

## Extracción de antioxidantes a partir de subproductos del procesado de la almendra

Por Ignacio Garrido, María Monagas, Carmen Gómez-Cordovés y Begoña Bartolomé\*

Instituto de Fermentaciones Industriales (CSIC). Juan de la Cierva 3, 28006 Madrid. España.  
Tel.: +34 91 5622900  
Fax: +34 91 5644853  
E-mail: bartolome@ifi.csic.es

### RESUMEN

#### Extracción de antioxidantes a partir de subproductos del procesado de la almendra.

En este trabajo se han ensayado 8 disolventes/mezclas distintas para la extracción de antioxidantes a partir de los subproductos derivados del procesado industrial de la almendra (piel, cáscara y mesocarpio). Se ha determinado la capacidad de absorción de radicales oxígeno (ORAC) de los extractos, así como su contenido fenólico. La solución extractante metanol/HCl (1000:1, v/v) resultó más efectiva para la piel y el mesocarpio, mientras que para la cáscara lo fue la mezcla acetona/agua (50:50, v/v), dando lugar a valores ORAC<sup>Fluoresceína</sup> de 0,467, 1,45 y 0,0504 mmol de Trolox/mg, respectivamente. Por otro lado, las mezclas acetona/agua presentaron los valores más altos de polifenoles totales y proantocianidinas para los tres subproductos ensayados. Finalmente, se concluye que los subproductos del procesado de la almendra, en particular, la piel y el mesocarpio, poseen una capacidad antioxidante similar a los subproductos de la uva actualmente empleados en la formulación de complementos antioxidantes.

**PALABRAS-CLAVE:** Almendra – Antioxidantes – ORAC-fluoresceína – Polifenoles – Proantocianidinas.

### SUMMARY

#### Extraction of antioxidants from almond-processing byproducts.

In this work, 8 different solvents/mixtures have been tested for the extraction of antioxidants from by-products derived from the industrial processing of almonds (skin or seed coating, brown hull, and green shell cover or mesocarp). The oxygen radical absorption capacity (ORAC) as well as the phenolics content of the extracts has been determined. The extracting solution methanol/HCl (1000:1, v/v) was the most effective for the almond skin and shell, whereas, for the hull, it corresponded to acetone/water (50:50, v/v), resulting in ORAC<sup>Fluorescein</sup> values of 0.467, 1.45 and 0.0504 mmol of Trolox/mg, respectively. At the same time, the mixtures acetone/water exhibited the highest content of total polyphenols and proanthocyanidins for the three by-products studied. Finally, results have shown that the by-products derived from almond processing, in particular, the skin and shell, possess a similar antioxidant capacity to that of grape by-products which are currently used in the development (or production) of antioxidant products.

**KEY-WORDS:** Almonds – Antioxidants – ORAC-fluorescein – Polyphenols – Proanthocyanidins.

### 1. INTRODUCCIÓN

Los frutos secos son alimentos grasos tradicionalmente vinculados a la dieta Mediterránea. Su consumo habitual, en dosis moderadas, reduce los niveles de colesterol total y de colesterol LDL en sangre, y se asocia, junto con otros alimentos, con una menor incidencia de enfermedades cardiovasculares (Salas-Salvadó *et al.*, 2005). Además de su contenido y perfil lipídico, los efectos beneficiosos de los frutos secos en la salud humana se atribuyen a la presencia, entre otros, de compuestos con actividad antioxidante (Wijeratne *et al.*, 2006). Estos compuestos antioxidantes se encuentran tanto en la semilla como en las diferentes cubiertas que recubren los frutos evitando o retrasando la oxidación de los ácidos grasos. La capacidad antioxidante de algunos frutos secos como la almendra difiere según se presentan con o sin piel, siendo alrededor del 50% menor para los frutos pelados (Blomhoff, 2005).

