

Estabilidad del aceite de soja acondicionados con extractos orgánicos de grapefruit (*Citrus paradisis* Macf)

Stability of soybean oil conditioned from organic extracts of grapefruit (*Citrus paradisis* Macf)

M.J. Moreno-Álvarez, C.Y. Guarán, D.R. Belén Camacho, D. García
Pantaleón y C.A. Medina Martínez

Universidad Simón Rodríguez, Laboratorio de Biomoléculas, Carretera
Nacional vía Bejuma-Urama, Canoabo, estado Carabobo Venezuela.

Resumen

La actividad antioxidante de los extractos orgánicos provenientes de las cáscaras y semillas de grapefruit fue evaluada. Estas se procesaron para transformarlas en harinas y se sometieron a la extracción de los metabolitos no polares mediante solventes orgánicos empleando diferentes relaciones harina/solvente (0,5:25; 1:25 y 2:25). Se procedió a realizar extracciones individuales con un volumen fijo (25 mL de metanol al 85% v/v) y se almacenaron (48 h) en la oscuridad. Posteriormente a los extractos metanólicos obtenidos se les añadió éter de petróleo/metanol (1:1 v/v) y se sometieron a agitación en un embudo de decantación hasta la aparición de dos fases bien definidas. Como resultado de la extracción se formaron dos fases: acuosa-metanólica y orgánica, respectivamente. Los productos de la fase orgánica fueron dosificados a muestras de aceite de soja desodorizado en diferentes proporciones (0,01%; 0,75% y 0,10%). Las muestras fueron colocadas en una estufa de aire a una temperatura de $60 \pm 1^\circ\text{C}$ y a intervalos de 24 h se les determinó el índice de peróxido hasta alcanzar una duración de 600 horas de estudio. Se evidenció diferencias significativas entre los tratamientos, lográndose determinar un efecto antioxidante independientemente de la fuente de los metabolitos, relación peso harina y volumen de extracción y la concentración del extracto ($P < 0,05$). No se determinó efecto pro-oxidativo en los aceites acondicionados. Se concluye que los extractos orgánicos incorporados al aceite de soja produce efecto antioxidativo.

Palabras clave: Grapefruit, antioxidantes, soja, aceites.

Recibido el 10-11-2005 ● Aceptado el 5-3-2007

Autor de correspondencia e-mail: morenoalvarez@cantv.net

Abstract

The antioxidant activity of organic extracts from grapefruit seed and peel was evaluated. The seeds and peels were transformed into flour and the organic extracts were extracted by means of organic solvents in the following flour/solvent ratio: 0.5:25; 1:25 and 2:25. Then, single extractions with 25 mL of methanol 85% (v/v) were realized and stored in the darkness by 48 h. Afterward, methanolic extracts were mixed in proportion 1:1 (v/v) with petroleum/methanol either and stirred until the appearance of two sharp phases. Subsequently, aqueous phase was extracted with ethyl acetate and two phases were separated: aqueous-methanolic and organic, respectively. Doses of organic phase in proportion of 0.01%, 0.75% and 0.10%, were added to soybean oil. Samples were stored in air stove at $60^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ and peroxide value was determined every 24 h during 600 h of study. Significant differences were found between treatments ($P < 0.05$). An antioxidant effect was showed independently of the metabolite source, flour weight/extraction volume ratio or extract concentration ($P < 0.05$). None treatment showed pro-oxidant effects. In conclusion, the incorporation of organic extracts into deodorized soybean oil permitted to confirm it antioxidant performance.

Key words: grapefruit, anti oxidants, soybean, oils.

Introducción

En Venezuela existe una producción anual de grapefruit (*Citrus paradisis* Macf) de 900 toneladas aproximadamente (10), de las cuales el 55% son desechos ricos en metabolitos secundarios como son: carotenoides, tocoferoles y flavonoides (1). En relación a los carotenoides estos compuestos son solubles en lípidos y en solventes no polares, los cuales son fácil de extraer utilizando adecuadas marchas de separación (9, 11). Estos compuestos han sido sujetos a estudios debido a la evidencia de su efecto anticancerígeno. Además de presentar dentro de la célula actividad antioxidante y participar en la desactivación de radicales libres (13). Desde el punto de vista biosintético, son compuestos de 40 átomos de car-

Introduction

In Venezuela there is a grapefruit (*Citrus paradisis* Macf) annual production of 900 tons approximately (10), from which the 55% are wastes rich on secondary metabolites like: carotenoid, tocopherols and flavonoids (1). In relation to carotenoids these compounds are soluble in lipids and in no polar solvents, which are easy to extract by using the adequate separation spots (9, 11). These compounds are submitted to studies because the evidence of its anti cancerous effect, besides of showing anti oxidant activity inside the cell and to participating in deactivation of free radicals (13). From the biosynthetic point of view the are compounds of 40 carbon atoms,

bono, derivados del fitoeno y consta de ocho unidades isoprenicas unidas de tal manera, que su disposición de las unidades de isoprenos se encuentran invertidas en el centro de la molécula, los dos grupos metilo centrales están en posición 1,6, mientras que el resto de los grupos metilo se encuentran en posición 1,5. Estos compuestos presentan variadas estructuras siendo los precursores del isopentil pirofosfato formando parte del acetyl CoA previa condensación de los intermediarios hidroximetilglutaril y mevanolato (19). La actividad antioxidante de los metabolitos apolares se atribuye a su comportamiento quelante captando los radicales libres que promueven la oxidación; además al resultar no tóxicos desempeñan un importante papel en la estabilidad de los alimentos (2, 12, 14).

