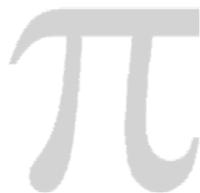




# INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA Y TECNOLÓGICA



Universidad Nacional  
Abierta y a Distancia





## **EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE LA QUERCETINA A PARTIR DEL EXTRACTO NATURAL DE CEBOLLA ROJA OCAÑERA (*Allilium cepa L*) Y MANZANA ROJA (*Pyrus malus L var. red delicius*) EN ACEITE DE PALMA REFINADO TIPO INDUSTRIAL EN CONDICIONES DE CALENTAMIENTO CONTINUO**

### **EVALUATION OF THE ANTIOXIDANT CAPACITY OF QUERCETIN DERIVED OF NATURAL EXTRACT FROM RED ONION OCAÑERA (*Allilium strain L*) AND RED APPLE (*Pyrus malus L var. red delicius*) IN PALM OIL REFINED INDUSTRIAL TYPE CONTINUOUS WARM CONDITIONS**

*Golda Meyer Torres,<sup>1</sup> Dairo Gil,<sup>2</sup> Ángela Lorena Cano<sup>3</sup>, Yuly Sosa Benavides<sup>4</sup>*

#### **RESUMEN**

Esta investigación se basó en la evaluación de la capacidad antioxidante de la quercetina existente en la variedad de manzana roja (*Pyrus malus L, var. red delicius*) y cebolla roja ocañera (*Allilium cepa L*). Se calculó la concentración del antioxidante mediante curva patrón de quercetina comercial ( $\geq 98\%$  de pureza grado HPLC) por espectrofotometría a 415 nm, obteniendo concentraciones de 0.0955 mg/g en el extracto de cebolla roja ocañera (*Allilium cepa L*) y 0.0144mg/g en el extracto de manzana roja (*Pyrus malus L, var. red delicius*). La capacidad antioxidante de cada uno de los extractos se evaluó sobre muestras de aceite industrial de palma RBD (Refinado, blanqueado y desodorizado) sin antioxidante, para observar el efecto que ejerce la quercetina sobre la formación de peróxidos.

Las muestras fueron sometidas a calentamiento continuo a dos, cuatro y seis horas, registrando el comportamiento de las variables índice de acidez, índice de yodo e índice de peróxidos. Se evaluó una muestra de aceite sin antioxidante con quercetina pura comercial ( $\geq 98\%$  de pureza grado HPLC), a una concentración de 0.18 mg/g y un “blanco” de aceite de palma RBD con antioxidante comercial (TBHQ, BHT). En el tratamiento con quercetina del

---

1 Química de Alimentos, Candidata a Especialista en Biotecnología Agraria. Docente Universidad Nacional Abierta y a Distancia.UNAD. Colombia. golda.torres@unad.edu.co.

2 Estadístico. Especialista en Estadística. Profesor de la Universidad Pedagógica y Tecnológica y de Colombia. UPTC. Colombia. dgil\_65@yahoo.es.

3 Estudiante Ingeniera de Alimentos. Universidad Nacional, Abierta y a Distancia. UNAD. Colombia. anlocase@gmail.com

4 Estudiante Ingeniera de Alimentos. Universidad Nacional, Abierta y a Distancia. UNAD. Colombia. sbyualx@gmail.com

extracto de manzana, el análisis de varianza ANOVA, indica que el efecto principal para la formación de peróxidos medidos en mequivO<sub>2</sub>/kg es el tiempo de exposición (Pvalue= 0.028 a un nivel de significancia del 5%) más que la concentración de quercetina en 0.0144 mg/g (Pvalue= 0.000 a un nivel de significancia del 5%), obteniéndose resultados similares a los de la muestra de aceite con antioxidante comercial (TBHQ, BHT).

**Palabras clave:** aceite, capacidad antioxidante, quercetina, peróxidos, radicales libres.

### ABSTRACT

*The research was based on the assessment of the quercetin antioxidant capacity existing in red apple (*Pyrus malus* L var: red delicious) and ocañera red onion (*Allilium cepa* L). Then, antioxidant concentration was calculated by a standard curve of commercial quercetin (HPLC concentration  $\geq 98\%$ ) using spectrophotometry at 415 nm and dropped concentrations of 0.0955 mg/g in onion extract and 0.0144mg/g in apple extract. The antioxidant capacity of each extract was evaluated over industrial samples of industrial RDB (Refined, bleached and deodorized) palm oil without antioxidant in order to observe the effect they had over peroxide creation. Actually, samples were treated in continuous heating for two, four and six hours and recording variables performance like acidity, iodine and peroxide index. Also, a sample of oil without antioxidant was evaluated adding pure commercial quercetin at 0.18 mg/g and a control sample of RBD palm oil added with commercial antioxidant (TBHQ, BHT). Finally, the outcome got by ANOVA analysis (Pvalue= 0.028, significance level of 5%) on peroxide index formation calculated in mequivO<sub>2</sub>/kg highlighted the time of exposition than quercetin concentration in 0.0144 mg/g, hence a result alike the sample of oil added with commercial antioxidant.*

**Key words:** antioxidant capacity, free radicals, oil, peroxides, quercetin.

*Aprobado: Junio 29 de 2010*

### INTRODUCCIÓN

La forma de deterioro de los alimentos más común, después de las alteraciones producidas por microorganismos, es la oxidación de las grasas. Las industrias alimentarias intentan evitar dicha oxidación mediante diferentes técnicas, entre ellas, el envasado al vacío o en recipientes opacos o utilizando antioxidantes. La mayoría de los productos grasos tienen sus propios antioxidantes naturales, aunque muchas veces estos se pierden durante el procesado (por ejemplo refinado de los aceites), pérdida que debe ser compensada. El uso de antioxidantes sintéticos en la industria de aceites crea incertidumbre frente a las tendencias de alimentación sana por parte del consumidor; por esta razón, en los últimos años, ha aumentado el uso de antioxidantes naturales frente a los sintéticos.

