

DOI: 10.26820/reciamuc/6.(3).julio.2022.459-469

URL: <https://reciamuc.com/index.php/RECIAMUC/article/view/928>

EDITORIAL: Saberes del Conocimiento

REVISTA: RECIAMUC

ISSN: 2588-0748

TIPO DE INVESTIGACIÓN: Artículo de revisión

CÓDIGO UNESCO: 23 Química

PAGINAS: 459-469



Estudio comparativo de polifenoles o fenoles totales y actividad antioxidante de la cascara citrus sínensis

Comparative study of polyphenols or total phenols and antioxidant activity of citrus sinensis peel

Estudo comparativo dos polifenóis ou fenóis totais e da actividade antioxidante da casca do citrus sinensis

Jeniffer Lucia Mora Loo¹; Daniel Oswaldo Cabrera Casillas²; Ana Ivonne Alarcón Mite³; Frella Soraya García Larreta⁴

RECIBIDO: 20/06/2022 **ACEPTADO:** 10/07/2022 **PUBLICADO:** 26/08/2022

1. Magister en Bioquímica Clínica; Química y Farmacéutica; Universidad de Guayaquil; Guayaquil, Ecuador; jeniffer.moral@ug.edu.ec; <https://orcid.org/0000-0002-3991-9271>
2. Diploma Superior en Gestión de Desarrollo de los Servicios de Salud; Magister en Gerencia de Servicios de Salud; Bioquímico Farmacéutico; Universidad de Guayaquil; Guayaquil, Ecuador; daniel.cabreraca@ug.edu.ec; <https://orcid.org/0000-0001-9195-2549>
3. Magister en Farmacia Clínica y Hospitalaria; Química y Farmacéutica; Universidad de Guayaquil; Guayaquil, Ecuador; ana.alarconm@ug.edu.ec; <https://orcid.org/0000-0002-1326-8407>
4. Diplomado en Docencia Superior; Magister en Diseño Curricular; Química y Farmacéutica; Universidad de Guayaquil; Guayaquil, Ecuador; soraya.garcial@ug.edu.ec; <https://orcid.org/0000-0002-5893-5939>

CORRESPONDENCIA

Jeniffer Lucia Mora Loo

jeniffer.moral@ug.edu.ec

Guayaquil, Ecuador

RESUMEN

Gracias a la descripción nutricional de las frutas se ha encontrado que estas contienen diversas clases de compuestos entre los que se encuentran antioxidantes como: ácidos fenólicos, antocianinas, carotenoides, flavonoides, vitamina C y vitamina E, por consiguiente, la inclusión de una mayor proporción de estos productos alimenticios en la dieta permite la prevención enfermedades crónicas. La metodología utilizada para el presente trabajo de investigación, se enmarca dentro de una revisión bibliográfica de tipo documental, ya que nos vamos a ocupar de temas planteados a nivel teórico como es Estudio comparativo de polifenoles o fenoles totales y actividad antioxidante de la cascara citrus sínensis. La técnica para la recolección de datos está constituida por materiales electrónicos, estos últimos como Google Académico, entre otros, apoyándose para ello en el uso de descriptores certificados y avalados por el tesauo de la UNESCO. La información aquí obtenida será revisada para su posterior análisis. En las conclusiones mayoritarias de estos trabajos destacan la alta capacidad antioxidante que tiene la cáscara de la naranja, como sustituto natural en contraposición de los antioxidantes químicos que son más dañinos para la salud, se destaca entonces las capacidades antioxidantes para múltiples usos en cuanto a la preservación y mejoramiento de la salud para el combate de enfermedades y también como método de preservación de alimentos.

Palabras clave: Citrus, Antioxidante, Cáscara, Valencia, DPPH.

ABSTRACT

Thanks to the nutritional description of fruits, it has been found that they contain various classes of compounds, among which are antioxidants such as: phenolic acids, anthocyanins, carotenoids, flavonoids, vitamin C and vitamin E, therefore, the inclusion of a greater proportion of these food products in the diet allows the prevention of chronic diseases. The methodology used for the present research work is framed within a bibliographic review of a documentary type, since we are going to deal with issues raised at a theoretical level, such as a Comparative study of polyphenols or total phenols and antioxidant activity of citrus sinensis peel. The technique for data collection is made up of electronic materials, the latter such as Google Scholar, among others, relying for this on the use of certified descriptors endorsed by the UNESCO thesaurus. The information obtained here will be reviewed for further analysis. In the majority conclusions of these works, the high antioxidant capacity of the orange peel stands out, as a natural substitute in contrast to the chemical antioxidants that are more harmful to health, then the antioxidant capacities for multiple uses in terms of the preservation and improvement of health to combat diseases and also as a method of food preservation.

Keywords: Citrus, Antioxidant, Cascara, Valencia, DPPH.

