

Efecto de los extractos de flavonoides de harinas de cáscaras y semillas de pomelos sobre la estabilidad de aceite de soja

Por Mario José Moreno Álvarez, Carmen Ysabel Guarán, Douglas Rafael Belén Camacho, David García-Pantaleón y Carlos Alberto Medina Martínez

Universidad Simón Rodríguez, Laboratorio de Biomoléculas,
Canoabo, estado Carabobo Venezuela. Tel-fax: 58-249-7971184.
E-mail: biomoleculasdrbc@hotmail.com y/o morenoalvarez@cantv.net

RESUMEN

Efecto de los extractos de flavonoides de harina de cáscaras y semillas de pomelos sobre la estabilidad de aceite de soja.

Se evaluó la actividad antioxidante de los extractos acuosos procedentes de las cáscaras y semillas de pomelos. Éstas se procesaron para transformarlas en harinas y se sometieron a la extracción de los flavonoides mediante solventes orgánicos empleando las relaciones harina/solvente: 0,5:25; 1:25 y 2:25. Posteriormente, se procedió a realizar extracciones individuales con un volumen fijo de 25 mL de metanol al 85% v/v. A los extractos metanólicos obtenidos se les añadió éter de petróleo en una proporción v/v de 1:1. A continuación la fase acuosa se extrajo con acetato de etilo. Los productos de las fases fueron dosificados a muestras de aceite de soja desodorizado en proporciones de 0,01 %; 0,75 % y 0,10 %. Las muestras fueron colocadas en una estufa de aire a una temperatura de $60 \pm 1^\circ\text{C}$ y a intervalos de 24 h se les determinó el índice de peróxidos hasta alcanzar una duración de 600 horas. Se evidenciaron diferencias significativas entre los tratamientos, lográndose determinar un efecto antioxidante independientemente de la fuente de los metabolitos, relación peso harina y volumen de extracción y la concentración del extracto ($P < 0,05$). Los tratamientos harina de semilla acuoso 0,5:25 al 0,01% y harina de la cáscara acuoso 0,5:25 al 0,75% presentaron los mejores efectos antioxidantes. En ninguno de los tratamientos se logró evidenciar efectos de pro-oxidación estimulados por los extractos incorporados. Se concluye que los extractos de flavonoides incorporados al aceite de soja desodorizado permitieron establecer un efecto antioxidante.

PALABRAS-CLAVE: Aceites – Antioxidantes – Flavonoides – Pomelos – Soja.

SUMMARY

Effect of flavonoid extracts from grapefruit seeds and peel flour on soybean oil stability.

The antioxidant activity of the aqueous extracts from grapefruit seed and peel was evaluated. The seeds and peels were transformed into flour and the flavonoids were extracted by means of organic solvents in the following flour/solvent ratios: 05:25; 1:25 and 2:25. Then, single extractions with 25mL of methanol 85% (v/v) were produced. Afterward, methanolic extracts were mixed in proportion 1:1 (v/v) with petroleum ether and stirred until the appearance of two sharp phases. Subsequently, the aqueous phase was extracted with ethyl acetate and two phases were separated. Doses of every phase in proportion of 0.01%, 0.75% and

0.10%, were added to soybean oil. Samples were stored in an air stove at $60^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ and the peroxide value was determined every 24 h for the 600h of study. Significant differences were found between treatments ($P < 0.05$). An antioxidant effect was shown independently of the metabolite source, flour weight/extraction volume ratio or extract concentration ($P < 0.05$). The major antioxidant effect showed by the treatments were with 0.01% aqueous extract from 0.5:25 seed flour/solvent ratio, and 0.75% aqueous extract from 0.5:25 peel flour/solvent ratio. No treatment showed pro-oxidant effects. In conclusion, the incorporation of flavonoid extracts into deodorized soybean oil permitted the confirmation of its antioxidant performance.

KEY-WORDS: Antioxidants – Flavonoids – Grapefruit – Lipidic oxidation – Oils – Soybean.

1. INTRODUCCIÓN

En Venezuela existe una producción anual de pomelos (*Citrus paradisis* Macf) de 9.050 toneladas aproximadamente (FAO, 2001), de las cuales el 55% son desechos ricos en metabolitos secundarios como: carotenoides, tocoferoles y flavonoides (Arthey, 1997). En relación a los flavonoides son compuestos de bajo peso molecular y comparten el esqueleto común de difenilpiranos: dos anillos benzenicos unidos a través de un anillo de pirona. Su estructura molecular consiste en un esqueleto de 15 átomos de carbono (C₁₅). La biosíntesis de esta unidad C₆C₃C₆, deriva de dos rutas separadas. Los anillos A que provienen de la condensación de dos unidades malonil coenzima A y acetil coenzima A. La otra ruta está dirigida a la formación del anillo B y los átomos de carbono 2, 3 y 4; derivado de un precursor, el ácido cinámico. El primer intermediario estable, es la chalcona. Los pasos subsiguientes conducen a la formación de varios flavonoides, los cuales controlan los patrones de hidroxilación, los niveles de oxidación, las posiciones de O-metilación y la glicosilación (Mabry et al., 1970; Albornoz, 1980). Dependiendo de las posiciones de las hidroxilaciones y/o grupos metoxilos se pueden subclasificar en: flavonas, flavonoles, isoflavonas, flavanonas, antocianidinas y chalconas (Harborne, et al., 2000; Sakakibara et al 2003). Pueden ser extraídos inicialmente con solventes orgánicos sin perder sus propiedades estructurales,

son muy estables al calor y a las reacciones de oxidación resistiendo la mayoría de los tratamientos térmicos que se emplean en la manufactura de los alimentos enlatados (Harborne, et al., 2000; Sakakibara et al., 2003).