Debido a la utilización de antioxidantes sintéticos en la industria de aceites el consumidor ha comenzado a buscar alimentos saludables, razón por la cual surge la necesidad de investigar sobre los compuestos de origen natural que permitan reemplazar estas sustancias

sin alterar las características sensoriales, nutricionales y fisicoquímicas de los productos, brindándoles mayor estabilidad durante su comercialización y vida útil. La investigación, entonces, está centrada en analizar si estructuras naturales con capacidad antioxidante, entre ellas, el flavonol quercetina, presente en extractos vegetales como la cebolla tipo bulbo y frutas como la manzana, pueden utilizarse en la industria alimentaria como antioxidantes y estabilizantes de radicales libres de naturaleza lipídica.

Gracias a las múltiples investigaciones que se han realizado sobre la Quercetina, se ha podido evidenciar que este flavonol contiene un alto poder antioxidante (Gertz *et al.* 2000). El objetivo común de las investigaciones con antioxidantes naturales como la quercetina, es evaluar la capacidad de estabilizar radicales libres, especialmente en aceites vegetales, Aluyor *et al.* (2008) y comparar esta capacidad con antioxidantes como el Butilhidroxianisol (BHA) y el Butilhidroxitolueno (BHT) (Guinea *et al.* 2009).

Se ha incursionado en conocer métodos para preservar la capacidad antioxidante de la quercetina Dimitris *et al.* (2000) durante el calentamiento a elevadas temperaturas y predecir los cambios y concentración cuando es sometida a tratamientos térmicos con productos ricos en lípidos como el colesterol, (Chien *et al.* 2010).

De acuerdo con lo anterior, se presenta la siguiente investigación cuyo propósito es proporcionar bases teóricas validadas con el trabajo de campo y análisis estadístico, respecto a que los extractos naturales como manzana roja (*Pyrus malus L, var. red delicius*) y cebolla roja ocañera (*Allilium cepa L*), poseen fuentes potenciales de antioxidantes tipo flavonol quercetina, para controlar los productos de reacciones térmicas y oxidativas de sustancias grasas; es así que con el presente estudio se busca evaluar y comprobar la capacidad antioxidante de la quercetina presente en vegetales propios de la región, sobre la formación o no de radicales libres durante el calentamiento del aceite de palma refinado sin antioxidante para poder predecir el uso de esta sustancia en la industria a un mediano plazo.

Por lo tanto, el problema de la investigación gira en torno a la siguiente pregunta: ¿Tiene el flavonol quercetina de los extractos de manzana roja (*Pyrus malus L, var. red delicius*) y cebolla roja ocañera (*Allilium cepa L*) la capacidad antioxidante para conservar las propiedades físico químicas del aceite de palma RBD, durante un proceso de calentamiento continuo.

## MARCO TEÓRICO

Los lípidos son sustancias químicas muy diversas cuya característica común es ser insolubles en sustancias polares y solubles en disolventes no polares, debido a la naturaleza de sus enlaces carbono-carbono y carbono-hidrógeno. La serie de compuestos que cumplen las características de un lípido es muy amplia y se distinguen entre ellos dos grandes grupos, los cuales a su vez comprenden varias divisiones y subgrupos, tal como lo describe Ramírez (2011): **los lípidos relacionados con los ácidos grasos**, aquellas sustancias grasas que por hidrólisis liberan ácidos grasos o compuestos metabólicamente emparentados con los

ácidos grasos; estos se subdividen en lípidos simples (acilglicéridos), ceras, fosfolípidos, glucolípidos y esfingolípidos y **los lípidos no relacionados con los ácidos grasos**, los cuales se subdividen en isoprenoides como el colesterol y los lípidos pirrólicos.

Esta investigación se relaciona con los lípidos simples, los llamados acilgliceroles o éteres de glicerol, específicamente triglicéridos, los cuales dentro de su estructura química tienen una molécula de glicerol y tres de ácidos grasos, como lo explican Garrido et al.(2006). Estos últimos pueden tener cadenas carbonadas saturadas o insaturadas. Cuando la cadena tiene más de un doble enlace, se pueden presentar reacciones químicas que afectan la estabilidad y vida útil de los acilgliceroles de origen vegetal. Estas reacciones presentan mecanismos hidrolíticos (químicos y enzimáticos), térmicos y oxidación (química y enzimática). En Badui (1993) se encuentra este tema ampliado.

Un aceite de origen vegetal poli insaturado durante el almacenamiento y cuando es sometido a altas temperaturas puede sufrir reacciones hidrolíticas por la acción de las lipasas, siendo la más frecuente la de tipo oxidativo por acción química, en donde se forman peróxidos e hidroperóxidos (Bailey. 1984). Dentro de este mecanismo, existen tres grupos de reacción: **iniciación**, da lugar a la formación de radicales libres a partir de ácidos grasos insaturados (o de peróxidos lipídicos, llamados también hidroperóxidos); **propagación**, se caracteriza por una cierta acumulación de peróxidos lipídicos; es la etapa de oxidación de los ácidos grasos insaturados; **terminación**, reacciones en las que los radicales libres provenientes de la descomposición de peróxidos lipídicos, se asocian para formar productos no-radicales (aldehídos y cetonas de bajo peso molecular responsables del olor a rancio).