La almendra (*Prunus dulcis* (mill.) D. A. Webb) pertenece a la familia Rosaceae, cuyo fruto es una drupa formada por un mesocarpio carnoso de color verde que alberga en su interior una almendra de cáscara dura o blanda según las variedades. En el interior se encuentra un grano rodeado por un fino tegumento (piel) que por lo general se elimina en el procesado industrial mediante la operación de repelado (Vargas, 2005). En total, el procesado industrial de este fruto seco se basa en cinco etapas que son selección, descascarado, calibrado, repelado y tostado (estas dos últimas optativas). El rendimiento de este procesado es variable en función de la variedad de la almendra, pero para obtener una tonelada de almendras peladas se necesitan aproximadamente 4-5 toneladas de almendra con cáscara, de modo que una considerable proporción del fruto inicial no se utiliza en la alimentación humana, pudiendo destinarse a otros usos. Los subproductos del procesado industrial de la almendra (piel, cáscara y mesocarpio) se dan salida como alimento para ganado para bovino y ovino, como materia prima para la obtención de energía, y en otros fines más específicos como ingredientes endurecedores en procesos de fusión con cauchos y gomas. Sin embargo, en los últimos años, se es-

tá investigando la posible obtención, a partir de estos subproductos, de compuestos/fracciones con buenas propiedades antioxidantes susceptibles de emplearse como aditivos en el control de procesos oxidativos en la industria alimentaria, o como ingredientes funcionales en complementos dietéticos. Así, se ha evaluado la capacidad antioxidante, empleando muy diversas metodologías, de extractos hidro-etanólicos (80% etanol) obtenidos a partir del mesocarpio, cáscara y semilla completa de la almendra (Siriwardhana y Shahidi, 2002; Wijeratne *et al.*, 2006). Otros estudios se refieren únicamente al mesocarpio empleando eter etílico (Takeoka y Dao, 2003), metanol, etanol (96%) y agua acidulada (pH=4) (Pinelo *et al.*, 2004) como extractores. Los antioxidantes presentes en la piel de la almendra también se han estudiado preparando extractos con metanol/agua/HCl (50:46.3:3.7, v/v/v) (Chen *et al.*, 2005; Milbury *et al.*, 2006), pero en ningún caso se han llevado a cabo estudios sistemáticos sobre las soluciones extractoras más efectivas para los tres subproductos. Éste es, precisamente, el objetivo de este trabajo, el ensayar distintos disolventes/mezclas para la extracción de antioxidantes a partir de los subproductos derivados del procesado industrial de la almendra (piel, cáscara y mesocarpio) aplicando una única metodología de evaluación de la capacidad antioxidante de los extractos que permita la comparación entre los subproductos.

## 2. MATERIALES Y MÉTODOS

### 2.1. Reactivos

La fluoresceína (FL) disódica y el ácido gálico se obtuvieron de Sigma (USA); el cloruro de cianidina, de Extrasynthèse (Francia); el ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico (Trolox) y el 2,2'-azobis (2-amidinopropano) dihidrocloruro (AAPH), de Aldrich (USA); y el reactivo Folin-Ciocalteu, de Merck (Alemania).

### 2.2. Obtención de los extractos

Se han utilizado muestras de piel, cáscara y mesocarpio procedentes del procesado industrial de la almendra, y suministradas por la empresa Borges S.A. (Reus, Spain). Las muestra se molieron en un molino Janke & Kunkel (Ika® Labortechnik, Wilmington, North Carolina, EEUU). La muestra molidada (0,05 g) se mezcló con 10 ml de distintas soluciones extractoras (Tablas 1-3), y se mantuvo durante 3 min en un baño de ultrasonidos. La mezcla se dejó reposar 10 min, se centrifugó (5000 rpm, 5 min, 5 °C) y se filtró (0,45 µm).

### 2.3. Capacidad antioxidante

Se siguió la metodología ORAC (Oxigen-Radical Absorbance Capacity, capacidad de absorción de radicales de oxígeno) empleando fluoresceína

como sustancia fluorescente (ORAC<sub>FL</sub>) (Dávalos *et al.*, 2004). La reacción se lleva a cabo en un volumen final de 200 µl. El extracto antioxidante hidrofílico (20 µl) y la fluoresceína (120 µl; 70 nM, concentración final) se preincubaban durante 10 min a 37 °C. A continuación, se adiciona AAPH (2,2'-Azobis (2-Amidino-Propano) Dihidroclorado) (60 µl; 12mM, concentración final), y se incubaba a 37 °C, midiendo la fluorescencia cada 56 s durante 98 min. Para ello, se emplea un lector de placas Polarstar Galaxy (BMG Labtechnologies GMBH, Offenburg, Germany) con filtros de emisión y excitación de 520 y 485 nm, respectivamente. La medida de fluorescencia del equipo se controla mediante el software Fluostar galaxy (versión 4.31-0). Las placas utilizadas fueron microplacas negras de 96 pocillos (96F, Nunc<sup>TM</sup>, Denmark). Todas las mezclas de reacción se preparan por duplicado y se lleva a cabo por lo menos 3 ensayos independientes para cada muestra.