Las flavanonas, flavonas y flavonoles son los flavonoides presentes en los cítricos. Estos compuestos han mostrado ser potentes antioxidantes, sequestrantes de radicales libres o agentes que contribuyen a la acción anticancerígena y cardioprotectora entre otras (Kale y Adsule., 1995; Martínez-Valverde et al., 2000; Sakakibara et al., 2003;). Tienen aplicación en la estabilización de los alimentos debido a su habilidad de protegerlos contra la oxidación. Dadas estas propiedades que pueden aportar dichos compuestos se plantea la alternativa de utilizarlos como antioxidantes naturales en grasas y aceites. Algunos autores refieren su actividad antioxidante y sus excelentes funciones biológicas como sustituto natural de los antioxidantes sintéticos existentes, pudiendo aportar beneficios tecnológicos, científicos, nutricionales y medicinales (Sakakibara et al 2003; Moreno-Álvarez, 2003; Martínez-Valverde et al., 2000; Kale y Adsule, 1995). La propiedad antioxidante de algunos flavonoides es determinada por la estructura o-dihidroxi en el anillo B, el 2,3 doble enlace en conjunción con la función 4-oxo y la presencia de ambos grupos hidroxilados en posición 3 y 5.

Dadas las propiedades antes mencionadas de los flavonoides presentes en los cítricos, en este estudio se plantea el acondicionamiento del aceite de soja *G. max* (L.) Merrill (el cual presenta altas concentraciones de ácido linoléico y linolénico, además de presentar un elevado índice de yodo, y por ende susceptibles a las reacciones de oxidación, fenómeno químico que al igual que en otros aceites vegetales ocasiona pérdidas en la calidad nutricional y organoléptica) con extractos de flavonoides provenientes de harinas obtenidas de cáscara y semillas de pomelo (*C. paradisis*) como posible sustituto de agentes antioxidantes de origen natural.

2. PARTE EXPERIMENTAL

2.1. Etapas preliminares

Se recolectó un lote de 100 kg de pomelos procedentes de una zona agrícola ubicada en el sector Los Naranjos, Canoabo, municipio Bejuma, estado Carabobo, Venezuela, mediante muestreo dirigido y utilizando los criterios establecidos para frutas cítricas por Moreno-Álvarez et al., (1999). Los frutos se trasladaron en sacos hasta las instalaciones del laboratorio de Biomoléculas. El aceite de soja *Glycine max* (L.) desodorizado y libre de antioxidantes sintéticos fue donado por la empresa Cargill de Venezuela ubicada en Valencia, Venezuela. La cantidad recibida fue de 200 L, pertenecientes a la producción de noviembre 2003; se trasladó, en envase de

plástico cerrado herméticamente y protegido de la luz, hasta el laboratorio.

2.2. Caracterización físico-química de la materia primas

Del lote original se tomo una muestra de 30 frutas para efectuar la caracterización fisicoquímica de la materia prima. En el jugo extraído se evaluaron sólidos solubles, expresados como °Brix, mediante refractómetro marca Baush & Lamb modelo Abbe 3L, según COVENIN (1983), acidez iónica mediante pHmetro marca Hanna Instruments® modelo 211, y acidez titulable según COVENIN (1977). A una muestra de 250 mL de aceite de soja (desodorizado y libre de antioxidantes sintéticos), se le determinaron índice de peróxido (COVENIN, 1978), índice de yodo (COVENIN, 1982), índice de saponificación (COVENIN, 1998) e índice de acidez (COVENIN, 1980).

2.3. Obtención de las harinas cáscara y semillas

Los pomelos colectados fueron sumergidos en agua corriente y se frotaron manualmente con la finalidad de eliminar residuos de polvo y materia orgánica que pudiera estar adherida a las cáscaras. Los frutos se cortaron con un cuchillo de acero inoxidable para luego extraer el jugo mediante un extractor manual, lo cual arrojó como residuos, en conjunto, cáscaras, membranas carpelares y semillas. Después de separar los residuos fueron sometidos a secado parcial mediante una estufa de aire marca Felisa® modelo FE-294 AD a una temperatura de $40 \pm 1^\circ\text{C}$ hasta alcanzar una humedad aproximada del 6%. Posteriormente las muestras obtenidas fueron sometidos a molienda manual con un molino marca Corona® y tamizadas bajo condiciones establecidas por Moreno-Alvarez et al., (2004). Se les evaluó humedad mediante procedimiento establecido en la norma COVENIN (1979).

2.4. Obtención de los extractos de flavonoides

Para la obtención de los extractos de flavonoides se empleó la metodología descrita por Mabry et al., (1970). Se ensayaron tres extracciones con diferentes relaciones peso de harina/volumen de solvente (0,5:25; 1:25 y 2,0:25) los cuales se sometieron a una marcha de separación de flavonoides basados en los principios de solubilidad diferencial con diferentes solventes orgánicos, desarrollada por Mabry et al., (1970) y modificado por Moreno-Alvarez et al., (1984, 1990). Se pesaron individualmente las cantidades de 0,5; 1,0 y 2,0 g de harina integral de pomelo elaborada a partir de semillas (HS) y cáscaras (HC) por triplicado. Posteriormente se procedió a realizar extracciones individuales con un volumen fijo de 25 mL de metanol al 85% v/v y se almacenaron por 48 h en la oscuridad. Los extractos metanólicos fueron filtrados al vacío