RESUMO

Graças à descrição nutricional dos frutos, verificou-se que contêm várias classes de compostos, entre os quais: ácidos fenólicos, antocianinas, carotenóides, flavonóides, vitamina C e vitamina E, pelo que a inclusão de uma maior proporção destes produtos alimentares na dieta permite a prevenção de doenças crónicas. A metodologia utilizada para o presente trabalho de investigação está enquadrada numa revisão bibliográfica de tipo documental, uma vez que vamos tratar de questões levantadas a nível teórico, tais como um estudo comparativo de polifenóis ou fenóis totais e actividade antioxidante da casca de citrinos sinensis. A técnica de recolha de dados é constituída por materiais electrónicos, este último como o Google Scholar, entre outros, contando para isso com a utilização de descritores certificados endossados pelo thesaurus da UNESCO. A informação aqui obtida será revista para uma análise mais aprofundada. Nas conclusões da maioria destes trabalhos, destaca-se a elevada capacidade antioxidante da casca da laranja, como um substituto natural em contraste com os antioxidantes químicos mais nocivos para a saúde, depois as capacidades antioxidantes para múltiplas utilizações em termos de preservação e melhoria da saúde para combater doenças e também como um método de conservação de alimentos.

Palavras-chave: Citrinos, Antioxidante, Cascara, Valência, DPPH.

Introducción

El cuerpo humano tiene la capacidad de generar sustancias antioxidantes que se encargan de contrarrestar el estado de estrés oxidativo, sin embargo, el consumo de alimentos ha sido recomendado debido al aporte nutricional y de biomoléculas que cuentan con capacidad antioxidante como los compuestos fenólicos y flavonoides, los antioxidantes en su gran mayoría los encontramos presentes en plantas, microorganismos, hongos y en algunos tejidos de animales, se ha comprobado que los antioxidantes presentes en las frutas y las verduras ayudan a la salud de las personas reduciendo el riesgo de contraer enfermedades tales como trastornos cardiovasculares, diabetes mellitus, obesidad, hiperlipidemia, cáncer, entre otras, ya que son fuente de una gran variedad de antioxidantes naturales, que pueden ser utilizados para disminuir la oxidación de productos cárnicos (Vega Contreras & Torres Salazar, 2021).

Gracias a la descripción nutricional de las frutas se ha encontrado que estas contienen diversas clases de compuestos entre los que se encuentran antioxidantes como: ácidos fenólicos, antocianinas, carotenoides, flavonoides, vitamina C y vitamina E, por consiguiente, la inclusión de una mayor proporción de estos productos alimenticios en la dieta permite la prevención enfermedades crónicas. Para determinar si un extracto es promisorio en términos de estos compuestos, inicialmente se evalúan extractos del material vegetal por ensayos de actividad antioxidante, para luego aislar e identificar en el extracto los fitoquímicos encargados de esta actividad. En el estudio de la actividad antioxidante se realizan diferentes ensayos con el fin de comparar y determinar los diferentes resultados con respecto a un extracto. Estos análisis experimentales son específicos para el tipo de compuestos con actividad antioxidante, hidrofílica o lipofílica (Moreno et al., 2014).

Entre los metabolitos secundarios presentes en la cáscara de los cítricos se encuentran los flavonoides, los cuales constituyen el grupo más importante dentro de los compuestos fenólicos porque son considerados micronutrientes en la dieta animal. Estos compuestos abundan en la naturaleza, son de bajo peso molecular y comparten el esqueleto común de difenilpiranos, dos anillos bencénicos unidos a través de un anillo pirona. Las flavononas son las responsables de los sabores amargos en los cítricos, siendo la naringina y la neohesperidina los componentes mayoritarios. Además, ciertos glicósidos flavanónicos amargos o insípidos pueden transformarse por la apertura del anillo en chalcona, que por hidrogenación posterior se transforma en dihydrochalcona, compuesto de poder edulcorante igual o superior a la sacarina (Moreno Álvarez et al., 2004).

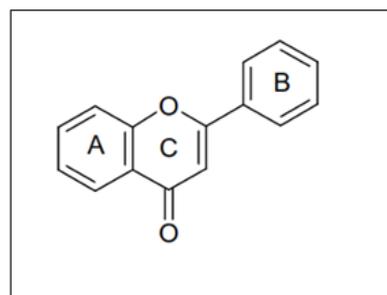


Imagen 1. Estructura base de los polifenoles.

Fuente: (Marreros Castañeda, 2018).

Estos compuestos polifenólicos constituyen un grupo heterogéneo de sustancias que evidencian su rol protector sobre la salud humana. Se han clasificado en diversos grupos según el número de átomos de carbono y la estructura de su esqueleto base. Los polifenoles presentan un numeroso grupo ampliamente distribuido en la naturaleza. Son sustancias importantes en la dieta humana, el consumo promedio de polifenoles en los países europeos se estima en 23 mg/día. Existe un interés creciente en los polifenoles debido a su efecto contra algunas enfermedades como ciertos cánceres

y desordenes cardíacos derivados de su poderosa actividad antioxidante (Marreros Castañeda, 2018).