Las curvas de fluorescencia se normalizaron con respecto a la curva del blanco (sin antioxidante). A partir de las curvas normalizadas se calcula el área bajo la curva (*area under the curve*, AUC) de descenso de fluorescencia utilizando la siguiente fórmula:

$$AUC = 1 + \sum_{i=1}^{i=98} f_i/f_0$$

en donde  $f_0$  es la lectura de la fluorescencia inicial en el minuto 0 y  $f_i$  es la lectura de la fluorescencia correspondiente al tiempo  $i$ .

El área bajo la curva neta (AUC<sub>neto</sub>) se calculará del siguiente modo:

$$AUC_{neto} = AUC_{antioxidante} - AUC_{blanco}$$

Se calcula la ecuación de regresión entre el área neta y la concentración de antioxidante. La pendiente de la ecuación se utilizará para calcular el valor de ORAC<sub>FL</sub> mediante la recta patrón obtenida a partir del Trolox (análogo hidrosoluble de la vitamina E). Los valores finales de ORAC se expresan en µmol de Trolox equivalentes (TE)/mg de muestra analizada.

### 2.4. Polifenoles totales

Se siguió el método de Singleton y Rossi (1965) que se basa en la oxidación en medio básico de los grupos hidroxilos de los fenoles por el reactivo de Folin-Ciocalteu. En un matraz aforado de 25 mL se añaden sucesivamente 0,5 mL de muestra, 0,5 mL de reactivo de Folin-Ciocalteu y 10 mL de una disolución de carbonato sódico (75 g/L), enrasando finalmente con agua destilada. Al cabo de 1 hora, se mide la absorbancia a 750 nm frente a un blanco preparado al mismo tiempo que la muestra y de la misma forma, pero sustituyendo el extracto del subproducto de almendra por agua destilada. Los resultados se expresan como mg de ácido gálico /g de subproducto.

## 2.5. Proantocianidinas

Se siguió el procedimiento descrito por Ribéreau-Gayon y Stonestreet (1966), basado en la transformación de las proantocianidinas en antocianidinas por calentamiento en medio ácido en presencia de  $\text{Fe}^{+2}$ . En un matraz redondo de 500 mL, se introducen 2 mL de muestra y 20 mL de reactivo clorhídrico (0,539 mM de sulfato ferroso ( $\text{FeSO}_4$ ) en *n*-butanol/ácido clorhídrico concentrado (50:50, v/v). Se acopla un refrigerante de aire al matraz y se calienta en baño María (90 °C) durante una hora. Transcurrido este tiempo, se enfría y el líquido se transfiere a un matraz de 25 mL, enrasándose con el reactivo clorhídrico. Se mide la absorbancia a 550 nm frente a un blanco preparado al mismo tiempo y de igual forma pero sin calentamiento. Los resultados se expresan como mg de cianidina /g de subproducto.

## 2.6. Análisis estadístico

Para determinar si existían diferencias significativas en la capacidad antioxidante y el contenido fenólico de los distintos extractos, se realizó el análisis ANOVA con la ayuda del programa Statgraphics Plus para Windows (versión 2.1; Statistical Graphics Corp. Rockville, MD).