en un filtro Pirex 350 C de placa porosa y se efectuaron continuos lavados con metanol (marca Riedel-de Haën®, punto de ebullición 64-65°C^o) al 85% v/v, el volumen gastado fue de 30 mL. Posteriormente a los extractos metanólicos obtenidos se les añadió éter de petróleo (marca Riedel-de Haën, punto de ebullición 40-60°C^o) concentrado en una proporción v/v de 1:1 y se sometieron a agitación en un embudo de decantación hasta la aparición de dos fases bien definidas. La fase acuosa obtenida fue sometida de nuevo a extracción con acetato de etilo (marca Fisher ChemAlert®) concentrado en una proporción v/v de 1:1 y nuevamente a agitación en un embudo de decantación hasta la aparición de dos fases igualmente bien definidas; una acuosa (Ac) y una orgánica (Org). Después de su separación se tomaron pequeñas cantidades de ambos extractos para ser evaluados individualmente mediante ensayos cualitativos de reconocimiento de flavonoides mediante los test de Shinoda y álcali, considerándose como positiva la aparición de un color amarillo-naranja, rojo, rojo-azulado o violeta (Domínguez, 1979). Cada uno de los extractos se concentró en un rotaevaporador (marca LaBconco, número de catálogo 7889200) a presión reducida a una temperatura de 60 ± 1 C° hasta un secado total de los extractos. El balón de vidrio del evaporador empleado para la destilación fue pesado previamente con el propósito de definir el peso final del producto de fondo, proveniente de la destilación de los extractos. Cada uno de los productos de fondo presentaron características de laca y coloración amarillo-verdoso de los cuales se obtuvieron los siguientes pesos: para la cáscara, los extractos acuosos (Ac) de las proporciones p/v de 1:25 (0,53 ± 0,01g), 2:25 (1,88 ± 0,01g), 0,5:25 (2,92 ± 0,01g) y finalmente los extractos orgánicos (acetato de etilo) de las proporciones p/v de 1:25 (3,67±0,01g), 2:25 (0,58±0,01g) y 0,5:25 (0,61±0,01) .Para la extracción de los flavonoides presentes en la semilla, las proporciones y los pesos fueron los siguientes: 1:25 (0,53 ± 0,01g), 2:25 (1,87 ± 0,01g), 0,5:25 (0,34±0,01g) y la proporción del extracto orgánico 2:25 (0,61±0,01), 1:25 (1,03±0,01) y 0,5:25 (0,80±0,01); dichos pesos fueron resuspendidos en 100,00 ± 0,01 g de aceite de soja, de estos resuspendidos se tomaron por triplicado cantidades que representaran las concentraciones de extracto de flavonoides de 0,01%; 0,75% y 0,10% respectivamente para la posterior evaluación de la actividad antioxidante.

2.5. Evaluación de la actividad antioxidante de los extractos

La actividad antioxidante se evaluó mediante el método Schaal (Mehlenbacher, 1979), el cual se basa en colocar muestras de aceite bajo condiciones drásticas de temperatura en estufa. A continuación se describe la metodología empleada. A cada muestra individual de aceite de soja cuyo peso fue 750 g se colocaron en vasos de precipitado

de 1000 mL, a los cuales se le añadieron cantidades independientes de los extractos acuosos resuspendidos en aceite, empleando concentraciones de 0,01%; 0,75% y 0,10 % y una muestra control a la que no le fue adicionado extracto (muestra testigo) que permitió comparar el comportamiento de la muestras con extractos de flavonoides. Todas las muestras se sometieron a la prueba de la estabilidad en la estufa (Felisa® modelo FE-294AD) a una temperatura constante de 60 ± 1°C. Seguidamente, a cada una de las muestras acondicionadas con extractos de flavonoides y al control, se les determinó el índice de peróxidos (COVENIN, 1978) por triplicado cada 24 horas, hasta un tiempo de 25 días (600 h). Para garantizar que la relación aceite evaluado y con contacto con el oxígeno atmosférico, fuera comparable a lo largo del experimento, se evaluó una cantidad de aceite fija de 2,5 g, determinándose el índice de peróxido en el tiempo en todos los tratamientos. Los resultados obtenidos son promedios de tres repeticiones ± la desviación estándar (DS).

2.6. Análisis estadístico

Con la finalidad de determinar si existieron diferencia entre el grado de oxidación en cada tratamiento a lo largo de la evaluación, se compararon los índices de peróxido obtenidos mediante ANAVAR y comparación de medias el test de Tukey (P<0,05) utilizando el paquete estadístico SAS (1999). Para la representación gráfica de los valores de peróxido en el tiempo de los extractos evaluados se realizó un ajuste exponencial de las medias tabuladas y se graficaron los valores obtenidos para cada tratamiento.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En las Tablas I y II se presentan los resultados de la caracterización fisicoquímica de los pomelos y del aceite de soja desodorizado. Los valores obtenidos de la caracterización fisicoquímica de los pomelos en este estudio son similares a los señalados por otros autores (Moreno-Álvarez *et al.* 2003; INN 2001) a excepción de la acidez que fue ligeramente menor. En relación a los valores de humedad de las harinas están dentro de los valores obtenidos para otros desechos cítricos (Moreno Álvarez, 2003). Los índices obtenidos en la caracterización del aceite de soja están comprendidos dentro de las especificaciones señalados por el Codex Alimentarius (2003), en lo que respecta al estándar de las características esenciales de identidad para este tipo de aceite. En términos generales el índice de yodo obtenido (134,7 ± 2,0 cg I₂/g), permite inferir un alto grado de insaturaciones. En cuanto a los valores de acidez y peróxidos reflejan una buena calidad del aceite y un bajo grado de rancidez o deterioro.

Como producto de la marcha de separación de flavonoides se obtuvo un extracto acuoso-metanóli-

Tabla I
Caracterización física y química de jugo, harina de cáscara y harina de semilla de pomelo

Muestra	°Brix	pH	Acidez*	Humedad (%)
jugo	13,0 ± 0,1	3,8 ± 0,1	0,60 ± 0,03	–
Harina de cáscaras	–	–	–	5,80 ± 0,03
Harina de semillas	–	–	–	5,69 ± 0,03

* expresado como ácido cítrico (g)/100 mL
± DS

Tabla II
Caracterización fisicoquímica del aceite de soja desodorizado

Índice de peróxido (meq O ₂ /Kg)	Índice de yodo (cg I ₂ /g)	Índice de saponificación (mg KOH/g)	Acidez (g/100 g)
0,3 ± 0,1	134,7 ± 2,0	188,0 ± 2,0	0,08 ± 0,01

co (AC) y un extracto orgánico (Org). Estas fracciones son de naturaleza polar. En todos los casos los extractos obtenidos fueron confirmados positivamente mediante las pruebas de Shinoda y álcali como indicativo de la presunción de flavonoides. En relación a la elección de experimentar con el extracto metanólico-acuoso y orgánico, fue sustentada debido al hecho previamente determinado de que estas fracciones contienen los flavonoides más polares y estructuras glucosídicas (Mabry *et al.*, 1970; Moreno-Alvarez *et al.*, 1990, 2004), los cuales pueden producir cambios en los potenciales de oxidación-reducción o quelación de ciertos minerales esenciales presentes en el medio además de ser los compuestos con mejor potencial antioxidante. En tal sentido se presume que en el extracto acuoso hay la presencia de compuestos altamente hidroxilados como diglicósidos, triglicósidos y flavonoides sulfatados y en el extracto orgánico compuestos poco hidroxilados como monoglicósidos, flavonoides sulfatados y cumarinas. Martínez-Valverde *et al.*, (2000) describen que estos compuestos fenólicos pueden inhibir la oxidación, dándose en tres formas diferentes: quelando ciertos minerales como el cobre Cu a través de la estructura ortodihidroxy fenólica, capturando radicales alcoxi y peroxi, al actuar como donantes de hidrógeno y regenerando el α -tocoferol mediante la reducción del radical α -tocoferoxyl. Los radicales peroxyl formados mediante la reacción de un antioxidante fenólico con un radical lipídico es estabilizado mediante la localización de electrones desapareados alrededor del anillo aromático, el cual le confiere alta estabilidad química.