El proceso de industrialización de cítricos genera subproductos como cáscara y semilla que son considerados como desperdicios, por ejemplo, el rendimiento de zumo de cítricos (naranja y pomelo) es menos de la mitad del peso de fruta, produciendo cantidades muy grandes de desechos. La cáscara es descartada como desecho que contiene una amplia variedad de productos secundarios con actividad antioxidante, esta representa una rica fuente de polifenoles. El uso de residuos como fuente de polifenoles y antioxidantes puede tener considerable beneficio económico para los procesadores de alimentos (Ordoñez-Gómez et al., 2018).

Los antioxidantes son compuestos químicos naturales en muchas variedades de plantas y alimentos, pero también pueden ser sintéticos. Tienen la propiedad de retrasar la oxidación de un sustrato oxidable por medio de varios mecanismos como la quelación de radicales libres y la intercepción de oxígeno libre. Los antioxidantes sintéticos han sido usados como aditivos alimentarios por décadas con el fin de mantener la calidad de los productos, previniendo la degradación de lípidos (Rioja Antezana et al., 2018).

La importancia de los antioxidantes es fundamental para la salud, debido a su capacidad de neutralizar radicales libres y evitar sus efectos dañinos, que contienen uno o más electrones desapareados, siendo estos radicales los responsables de muchas enfermedades degenerativas, asimismo por su capacidad de eliminar y atrapar potencialmente a los electrófilos lesivos del ADN, metales tóxicos, hasta la inhibición de enzimas activadoras de precarcinógenos, hasta carcinógenos. El antioxidante al colisionar con el radical libre le cede un electrón oxidándose a su vez y transformándose en un radical libre débil no tóxico (Marreros Castañeda, 2018).

Metodología

La metodología utilizada para el presente trabajo de investigación, se enmarca dentro de una revisión bibliográfica de tipo documental, ya que nos vamos a ocupar de temas planteados a nivel teórico como es Estudio comparativo de polifenoles o fenoles totales y actividad antioxidante de la cascara citrus sínensis. La técnica para la recolección de datos está constituida por materiales electrónicos, estos últimos como Google Académico, entre otros, apoyándose para ello en el uso de descriptores certificados y avalados por el tesoro de la UNESCO. La información aquí obtenida será revisada para su posterior análisis.

Resultados

1. (Ordoñez-Gómez et al., 2018), realizaron un trabajo de investigación, donde evaluaron la capacidad antioxidante y contenido de polifenoles totales a 12 cítricos, estudiando tanto la cascara como la hoja, para lo que concierne a nuestro trabajo de investigación, nos enfocaremos en la citrus sínensis, que en este caso del estudio presentado fue realizado a la Naranja valencia (*C. sínensis* (L.) y la cascara.

1.1. Obtención y preparación de muestras:

Las hojas y frutos maduros de la Naranja valencia (*C. sínensis* (L.), sin daño físico, fueron cosechados entre 6 a 7 a.m. y transportados en cajas normales hasta el laboratorio, luego se lavaron con agua destilada y se secaron con papel absorbente. La obtención de la cáscara se realizó de forma manual utilizando un cuchillo. Las cáscaras fueron cortadas entre 0,5 x 0,5 cm; luego las cáscaras y hojas se secaron a 60 °C (estufa-Tomos, USA) hasta peso constante, posteriormente las muestras fueron molidas y envasadas en bolsas de polietileno recubierto con papel aluminio y se almacenaron a temperatura ambiente (25 °C) (pág. 114).

1.2. Preparación de extractos:

Se pesó 1,5 g de muestra se mezcló en 30 mL de solución metanólica (80:20 metanol: agua), se agitó por 24h (Homogenizador Barnstead, USA), se filtró (Watman N° 40) y centrifugó (Hettich-Alemania) a 10000 rpm/10 min a 4 °C, el sobrenadante se guardó en tubos de vidrio con tapa a -20 °C hasta el desarrollo de los análisis (pág. 114).

1.3. Contenido de polifenoles:

El contenido de polifenoles en naranja valencia fue mayor en hojas que en cáscara con $1,68 \pm 0,04$ g AGE/ 100g muestra y $1,40$

$\pm 0,024$ g AGE/ 100 g muestra, cabe indicar que los principales compuestos fenólicos presentes en la naranja incluyen ácidos hidroxicinámicos (HCA) y flavonoides, entre los cuales flavanones son los más frecuentes.

1.4. Capacidad antioxidante

En cáscara de naranja valencia, la actividad antioxidante frente a DPPH fue mayor que en ABTS+ con $3,39 \pm 0,08$ mg/mL y $182 \pm 7,7$ μ g/mL, de manera similar, en hojas, la mayor actividad antioxidante fue $1,69 \pm 0,04$ mg/mL y $204,0 \pm 4,6$ μ g/mL.

