios previos sobre cinco de las diecinueve especies incluídas en el presente trabajo, pero sólo en *Hypochoeris radicata* y *Tagetes erecta* se provee información cuantitativa.

Tagetes erecta ha sido objeto de varios estudios, con resultados no siempre coincidentes: mientras que para algunos²⁷ las xantofilas representan la casi totalidad de los carotenoides presentes, para otros²² la fracción pre-

dominante son los carotenos, aún cuando estos resultados han sido objetad²⁸, aduciéndose que son producto de una deficiente saponificación previa. En nuestro caso el contenido relativo en carotenoides totales corresponde a lo esperado: las plantas con flores anaranjadas contienen casi tres veces más pigmentos que las de flores amarillas (4,67 y 1,23 mg/g de peso seco, respectivamente), con predominio de xantofilas.

De las nueve especies de Compositae analizadas, sólo *Hypochoeris radicata* ha sido previamente estudiada²², pero con resultado dispar, ya que en el presente análisis el contenido en carotenoides totales es considerablemente menor (0,94 contra 3,87 mg/g) y la fracción mayor la constituyen los carotenos (89,4 %).

Chrysanthemum frutescens merece destacarse tanto por su alto contenido en carotenoides totales (1,88 mg/g) como por ser la única especie en la que la fracción más abundante (51,6 %) son los pigmentos monohidroxilados.

Las dos especies de *Senecio* estudiadas se comportan en forma diametralmente opuesta: *S. brasiliensis* var. *tripartitus*, con una cantidad aceptable de carotenoides totales (1,33 mg/g), tiene sólo 1,5 % de carotenos, en tanto que en *S. petasites*, donde el rendimiento es menor (0,85 mg/g), los carotenos representan el 97,7 % del total.

Bidens laevis tiene una discreta cantidad de carotenoides totales (1,21

mg/g), con predominio de pigmentos dihidroxilados (56,2 %) y una proporción importante de pigmentos monohidroxilados (32,2 %).

Solidago chilensis es la especie con menos carotenoides totales (0,33 mg/g), representados casi exclusivamente por dihidroxicarotenoides. Las últimas tres especies de Compositae estudiadas tienen un contenido similar en carotenoides totales, siendo algo mayor en *Sonchus asper* (1,20 mg/g) que en *Picris echioides* (1,07 mg/g) y en *Wedelia glauca* (0,90 mg/g). En *S. asper* es alto el valor de dihidroxicarotenoides y muy bajo el de carotenos, en tanto que las otras dos especies muestran un comportamiento exactamente opuesto.

El contenido en carotenoides totales varía considerablemente en las tres especies de Cruciferae estudiadas, siendo relativamente pequeña (0,37 mg/g) en *Rapistrum rugosum*, algo más del doble (0,81 mg/g) en *Sinapis arvensis* var. *schkuhriana* y casi tres veces mayor (1,41 mg/g) en *Brassica rapa* subsp. *sylvestris*. La cantidad relativa de pigmentos dihidroxilados es considerablemente elevada en los tres, llegando en la última de ellas prácticamente al 100 %.

Iris pseudacorus ya ha sido objeto de un análisis cualitativo anterior³³; en nuestro caso hemos comprobado que se trata de una especie buena productora de carotenoides (2,24 mg/g), en la que hay un amplio predominio de pigmentos dihidroxilados.

También las dos especies de Leguminosae han sido estudiadas previamente, pero sin aportar información acerca de la cantidad de pigmentos presentes^{15, 37}. En el presente trabajo se ha podido establecer que existen una marcada diferencia en el contenido total de carotenoides (1,18 mg/g en *Lotus corniculatus* var. *tenuifolius* y 0,53 mg/g en *Spartium junceum*), pero la proporción relativa de las fracciones de distinto grado de oxidación es coincidente, con mayoría de carotenos.

El porcentaje de carotenos es muy bajo en las tres restantes especies, las que sin embargo presentan diferencias notorias en cuanto al contenido total de carotenoides, que es sorprendentemente elevado (6,50 mg/g en *Ranunculus repens*, aceptable (1,41 mg/g) en *Oenothera affinis* y muy bajo (0,60 mg/g) en *Jasminum meznii*.