En la Tablas III y IV se presenta la evaluación del índice de peróxido para las muestras de aceite de soja desodorizado acondicionado con el extracto acuoso metanólico final obtenidos de la harina de

cáscara de pomelo y semilla respectivamente. En general la actividad antioxidante de los extractos acuosos fue determinada por el incremento del índice de peróxidos en el tiempo, siendo comparados con un test control (sin antioxidantes). Se evidencian diferencias significativas entre los tratamientos acondicionados con los extractos de flavonoides, observándose un efecto antioxidante independientemente de la fuente de los metabolitos, relación peso harina / volumen de extracción y la concentración del extracto ($P < 0,05$). A las 300 h se evidencia un marcado efecto protector de los extractos con respecto a la muestra considerada como control (independientemente de la fuente, concentración, proporción p/v de extracción). Al comparar el valor de índice de peróxidos a las 300 horas del control (70,8 meq₂/kg) con respecto a valores alcanzados (rangos) en el aceite acondicionado con extractos de cáscaras (Figuras 1, 2 y 3) (20,5 – 44,7 meq₂/kg) y extractos de semillas (Figuras 4, 5 y 6) (17,8 – 47,7 meq₂/kg) se logra evidenciar el marcado efecto antioxidante de los metabolitos en el aceite de soja desodorizado. El control alcanza un valor de índice de peróxido de 101,2 meq₂/kg a las 480 horas (lo cual supone un completo deterioro como aceite para consumo), si se compara estos valores con los encontrados para el tratamiento harina de semilla acuoso 0,5:25 al 0,01% (47,7 meq₂/kg) y harina de la cáscara acuoso 0,5:25 al 0,75% (67,8 meq₂/kg) lo cual permite inferir que estos dos últimos tratamientos presentaron los mejores efectos antioxidantes, hecho sustentado con anterioridad ya que se presume la presencia de compuestos químicos altamente hidroxilados que protegen la oxidación de los ácidos grasos (Moreno-Alvarez *et al.*, 2004). El efecto de protección del aceite acondicionado con los extractos se mantuvo hasta el final de la experiencia (600 h).

En la figuras 1, 2, 4, 5 y 6 se presenta la variación del índice de peróxidos en función del tiempo para el aceite de soja desodorizado acondicionado con extractos acuosos obtenidos de la harina de cáscara y semilla de pomelo. La tendencia observada es una marcada similitud en las familias de curvas (Figura 1, 2 y 3) en el periodo comprendido entre la primera evaluación hasta las 150 horas de estudio. A partir de las 200 horas se observa una conducta desigual, siendo muy marcada a las 400 horas, observándose una mayor oxidación del control (situación similar se pudo detectar en la Figuras 4, 5 y 6) en la cual se muestra el efecto protector de los metabolitos extraídos de las semillas. Las curvas exponenciales de las relaciones harina de cáscara / solvente 0,5:25; 1,0:25 y 2:25 de las concentraciones 0,10; 0,75 y 0,10 respectivamente, presentaron las menores pendientes, lo cual indica que a lo largo de las 600 horas de evaluación resultaron las mejores tendencias como antioxidante natural. Hecho similar se pudo detectar en las relaciones harina de semilla / solvente 0,5:25; 1,0:25 y 2,0:25 de las concentraciones 0,01; 0,10 y 0,10 respectivamente. En ambos casos los extractos acuosos tuvieron la mayor capacidad antioxidante, sin

Tabla III
Valores promedio de peróxido (meqO₂/Kg) obtenido en el aceite de soja acondicionado con extracto de flavonoides de semilla