Para detectar los productos formados en este tipo de reacciones, se tienen análisis establecidos que ayudan a evaluar la estabilidad de las grasas mediante parámetros que indican alteración hidrolítica (índice de acidez) y alteraciones físicas (índice de refracción, punto de humo, la densidad, viscosidad y el color). Estos métodos están basados en la composición, como el índice de yodo, o miden productos de una oxidación primaria (el índice de peróxidos) y productos de una oxidación secundaria por espectrofotometría (el índice de absorción lipídica a 270 nm y 280 nm, índice de carbonilo e índice de ácido tiobarbitúrico).

La formación de peróxidos e hidroperóxidos provenientes de radicales libres de ácidos grasos puede ser controlada y estabilizada añadiendo al aceite antioxidantes. Estas moléculas se caracterizan porque a bajas concentraciones con respecto a las de un sustrato oxidable (biomoléculas), retarda o previene la oxidación de dicho sustrato. El antioxidante al reaccionar con el radical libre le cede un electrón, oxidándose a su vez y transformándose en un radical libre débil, con escasos o nulos efectos tóxicos y que en algunos casos como la vitamina E, pueden regenerarse a su forma primitiva por la acción de otros antioxidantes. Tienen diferentes mecanismos de acción: unos impiden la formación de los radicales libres y/o especies reactivas (sistema de prevención), otros inhiben la acción de los radicales libres (sistema barrador) y otros favorecen la reparación y la reconstitución de las estructuras biológicas dañadas (sistema de reparación), (Ugartondo, 2009).

Los antioxidantes se pueden sintetizar, como por ejemplo, el Butilhidroxianisol BHA y el Butilhidroxitolueno (BHT), los cuales son los más usados en la industria de la refinación de aceites; también pueden ser de origen natural y en este grupo sobresalen las propiedades funcionales de los flavonoides que se consideran compuestos fenólicos de vegetales, semillas, frutas y de bebidas como el vino tinto.

De acuerdo con Martínez *et al.* (2002), se han identificado más de 5000 flavonoides de diferentes fuentes naturales, todas con propiedades antioxidantes y eliminadoras de radicales libres en la salud humana. Los flavonoides son compuestos de bajo peso molecular que comparten un esqueleto común de difenilpiranos (C6-C3-C6), compuesto por dos anillos de fenilos (A y B) ligados a través de un anillo C de pirano (heterocíclico). Los átomos de carbono en los anillos C y A se numeran del 2 al 8, y los del anillo B desde el 2' al 6'12. La actividad de los flavonoides, como antioxidantes, depende de las propiedades redox de sus grupos hidroxifenólicos y de la relación estructural entre las diferentes partes de la estructura química. Esta estructura básica permite una multitud de patrones de sustitución y variaciones en el anillo C; una mayor profundización del tema lo exponen (Cuevas *et al.* 2009).

Una clase de flavonoides son los flavonoles que utilizan 3-hidroxi-2-fenilcromen-4-ona). Su diversidad radica en las diferentes posiciones que acomodan los grupos -OH fenólicos. Se conocen algunos ejemplos de flavonoles: Quercetina (3,3',4',5,7-pentahidroxi-2-fenilcromen-4-ona), Kaempferol (3,4',5,7-tetrahidroxi-2-fenilcromen-4-ona), Miricetina (3,3',4',5',5,7-hexahidroxi-2-fenilcromen-4-ona), Fisetina (3,3',4',7-tetrahidroxi-2-fenilcromen-4-ona). Un estudio más detallado de estos compuestos se encuentra en (Boyer, 2004).

De los anteriores, la quercetina es el antioxidante más promisorio. Su característica química más estudiada se relaciona con el poder antioxidante removedor de radicales libres, que le permite ejercer un papel citoprotector en situaciones de peligro de daño celular. Su capacidad antioxidante medida como Trolox es de 4.7 mM, lo que equivale a 5 veces más de lo demostrado por las vitaminas E y C, (Merck S.A, 2000). Su estructura y demás propiedades químicas se describen en (Rahman, 2003). Se suele utilizar como ingrediente activo de medicamentos de origen natural porque presenta una amplia variedad de efectos biológicos, aunque como ya se dijo anteriormente, debido a su poder sobre los radicales libres, las áreas de la ciencia de alimentos teniendo en cuenta sus ingredientes funcionales o nutraceútico, como el flavonol quercitina, deben evaluar con detenimiento su utilización en sistemas alimentarios, especialmente en aquellos que generen gran cantidad de radicales libres, como los aceites vegetales insaturados.

El aceite de palma es uno de los componentes mayoritarios de la mezcla de aceites para el freído de alimentos, una vez que se ha sometido a procesos de RBD (Refinación por vía química o física, blanqueo y/o pretratamiento y desodorización), de los cuales se obtiene un producto semisólido, de aspecto graso y color blanco amarillento. Su estabilidad química se evalúa mediante el índice de peróxidos, debido a que presenta entre el 35-45% de ácidos grasos monoinsaturados y un 10% de poliinsaturados que pueden generar oxidación química

del producto, lo que se puede controlar con la adición de antioxidantes; esto lo constituye en uno de los sustratos ideales para evaluar el uso potencial del flavonol quercetina.