	Cáscara	
Lima dulce (<i>C. limetta</i>)	$1,25 \pm 0,02$ ^a	
Limón cidra (<i>C. medica</i> L.)	$0,79 \pm 0,02$ ^a	
Limón mandarina (<i>Citrus x limonia</i>)	$1,43 \pm 0,02$ ^d	
Limón rugoso (<i>C. jambhiri</i> Lushington)	$1,42 \pm 0,03$ ^d	
Limón sutil (<i>C. aurantifolia</i> Swingle)	$0,96 \pm 0,02$ ^f	
Limón Tahiti (<i>C. latifolia</i>)	$1,51 \pm 0,02$ ^d	
Mandarina común (<i>C. reticulata</i>)	$3,22 \pm 0,05$ ^a	
Mandarina Cleopatra (<i>C. resnii</i>)	$2,19 \pm 0,04$ ^b	
Mandarina Rio oro (<i>C. reticulata</i>)	$1,73 \pm 0,04$ ^c	
Naranja Valencia (<i>C. sinensis</i> (L.) Osbeck)	$1,40 \pm 0,04$ ^d	
Tangelo (<i>C. reticulata</i> x <i>C. paradisi</i>)	$2,29 \pm 0,02$ ^b	
Toronja (<i>C. paradisi</i> Macf)	$3,08 \pm 0,03$ ^a	

Variedades de Citricos	Cáscara	
	DPPH (mg/mL)	ABTS+ (μ g/mL)
Lima dulce (<i>C. limetta</i>)	$3,06 \pm 0,94$ ^{cd}	$336 \pm 15,0$ ^a
Limón cidra (<i>C. medica</i> L.)	$2,99 \pm 0,72$ ^{cd}	$272 \pm 10,1$ ^{bc}
Limón mandarina (<i>Citrus x limonia</i>)	$3,06 \pm 0,07$ ^{cd}	$240 \pm 9,8$ ^{bc}
Limón rugoso (<i>C. jambhiri</i> Lushington)	$4,26 \pm 1,23$ ^a	$247 \pm 9,1$ ^{bc}
Limón sutil (<i>C. aurantifolia</i> Swingle)	$3,55 \pm 0,09$ ^b	$281 \pm 10,3$ ^b
Limón Tahiti (<i>C. latifolia</i>)	$2,68 \pm 0,71$ ^d	$183 \pm 5,9$ ^e
Mandarina común (<i>C. reticulata</i>)	$1,97 \pm 0,06$ ^e	$193 \pm 4,0$ ^{de}
Mandarina Cleopatra (<i>C. resnii</i>)	$1,88 \pm 0,05$ ^e	$172 \pm 3,6$ ^e
Mandarina Rio oro (<i>C. reticulata</i>)	$2,19 \pm 0,07$ ^e	$235 \pm 8,1$ ^{cd}
Naranja Valencia (<i>C. sinensis</i> (L.) Osbeck)	$3,39 \pm 0,08$ ^{bc}	$182 \pm 7,7$ ^e
Tangelo (<i>C. reticulata</i> x <i>C. paradisi</i>)	$2,75 \pm 0,09$ ^d	$156 \pm 3,5$ ^e
Toronja (<i>C. paradisi</i> Macf)	$2,94 \pm 0,08$ ^d	$150 \pm 4,9$ ^e

Imagen 2. Contenido de polifenoles y Capacidad antioxidante Naranja valencia (*C. sinensis* (L.).

Fuente: (Ordoñez-Gómez et al., 2018).

Según el análisis de conglomerados, con respecto a las hojas de cítricos podemos indicar que son una fuente importante de compuestos bioactivos incluyendo antioxidantes como ácido ascórbico, flavonoides y compuestos fenólicos, Así mismo, las hojas de naranja de las variedades Portugaise, Washington y Bigarade (grupo I) tuvieron mayor cantidad de polifenoles totales que las cáscaras. El segundo Grupo representó

el 16,6% y estuvo conformado por cáscaras de toronja (CTO), Tangelo (CTA), naranja (CN) y limón Tahití (CLT), estas muestras tuvieron capacidad para inhibir al radical DPPH (pág. 118). Entre las conclusiones de este estudio como fuente potencial en antioxidantes naturales en cáscara está la naranja Valencia, por presentar el mayor contenido de polifenoles totales y capacidad antioxidante (DPPH y ABTS+) (pág. 119).

2. (Vega Contreras & Torres Salazar, 2021), en su trabajo de investigación en base a la evaluación de compuestos fenólicos y su capacidad antioxidante en la *Citrus sinensis*.

La obtención de los compuestos fenólicos lo realizaron utilizando métodos de ultrasonido y el método de Soxhlet. Para la extracción con ultrasonido se colocaron; 50 g de cáscara y 250 mL de etanol al 96% en un Beaker el cual se introdujo en un sonicador Branson 1800 serie CPXH en una relación 1:5 a temperatura de 25 °C. En cuanto a la extracción por Soxhlet, se colocaron 10 g de harina de cáscara de naranja en los cartuchos del equipo, para lo cual se midieron 200 mL de etanol al 96% en una relación 1:20, (10 g de harina y 200 mL de etanol), el cual se colocó en un balón a una temperatura de 250 80 con un volumen inicial total de etanol de 400 mL realizándose dos repeticiones, posteriormente los extractos alcohólicos obtenidos se pasaron por evaporador rotatorio para concentrar las muestras obtenidas (pág. 111).