Muestra	Tiempo (h)																								
	24	48	72	96	120	144	168	188	216	240	264	288	312	336	360	384	408	432	456	480	504	528	552	576	600
Control	0,4	0,8	2,0	2,4	2,8	2,9	5,5	11,2	24,0	28,2	31,1	35,1	70,8	71,8	79,0	79,9	83,7	92,1	98,3	101,2	111,0	113,9	114,6	115,7	126,8
Orgánico 2:25 al 0,01%	0,4	1,2	1,6	1,6	1,9	1,9	2,8	3,2	9,0	12,6	16,4	22,7	25,3	39,5	40,5	44,0	44,0	63,2	65,0	67,8	67,9	74,0	76,2	86,7	90,8
Orgánico 2:25 al 0,75%	0,4	1,2	1,9	2,1	2,3	2,4	2,6	4,2	7,3	11,7	16,7	26,3	39,8	43,3	52,3	52,6	59,9	67,7	67,9	71,2	83,3	83,6	86,4	87,4	98,8
Orgánico 2:25 al 0,10%	0,4	0,8	1,2	2,0	2,1	2,1	3,1	3,2	6,4	11,7	16,4	28,3	32,5	47,4	47,8	48,1	48,2	63,1	79,2	79,6	79,9	80,0	81,5	83,8	87,7
Orgánico 1:25 al 0,01%	0,4	0,4	1,7	1,7	1,9	2,0	3,2	4,0	7,7	15,8	21,2	28,7	44,7	51,2	51,7	53,8	60,0	60,2	79,4	80,6	87,6	87,8	89,1	91,3	91,5
Orgánico 1:25 al 0,75%	0,4	0,4	1,2	1,6	2,0	2,0	3,7	4,5	5,7	12,4	17,5	29,7	33,1	35,4	39,8	40,0	40,4	63,7	79,6	79,7	81,5	86,9	87,8	87,9	91,0
Orgánico 1:25 al 0,10%	0,4	0,4	1,2	1,6	1,6	1,6	2,4	4,9	9,9	12,0	20,2	26,0	37,2	39,6	55,7	55,7	59,3	59,8	71,1	71,7	86,5	88,0	89,0	91,1	91,1
Orgánico 0,5:25 al 0,75% ^{0,4}	0,8	1,6	2,0	2,0	2,1	2,4	2,7	5,7	9,3	16,6	21,0	31,9	47,7	49,3	51,6	58,9	59,7	72,0	79,9	83,5	91,7	91,9	92,8	95,5	95,6
Orgánico 0,5:25 al 0,10% ^{0,4}	0,8	1,2	2,0	2,0	2,0	2,1	3,5	5,7	9,3	16,5	20,4	27,1	40,6	49,2	51,2	62,6	71,0	71,6	72,6	74,5	83,2	84,0	87,1	87,1	87,4
Acuoso 2:25 al 0,75%	0,4	0,9	2,0	2,0	2,0	2,0	2,5	3,0	7,9	15,8	17,9	27,6	27,9	35,7	35,9	35,9	36,0	47,7	63,9	63,9	67,5	68,0	75,4	76,3	86,7
Acuoso 2:25 al 0,10%	0,5	0,8	2,0	2,0	2,0	2,4	3,5	4,4	7,8	12,0	19,9	28,6	36,1	40,0	46,7	51,5	51,5	53,6	67,3	74,6	83,3	83,6	83,7	83,9	85,7
Acuoso 1:25 al 0,01%	0,4	0,8	0,8	1,2	1,9	2,3	2,7	4,0	8,3	13,6	24,0	28,5	33,1	39,5	40,0	51,4	67,4	71,6	75,6	87,2	87,5	87,5	87,8	91,4	91,9
Acuoso 1:25 al 0,75%	0,5	1,1	1,9	2,0	2,0	2,1	3,3	4,8	9,4	14,7	21,6	30,0	47,6	55,2	55,7	59,1	70,7	71,6	79,2	79,4	87,1	87,6	89,8	90,7	91,3
Acuoso 1:25 al 0,10%	0,4	0,8	1,2	1,6	2,0	2,0	2,8	3,3	4,3	9,6	12,1	21,6	28,2	34,5	35,8	39,6	39,9	75,4	75,4	75,6	78,0	79,4	79,6	81,6	83,9
Acuoso 0,5:25 al 0,01%	0,4	0,8	1,1	1,5	2,0	2,4	2,8	3,2	3,2	7,6	14,7	16,2	17,8	25,6	27,0	35,8	39,1	43,9	46,2	47,7	63,5	63,8	67,4	68,0	88,1
Acuoso 0,5:25 al 0,75%	0,4	1,2	1,2	1,5	1,9	2,4	2,4	3,5	7,6	8,3	16,5	23,3	23,8	25,2	35,3	35,7	56,3	63,7	84,7	91,2	91,8	92,1	95,4	96,5	96,6
Acuoso 0,5:25 al 0,10%	0,4	1,2	2,0	2,0	2,0	2,4	3,2	3,2	3,6	14,3	24,1	25,8	35,6	39,7	39,8	59,9	66,7	67,5	77,1	90,0	98,3	98,4	98,6	100,0	100,0

Tabla IV
Valores de peróxido obtenido en el aceite de soja acondicionado con extracto de flavonoide de cáscaraj*

