

## OBTENCIÓN Y PROPIEDADES ANTIOXIDANTES DE UN SÓLIDO RICO EN FLAVONOIDES A PARTIR DE UN SUBPRODUCTO DEL PROCESAMIENTO INDUSTRIAL DE LIMONES

Alejandro Wierna<sup>1</sup>, Roxana Cabana<sup>2</sup> y Gustavo Céliz<sup>1,3</sup>

(1) Laboratorio de Biocatálisis, Departamento de Química, Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de Salta, Salta, Argentina.

(2) Laboratorio PRONOA, CIT JUJUY, UNJu–CONICET, Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional de Jujuy, San Salvador de Jujuy, Argentina

(3) Instituto de Investigaciones para la Industria Química, INIQUI (CONICET-UNSa), Av. Bolivia 5150, Salta (4400), Argentina. Autor correspondal: [gceliz.unsa@gmail.com](mailto:gceliz.unsa@gmail.com)

### 1- INTRODUCCION

Argentina es uno de los mayores productores de frutas cítricas a nivel mundial. La región Noroeste de nuestro país (NOA) concentra más del 60 % de la producción nacional, siendo uno de los productos agroindustriales de mayor relevancia [1]. Sólo un 5 % se destina al consumo interno, un 20 % tiene como destino la exportación como fruta fresca y el resto se industrializa [1]. El procesamiento de esta fruta consiste en un lavado, la extracción de aceite esencial, la extracción de jugos, el concentrado de jugo donde se separa otra fracción de aceite y el rebanado de la cascara para ser luego secada y empleada en la producción de pectina.

Si bien las cáscaras de limón se venden para extraer pectina, contienen compuestos químicos minoritarios que presentan un potencial económico que hace interesante recuperarlos, pero sin afectar la carga de pectina de las cascara. Unos de los compuestos de mayor interés que se presentan en las cascara de limón son los flavonoides, siendo eriocitrina y hesperidina (Figura 1) los más abundantes. Ambos son flavanonas glicosiladas en la posición 7 (Fig 2) y presentan propiedades biológicas de interés, por ejemplo capacidad antioxidante [2].

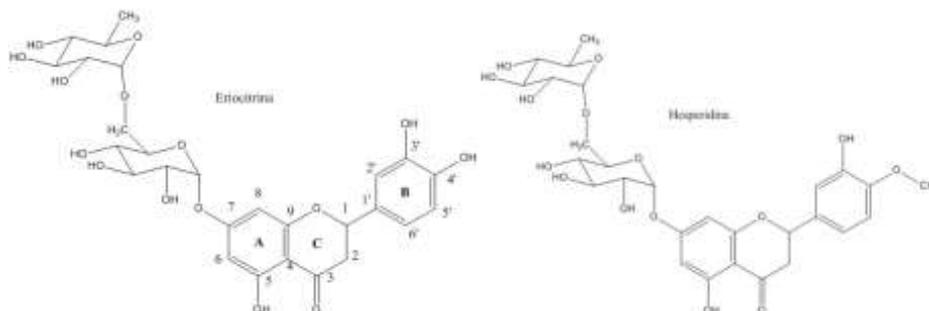


Figura1. Estructura química de eriocitrina y hesperidina.

Existen antecedentes de recupero de flavonoide de empresas procesadoras de cítricos que ponen en manifiesto la gran oportunidad de generar compuestos valiosos a partir de los desechos, abogando a la vez a la reducción de material a disponer [3, 4].

En trabajos anteriores hemos optimizado la extracción de eriocitrina a partir de cáscaras de la industria recuperando el 76%, sin producir el arrastre de pectina.

El objetivo del presente trabajo consistió en obtener un material sólido enriquecido en eriocitrina a partir de este extracto líquido y determinarle el poder antioxidante.

## 2- MATERIALES Y MÉTODOS

### 2.1 Obtención del material sólido enriquecido.

El Extracto Etanólico (EE) se obtuvo a partir del material sólido de la procesadora extrayendo 400 g con 2 L de etanol al 60 %, 4 h, con agitación a 50 °C. Luego el sobrenadante se decanta y se filtra. Luego, se concentró en rota-vapor, recuperando el 80% del alcohol empleado. Así obtuvimos el Extracto Acuoso Concentrado (EAC).

Las sustancias orgánicas hidrófobas del EAC fueron separadas de la matriz acuosa con la resina hidrofóbica XAD-7 en diferentes proporciones. La resina enriquecida, fue luego separada, lavada con agua y finalmente colocada en alcohol 70% para desorber las sustancias más hidrófobas del EAC. Luego se dejó evaporar el solvente en estufa a 50 °C. El material sólido enriquecido (MSE) fue cristalino y de color amarillo pardo.