2.1. Determinación de los compuestos fenólicos

La determinación de compuestos fenólicos se realizó por cromatografía de alta eficiencia, en un cromatógrafo líquido (LC) Agilent Technologies 1200 Series, con un detector UV-Vis de arreglo de diodos (HPLC/DAD), $\lambda = 245$ nm. La columna empleada en el análisis fue KINETEX (C18) (Phenomenex), 100mmx4.6mm (d.i.) x 2.6 μ m (tamaño de partícula), La inyección se realizó en modo automático (Viny=10 μ L), con gradiente de elución (pág. 111).

2.2. Determinación de la actividad antioxidante

Un indicador importante para conocer las bondades antioxidantes de frutas y vegetales es el secuestro de radicales libres por polifenoles en este caso la actividad antioxidante, para lo cual se tomó 1mL de solución de β caroteno (0.4mg/mL en cloroformo) evaporando hasta sequedad posteriormente se agregaron 0.02 mL de ácido linoleico,

0.2 mL de Tween 20 y 0.2 mL de los extractos crudos, agregándose 20 mL de agua oxigenada al 5%, se determinó su absorbancia a 470nm, posterior a ello, las muestras se sometieron autooxidación térmica en baño a 50 °C, leyendo su absorbancia cada 10 minutos durante 120 minutos, preparando un estándar con ácido ascórbico y un control con metanol al 80%, además de un blanco con agua destilada. Para la evaluación de la actividad antioxidante en los extractos de la cáscara de naranja valencia se utilizó el método de decoloración del β -caroteno, en el cual, el valor de la actividad antioxidante se calculó teniendo en cuenta la ecuación propuesta por, como un porcentaje de inhibición relativa para el control, la actividad antioxidante (AA) (pág. 111).

2.3. Extracción por ultrasonido

Para ello se realizaron tres extracciones, utilizando la relación 1 :5 (50g de cascara y 250 mL de etanol), con un volumen total inicial de 750 mL en etanol empleado, después de la sonicación y filtrado, para lo cual se obtuvo un volumen total de 610mL, con un porcentaje de rendimiento del 81.3% m/v, este método se caracteriza por la agitación por ondas sonoras a través de un disolvente aumentando la presión que provoca una mejor penetración del disolvente al interior del sólido (pág. 112).

2.4. Extracción por Soxhlet

Al realizar la evaluación de los métodos se observó que el método de extracción Soxhlet obtuvo rendimiento de 89,5%, m/v en comparación con el ultrasonido el cual obtuvo un 81,3% m/v en rendimiento, que en relación a su absorbancia, la utilización de mayor cantidad de harina en ultrasonido permitió mayor absorción de etanol, con lo que se estableció una diferencia del 8.2% menos en relación a la extracción por Soxhlet lo que permitió mayor favorabilidad con este último (pág. 112).

2.5. Determinación cualitativa de compuestos fenólicos o antioxidantes

Para la determinación cualitativa de los compuestos fenólicos en las muestras se realizó la comparación de los tiempos de retención, tR y los espectros UV-Vis, utilizando una solución patrón de los ácidos fenólicos, xantinas, catequinas y flavonoides en una concentración conocida. Las muestras de extracto C. Sinensis obtenida por ultrasonido y Soxhlet, fueron analizadas por duplicado (pág. 112).

2.6. Actividad antioxidante

La evaluación de la actividad antioxidante (AA) reportó mayor porcentaje en el extracto de naranja valencia obtenido por Soxhlet, con respecto al extracto obtenido con ultrasonido y el estándar (ácido ascórbico), alcanzando un valor porcentual de 91,333%. Los antioxidantes analizados se mantuvieron en rangos similares con el método de decoloración del β -caroteno, obteniéndose la mayor y menor capacidad antioxidante en los extractos de la naranja valencia, indicando que el método de extracción influye directamente en la capacidad inhibidora de oxidación, siendo el método de extracción por Soxhlet, el de mayor eficiencia oxidante (pág. 112).

Las conclusiones de este estudio indican que los compuestos extraídos por los métodos de ultrasonido y Soxhlet de la cascara de naranja variedad valencia, tiene una alta capacidad de inhibir la oxidación de un sustrato, comprobando que el método de extracción por Soxhlet es más eficiente, pues su rendimiento fue mayor en relación al método de ultrasonido, lo cual demuestra que existe una correlación entre la cantidad de compuestos extraídos y la capacidad antioxidante, permitiendo de esta manera determinar que el material vegetal de C. sinensis posee atributos que pueden ser aprovechados para su empleo en la industria cárnica, lo cual no afectaría las propiedades organolépticas de los productos elaborados.