Muestra	Tiempo (h)																								
	24	48	72	96	120	144	168	188	216	240	264	288	312	336	360	384	408	432	456	480	504	528	552	576	600
Control	0,4 a	0,8 a	2,0 b	2,4 b	2,8 b	2,9 b	5,5 b	11,2 c	24,0 b	28,2 e	31,1 f	35,1 f	70,8 f	71,8 g	79,0 h	79,9 i	83,7 i	92,1 j	98,3 k	101,2 k	111,0 l	113,9 m	114,6 m	115,7 m	126,8 n
Orgánico 2:25 al 0,01%	0,4 a	0,4 a	1,6 b	2,0 b	2,0 b	2,4 b	4,1 b	7,7 c	15,3 d	15,4 d	22,4 e	27,2 f	31,4 g	55,9 h	56,4 h	56,5 i	59,5 i	64,0 j	66,9 j	79,8 k	80,1 k	80,3 l	83,2 m	83,4 m	88,0 n
Orgánico 2:25 al 0,75%	0,8 a	0,8 a	2,0 b	2,0 b	2,0 b	3,1 c	4,4 c	6,7 d	12,5 e	15,3 f	22,4 g	25,3 h	36,1 i	56,2 j	59,7 k	61,0 k	63,5 l	63,5 l	79,8 m	79,8 m	80,0 m	83,9 n	84,5 n	87,6 o	92,4 p
Orgánico 2:25 al 0,10%	0,4 a	0,4 a	1,0 a	2,1 a	2,4 a	2,4 a	4,0 b	7,4 c	17,1 d	19,5 d	24,3 e	30,6 f	44,7 g	47,9 g	56,0 h	63,1 i	63,9 i	68,7 j	77,1 k	89,2 l	91,4 l	91,5 l	95,9 o	96,4 p	
Orgánico 1:25 al 0,01%	0,4 a	0,8 b	1,0 b	2,0 c	2,0 c	2,8 c	3,6 c	10,1 d	19,9 e	24,1 f	25,4 f	30,8 g	32,0 g	47,5 h	48,0 h	79,7 i	80,0 i	81,2 j	83,4 j	83,9 j	94,6 k	95,6 k	99,5 l	99,7 l	99,9 l
Orgánico 1:25 al 0,75%	0,4 a	0,8 a	2,0 a	2,0 a	2,4 a	2,4 a	4,4 a	4,5 a	15,1 b	21,1 c	23,7 c	31,1 d	35,7 d	60,5 e	63,4 e	63,6 e	71,9 f	76,0 g	76,5 g	78,8 g	85,3 h	95,7 i	96,2 i	97,7 i	98,6 i
Orgánico 1:25 al 0,10%	0,7 a	1,2 a	2,0 a	2,0 a	2,4 b	2,4 b	5,0 b	8,9 c	17,9 d	20,3 d	24,5 e	29,2 f	35,9 g	50,9 h	51,5 h	59,5 i	64,6 j	71,1 k	87,9 l	101,3 m	103,2 n	104,0 n	104,0 n	105,0 n	111,0 o
Orgánico 0,5:25 al 0,01%	0,4 a	0,8 a	1,0 a	1,6 a	2,0 a	2,0 a	4,9 b	8,4 c	16,7 d	20,9 e	28,1 f	28,3 f	35,1 g	51,7 h	63,8 i	64,2 i	71,6 j	72,0 j	79,0 k	79,9 k	99,2 l	99,7 l	101,7 m	103,5 n	103,6 n
Orgánico 0,5:25 al 0,75%	0,8 a	1,6 b	2,0 b	2,0 b	2,4 b	2,8 b	4,4 c	7,9 d	15,5 e	17,9 f	23,5 g	31,2 h	39,6 i	59,2 j	59,5 j	67,7 k	68,2 k	71,0 l	72,1 l	75,6 m	100,7 n	103,2 o	104,0 o	107,7 p	103,6 o
Orgánico 0,5:25 al 0,10%	0,5 a	1,2 a	1,6 a	2,0 a	2,4 a	2,4 a	3,6 a	8,3 b	15,3 c	22,0 d	24,3 e	26,9 e	35,8 f	59,5 g	59,5 h	64,3 i	64,7 i	73,6 j	87,2 k	87,2 k	94,0 l	95,2 l	95,5 l	95,5 l	112,0 m
Acuoso 2:25 al 0,01%	0,5 a	0,8 a	1,2 b	1,2 b	1,6 b	1,7 b	2,7 c	3,6 c	7,8 d	11,2 e	14,7 f	25,5 g	39,9 h	45,2 i	46,0 j	47,7 j	47,7 j	63,4 k	78,8 l	79,1 l	91,5 m	98,9 n	99,3 n	99,8 n	100,0 n
Acuoso 2:25 al 0,75%	0,4 a	1,2 a	1,3 a	2,0 a	2,1 a	2,4 a	3,1 a	4,0 a	8,0 b	10,1 b	15,0 c	24,0 d	36,9 e	45,0 f	58,4 g	59,3 g	71,9 h	79,5 i	79,6 i	86,9 j	86,9 j	88,4 j	90,0 k	91,9 k	92,0 k
Acuoso 2:25 al 0,10%	0,4 a	0,8 a	2,0 b	2,0 b	2,1 b	2,4 b	2,7 b	4,2 b	7,6 c	14,9 d	16,9 d	25,0 e	35,5 f	39,5 g	46,6 h	46,6 h	62,5 i	63,2 i	71,9 j	72,5 j	82,4 k	84,4 l	84,4 l	86,9 m	87,4 m
Acuoso 1:25 al 0,75%	0,4 a	1,2 a	1,6 a	1,6 a	1,6 a	2,4 a	3,2 a	5,2 b	10,3 c	15,4 c	19,6 c	19,9 d	20,5 d	25,9 d	35,9 e	51,9 f	63,0 f	67,2 f	67,3 g	68,0 g	83,5 h	84,4 h	87,6 h	87,8 h	87,8 h
Acuoso 1:25 al 0,10%	0,4 a	0,8 a	1,2 b	1,5 c	2,0 c	3,3 c	3,5 c	7,5 d	11,1 e	12,0 e	14,3 e	25,2 f	35,8 h	51,1 i	63,2 j	63,2 j	67,4 k	71,4 l	79,1 m	79,5 m	80,1 m	83,3 m	86,9 o	87,2 o	87,2 o
Acuoso 0,5:25 al 0,01%	0,4 a	1,1 b	1,2 b	1,5 b	1,6 b	2,3 b	2,9 b	3,2 b	7,5 c	11,2 d	13,9 e	23,4 f	37,0 g	38,8 h	39,9 h	47,0 i	51,3 j	51,4 j	79,6 k	87,6 l	87,6 l	88,4 l	88,6 l	89,0 l	91,4 m
Acuoso 0,5:25 al 0,75%	0,5 a	1,2 b	1,6 b	2,4 c	2,4 c	3,0 c	3,7 c	6,6 d	9,9 e	17,6 f	17,6 f	23,6 g	26,4 h	47,0 i	47,6 j	47,6 j	47,7 j	59,6 k	67,3 l	67,3 l	75,8 m	82,9 n	83,7 n	83,8 n	84,4 n
Acuoso 0,5:25 al 0,10%	0,4 a	1,2 a	1,6 b	1,9 b	1,9 b	2,0 b	2,5 b	3,7 b	7,1 c	10,6 d	15,3 e	24,4 f	31,6 g	31,7 g	43,3 h	50,5 i	51,3 i	63,5 j	64,9 j	71,4 k	71,8 k	79,1 l	79,3 l	79,9 l	84,6 m

*Valores promedios de tres repeticiones expresados como meqO₂/Kg

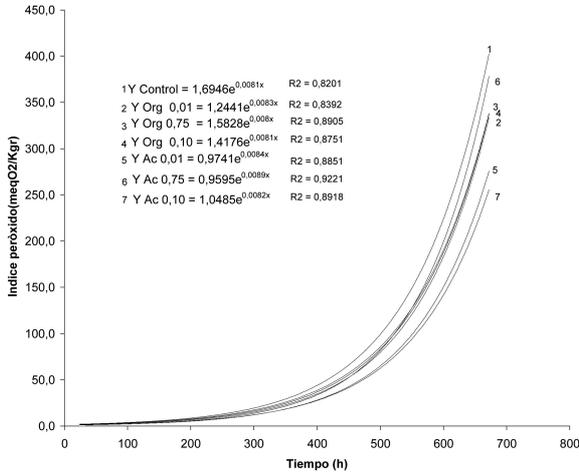


Figura 1

Efecto del extracto de flavonoides de la cáscara en un aceite desodorizado de soja en proporción p/v 0,5:25.

