



Caracterización y actividad antioxidante de aceites de semillas de *Citrus aurantifolia* (Christm.) Swingle y *Citrus sinensis* (L.) Osbeck ecotipos Pica

[Characterization and antioxidant activity of seed oils from *Citrus aurantifolia* (Christm.) Swingle and *Citrus sinensis* (L.) Osbeck ecotypes Pica]

Wai-Houng F. Chou Kam

Departamento de Ciencias Farmacéuticas. Facultad de Ciencias. Universidad Católica del Norte. Edificio Ñ3, Av. Angamos 0610, Antofagasta, Chile.

* E-mail: wckooi@ucn.cl

Director: Gabino Garrido Garrido.

Co-Director: León Goity Vivar.

Fecha: 21 de marzo de 2015.

TRABAJO PRESENTADO EN OPCION AL TÍTULO DE QUÍMICO FARMACÉUTICO.

Esta tesis está vinculada con el área de la farmacognosia y el estrés oxidativo.

Los conocimientos sobre los aceites presentes en las semillas de diferentes frutos sirvieron de base para que en el Laboratorio de Productos Naturales del Departamento de Ciencias Farmacéuticas de la Universidad Católica del Norte se extrajeran aceites de semillas de *Citrus aurantifolia* (Christm.) Swingle (limón de Pica) y *Citrus sinensis* (L.) Osbeck (naranja dulce de Pica). Para ello, se utilizaron las técnicas de extracción por Soxhlet, ultrasonido directo y ultrasonido indirecto, obteniéndose un mayor rendimiento con el primer método. Además, fue determinado el perfil de ácidos grasos, con composición mayoritaria de ácidos grasos insaturados, como los ácidos linoleico y oleico. También, se determinaron la cantidad de fenoles totales presentes y la actividad antioxidante, obteniendo mejores resultados para los aceites derivados de las semillas de naranja dulce de Pica.

La tesis está constituida por 131 páginas y su estructura comprende una introducción, cuatro capítulos, referencias bibliográficas y otras informaciones (anexos).

En la Introducción se aborda en dos páginas, de forma sintética, tanto el estado del arte del proceso de extracción de aceites de semillas como de la investigación y determinación de la composición de ácidos grasos, cuantificación de los compuestos fenólicos totales y evaluación de la actividad antioxidante de dichos aceites. También

se plantean la hipótesis, un objetivo general y cuatro objetivos específicos de manera clara y precisa, dirigidos al estudio de la extracción de aceites por técnicas convencionales y no convencionales, cuantificación de ácidos grasos y compuestos fenólicos totales y evaluación de la actividad antioxidante.

El capítulo 1 presenta la Revisión Bibliográfica (Marco Teórico), en la que en 27 páginas, se hace un resumen de la localidad de Pica, ubicada en la Región de Tarapacá, Chile, donde fue obtenida la materia prima utilizada en este trabajo. Luego, se abordan las distintas especies estudiadas, desde su descripción botánica hasta su producción industrial, tanto a nivel local como internacional. Además, se realiza una revisión de los compuestos más importantes presentes en las semillas, como los ácidos grasos y compuestos fenólicos, la descripción de sus propiedades fisicoquímicas como también sus roles a nivel biológico y sus beneficios en la salud humana. Se explica el funcionamiento de las técnicas de extracción por Soxhlet, extracciones directa o indirecta asistidas por ultrasonido, como métodos extractivos utilizados, como también de la técnica para la identificación y cuantificación de ácidos grasos (cromatografía de gases). A ello, se le suma la explicación de las técnicas de Folin-Ciocalteu y ensayo con el radical 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH•), para la cuantificación de fenoles totales y medición de la capacidad antioxidante de los aceites, respectivamente.