3. (Moreno Álvarez et al., 2004), en su trabajo de investigación evaluaron la actividad antioxidante de extractos de flavonoides de cáscara de naranja en el aceite de soja desodorizado, sobre este particular presentamos los aspectos mas relevantes.

3.1. Obtención de cáscaras de naranja

Las naranjas recolectadas se sumergieron en agua corriente y se frotaron manualmente con la finalidad de eliminar residuos de polvo y materia orgánica que pudiese estar adherida a las cáscaras. Se cortaron las naranjas 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. Los residuos fueron dispuestos sobre mallas de acero inoxidable con aberturas de 1x1mm para garantizar el aireado total de toda la superficie de las cáscaras, y se secaron bajo luz solar hasta alcanzar una humedad de 6,65%. Los residuos parcialmente secos se sometieron a una molienda manual con un molino Modelo Corona.

3.2. Obtención de los extractos de flavonoides

Para la obtención de los extractos de flavonoides, se ensayaron tres extracciones con relaciones peso de harina/volumen de solvente de 1:2; 1:1,33 y 1:1, los cuales se sometieron a un proceso de separación de flavonoides basado en los principios de solubilidad diferencial con diferentes solventes orgánicos. Se pesaron 5; 7,5 y 10g de harina integral de naranja por triplicado. Luego se realizaron extracciones individuales con un volumen fijo de 10ml de metanol al 85% v/v y se almacenaron por 48h 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 al 85% v/v utilizando un volumen de 30ml. Posteriormente, a los extractos metanólicos obtenidos se les añadió éter de petróleo 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 (Ac1) obtenida fue sometida de nuevo a extracción con acetato de etilo 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 (Ac2) y una orgánica (Org2). Después de su separación se tomaron pequeñas cantidades de ambos extractos para ser evaluados individualmente por 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. Más tarde cada uno de los extractos se concentró en un rotaevaporadora a presión reducida a $60 \pm 1^\circ\text{C}$ 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.

Como producto del proceso de separación de flavonoides se obtuvo un extracto acuoso y otro orgánico, ambos de naturaleza polar, los cuales fueron confirmados positivamente mediante las pruebas de Shinoda y alcali. La elección de experimentar con ambos extractos fue sustentada por el hecho previamente determinado de que estas fracciones contienen los flavonoides más polares y estructuras glucosídicas.

3.3. Evaluación de la actividad antioxidante de los extractos

La actividad antioxidante se evaluó mediante el método Schaal, el cual se basa en colocar muestras de aceite bajo condiciones intensivas de temperatura constante en una estufa. Se pesaron muestras de 250g de aceite de soja en vasos de precipitados de 500ml, a los cuales le fueron adicionadas cantidades independientes de los extractos orgánicos y acuosos resuspendidos en aceite, empleando concentraciones de

0,01; 0,05 y 0,10% y una muestra control a la cual no le fue adicionado extracto. Todas las muestras fueron sometidas a la prueba de estabilidad a la estufa (Mermert modelo UM400) a una temperatura constante de $60 \pm 1^\circ\text{C}$. Seguidamente a cada una de las muestras acondicionadas con extractos de flavonoides y al control, se les determinó el índice de peróxido por triplicado cada 24h, partiendo de un tiempo cero (0), al momento de comenzar el ensayo de la estufa, hasta que las muestras o control alcanzaran un valor de peróxido de 100,00meq O₂/kg. Los resultados obtenidos son promedios de tres repeticiones \pm ds.

3.4. Evaluación de la actividad antioxidante de los extractos de flavonoides

En general, la actividad antioxidante de los extractos fue determinada por el incremento del índice de peróxido en el tiempo, siendo comparados a un control sin antioxidantes. Se evidenciaron diferencias significativas entre los tratamientos ($P < 0,05$), determinándose que los extractos acuosos al 0,10%, independientemente de la relación harina/solvente, presentaron los menores valores de peróxido al finalizar el ensayo. Esta misma tendencia se observó en la proporción de 1:1,33 del extracto orgánico a la concentración de 0,10%.

3.5. Conclusiones de este estudio

Los extractos acuosos a una concentración 0,10% independientemente de la relación harina/solvente presentaron la mayor capacidad antioxidante a las 264h. Los extractos orgánicos presentaron actividad pro-oxidante independientemente de la relación harina/solvente, a excepción del extracto orgánico al 0,10% en la relación harina/solvente 1:1,33. Se concluye que las cáscaras de naranjas pueden ser utilizadas como materia prima en la obtención de extractos químicos naturales de naturaleza antioxidante, por la sustitución de los antioxidantes artificiales, que en algunos de los casos no son beneficiosos para la salud del consumidor.

4. (Marquez Vega & Luque Lipa, 2021), evaluaron la actividad antioxidante y efecto antibacteriano del aceite esencial de cascara de citrus sinensis variedad valencia late. Presentamos los aspectos más relevantes.