## 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Inicialmente se comprobó que la metodología ORAC empleando fluoresceína como sustancia fluorescente es apta para la evaluación de la capacidad antioxidante de los extractos de los subproductos de almendra. A modo de ejemplo, la figura 1 recoge las cinéticas de degradación de la fluoresceína en ausencia (blanco, BLK) y en presencia de un extracto [Metanol/HCl (1000:1 v/v)] de piel de almendra. En ausencia de antioxidantes, los radicales peróxido generados por la descomposición térmica de AAPH degradan a la fluoresceína dando lugar a productos no fluorescentes, por lo que se observa una caída rápida de la fluorescencia inicial (Bl, Figura 1A). Los antioxidantes presentes en el extracto neutralizan los radicales peróxido, evitando así su reacción con la fluoresceína. Esto se traduce en un retraso de la caída de la fluorescencia inicial, el cual es mayor a medida que aumenta la cantidad de extracto en el ensayo (Figuras 1A). Se cuantifica el área debajo de la curva (AUC) para todas las cinéticas. Para cada concentración de antioxidante, se calcula el área neta restando el valor del área del blanco, y se representan los valores del área neta frente a la cantidad de extracto (Figuras 1B). A partir de la pendiente de esta curva se calcula el valor  $\text{ORAC}_{\text{FL}}$ , expresado como mmoles de TE/mg de subproducto.

Se han ensayado hasta ocho soluciones extractoras distintas utilizadas en el estudio de compuestos fenólicos en muestras vegetales: metanol acidulado [Metanol/HCl (1000:1 v/v)], mezclas metanol (acidu-

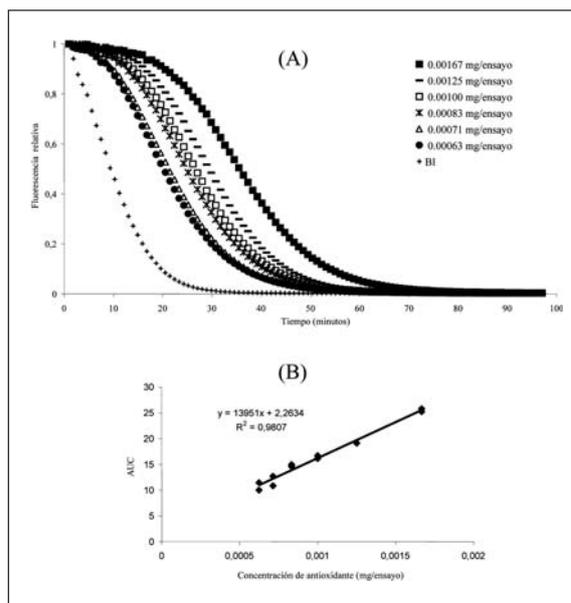


Figura 1  
(A) Cinética de descenso de la fluorescencia de la fluoresceína en ausencia y en presencia de un extracto [Metanol/HCl (1000:1 v/v)] de piel de almendra.  
(B) Representación gráfica del área bajo la curva (AUC) en función de la concentración de antioxidante.

lado y no acidulado)/agua [Metanol/HCl (1000:1 v/v)]/Agua (50:50 v/v) y Metanol/Agua (50:50 v/v)], mezclas acetona(acidulada y no acidulada)/agua [Acetona/HCl (1000:1 v/v)]/Agua (50:50 v/v), Acetona/HCl (1000:1)/Agua (80:20 v/v), Acetona/Agua (50:50 v/v) y Acetona/Agua (80:20 v/v)], y agua (100 °C) (Tablas 1-3). Para los tres subproductos (piel, cáscara y mesocarpio), se determinó la capacidad antioxidante ( $\text{ORAC}_{\text{FL}}$ ) y contenido fenólico (polifenoles totales y proantocianidinas) de los extractos.

Para la piel de la almendra, el extracto metanol/HCl (1000:1 v/v) presentó el valor de  $\text{ORAC}_{\text{FL}}$  más alto (0,467 mmol de TE/mg), resultando significativamente diferente del resto (Tabla 1). Las mezclas acetona (acidulada y no acidulada)/agua (50:50, v/v) mostraron valores intermedios, presentando las mezclas metanol/agua (50:50, v/v) y acetona/agua (80:20, v/v), y el agua (100 °C) los valores de  $\text{ORAC}_{\text{FL}}$  más bajos (Tabla 1). Sin embargo, el contenido fenólico resultó significativamente mayor para las mezclas acetona(acidulada y no acidulada)/agua (50:50, v/v) y acetona acidulada/agua (80:20, v/v); siendo los valores de polifenoles totales y proantocianidinas correspondientes a estas muestras 41-55% y 76-92%, respectivamente, más altos que los correspondientes al extracto metanol/HCl (1000:1 v/v) (18,3 mg de ácido gálico/g y 25,3 mg de cianidina/g, respectivamente), que presentó el valor de  $\text{ORAC}_{\text{FL}}$  más elevado (Tabla 1). Se deduce, por tanto, que las soluciones extractoras ensayadas solubilizan compuestos fenólicos con distinta estructura química y potencial antioxidante, y que la mezcla metanol/HCl (1000:1 v/v) conduce a la extracción de aquellas estructuras fenólicas

Tabla 1  
Capacidad antioxidante (valor ORAC<sub>FL</sub>) y contenido fenólico (polifenoles totales y proantocianidinas) de los extractos de piel de almendra.