Resulta procedente efectuar un análisis comparado del comportamiento

de las especies estudiadas. En cuanto a la cantidad total de carotenoides y como se acaba de señalar, *Ranunculus repens* es la especie de mayor producción, que es el triple de *Iris pseudacorus*. El rendimiento del resto de las especies es inferior a los 2 mg/g, de las cuales la mitad es incluso menor que 1 mg/g.

Si bien el conocimiento de la cantidad total de carotenoides presentes proporciona una información preliminar valiosa para la posible elección de una especie como fuente de este tipo de productos naturales, atendiendo a su aplicación como pigmentante resulta decisiva la proporción de pigmentos hidroxilados, por lo que a *Ranunculus repens* e *Iris pseudacorus* deberían agregarse *Brassica rapa* subsp. *sylvestris*, *Senecio brasiliensis* var. *tripartitus*, *Oenothera affinis*, *Sonchus asper* y *Chrysanthemum frutescens* como especies promisorias en cuanto a su posible explotación como fuente alternativa de xantofilas.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Goodwin, T. W. (1976) en "Chemistry and Biochemistry of Plant Pigments" (T. W. Goodwin, ed.), vol 1, Academic Press, London, pág. 225
2. Davies, B. H. (1976) en "Chemistry and Biochemistry of Plants Pigments" (T. W. Goodwin, ed.), vol 2, Academic Press, London, págs. 38 - 9
3. Bauernfeind, J. C. (1972) *Agr. Food Chem.* 20: 456 - 73
4. Burnett, J. H. (1976) en "Chemistry and Biochemistry of Plant Pigments" (T. W. Goodwin, ed.), vol 1, Academic Press, London, págs. 655 - 76
5. Britton, G. (1976) en "Chemistry and Biochemistry of Plant Pigments", (T. W. Goodwin, ed.), vol 1. Academic Press, London, págs. 262 - 97
6. Goad, L. J. y T. W. Goodwin (1970) "The Biochemistry of Fruits and their products" (A. C. Hulme, ed.), vol. 1, Academic Press, London & New York, pág. 305.
7. Booth, V. H. (1957) *Biochem. J.* 65: 660 - 3
8. Kuhn, R. y E. Lederer (1932) *Z. Physiol. Chem.* 213: 188 - 91
9. Nitsche, H. y C. Pleugel (1972) *Phytochemistry* 11: 3383 - 5
10. Toth, G. y J. Szabolcs (1970) *Acta Chim. (Budapest)* 64: 393 - 406