4.1. Métodos para evaluar la actividad antioxidante

En la práctica diversas pruebas in vitro que se llevan a cabo para evaluar las actividades antioxidantes de diversas muestras de interés, usan modelos de prueba y varían en diferentes aspectos, por lo cual es difícil comparar completamente un método con otro. Generalmente las pruebas antioxidantes in vitro utilizan trampas de radicales libres, que son relativamente sencillas de realizar. Entre los métodos de eliminación de radicales libres, se encuentran el DPPH y el ABTS, estos ensayos son aplicables tanto para los antioxidantes polares como para los apolares (pág. 18).

4.2. Método del radical DPPH

DPPH es una abreviatura común para un compuesto químico orgánico 2,2-difenil-1-picrylhidrazil. Es un polvo cristalino de color oscuro compuesto de moléculas estables de radicales libres. DPPH tiene dos aplicaciones principales, ambas en investigación de laboratorio: una es monitorear reacciones químicas que involucran radicales y otra es un estándar de la posición e intensidad de las señales de resonancia paramagnética de electrones. DPPH es un radical bien conocido como una trampa ("carroñero") para otros radicales. Por lo tanto, la reducción de la velocidad de una reacción química tras la adición de DPPH se usa como un indicador de la naturaleza radical de esa reacción. Debido a una fuerte banda de absorción centrada a aproximadamente 525 nm, el radical DPPH tiene un color violeta intenso en solución y se vuelve incoloro o amarillo pálido cuando se neutraliza. Esta propiedad permite el monitoreo visual de la reacción, y el número de radicales iniciales puede contarse a partir del cambio en la absorción óptica a 525 nm o en

la señal (EPR) Espectroscopia de Resonancia de Paramagnetismo del DPPH (pág. 18).

4.3. Método del radical catiónico ABTS

Este método utiliza un espectrofotómetro de matriz de diodos para medir la pérdida de color cuando se agrega un antioxidante al cromóforo azul-verde ABTS® (ácido 2,2-azino-bis (ácido 3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico)). El antioxidante reduce ABTS® a ABTS y lo decolora. ABTS® es un radical estable que no se encuentra en el cuerpo humano. Los cationes radicales ABTS se preparan agregando dióxido de manganeso sólido (80 mg) a una solución madre acuosa 5 mM de ABTS (20 ml usando un tampón Na / K 75 mM de pH 7). Trolox (ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico), un análogo soluble en agua de la vitamina E, puede usarse como un estándar antioxidante. Se construye una curva de calibración estándar para Trolox a concentraciones de 0, 50, 100, 150, 200, 250, 300 y 350 IM. Las muestras se diluyen adecuadamente de acuerdo con la actividad antioxidante en Na / K buffer pH, 7. Las muestras diluidas se mezclan con 200 l de solución de catión radical ABTS + en placas de 96 pocillos, y se lee la absorbancia (a 750 nm) después de 5 minutos en un lector de microplacas. Los valores de TEAC pueden calcularse a partir de la curva estándar de Trolox y expresarse como equivalentes de Trolox (en mM) (pág. 19).

Determinación de la actividad antioxidante por el método de DPPH

La solución DPPH se preparó en metanol a una concentración de 6×10^{-5} M), la proporción para el análisis fue de 800 uL del radical con 400 uL del aceite esencial en 4 concentraciones de 2,5; 5; 10; 20 v/v. Las muestras se dejaron en reposo durante 30 minutos a temperatura ambiente y en ausencia de luz. Minutos antes de cumplir el tiempo se prepara el blanco de muestra que consta de 800 uL de metanol y 400 uL de etanol. El ensayo se realizó por triplicado y se utilizó la siguiente fórmula para calcular el % de Inhibición del aceite esencial.



Comprobación de la actividad antioxidante del aceite esencial de cáscaras de *Citrus sinensis* variedad Valencia Late

Concentración del aceite esencial % (v/v)	Conversión (mg/mL)	Absorbancia	% Inhibición	IC50 mg/ml
0,00	0,00	0,43	0,00	
0,83	7,20	0,40	6,89	
1,67	14,40	0,36	16,12	49,87
3,33	28,80	0,30	29,11	
6,67	57,60	0,18	57,43	

Imagen 3. Actividad antioxidante del aceite esencial de cáscaras de *Citrus sinensis* variedad Valencia Late mediante el ensayo de DPPH.

Fuente: (Marquez Vega & Luque Lipa, 2021).

Para conseguir una inhibición del 50% se necesita una concentración de 49,87 mg/mL del aceite esencial de cáscaras de *Citrus sinensis* variedad Valencia Late.

Concentración del Estándar ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbancia	Inhibición (%) DPPH	IC 50 ($\mu\text{g/mL}$)
0,00	0,48	0,00	
0,42	0,44	8,85	
0,83	0,41	15,21	2,48
1,67	0,32	33,28	
3,33	0,16	67,67	

Imagen 4. Actividad antioxidante del estándar Trolox® mediante el ensayo de DPPH.