Solución extractante	Valor ORAC <sub>FL</sub> ( $\mu\text{mol de TE/mg}$ )*	Polifenoles totales (mg ac. de gálico/g)*	Proantocianidinas (mg de cianidina/g)*
Metanol/HCl (1000:1 v/v)	0,467 $\pm$ 0,022 <sup>d</sup>	18,3 $\pm$ 3,1 <sup>c</sup>	25,3 $\pm$ 2,3 <sup>bc</sup>
Metanol/Agua (50:50 v/v)	0,248 $\pm$ 0,021 <sup>a</sup>	14,9 $\pm$ 1,1 <sup>b</sup>	23,2 $\pm$ 1,0 <sup>b</sup>
(Metanol/HCl (1000:1 v/v))/Agua (50:50 v/v)	nd	15,0 $\pm$ 1,2 <sup>b</sup>	22,6 $\pm$ 1,8 <sup>b</sup>
Acetona/Agua (50:50 v/v)	0,401 $\pm$ 0,005 <sup>c</sup>	25,8 $\pm$ 2,6 <sup>d</sup>	44,6 $\pm$ 4,8 <sup>d</sup>
(Acetona/HCl (1000:1 v/v))/Agua (50:50 v/v)	0,334 $\pm$ 0,011 <sup>b</sup>	26,9 $\pm$ 2,7 <sup>d</sup>	48,8 $\pm$ 5,2 <sup>d</sup>
Acetona/Agua (80:20 v/v)	0,267 $\pm$ 0,027 <sup>a</sup>	21,3 $\pm$ 0,3 <sup>c</sup>	28,9 $\pm$ 2,5 <sup>c</sup>
(Acetona/HCl (1000:1))/Agua (80:20 v/v)	nd	28,4 $\pm$ 0,7 <sup>d</sup>	48,1 $\pm$ 1,6 <sup>d</sup>
Agua (100 °C)	0,235 $\pm$ 0,006 <sup>a</sup>	10,5 $\pm$ 0,9 <sup>a</sup>	16,5 $\pm$ 0,9 <sup>a</sup>

\*Valor medio  $\pm$  desviación estándar (n=3).

<sup>a, b, c, d</sup> Letras diferentes en una misma columna indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

nd – No determinado.

con mayor capacidad antioxidante presentes en la piel de la almendra, con una relación Procianidinas/Polifenoles totales más baja (1,38) que las mezclas acetona (acidulada y no acidulada)/agua (50:50 v/v) (1,81 y 1,73, respectivamente). Eso último indica que una mayor proporción de procianidinas no implica una mayor capacidad antioxidante probablemente debido a una mayor variación en su grado de polimerización y por tanto en su actividad.

A diferencia de la piel, las soluciones extractoras que conducen a la mayor capacidad antioxidante para la cáscara de almendra son las mezclas acetona (acidulada y no acidulada)/agua (50:50, v/v) (ORAC<sub>FL</sub> = 0,0485 y 0,0504  $\mu\text{mol de TE/mg}$ , respectivamente) (Tabla 2). Los valores intermedios de ORAC<sub>FL</sub> correspondieron a las mezclas metanol/agua (50:50, v/v) y agua (100 °C), mientras que el extracto metanol/HCl (1000:1 v/v) presentó el valor ORAC<sub>FL</sub> más bajo (Tabla 2). Además, las muestras con mayor capacidad antioxidante presentaron también el contenido fenólico más alto (1,60 y 2,06 mg de ácido gálico/g, respectivamente) (Tabla 2).