## METODOLOGÍA

Las muestras de manzana roja (*Pyrus malus L, var. red delicius*) y cebolla roja ocañera (*Allium cepa L*) se obtuvieron directamente de un almacén de cadena; se utilizaron 2000 gramos de cada una de ellas con el fin de obtener el extracto. Se utilizó Quercetina pura ( $\geq 98\%$  de pureza grado HPLC). Las muestras de aceite de palma tipo industrial RBD (refinado, blanqueado y desodorizado) se obtuvieron directamente de la empresa SACEITES S.A (Santandereana de aceites); 1000 ml de aceite refinado de palma a granel con antioxidante TBHQ más BHT y 2000 ml de aceite refinado de palma a granel sin antioxidante, únicamente con el proceso de refinación.

Para verificar la presencia y cuantificación de flavonol quercetina, se siguió el protocolo recomendado por Lock, *et al.*, (2006), reacción de Shinoda y Análisis cuantitativo por espectrofotometría UV-V.

La determinación del índice de yodo se realizó siguiendo las Normas Técnicas Colombiana NTC -283, método químico relacionado con el grado de insaturación de las grasas o aceites, basado en una valoración volumétrica por retroceso, donde la etapa inicial consiste en una fijación de un reactivo halogenado adicionado en exceso (usualmente monocloruro de yodo o monobromuro de yodo) a los dobles enlaces de los ácidos grasos mono y poliinsaturados. Posteriormente, este exceso de halógeno se hace reaccionar con yoduro, formándose triyoduro que es valorado con una solución de concentración conocida de tiosulfato, utilizando el engrudo de almidón como indicador. En la experimentación se midió por volumetría cada dos, cuatro y seis horas de calentamiento continuo; los resultados se expresaron de acuerdo con la ecuación 1.

$$\text{Índice de Yodo} = \frac{12.69 (V_1 - V_2)}{m} \quad (1)$$

Para la determinación del índice de acidez, se aplicó la Norma Técnica Colombiana NTC: 262, método que evidencia la alteración hidrolítica. Existen diferentes procedimientos normalizados AOCS (American Oil Chemists' Society) y Cd 3d-63, ISO 660:1996, UNE 55.011 y 55.063, AFNOR 60.221, IUPAC 2.201), que difieren únicamente en algunos detalles. La valoración debe realizarse siempre con una solución etanólica de hidróxido potásico (KOH), mientras que la materia grasa por valorar debe macerarse en un disolvente adecuado. En la experimentación se midió por volumetría cada dos, cuatro y seis horas de calentamiento continuo; los resultados se expresaron de acuerdo con la ecuación 2.

$$\text{Acidez} \left( \frac{\text{mEq O}_2}{\text{Kg grasa}} \right) = \frac{(V \text{ ml tiosulfato}) * (N \text{ tiosulfato} * pm \text{ á. palmitico})}{10 * \text{peso de la muestra}} \quad (2)$$

Para la determinación de peróxidos se procedió de acuerdo con la Norma Técnica Colombiana NTC: 236, método basado en la oxidación primaria para la determinación de la alteración de grasas y aceites y utilizado universalmente para la medida del contenido total de peróxidos lipídicos (AOCS Cd 8-53 y Cd 8b-90, IUPAC 2501, AOAC 28.025-28.026, 965.33, UNE 55.023, DGF C-VI 6a, ISO 3960:1998). Su fundamento es la oxidación del ión yoduro a yodo, en medio ácido, por parte de los peróxidos lipídicos presentes en la grasa disuelta en cloroformo. El triyoduro formado se valora con una solución normalizada de tiosulfato sódico, con engrudo de almidón como indicador. Los resultados se expresan, habitualmente, en mEq de oxígeno por kg de grasa, ya que los peróxidos tienen estructuras variadas y no conocidas exactamente. En la experimentación se midió por volumetría cada dos, cuatro y seis horas de calentamiento continuo; los resultados se expresaron de acuerdo con la ecuación 3.

$$\dot{I}.peróxidos = \frac{(V_a - V_b) * T * 1000}{m} \quad (3)$$

En la realización de esta experimentación, se aplicaron 3 tratamientos (variable independiente) definidos así:

A= concentración de quercetina (0.18 mg/g), B= concentración de quercetina en el extracto de Manzana (0.0144mg/g), C= concentración de quercetina en el extracto de Cebolla (0.0955) y un testigo (o blanco) de Aceite de palma RBD, con antioxidante sintético (terbutil hidroquinona, TBHQ y butil hidroxitolueno, BHT). Todos bajo una constante de, T= Tiempo (2, 4 y 6 horas de calentamiento) y temperatura (180°C).

Interacciones:

Para medir los efectos que producen las diferentes concentraciones de quercetina en el aceite RDB sin antioxidante, se presenta un primer índice de yodo (%) variable  $Y_i$ .

Para medir los efectos que producen las diferentes concentraciones de quercetina en el aceite RDB sin antioxidante se presenta un segundo índice de peróxidos (meq/kg) variable  $X_i$ .

Para medir los efectos que producen las diferentes concentraciones de quercetina en el aceite RDB sin antioxidante se presenta un tercer índice de yodo (% de ácido palmítico) variable  $Z_i$ .