El capítulo 2 aporta los Materiales y Métodos en cuyas seis páginas se aborda la metodología con que se realizó el estudio. Se realiza una descripción del material de ensayo y la forma en que se obtuvo éste. Se describe la obtención de la materia prima, desde su recolección hasta el posterior procesamiento de sus semillas para los distintos análisis realizados. Se definieron las tres técnicas de extracción utilizadas: extracción por Soxhlet, extracción directa como indirecta asistida por ultrasonido, con sus respectivas condiciones, y consecuentemente, la obtención del porcentaje de rendimiento de cada proceso. Se describe además que la determinación del perfil de ácidos grasos se llevó a cabo mediante la técnica de cromatografía de gases acoplada a detector de ionización por llama, en donde se identificaron los distintos ácidos grasos mediante la comparación del tiempo de retención frente a un estándar y la cuantificación se realizó por el método de normalización de áreas. La cantidad total de compuestos fenólicos se obtuvo mediante la técnica colorimétrica de Folin-Ciocalteu y la capacidad antioxidante de los aceites, a través del método DPPH•. Todos los ensayos se realizaron por triplicado. Los datos fueron procesados mediante análisis estadísticos adecuados.

El capítulo 3 presenta en 45 páginas los Resultados del estudio y la Discusión de dichos resultados en base a las referencias bibliográficas actualizadas. Este capítulo se divide en cuatro subcapítulos: 3.1. Extracción convencional por Soxhlet y asistida por ultrasonido; 3.2. Perfil de ácidos grasos; 3.3. Composición de fenoles totales; y 3.4. Capacidad antioxidante. Estos resultados demostraron que los porcentajes de rendimiento de la obtención de aceite por Soxhlet fueron mayores, en comparación con las técnicas de ultrasonido. Además, independiente de la muestra y la técnica de extracción existe una mayor composición de ácidos grasos insaturados (ácidos linoleico, oleico y α -linolénico), que de ácidos grasos saturados (predominantes los ácidos palmítico y tricostílico). En cuanto a la cuantificación de compuestos fenólicos totales, no se obtuvieron diferencias significativas entre ambas especies; sin embargo, entre las distintas

técnicas de extracción se obtuvieron diferencias significativas entre los aceites de naranja obtenidos por Soxhlet y por ultrasonido directo. En la medición de la capacidad antioxidante el aceite de naranja de Pica, obtenido por Soxhlet, presentó un mejor comportamiento antioxidante que las demás muestras, corroborado por sus valores de actividad anti-radicalaria y concentración efectiva 50 frente al radical DPPH•.

El capítulo 4 aporta las Conclusiones y Recomendaciones a las que arriba el estudio. Dentro de las conclusiones se destaca que los aceites de semillas de limón y naranja de Pica presentan ácidos grasos y compuestos fenólicos de interés biológico y con potencial actividad antioxidante. Entre todas las técnicas de extracción, la extracción por Soxhlet fue la más óptima y otorga un mayor rendimiento del proceso. Los ácidos grasos más abundantes corresponden a los ácidos linoleico, palmítico y oleico. Además, se determinó que los aceites de semillas de naranja de Pica presentan un mayor potencial antioxidante que los obtenidos a partir de semillas de limón de Pica.

Las Referencias Bibliográficas del estudio cuentan con 79 citas bibliográficas; de ellas, 30 (38%) de los últimos cinco años y 54 (58%) de los últimos 10 años.

La tesis cuenta además, de seis tablas que resumen algunos datos relevantes en la Revisión Bibliográfica y las condiciones de extracción y análisis de ácidos grasos en Materiales y Métodos y ocho figuras en las que se muestran las especies y equipos utilizados, así como algunos fundamentos de las técnicas en la Revisión Bibliográfica. Además, presenta 32 tablas y 49 figuras en las que se exponen los resultados alcanzados.

Se ha presentado un trabajo, derivado de esta tesis, en el XXXVI Congreso Anual de la Sociedad de Farmacología de Chile, realizado del 5 al 7 de noviembre de 2014, en las Termas de Chillán, Chile, obteniendo el premio a la mejor investigación científica expuesta en formato de póster.

Agradecimientos: Proyecto FONDECYT 1130601, por el financiamiento de la tesis.