En el caso del mesocarpio de la almendra, al igual que para la piel, el extracto con metanol/HCl (1000:1 v/v) presentó el valor de ORAC<sub>FL</sub> (1,45  $\mu\text{mol de TE/mg}$ ) más alto, siendo significativamente diferente del resto (Tabla 3). Sin embargo, el contenido fenólico de este extracto (36,2 mg de

ácido gálico/g y 55,1 mg de cianidina/g, medido como polifenoles totales y proantocianidinas, respectivamente) fue inferior a los correspondientes a las mezclas acetona (acidulada y no acidulada)/agua (50:50, v/v) (41-51% más altos para polifenoles totales y 47-81% más altos para proantocianidinas) (Tabla 3), pero no así la relación Proantocianidinas/Polifenoles totales [1,52 para metanol/HCl (1000:1 v/v), 1,58 para acetona/agua (50:50, v/v), y 1,59 para (acetona/HCl (1000:1 v/v))/agua (50:50, v/v)]. Los valores de polifenoles encontrados en este trabajo son inferiores a los publicados por Pínelo et al., (2004) empleando como soluciones extractoras metanol (1,06-4,12 mg de ácido gálico/g), 96% etanol (2,31-7,21 mg de ácido gálico/g) y agua acidificada (pH=4) (0,77-1,78 mg de ácido gálico/g).

Considerando la solución extractante más efectiva en términos de capacidad antioxidante para cada uno de los tres subproductos, se observa que la capacidad antioxidante del mesocarpio de la almendra es alrededor de 3 veces mayor que la capacidad antioxidante de la piel, y alrededor de 28 veces mayor que la correspondiente a la cáscara. Con respecto a otros subproductos agroalimentarios, como los procedentes de la uva, la capacidad antioxidante de la piel de la almendra es del orden de la del hollejo de uva (ORAC<sub>FL</sub> = 0,428  $\mu\text{mol de$

Tabla 2  
Capacidad antioxidante (valor ORAC<sub>FL</sub>) y contenido fenólico (polifenoles totales y proantocianidinas) de los extractos de cáscara de almendra.

Solución extractante	Valor ORAC <sub>FL</sub> ( $\mu\text{mol de TE/mg}$ )*	Polifenoles totales (mg ac. de gálico/g)*	Proantocianidinas (mg de cianidina/g)*
Metanol/HCl (1000:1 v/v)	0,0296 $\pm$ 0,0002 <sup>a</sup>	0,82 $\pm$ 0,03 <sup>a</sup>	0,145 $\pm$ 0,004 <sup>a</sup>
Metanol/Agua (50:50 v/v)	0,0358 $\pm$ 0,0012 <sup>ab</sup>	1,16 $\pm$ 0,08 <sup>ab</sup>	0,407 $\pm$ 0,023 <sup>d</sup>
(Metanol/HCl (1000:1 v/v))/Agua (50:50 v/v)	0,0434 $\pm$ 0,0029 <sup>cd</sup>	1,05 $\pm$ 0,10 <sup>ab</sup>	0,324 $\pm$ 0,026 <sup>c</sup>
Acetona/Agua (50:50 v/v)	0,0504 $\pm$ 0,0026 <sup>e</sup>	2,06 $\pm$ 0,72 <sup>c</sup>	nd
(Acetona/HCl (1000:1 v/v))/Agua (50:50 v/v)	0,0485 $\pm$ 0,0016 <sup>de</sup>	1,60 $\pm$ 0,19 <sup>bc</sup>	nd
Agua (100 °C)	0,0403 $\pm$ 0,0048 <sup>bc</sup>	0,97 $\pm$ 0,11 <sup>a</sup>	0,201 $\pm$ 0,016 <sup>b</sup>

\* Valor medio  $\pm$  desviación estándar (n=3).

<sup>a, b, c, d, e</sup> Letras diferentes en una misma columna indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

nd – No determinado.