11. Taha, M. M. (1954) *Biochem. J.* 58 : 413 - 5
12. Grangaud, R. e I. Garcia (1952) *Compt. Rend. Soc. Biol.* 146 : 1577 - 9
13. Premachandra B. R., J. John y H. R. Cama (1974) *Indian J. Nutr. Diet.* 11 : 28 - 32
14. Valadon, L. R. G. y R. S. Mummery (1971) *Phytochemistry* 10 : 2349 - 53
15. Karrer, P., E. Jucker y E. Krause - Voith (1947) *Helv. Chim. Acta* 30 : 537 - 8
16. Baraud, J. (1958) *Rev. Gen. Bot.* 65 : 221 - 43
17. Andreeva, L. G. (1961) *Aptechnoe Delo* 10 : 46 - 9 (C. A. 56, 1769d)
18. Goodwin, T. W. (1954) *Biochem. J.* 58 : 90 - 4
19. Karrer, P. y A. Notthaff (1932) *Helv. Chim. Acta* 15 : 1195 - 204
20. Movchan, S. D. (1960) *Zhur. Priklad. Khim.* 33 : 484 - 6 (C. A. 54, 12274i)
21. Zechmeister, L. y L. V. Cholnoky (1932) *Z. Physiol. Chem.* 208 : 26 - 32
22. Valadon, L. R. G. y R. S. Mummery (1967) *Phytochemistry* 6 : 983 - 8
23. Neamtu, G., V. Tamas y C. Bodea (1967) *Rev. Roum. Biochim.* 4 : 59 - 65
24. Zechmeister, L. y W. A. Schroeder (1943) *J. Am. Chem. Soc.* 65 : 1535 - 40
25. Schön, K. (1938) *Biochem. J.* 32 : 1566 - 70
26. Neamtu, G., V. Tamas y C. Bodea (1965) *Stud. Cercet. Biochim.* 8 : 411 - 4
27. Alam, A. U., J. R. Couch y C. R. Creger (1968) *Can. J. Bot.* 46 : 1539 - 41
28. Quackenbush, F. W. y S. L. Miller (1972) *J. Ass. Off. Anal. Chem.* 55 : 617 - 21
29. Tarpo, E. (1970) *Farmacía* (Bucharest) 18 : 305 - 12
30. Booth, V. H. (1964) *Phytochemistry* 3 : 229 - 34
31. Kuhn, R. y E. Lederer (1931) *Z. Physiol. Chem.* 200 : 108 - 14
32. Karrer, P., E. Jucker, J. Rutschman y K. Steinlin (1945) *Helv. Chim. Acta* 28 : 1146 - 56
33. Drumm, P. J. y W. F. O'Connor (1945) *Biochem. J.* 39 : 211 - 2
34. Neamtu, G., V. Tamas y C. Bodea (1965) *Stud. Cercet. Biochim.* 8 : 67 - 9
35. Jungalwala, F. B. y H. R. Cama (1962) *Biochem. J.* 85 : 1 - 8
36. Karrer, P. y E. Jucker (1944) *Helv. Chim. Acta* 27 : 1585 - 8
37. Spada, A. y R. Cameroni (1957) *Atti Soc. Nat. e Mat. Modena* 87 - 88 : 53 - 61 (C. A. 53 : 11538g)
38. Valadon, L. R. G. y R. S. Mummery (1977) *Z. Pflanzenphysiol.* 82 : 407 - 16
39. Stabursvik, A. (1959) *Norgestek. Vitenskapsakad Ser. 2*, N° 6, 89 págs. (C.A. 55, 14599i)
40. Neamtu, G. y C. Bodea (1970) *Stud. Cercet. Biochim.* 13 : 59 - 63
41. Demuth, P. y F. Santamour (1978) *Bull. Torrey Bot. Club* 105 : 65 - 6
42. Hanny, B. W., R. D. Henson, A. C. Thompson, R. C. Weltner y P. A. Hedin (1972). *J. Agr. Food. Chem.* 20 : 914 - 6.
43. Tappi, G. y E. Menziani (1955) *Gazz. Chim. Ital.* 85 : 720 - 4
44. Chrometzka, P. (1971) *Theor. Appl. Genet.* 41 : 205 - 7
45. Suzuki, N. y K. Tsukida (1959) *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)* 7 : 133 - 4
46. Neamtu, G., V. Tamas y C. Bodea (1966) *Rev. Roum. Biochim.* 3 : 305 - 10.
47. Zechmeister, L. y A. Polgár (1941) *J. Biol. Chem.* 140 : 1 - 3
48. Neamtu, G., V. Tamas y C. Bodea (1966) *Rev. Roum. Biochim.* 3 : 305 - 10
49. Karrer, P. y E. Jucker (1947) *Helv. Chim. Acta* 30 : 1774 - 5
50. Cameroni, R. y M. T. Bernabei (1957) *Atti Soc. Nat. e Mat. Modena* 87 - 88 : 125 - 31 (C. A. 53 : 15215c)
51. Buchecker, R. y C. H. Eugster (1977) *Helv. Chim. Acta* 60 : 1754 - 7
52. Joshi, P. C. (1953) *J. Indian Bot. Soc.* 32 : 17 - 20
53. Cholnoky, L. y J. Szabolcs (1959) *Ann.* 626 : 206 - 15
54. Goodwin, T. W. y D. M. Thomas (1964) *Phytochemistry* 3 : 47 - 50
55. Zechmeister, L. y W. A. Schroeder (1942) *Arch. Biochem.* 1 : 231 - 8
56. Lang, W. (1970) *Z. Pflanzenphysiol.* 62 : 299 - 301.
57. Sykut, A. (1966) *Acta Soc. Bot. Polon.* 35 : 41 - 57
58. Molnar, P. y J. Szabolcs (1980) *Phytochemistry* 19 : 623 - 7
59. Quackenbush, F. W., M. A. Dyer y R. L. Smallidge (1970) *J. Ass. Off. Anal. Chem.* 53 : 181 - 7