Cada una de las tres (3) variables fue medida a un nivel bajo y a un nivel alto; nivel bajo en el testigo y nivel alto en el tratamiento. Así mismo se realizó la medida en tres instantes de tiempo 2, 4 y 6 horas.

La investigación presenta un diseño tipo factorial  $3^2$  con 4 replicaciones ( $3^2 \times 4$ ) para un total de 36 réplicas, en el cual se considera que las variables independientes (tratamientos)

condicionan el comportamiento del aceite RDB sin antioxidante (nivel alto) vs el aceite con antioxidante (nivel bajo) durante el tiempo que dura el calentamiento continuo.

## RESULTADOS, ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

Se maceraron 2000 gramos de manzana roja y cebolla cabezona roja con alcohol absoluto y se llevaron a baño de maría para obtener 10 ml de extracto. Con la prueba cualitativa de Shinoda se determinó la presencia positiva de flavonoides en los extractos y se procedió a realizar la curva patrón por espectrofotometría a 415 nm (figura 1), obteniendo concentraciones de 0.0955 mg/g de quercetina en el extracto de cebolla roja ocañera (*Allilium cepa* L) y 0.0144mg/g de quercetina en el extracto de manzana roja (*Pyrus malus* L, var. red delicious).

**Tabla 1.** Curva patrón de quercetina

| ILUCIÓN (µl) | ABS    | CONCENTRACIÓN (mg/g) |
|--------------|--------|----------------------|
| 700          | 2.006  | 0.21                 |
| 350          | 0.9475 | 0.105                |
| 175          | 0.4945 | 0.052                |
| 100          | 0.2661 | 0.03                 |
| 82           | 0.2192 | 0.024                |
| 40           | 0.1669 | 0.012                |
| 0            | 0      | 0                    |



**Figura 1.** Curva patrón de quercetina

Una vez se determinó la concentración de quercetina en cada uno de los extractos vegetales, se adicionó al aceite de palma RBD sin antioxidante. A una muestra semejante de aceite, se le agregó quercetina ( $\geq 98\%$  de pureza grado HPLC) en una concentración de 0.18 mg/g (180 ppm) simulando la concentración inicial de antioxidante (TBHQ, BHT), que se adiciona en el proceso industrial durante el refinado. Se usó como blanco una muestra de aceite con antioxidante sintético (TBHQ, BHT). Finalmente, las muestras se llevaron a

simulación de calentamiento continuo durante 6 horas a 180 °C. Se realizaron las pruebas de laboratorio como se presenta en la figura 2:



Figura 2. Pruebas de laboratorio

Cada uno de los tratamientos contenía 125 ml de aceite RDB sin antioxidante. A cada volumen de aceite se adicionó 5 ml de los extractos vegetales, para obtener un aceite RDB sin antioxidante + 0.0955 mg/g de quercetina del extracto de cebolla roja ocañera (*Allilium cepa L*); aceite RDB sin antioxidante + 0.0144mg/g de quercetina del extracto de manzana roja (*Pyrus malus L, var. red delicius*); aceite RDB sin antioxidante + quercetina comercial 0.18 mg/g. Se tienen así tres concentraciones de quercetina diferentes para determinar cuál de los tratamientos obtiene menos formación de peróxidos.

Para el índice de acidez, el comportamiento de cada curva (cada tratamiento) no sigue un patrón homogéneo, como se observa en la figura 3; el tratamiento que actúa como blanco (aceite con antioxidante), a medida que transcurre el tiempo, presenta un aumento en el contenido de ácidos grasos libres que supera el índice máximo recomendado en la NTC 262 (0.1%). De la misma forma, con el paso del tiempo, en el tratamiento con quercetina 0.0144 mg/g del extracto de manzana, el contenido de ácidos grasos aumenta hasta sobrepasar el máximo recomendado en la normatividad, pero es el que menor índice presenta. El tratamiento con quercetina 0.0955 mg/g del extracto de cebolla y 0.18 mg/g de quercetina pura  $\geq 98\%$ , presenta aumento en este índice de manera semejante, con valores muy por encima de la normatividad, identificando que estos dos tratamientos son los que más contenido de ácidos grasos libres tienen. Los resultados del ANOVA relacionan diferencias significativas en el tratamiento 0.0955 mg/g ( $P_{\text{value}} = 0.013$  a un nivel de significancia del 5%) con respecto al efecto del tiempo de exposición y esto concuerda con los valores registrados en la figura 3. Para los demás tratamientos, el análisis de varianza presenta un  $P_{\text{value}} = 0.000$  a un nivel de significancia del 5%, para el mismo efecto tiempo. De acuerdo con lo anterior, el análisis estadístico conduce a deducir que este índice no evalúa la capacidad antioxidante ya que solo registra diferencias significativas en el efecto tiempo, siendo este uno de los principales factores en donde, junto con la temperatura de trabajo (180°C), se generan altos contenidos de ácidos grasos libres, provenientes del rompimiento del enlace éster de los triglicéridos, lo que se considera una reacción térmica con consecuencias

industriales no deseables, ya que un alto valor del índice de acidez genera puntos de humos bajos, cambios en la viscosidad del aceite y cambios de color.