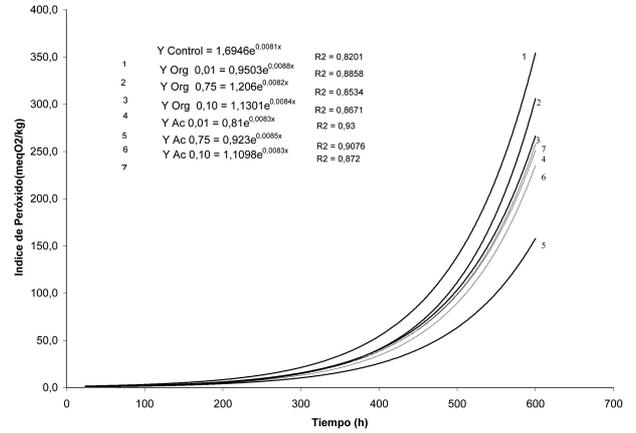


Figura 4

Efecto del extracto de flavonoides de la semilla en un aceite desodorizado de soja en proporción p/v 0,5:25.

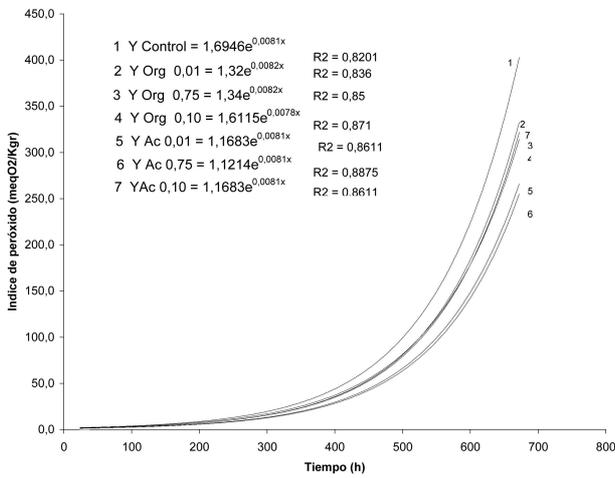


Figura 2

Efecto del extracto de flavonoides de la cáscara en un aceite desodorizado de soja en proporción p/v 1:25.

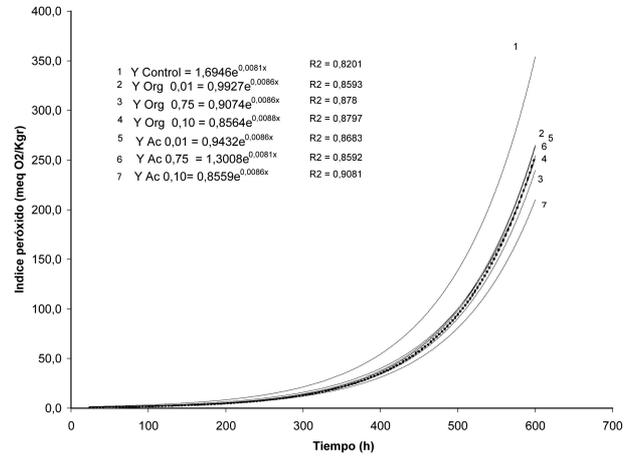


Figura 5

Efecto del extracto de flavonoides de la semilla en un aceite desodorizado de soja en proporción 1:25.

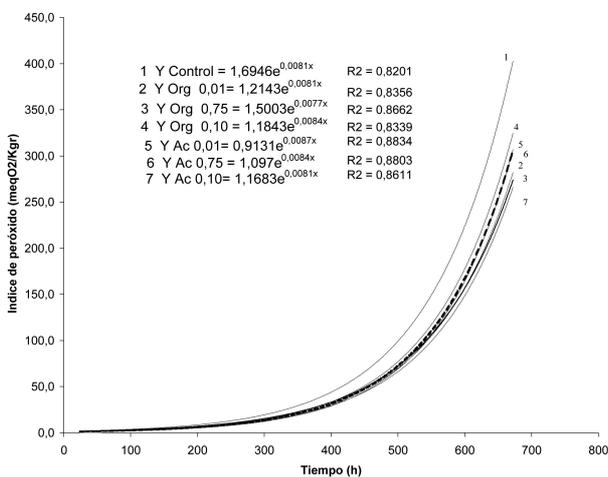


Figura 3

Efecto del extracto de flavonoides de la cáscara en un aceite desodorizado de soja en proporción p/v 2:25.

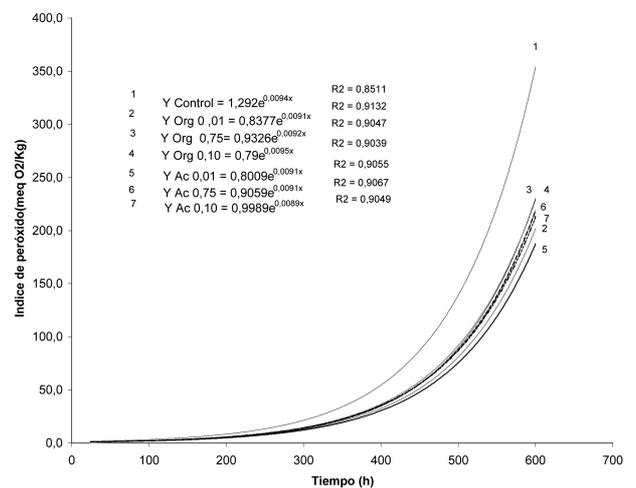


Figura 6

Efecto del extracto de flavonoides de la semilla en un aceite desodorizado de soja en proporción p/v a 2:25.

embargo no hay una tendencia definida del papel que juega la relación peso harina/ volumen en la extracción inicial, en lo que respecta a la adecuación de la extracción de los metabolitos con capacidad antioxidativa. A este respecto algunos autores señalan que ciertos flavonoides presentan actividad sinérgica, por lo cual es necesaria la concurrencia de metabolitos minoritarios en bajas concentración o en trazas para que puedan desarrollar el efecto químico adecuado; por el contrario altas concentraciones pueden presentar el efecto inverso y estimular el efecto prooxidativo (Moreno-Álvarez *et al.*, 2004).

En ninguno de los tratamientos se logró evidenciar eventos de pro-oxidación estimulados por los extractos incorporados. Situación diferente había sido descrita por Carrasqueño *et al.*, (1998) quien señala que la inclusión de un polvo comercial (Inmatol Plus®) obtenido de semillas de pomelo había logrado pro-oxidar un aceite comercial. Estas diferencias podrían estar asociadas a diferencias en el perfil de los metabolitos secundarios presentes en los extractos, con respecto al producto comercial investigado. Debido a diferencias en la composición química intrínsecamente entre el polvo y los compuestos químicos extraídos por los solventes.