Tabla 3  
**Capacidad antioxidante (valor ORAC<sub>FL</sub>) y contenido fenólico (polifenoles totales y proantocianidinas) de los extractos de mesocarpio de almendra.**

Solución extractante	Valor ORAC <sub>FL</sub> ( $\mu\text{mol}$ de TE/mg)*	Polifenoles totales (mg ac. de gálico/g)*	Proantocianidinas (mg de cianidina/g)*
Metanol/HCl (1000:1 v/v)	1,45 $\pm$ 0,070 <sup>b</sup>	36,2 $\pm$ 3,1 <sup>a</sup>	55,1 $\pm$ 6,3 <sup>b</sup>
Metanol/Agua (50:50 v/v)	1,10 $\pm$ 0,012 <sup>a</sup>	38,3 $\pm$ 2,1 <sup>a</sup>	62,5 $\pm$ 3,4 <sup>b</sup>
(Metanol/HCl (1000:1 v/v))/Agua (50:50 v/v)	1,06 $\pm$ 0,046 <sup>a</sup>	40,3 $\pm$ 2,6 <sup>a</sup>	61,3 $\pm$ 1,6 <sup>b</sup>
Acetona/Agua (50:50 v/v)	1,09 $\pm$ 0,047 <sup>a</sup>	52,5 $\pm$ 0,7 <sup>b</sup>	82,7 $\pm$ 3,8 <sup>c</sup>
(Acetona/HCl (1000:1 v/v))/Agua (50:50 v/v)	1,14 $\pm$ 0,125 <sup>a</sup>	49,6 $\pm$ 3,2 <sup>b</sup>	79,1 $\pm$ 0,1 <sup>c</sup>
Agua (100 °C)	1,12 $\pm$ 0,079 <sup>a</sup>	31,6 $\pm$ 5,9 <sup>a</sup>	42,3 $\pm$ 0,7 <sup>a</sup>

\*Valor medio  $\pm$  desviación estándar (n=3).

<sup>a,b,c,d</sup> Letras diferentes en una misma columna indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

nd – No determinado.

TE/mg) (Monagas *et al.*, 2006), y la del mesocarpio de la almendra ligeramente inferior a la de las pepitas de uva (ORAC<sub>FL</sub> = 2,11  $\mu\text{mol}$  de TE/mg) (Monagas *et al.*, 2005), empleando la misma solución extractora [metanol/HCl (1000:1 v/v)] y metodología de evaluación de la capacidad antioxidante.

Para cuantificar el efecto de la solución extractante en la capacidad antioxidante de los tres subproductos de la almendra, se ha calculado la relación (ORAC<sub>FL solución más efectiva</sub> - ORAC<sub>FL solución menos efectiva</sub>)/ORAC<sub>FL solución más efectiva</sub>. La relación es superior para la piel (50%) y la cáscara (43%) que para el mesocarpio (27%), indicando que este parámetro es un factor esencial a la hora de plantear protocolos de obtención de compuestos antioxidantes a partir de estos subproductos, especialmente para la piel y la cáscara. Las diferencias respecto a la mezcla extractora más efectiva y su efecto en la capacidad antioxidante de cada subproducto se atribuyen a variaciones en la composición fenólica de los mismos. Así, la piel y el mesocarpio son relativamente más ricos en proantocianidinas (taninos condensados) que la cáscara, como lo indica la relación Proantocianidinas/Polifenoles totales, calculada para los extractos metanol/HCl (1000:1 v/v) de piel (1,38), cáscara (0,176), y mesocarpio (1,52). Pero, además la piel y el mesocarpio podrían contener otros y más variados antioxidantes fenólicos de bajo peso molecular muy solubles en metanol, como ácidos benzoicos, monómeros de flavan-3-oles, flavonoles, etc., que hacen que metanol/HCl (1000:1 v/v) sea la solución extractora más efectiva de todas las estudiadas, excepto para la cáscara donde los fenoles constitutivos (lignanós) son menos ácidos por contener más grupos metoxilo.

Para los extractos metanol/HCl (1000:1 v/v) de los tres subproductos de la almendra, también se ha calculado la relación ORAC<sub>FL</sub>/Polifenoles Totales como una medida de la "capacidad antioxidante ( $\mu\text{mol}$  de Trolox) por microgramo ( $\mu\text{g}$ ) de compuesto fenólico (ácido gálico)". El valor es mayor para el mesocarpio (0,040) y cáscara (0,036) que para la piel (0,0255), indicando que los dos primeros sustratos contienen compuestos fenólicos con mayor capacidad antioxidante que los compuestos presentes en la piel de la almendra.