Los resultados obtenidos para el índice de peróxidos se muestran en la figura 4. El análisis de este índice se considera una prueba trascendental para confirmar si el flavonol quercetina tiene capacidad antioxidante para grasas y aceites. Este índice presenta una tendencia a aumentar durante el tiempo que dura el tratamiento térmico (180°C). Del análisis de varianza realizado, se concluye que hay diferencias significativas entre los diferentes tratamientos: el tratamiento con quercetina pura  $\geq 98\%$ , indica que el efecto principal para la formación de peróxidos medidos en mequivO2/kg, es el tiempo del tratamiento térmico ( $P_{\text{value}} = 0.000$  a un nivel de significancia del 5%) y la concentración es de 0.18 mg/g ( $P_{\text{value}} = 0.000$  a un nivel de significancia del 5%), lo que explica el comportamiento de los datos obtenidos, los cuales registran índices por encima de la normatividad (NTC 236, 1 como máximo), lo que se traduce en una nula o baja actividad antioxidante.

El tratamiento con quercetina del extracto de cebolla indica que el efecto principal para la formación de peróxidos medidos en mequivO2/kg es la concentración de 0.0955 mg/g ( $P_{\text{value}} = 0.002$  a un nivel de significancia del 5%) más que el tiempo ( $P_{\text{value}} = 0.000$  a un nivel de significancia del 5%). Al igual que en el tratamiento anterior, se puede interpretar como una nula o baja actividad antioxidante y a esto se le agrega que tales resultados se obtienen en los tratamientos que poseen las mayores concentraciones de quercetina.

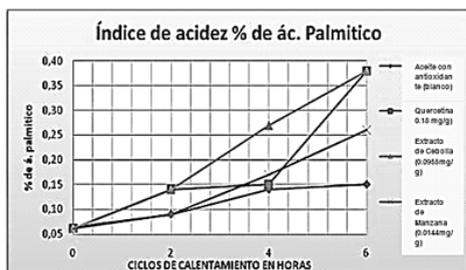


Figura 3. Resultados Índice de Acidez

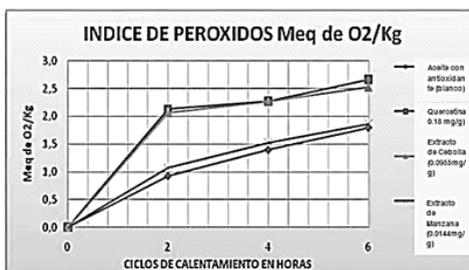


Figura 4. Resultados Índice de peróxidos

En el tratamiento con quercetina del extracto de manzana, el análisis de varianza indica que el efecto principal para la formación de peróxidos medidos en mequivO2/kg es el tiempo de exposición ( $P_{\text{value}} = 0.028$  a un nivel de significancia del 5%) más que la concentración de quercetina en 0.0144 mg/g ( $P_{\text{value}} = 0.000$  a un nivel de significancia del 5%); aunque los valores para este tratamiento, exceden el valor máximo de la NTC 236 (1 como máximo), presenta índices de peróxidos moderados, dado que de los tres tratamientos, es el único que presenta índices semejantes a los registrados en las muestras de aceite con antioxidante TBHQ, BHT.

El comportamiento de este índice durante el tiempo que dura el tratamiento térmico (180°C) para el tratamiento de manzana (0.0144 mg/g), comparando el tratamiento blanco

(aceite con antioxidante TBHQ, BHT), es traducido en una actividad antioxidante, en la cual, la concentración en que se halla presente la quercetina en el tratamiento, es posible que tenga las mismas propiedades químicas que el antioxidante comercial que posee el blanco (TBHQ, BHT) para actuar como donadores de protones (H<sub>2</sub>) y estabilizar los radicales libres formados a partir de las insaturaciones que se encuentran en la muestra. A medida que transcurre el tiempo, el índice de peróxidos aumenta, lo que se atribuye a la temperatura de trabajo (180°C) que puede generar desestabilización de la quercetina (en todos los tratamientos) sobre las estructuras o centros que actúan como donadores de protones; se recomienda, entonces, evaluar la estabilidad térmica de la quercetina para mantener su capacidad antioxidante, específicamente, la obtenida en el extracto de manzana y, además, analizar un efecto inhibitor que podría presentarse al usar altas concentración de quercetina, como se observa en el tratamiento en los extracto de cebolla y manzana.

Para el índice yodo, la información que suministra el análisis de varianza puede ayudar a evaluar la capacidad antioxidante del flavonol quercetina de los diferentes extractos; el análisis de datos mediante el ANOVA permite decir que hay diferencias significativas en todos los tratamientos. Las interacciones entre tiempo y concentración indican que el tratamiento 0.0144 mg/g presenta la mayor diferencia significativa ( $P_{\text{value}} = 0.038$  a un nivel de significancia del 5%), seguida del tratamiento de 0.0955 mg/g ( $P_{\text{value}} = 0.006$  a un nivel de significancia del 5%); es decir, el tiempo y concentración del tratamiento, de alguna manera, modifican el número promedio de las insaturaciones en un rango entre 60-65, como se observa en la figura 5. Para realizar un análisis más acertado de la relación de este índice con la capacidad antioxidante, es necesario seguir evaluando con más detalle el efecto del tiempo del tratamiento térmico, la temperatura de trabajo y la relación de las concentraciones de quercetina.