### 2.2 HPLC

Para cuantificar los flavonoides en los diferentes estados se prepararon curvas de calibración de hesperidina y eriocitrina en el rango 1-20 ppm, se usó fase móvil isocrática H<sub>2</sub>O/MeOH/AcN/AcOH (75:10:10:5), un flujo de 0,7 mL/min, una columna GraceSmart RP C18 250mmx4,6mm, un detector UV-Vis Gilson, un autoinyector Gilson acoplado al equipo HPLC, un integrador Shimadzu para graficar e integrar los cromatogramas. Las muestras se prepararon evaporando 200 uL de extracto y llevando el sólido formado a 1000 uL con fase móvil, éstas soluciones se diluyeron 1:5 en fase móvil para su inyección.

### 2.3 Determinación de la actividad antioxidante

El MSE se disolvió en alcohol 70:30 (v/v) a una concentración de 3840 ppm y fue conservado a -4 °C hasta su utilización. Se realizaron determinación de la capacidad antioxidante por el método del DPPH, superóxido y nítrico. Las determinaciones se realizaron con 5 diluciones sucesivas del extracto en un microplate reader Epoch BioTeK. En todos los casos se empleó Trolox como equivalente de la capacidad antioxidante.

## 3- DISCUSIÓN Y RESULTADOS

### 3.1 Purificación del extracto

En este trabajo se pudo separar eficazmente los compuestos hidrofílicos que quedaron en las aguas madres de los anfílicos e hidrofóbos que se adhirieron al soporte. Existen antecedentes que demuestran el aprovechamiento de las aguas madres para obtener soluciones acuosas enriquecidas en azúcares naturales [4].

Por otra parte, los compuestos adsorbidos se desorbieron eficazmente con alcohol 70:30 (v/v), entre ellas, eriocitrina y hesperidina.

El procedimiento aplicado permitió obtener un extracto sólido fácil de manipular y libre de azúcares y otras sustancias hidrofílicas en estado sólido.

### 3.2 Capacidad antioxidante.

La muestra estudiada presentó actividad antioxidante frente a los tres radicales ensayados: DPPH, NO y superóxido. Se comprobó una relación dosis dependiente.

Particularmente para DPPH todas las diluciones del extracto presentaron una actividad superior al 50 % (Figura 1). El IC<sub>50</sub> fue de 111,4 ± 0.1 ppm; respecto a la actividad del control (trolox; IC<sub>50</sub>=10 ug/mL) el TEAC del extracto resulta 1,3 umol/mL de extracto y 346,13 umol equivalente de trolox/g de extracto seco.

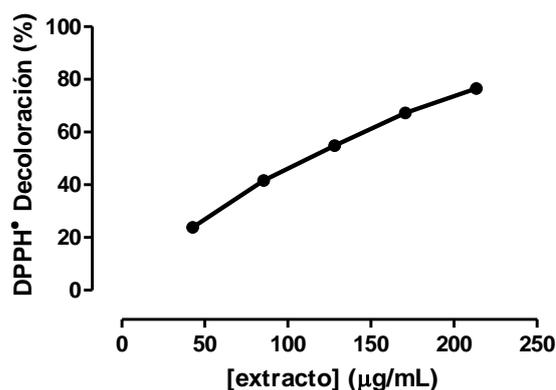


Figura1. Actividad antirradicalaria frente a DPPH\* del MSE. Gráfico dosis dependiente a los 30 min de incubación.

### 3- CONCLUSIONES

La metodología de purificación permitió obtener soluciones madres hidroalcohólicas enriquecidas en ácidos y azúcares naturales y un extracto concentrado de polifenoles con muy buenas propiedades antioxidantes.

Las propiedades del sólido obtenido, la simplicidad del proceso, el recupero del alcohol y la desorción completa de los analitos adsorbidos en la resina, hacen suponer que la técnica podría aplicarse en un sistema de lotes a escala planta piloto.

### Agradecimientos

El Dr. Céliz agradece al Consejo de Investigación de la Universidad Nacional de Salta (P. N°2227-2014), a la Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica (PICT 0696-2012) y a la Secretaría de Políticas Universitarias (PN° 33-63-029-2014) por el financiamiento que soportó este trabajo. Los autores agradecen a FGF Trapani SRL por la colaboración prestada al proyecto.

### Referencias

1. Federcitrus, *La Actividad Citrícola Argentina*. 2014: Buenos Aires.
2. Pietta, P.-G., *Flavonoids as Antioxidants*. Journal of Natural Products, 2000. **63**(7): p. 1035-1042.
3. Scordino, M., et al., *Selective Recovery of Anthocyanins and Hydroxycinnamates from a Byproduct of Citrus Processing*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2005. **53**(3): p. 651-658.
4. Scordino, M., et al., *Highly purified sugar concentrate from a residue of citrus pigments recovery process*. LWT - Food Science and Technology, 2007. **40**(4): p. 713-721.