#### 4. CONCLUSIONES

En este trabajo se demuestra la importancia de la elección de la solución extractora en la obtención de fracciones ricas en compuestos antioxidantes a partir de subproductos del procesado industrial de la almendra (piel, cáscara y mesocarpio), o de simplemente en la evaluación de la capacidad antioxidante de los mismos. De las soluciones extractoras ensayadas, el metanol/HCl (1000:1 v/v) es la más efectiva para la piel y el mesocarpio, mientras que para la cáscara lo es la mezcla acetona/agua (50:50, v/v). La capacidad antioxidante de los extractos de piel y mesocarpio de almendra es similar a la de subproductos de uva actualmente empleados en la formulación de complementos antioxidantes, lo que confirma las buenas posibilidades de estos subproductos para tales fines.

#### AGRADECIMIENTOS

I.G. agradece al Programa I3P (Fondo Social Europeo) la concesión de una beca de postgrado. Este trabajo ha sido financiado por la Comisión Interministerial de Ciencia y Tecnología (CYCIT) (Proyectos AGL2003-01088 y AGL2004-07075-C02-02).

#### BIBLIOGRAFÍA

- Blomhoff R. 2005. Antioxidantes y frutos secos: importancia en la prevención de las enfermedades crónicas en Salas-Salvadó J, Ros E, Sabaté J. (Ed.). *Frutos secos, salud y culturas mediterraneas*, 177-199. Editorial Glosa, Barcelona.
- Chen CY, Milbury PE, Lapsley K, Blumberg JB. 2005. Flavonoids from almond skins are bioavailable and act synergistically with vitamins C and E to enhance hamster and human LDL resistance to oxidation. *J. Nutr.* **135**, 1366-1373.
- Dávalos A, Gómez-Cordovés C, Bartolomé B. 2004. Extending applicability of the oxygen radical absorbance capacity (ORAC-Fluorescein) assay. *J. Agric. Food Chem.* **52**, 48-54.
- Milbury PE, Chen CY, Dolnikowski GG, Blumberg JB. 2006. Determination of flavonoids and phenolics and

- their distribution in almonds. *J. Agric. Food Chem.* **54**, 5027-5033.
- Monagas M, Garrido I, Bartolome B, Gomez-Cordovés C. 2006. Chemical characterization of commercial dietary ingredients from *Vitis Vinifera* L. *Anal. Chim. Acta* **563**, 401-410.
- Monagas M, Hernandez-Ledesma B, Garrido I, Martin-Alvarez PJ, Gomez-Cordovés C, Bartolomé B. 2005. Quality assessment of commercial dietary antioxidant products from *Vitis vinifera* L. grape seeds. *Nutr. Cancer* **53** (2), 244-254.
- Pinelo M, Rubilar M, Sineiro J, Núñez MJ. 2004. Extraction of antioxidant phenolics from almond hulls (*Prunus amygdalus*) and pine sawdust (*Pinus pinaster*). *Food Chem.* **85**, 267-273.
- Ribéreau-Gayon P, Stonestreet E. 1966. Dósaage des tanins du vin rouges et détermination du leur structure. *Chem. Anal.* **48**, 188-196.
- Salas-Salvadó J, García-Lorda P, Ros E. 2005. Fibra, frutos secos y enfermedades cardiovasculares en Salas-Salvadó J, Ros E, Sabaté J. (Ed.). *Frutos secos, salud y culturas mediterraneas*, 157-175. Editorial Glosa, Barcelona.
- Singleton VL, Rossi JA. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolibdicphosphotungstic acid reagent. *Am. J. Enol. Vitic.* **16**, 144-158.
- Siriwardhana SSKW, Shahidi F. 2002. Antiradical activity of extracts of almond and its by-products. *JAOCS* **79** (9), 903-908.
- Takeoka GR, Dao LT. 2003. Antioxidants constituents of almond [*Prunus dulcis* (Mill.) D. A. Webb] hulls. *J. Agric. Food Chem.* **51**, 496-501.
- Vargas FJ. 2005. Árboles productores de frutos secos. Origen, descripción, distribución y producción en Salas-Salvadó J, Ros E, Sabaté J. (Ed.). *Frutos secos, salud y culturas mediterraneas*, 21-54. Editorial Glosa, Barcelona.
- Wijeratne SSK, Abou-Zaid MM, Shahidi F. 2006. Antioxidants polyphenols in almond and its coproducts. *J. Agric. Food Chem.* **54**, 312-318.

Recibido: 21/8/06  
Aceptado: 9/11/06