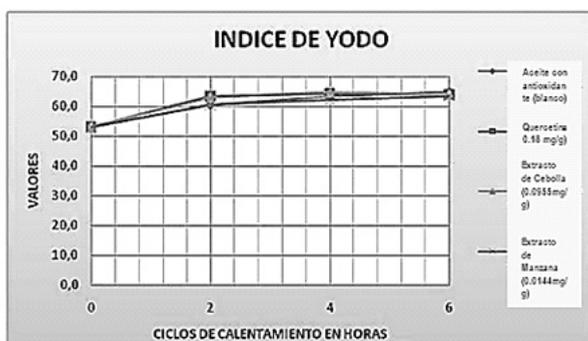


Figura 5. Resultados Índice de Yodo

**Características finales de cada uno de los tratamientos, al concluir el calentamiento continuo:** a las dos horas, se observa que el color de las muestras permanecen iguales que en el tiempo cero; no hay modificaciones en el color ni en la apariencia del aceite. A las cuatro horas de calentamiento continuo, se empieza a observar cambios en la coloración de

cada tratamiento, específicamente para el tratamiento con 0.0955 mg/g (extracto de cebolla roja ocañera). También se perciben aumentos en la viscosidad del aceite. A las seis horas, se presenta un aumento en la coloración de forma generalizada en todas las muestras, pero acentuada en los tratamientos con 0.0955 mg/g (extracto de cebolla roja ocañera y 0.18 mg/g de quercetina pura  $\geq 98\%$ ). Estas observaciones eran de esperarse, de acuerdo con los resultados obtenidos en los índices de acidez, debido a que el oscurecimiento del color es un proceso complejo donde intervienen diferentes productos de descomposición térmica, entre ellos, la hidrólisis del enlace éster de los acilglicéridos para generar dentro de las muestras ácidos grasos libres, además de compuestos minoritarios como los pigmentos del aceite. La formación de un elevado número de ácidos grasos libres conduce a un incremento de la viscosidad del aceite o grasa a lo largo de la fritura y disminución del punto de humo, por lo que es importante considerar el rango de temperatura de trabajo.

### CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Con el presente trabajo se demuestra que el flavonol quercetina presente en el extracto de manzana roja (*Pyrus malus L, var. red delicious*) posee mayor actividad antioxidante, frente al tratamiento con extracto de cebolla roja ocañera (*Allilium cepa L*) y al tratamiento con quercetina pura ( $\geq 98\%$  de pureza grado HPLC); dicha actividad es muy similar al tratamiento de aceite con antioxidante comercial (TBHQ, BHT) en un tratamiento térmico a 180°C y un tiempo total de seis horas.

Con respecto a la similitud entre los antioxidantes comerciales, es importante seguir demostrando que la quercetina de origen vegetal, puede ser más efectiva que la de los antioxidantes sintéticos como el BHT, tal como lo demostró Guinua *et al.* (2009), al reducir considerablemente la oxidación de otro tipo de lípidos como el colesterol.

Es importante ajustar el tiempo del tratamiento térmico. Los tiempos recomendados por Gertz *et al.* (2000) para evaluar la estabilidad oxidativa de aceites están en el rango de 140-170°C, lo que podría explicar, que a temperaturas superiores de 170°C, se llegue a la temperatura de humo del aceite y a la degradación térmica de la quercetina. Es importante evaluar nuevamente el comportamiento del índice de peróxidos con otros tipos de aceites o mezclas de aceites vegetales, ya que podría llegar a dar valores superiores al evaluar la estabilidad oxidativa de aceites, cuando se tratan con este tipo de antioxidantes, como los que obtuvo Gertz *et al.* (2000) en la estabilidad del aceite de algodón y semillas de colza, en donde un valor de la estabilidad oxidativa de 35 para la quercetina en el aceite de algodón es muy superior al registrado en antioxidantes sintéticos como el BHA y el BHT; para el aceite de las semillas de colza, la estabilidad oxidativa es de 60 para la quercetina en comparación al BHA - BHT que fue de 50.

Es importante señalar, de acuerdo con los resultados del índice de peróxidos, que la capacidad antioxidante de la quercetina del extracto de cebolla roja ocañera (*Allilium cepa L*) e incluso el de la quercetina en el extracto de manzana roja (*Pyrus malus L, var. red delicious*), puede dar mejores resultados si se evalúa la degradación térmica y oxidativa

de la quercetina, considerando que en el extracto puede haber concentraciones de iones hierro y sobre los que se considera que inducen la oxidación de la quercetina como lo referencian Dimitris *et al.* (2000), quienes demostraron que los flavonoles son muy lábiles a la degradación térmica inducida bajo condiciones oxidantes en presencia de estos iones.

Al finalizar el proceso de calentamiento, se observan cambios en la coloración del aceite; los tratamientos con quercetina pura  $\geq 98\%$  y extracto de cebolla roja ocañera (*Allilium cepa L.*), presentan la mayor coloración y aumento de la viscosidad debido a los productos de las reacciones oxidativas catalizadas por la temperatura del calentamiento; esto puede explicar los altos valores de índice de acidez de estas muestras.

En relación con el índice de yodo, para dar un análisis más acertado de la relación del índice de yodo, con la capacidad antioxidante, es necesario seguir evaluando con más detalle el efecto del tiempo del tratamiento térmico, la temperatura de trabajo y la relación de las concentraciones de quercetina, ya que este índice no indica un grado de descomposición térmica, sino que relaciona información de la composición en cuanto al promedio de las insaturaciones; por lo tanto es importante reevaluar la participación de este índice en la capacidad antioxidante.

El índice de acidez no ayuda a evaluar la capacidad antioxidante de la quercetina; los valores registrados durante la experimentación, son el resultado del efecto de la temperatura y el tiempo de exposición.

