



## Cuantificación de polifenoles y actividad antioxidante en extractos de cáscaras de *Citrus x sinensis* ecotipo Pica

[Quantification of poliphenols and antioxidant activity in peel extracts of *Citrus x sinensis* ecotype Pica]

Jacqueline N. Gutiérrez Flores

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

\* E-mail: [nicole.hidalgof@gmail.com](mailto:nicole.hidalgof@gmail.com)

Director: Gabino Garrido Garrido.

Co-Director: León Goity Vivar.

Fecha: 4 de abril de 2015.

TRABAJO PRESENTADO EN OPCION AL TÍTULO DE QUÍMICO FARMACÉUTICO.

Esta tesis está vinculada con el área de investigación en productos naturales.

La cáscara de naranja ha sido estudiada como una fuente rica en polifenoles. Para la extracción de éstos en cáscaras de *Citrus x sinensis* (L.) Osbeck se utilizaron las técnicas de extracción por maceración y la asistida por ultrasonido, obteniéndose un mayor rendimiento con el primer método. Se determinaron la cantidad de fenoles y flavonoides totales presentes, así como la determinación del contenido de hesperidina por medio de CLAE-DAD y la actividad antioxidante para ambos extractos.

La tesis está constituida por 81 páginas y su estructura comprende una introducción, 5 capítulos y referencias bibliográficas.

En la Introducción se aborda en 1,5 páginas de forma sintética, tanto el estado del arte del proceso de extracción de polifenoles presentes en cáscara de naranja de Pica como de la investigación y determinación de fenoles totales, flavonoides totales, perfil CLAE-DAD y actividad antioxidante de dichos extractos. También se plantean la hipótesis, un objetivo general y dos objetivos específicos de manera clara y precisa, dirigidos al estudio de la extracción de polifenoles por una técnica convencional y otra no convencional, la cuantificación de fenoles y flavonoides totales, la determinación de un perfil de flavonoides mediante CLAE-DAD y la evaluación de actividad antioxidante.

El capítulo 1 presenta la Revisión Bibliográfica (Marco Teórico), en la que en 15 páginas, se hace

un resumen del estado del arte, comenzando tanto con la descripción botánica de la especie en estudio, así como del clima donde este ecotipo se desarrolla en la localidad de Pica, ubicada en la Región de Tarapacá, Chile. Luego se abordan los antecedentes del uso tradicional, tanto en el área gastronómica como farmacéutica, de la especie, así como los antecedentes químicos del pericarpio de forma general. Posteriormente, se abordan los flavonoides descritos para este residuo, especialmente con la flavanona hesperidina, sus propiedades fisicoquímicas y su rol desde el punto de vista de sus efectos farmacológicos. Se explica el fundamento de las técnicas de extracción por maceración y ultrasonido, así como el de los métodos utilizados para la determinación de fenoles y flavonoides totales, TLC, CLAE-DAD y finalmente del ensayo con el radical DPPH para la evaluación de la actividad antioxidante de los extractos utilizados.

El capítulo 2 aporta los Materiales y Métodos en cuyas 13 páginas se aborda la metodología con que se realizó el estudio. Se hace una descripción del material de ensayo y la forma en que se obtuvo éste. Se describe la obtención de la materia prima, desde la recolección hasta el procesamiento de la cáscara, para la obtención de un extracto seco. La determinación de fenoles totales se realizó mediante el ensayo colorimétrico de Folin - Ciocalteu, mientras que los flavonoides totales por medio del ensayo colorimétrico del cloruro de aluminio. El análisis cualitativo por TLC, se realizó utilizando una mezcla de cloro-

formo:acetato de etilo:ácido fórmico 87,5:16,5:8,5 y NP como revelador, para proseguir con el análisis cuantitativo por medio de CLAE-DAD, bajo un método de elución en gradiente, utilizando un patrón de hesperidina para la generación de una curva de calibrado. Además, se determinó la capacidad antioxidante a través del método DPPH•.

Todos los ensayos se realizaron por triplicado y los datos fueron procesados mediante un análisis de varianza de una vía, con una significancia estadística de  $p < 0,05$  y un intervalo de confianza de 95%.

El capítulo 3 presenta en 30 páginas los Resultados del estudio y la Discusión de éstos en base a estudios anteriores. Este capítulo se divide en seis subcapítulos: 3.1. Extracción por maceración y asistida por ultrasonido; 3.2. Determinación de fenoles totales; 3.3. Determinación de flavonoides totales; 3.4. Análisis cualitativo por TLC; 3.5. Análisis cuantitativo por CLAE-DAD y 3.6. Capacidad antioxidante. Estos resultados demostraron que los porcentajes de rendimiento de la extracción variaron significativamente, obteniéndose un mayor valor para la extracción por el método convencional de maceración. En cuanto a la determinación de fenoles totales, se logró demostrar que no existe una diferencia estadísticamente significativa del contenido de éstos en ambos extractos, contrario a lo sucedido con la determinación de flavonoides totales en donde sí existió una diferencia estadísticamente significativa a favor de la técnica de maceración. El análisis por medio de TLC demostró la presencia de hesperidina en ambos extractos, por lo que se utilizó esta flavanona como patrón en los análisis por CLAE-DAD, mostrando una diferencia estadísticamente significativa entre ambos extractos a favor de la técnica asistida por ultrasonido. Además, en la evaluación de la capacidad antioxidante, se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas entre ambos extractos, demostrándose que con el extracto obtenido por ultrasonido

se obtiene un mejor comportamiento antioxidante, corroborado por su valor de concentración efectiva 50 ( $CE_{50}$ ).

El capítulo 4 aporta las Conclusiones y Recomendaciones a las que arriba el estudio. Dentro de las Conclusiones se destaca que la maceración logra un rendimiento muy superior al obtenido en una extracción asistida por ultrasonido; sin embargo, no existe diferencia estadísticamente significativa en el contenido de fenoles totales, contrario a lo sucedido con el contenido de flavonoides en donde sí existió una diferencia estadísticamente significativa. Se demostró la presencia de hesperidina en ambos extractos, cuantificada por medio de CLAE-DAD, con diferencias estadísticamente significativas entre ambos extractos a favor de la extracción por ultrasonido. Además, se determinó que el extracto con mayor contenido de hesperidina presentó una mayor capacidad antioxidante que el obtenido por maceración.

Las Referencias Bibliográficas del estudio cuentan con 57 citas bibliográficas; de ellas, 16 (28%) de los últimos cinco años y 22 (39%) de los últimos 10 años.

La tesis consta además, de cuatro tablas que resumen datos relevantes de la Revisión Bibliográfica y protocolos y condiciones utilizadas para los análisis de los extractos en Materiales y Métodos y cinco figuras en las que se muestran la especie utilizada y detalles estructurales de los compuestos descritos que componen el pericarpio de la especie, así como con 25 tablas y 22 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.

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