4. CONCLUSIONES

Se concluye que las muestras de aceites de soja desodorizados acondicionados con extractos acuosos de flavonoides (extraídos de harinas de cáscaras y semillas de pomelo) presentaron un importante efecto antioxidativo, con respecto a las muestras consideradas como control (sin acondicionamiento con extractos). Lo cual sugiere que los metabolitos de naturaleza polar extraídos con solventes orgánicos pueden ser utilizados como agentes antioxidantes naturales. Las harinas evaluadas resultan un subproducto hasta ahora no explotado en el campo de los antioxidantes de grasas y aceites, con lo cual se estaría utilizando una fuente no convencional de metabolitos secundarios con actividad antioxidante y el uso integral de un fruto producido en el país.

AGRADECIMIENTOS

Esta investigación fue financiada por el Programa Proyecto Emergentes Pem-2001002271 del FONACIT-UNESR. La empresa Cargill de Venezuela ubicada en Valencia, dono el aceite de soja utilizado en esta investigación

BIBLIOGRAFÍA

Albornoz A. 1980. Productos naturales, sustancias y drogas extraídas de las plantas. Universidad Central de Venezuela (UCV). Facultad de Ciencias. Caracas, Venezuela.

- Arthey D. 1997. Procesados de frutas. Zaragoza. España, Acribia.
- Carrasquero A, Salazar M, Navas P.B. 1998. Antioxidant Activity of grapefruit seed extracts in vegetable oils. *J. Sci. Food Agri.* **77**, 463-467.
- Codex Alimentarium. 2003. Norma del Codex para el Aceite de Soja Comestible. Codex Stan 10-1981.
- COVENIN 1983. Frutas y productos derivados. Norma 924 Determinación de Sólidos Solubles por Refractometría. 14 pp.
- COVENIN 1977. Alimentos para animales Norma 1151. Alimentos para animales. Determinación de Acidez titulable e iónica. 7 pp.
- COVENIN 1978. Aceites y grasas. Norma 508. Aceites y Grasa Vegetales. Determinación de Índice de Peróxidos. 4 pp.
- COVENIN 1982. Aceites y grasas. Norma 324. Aceites y Grasa Vegetales. Determinación de Índice de Iodo por el método de Wijs. 7 pp.
- COVENIN 1998. Aceites y grasas. Norma 324. Determinación de Índice de saponificación. 4 pp.
- COVENIN 1980. Aceites y grasas. Norma 325. Determinación de Índice de la Acidez. 4 pp.
- COVENIN 1979. Alimentos para animales. Norma 1156. Alimentos para animales y Determinación de Humedad. 6 pp.
- Domínguez, X. 1979. Métodos de investigación fotoquímica. Limusa, México. 81-90 pp.
- FAO. 2001. Organización mundial de las naciones unidas para la agricultura alimentaria Anuario de producción. Roma.
- Harborne JB, Williams C. 2000. Flavonoids, *Advances in Research since 1992. Phytochem.* **55**, 481-504.
- INN. 2001. Tabla de Composición de Alimentos para Uso práctico. Publicación N° 404. Serie Cuadernos azules. Instituto Nacional de Nutrición. Caracas, Venezuela. 97 pp.
- Kale PN, Adsule PG. 1995. *Citrus* In Salunkhe D.K, Kadam, S.S. (Ed.). Handbook of Fruits Science and Technology; Production, Composition, Storage and Processing. Marcel Dekker Inc. New York. pp. 39-65.
- Mabry T, Markham K, Thomas B. 1970. The systematic identification on flavonoids. Springer-Verlag. New York, USA.
- Martínez-Valverde I, Periago MJ, Ríos G. 2000. Significado nutricional de los compuestos fenólicos de la dieta. *Arch. Latin. Nutric.* **50**, 5-17.
- Mehlenbacher VC. 1979. Análisis de grasas y aceites. URMO S.A de Ediciones Bilbao, España. 213 pp.
- Moreno-Álvarez MJ, Hurtado J, Silva JF, Fariñas MR. 1984. Evidencias químicas poblacionales de *Espeletia schultzei* Wedd (Compositae) basado en sus flavonoides. *In: VII Congreso Venezolano de Botánica, Caracas, Venezuela.* pp 23.
- Moreno-Álvarez MJ, Hurtado J, Silva JF, Fariñas MR, Azócar A. 1990. Algunas evidencias poblacionales de formación de híbridos entre *Espeletia batata* Cuatr. y *E. schultzei* Wedd en el altíandino venezolano. *Ecotrópicos*, **3**, (2) 57-66.
- Moreno-Álvarez MJ, Gómez C, Mendoza J, Belén D. 1999. Carotenoides totales en cáscara de naranja *Citrus sinensis* L. var. Valencia. *Rev. Unell. Cien Tec.* **17**, 92-99.
- Moreno-Álvarez MJ. 2003. Algunas experiencias en la utilización de cáscaras de naranja *Citrus sinensis* L variedad Valencia [Trabajo de ascenso para optar la categoría de Profesor Titular]. Canoabo: Universidad Nacional Experimental Simón Rodríguez.

Moreno-Álvarez MJ, Belén DR, Sánchez MP, Vitoria-Matos M, García D. 2004. Evaluación de la actividad antioxidante de extractos de flavonoides de cáscaras de naranja en el aceite de soja desodorizado. *Interciencia*, **29** (9) 532-538.

Moreno-Álvarez MJ, Medina C, Antón L, García D, Belén Camacho D. 2003. Uso de pulpa de tuna (*Opuntia boldinghii*) en la elaboración de bebidas cítricas pigmentadas *Interciencia*, **28**, (9) 539-543

Sakakibara H, Honda Y, Nakagawa S, Ashida H, Kanazawa K. 2003. Simultaneous Determination of all polyphenols in Vegetables, Fruits, and Teas. *J. Agric. Food Chem.* **51**, 571-581.

SAS 1999. *User's guide* SAS Statgraphics. Version 6.0 Statistical Analysis System Institute. USA

Recibido: 19/11/05

Aceptado: 18/6/07