Es importante anotar, que existen metodologías directas que relacionan la caracterización de la capacidad antioxidante de un extracto o compuesto como por ejemplo fenoles totales, ABTS (2,2-azinobis-[3 etilbenzotiazolin-6-sulfónico]), DPPH (1,1-difenil2-picrilhidracil), FRAP (ferric reducing/antioxidant power) y ORAC (oxygen radical absorbance capacity), metodologías que llegan a elucidar el mecanismo de reacción, ya sea en ensayos que involucran transferencia de átomos de hidrógeno o en ensayos por transferencia de electrones cuando los objetivos de la investigación sólo relacionan el antioxidante en estudio. En esta investigación, se evaluó la capacidad antioxidante por el índice de peróxidos, debido a que proporciona información del estado de oxidación inicial de la muestra (aceite de palma), permite relacionar el estado de deterioro del aceite en las condiciones descritas, lo que relaciona a la vez la capacidad antioxidante del extracto vegetal, que se entiende como la capacidad de estabilizar los radicales libres provenientes de la muestra de aceite de palma RBD.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALUYOR O., Emmanuel.; Ori-Jesu., Mudiakeoghene. 2008. The use of antioxidants in vegetable oils – A review. African Journal of Biotechnology. Vol. 2(25) 4836-4842.
- BADUI, DERGAL., Salvador. 1993. Química de los alimentos. Pearson Educación. México. 215-230, 304.

- BAILEY., ALTON E. 1984. Aceites y Grasas Industriales. Segunda Edición. Editorial Reverté, S.A. Barcelona. Páginas 4-41.
- BOYER., Jeanelle.; Liu., Rui Hai. (2004). Apple phytochemicals and their health benefits. Nutrition Journal. Vol 3(5) 1-15.
- CHIEN., John- Tung.; Hsu., Da-Jung.; Baskaran., Stephen. 2010. Integral Kinetic Model for Studying Quercetin Degradation and Oxidation as Affected by Cholesterol During Heating. International Journal of Molecular Sciences. Vol 11, 2806-2820.
- CUEVAS, MARTINEZ., Elvis Y.; Escamilla J., Christopher I.; Guevara F., Jorge. 2009. Monografía Flavonoides y sus acciones antioxidantes. Revista de Facultad de Medicina UNAM. Vol 52, No. 2. 73-75.
- DIMITRIS., P.; Rossiter, T., John. 2000. Heat-Induced, Metal-Catalyzed Oxidative Degradation of Quercetin and Rutin (Quercetin 3-O-Rhamnosylglucoside) in Aqueous Model Systems. Journal of Agriculture and Food Chemistry. Vol 48 (9), página 3830-3838.
- GARRIDO., Armando; Teijon, Rivera., Jose M. 2006. Fundamentos de Bioquímica estructural. Segunda Edición. Editorial Tébar. Madrid. 347- 350.
- GERTZ., Christian.; Klostermann., Sabine.; Kochhar., Parkash. 2000. Testing and comparing oxidative stability of vegetable oils and fats at frying temperature. European Journal of Lipid Science and Technology, Vol. 102, 543-551.
- GUINUA., Xu.; Lei., Guan.; Junliang., Sun.; Zhen-Yu., Chen. 2009. Oxidation of Cholesterol and  $\beta$ -Sitosterol and Prevention by Natural Antioxidants. Journal of Agriculture and Food Chemistry. Vol 57(19), 9284-9292.
- Instituto Colombiano de Normas Técnicas Icontec. 2010. NTC 262. Grasas y aceites comestibles vegetales y animales. Aceite de palma.
- Instituto Colombiano de Normas Técnicas Icontec. 2010. NTC 283. Grasas y aceites comestibles vegetales y animales. Determinación del índice de yodo. Icontec.
- Instituto Colombiano de Normas Técnicas Icontec. 2010. NTC 236. Grasas y aceites comestibles vegetales y animales. Determinación del índice de peróxido. Icontec.
- LOCK., Olga.; Cabello., Isabel.; Doroteo., Víctor H. 2006. Análisis de flavonoides en plantas. Pontificia Universidad Católica del Perú. Página 2-3. en [http://old.iupac.org/publications/cd/medicinal\\_chemistry/Practica-VI-6.pdf](http://old.iupac.org/publications/cd/medicinal_chemistry/Practica-VI-6.pdf).

- MARTÍNEZ, FLÓREZ., S.; González, Gallego., J.; Culebras., M. 2002. Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. Revista Nutrición Hospitalaria Departamento de fisiología, Universidad de León. España. Vol XVII (6), 271-277.
- MERCK S.A. 2000. Industrias Químicas. Bioflavonoides: Quercetina y Rutina.
- RAMÍREZ., R. 2010. Química de alimentos. Universidad Nacional Abierta y a Distancia UNAD. Bogotá D.C. 113, 300-307.
- RAHMAN., Atta-ur. 2003. Studies in Natural Products Chemistry. Bioactive natural Products (part I). Vol. 20. Amsterdam. Editorial Elsevier. 285.
- ROSS J.; Kasum C. 2002. Dietary flavonoids: Bioavailability, metabolic effects, and safety. Annual Review Nutrition. Vol. 22, 19-34.
- UGARTONDO, CASADEVALL., Vanessa. 2009. Caracterización de derivados polifenólicos obtenidos de fuentes naturales. Citotoxicidad y capacidad antioxidante frente a estrés oxidativo en modelos celulares. Facultad de farmacia, Universidad de Barcelona. 12.