Fuente: (Marquez Vega & Luque Lipa, 2021).

Para conseguir una inhibición del 50% del radical DPPH se necesita una concentración del estándar Trolox® de solo 2,48 $\mu\text{g/mL}$. La actividad antioxidante del Aceite esencial de cáscaras de *Citrus sinensis* variedad Valencia Late es mínima debido a que se necesita una concentración veinte mil veces mayor en el aceite esencial para igualar la actividad del Trolox. Actualmente para comparar la actividad antioxidante existen diferentes estándares entre ellos, el Trolox, pero se puede comparar con otros estándares como el ácido salicílico, ácido cafeico, tyrosol, entre otros. La elección de un estándar depende de múltiples factores como el criterio de representación de metodologías, pero además existen factores como el tipo de muestra, y estabilidad del radical (pág. 47).

Conclusiones

Diferentes opiniones a nivel de trabajos de investigación sobre las propiedades antioxidantes y los fenoles totales, indican que es complejo la comparación de los diferentes métodos que existen y esto es por las condiciones en las que se realizan los ensayos, tipos de muestra, estabilidad del radical, varios métodos se han utilizado en algunos de los trabajos aquí citados como DPPH, Trolox (este último es utilizado como estándar para la comparación de acción antioxidante), ABTS, Schaal, ultrasonido y Soxhlet, para evaluar las propiedades antioxidantes y fenoles totales de la cascara citrus sínensis tipo naranja valencia. En las conclusiones mayoritarias de estos trabajos destacan la alta capacidad antioxidante que tiene la cascara de la naranja, como sustituto natu-

ral en contraposición de los antioxidantes químicos que son mas dañinos para la salud, se destaca entonces las capacidades antioxidantes para múltiples usos en cuanto a la preservación y mejoramiento de la salud para el combate de enfermedades y también como método de preservación de alimentos.

Bibliografía

- Marquez Vega, R., & Luque Lipa, M. (2021). Actividad antioxidante y efecto antibacteriano del aceite esencial de cascara de Citrus sinensis variedad Valencia Late [Universidad Norbert Wiener]. http://repositorio.uwiener.edu.pe/bitstream/handle/123456789/5092/T061_15842224_25758592_T.pdf?sequence=3&isAllowed=y
- Marreros Castañeda, S. H. (2018). Contenido de Polifenoles totales y capacidad Antioxidante de las Flores de Citrus sinensis (naranja), Citrus aurantifolia (lima) y Prunus persica (durazno) [Universidad Católica de los Ángeles Chimbo-te]. http://repositorio.uladech.edu.pe/bitstream/handle/20.500.13032/21087/CITRUS_SINENSIS_CITRUS_AURANTIFOLIA_MARREROS_CASTANEDA_SADITH_HEINS.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Moreno Álvarez, M. J., Camacho, D. R. B., Sánchez, M. P., Matos, M. V., & García, D. (2004). Evaluación de la actividad antioxidante de extractos de flavonoides de cáscara de naranja en el aceite de soja desodorizado. *Interciencia*, 29(9), 532–538. http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0378-18442004000900011&lng=es&nr=iso&tlng=es
- Moreno, E., Ortiz, B. L., & Restrepo, L. P. (2014). Contenido total de fenoles y actividad antioxidante de pulpa de seis frutas tropicales. *Revista Colombiana de Química*, 43(3), 41–48.
- Ordoñez-Gómez, E. S., Reátegui-Díaz, D., & Villanueva-Tiburcio, J. E. (2018). Total polyphenols and antioxidant capacity of peel and leaves in twelve citrus. *Scientia Agropecuaria*, 9(1), 123–131. <https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2018.01.13>
- Rioja Antezana, A. P., Vizalúque, B. E., Aliaga-Rossel, E., Tejeda, L., Book, O., Mollinedo, P., & Peñarrieta, J. M. (2018). Revista boliviana de química. In *Revista Boliviana de Química* (Vol. 35, Issue 5). [Universidad Mayor de San Andrés]. http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0250-54602018000500006&lng=es&nr=iso&tlng=es
- Vega Contreras, N. A., & Torres Salazar, M. L. (2021). Evaluación De Compuestos Fenolicos De (Citrus sinensis) Y Su Capacidad Antioxidante. *Ciencia En Desarrollo*, 12(2). <https://doi.org/10.19053/01217488.v12.n2.2021.11635>

CITAR ESTE ARTICULO:

Mora Loor, J. L., Cabrera Casillas, D. O., Alarcon Mite, A. I., & Garcia Larreta, F. S. (2022). Estudio comparativo de polifenoles o fenoles totales y actividad antioxidante de la cascara citrus sínensis. *RECIAMUC*, 6(3), 459-469. [https://doi.org/10.26820/reciamuc/6.\(3\).julio.2022.459-469](https://doi.org/10.26820/reciamuc/6.(3).julio.2022.459-469)