En la actualidad se ha tratado de efectuar investigaciones del uso de antioxidantes naturales ya que los sintéticos necesitan de importantes evaluaciones para ser utilizadas en los alimentos (14). Dadas las propiedades antes mencionadas presentes en los cítricos, en este estudio se plantea el acondicionamiento del aceite de soja *G. max* (L.) Merrill la cual presenta altas concentración de ácido linoléico y linolénico, además de presentar un elevado índice de yodo, lo que lo hace susceptible a las reacciones de oxidación, fenómeno químico que al igual que en otros aceites vegetales ocasiona pérdidas en la calidad nutricional y organoléptica con un extracto orgánico (éter de petróleo) provenientes de harinas obtenidas de cáscara y semillas de grapefruit (*C. paradisus*)

derivates from fитоene and they have eight isoprenic units conjoint such a way its disposition of the Isoprenes units are invest on the molecule center, the two central methyl groups are in position 1.6, whereas the rest of the methyl groups are in position 1.5. These compounds shows varied structures by being precursors of the isopentyl pyrophosphate taking part of acetyl CoA previous condensation of the intermediate hydroxy methyl glutaryl and mevanolate (19). The anti oxidant activity of the apolar metabolites is attributed to its behavior as a chelate by making a capturing of free radicals that promotes oxidation; also, when resulting no toxic the play an important role in the food stability (2, 12, 14).

Nowadays researches have been trying to carrying out about the natural anti oxidants since synthetics requires for important evaluations for being used in foods (14). When properties before mentioned are present in citric, in this study it is propose the conditioning of the Soybean oil *G. max* (L.) Merrill which presents high concentration of linoleic and linolenic acids, besides of showing a high iodine index that makes susceptible to the oxidation reaction, chemical phenomenon that in other oils cause losses in the nutritional and organoleptic quality) with an organic extract (petroleum ether) comes from flour obtained from peel and grapefruit (*C. paradisus*) seeds as possible substitute of anti oxidants agents from natural origin.

como posible sustituto de agentes antioxidantes de origen natural.

Materiales y métodos

Muestra.

La materia prima utilizada fueron frutos de grapefruit (*Citrus paradisis* Macf) provenientes de una plantilla agrícola situada en el sector Los Naranjos, municipio Bejuma, Párrquia Canoabo, estado Carabobo, Venezuela. La cosecha se efectuó en el mes de marzo del 2003, considerando el criterio establecido para frutas cítricas por Moreno-Alvarez *et al.*, (16). La cantidad de 20 L de aceite de soja *Glycine max* (L.) desodorizado y libre de antioxidantes naturales fue trasladado en un envase hermético, cerrado y protegido de la luz hasta el laboratorio.

Los frutos se trasladaron en sacos hasta las instalaciones del Laboratorio de Biomoléculas. El aceite de soja *Glycine max* (L.) desodorizado y libre de antioxidantes sintéticos fue donado por la empresa Cargill de Venezuela ubicada en Valencia, Venezuela.

Caracterización físico-química del aceite de soja desodorizado.

A una muestra (250 mL) de aceite de soja (desodorizado y libre de antioxidantes sintéticos), se le determino índice de peróxido, índice de yodo, índice de saponificación e índice de acidez, mediante los métodos COVENIN (4, 5, 6, 7).

Obtención de las harinas cáscara y semillas.

Los frutos de grapefruit colectados fueron sumergidos en agua corrien-

Materials and methods

Sample.

The raw material used were grapefruit (*Citrus paradisis* Macf) fruits coming from an agricultural staff located in Los Naranjos sector, Bejuma municipality, Canoabo parrish, Carabobo state, Venezuela. Harvest was made on march, 2003 by considering criterion established for citric fruits by Moreno-Alvarez *et al.* (16). Quantity of 20 L of soybean (*Glycine max* (L.) oil deodorized and free of natural anti oxidants was moved on a hermetic container, closed and protected from light to the laboratory.

Fruits were moved in sacks to the bio molecules lab. Soybean (*Glycine max* (L.) oil deodorized and free of synthetic anti oxidants was given by Cargill de Venezuela enterprise, located in Valencia, Venezuela.

Physical and chemical characterization of the deodorized soybean oil

To a sample (250 mL) of soybean oil (deodorized and free of synthetic anti oxidants), it was determined peroxide, iodine, saponification and acidity index, through COVENIN methods (4, 5, 6, 7).

Flour, peel and seeds obtaining

Grapefruit fruits collected were immersed in water tap and rubbed in a manual way with the purpose of eliminating dusty waste and organic matter stick to peels. Fruits were cut with a steer knife for extracting juice through a manual extractor, which gave as wastes in conjunction peels,

te y frotados manualmente con la finalidad de eliminar residuos de polvo y materia orgánica que pudiera estar adherida a las cáscaras. Los frutos se cortaron 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. Luego de separar los residuos fueron sometidos a secado parcial en una estufa de aire (marca Felisa modelo FE-294 AD) a una temperatura de $40 \pm 1^\circ\text{C}$ hasta alcanzar una humedad aproximada de 6%. Posteriormente, las muestras obtenidas fueron sometidos a molienda manual con un molino (marca Corona®) y tamizadas bajo condiciones establecidas por Moreno-Alvarez *et al.* (17). Se evaluó la humedad mediante procedimiento establecido en la norma COVENIN (8).

Obtención del extracto orgánico.

Se ensayaron tres extracciones con diferentes relaciones masa de harina/volumen de solvente (0,5:25; 1:25 y 2,0:25). Se pesaron individualmente las cantidades (0,5; 1,0 y 2,0 g) de harina integral de pomelo elaborada a partir de semillas (HS) y cáscaras (HC) por triplicado. Posteriormente, se procedió a realizar extracciones individuales con un volumen fijo (25 mL, 85:15) de metanol y se almacenaron (48 h) 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 (marca Riedel-de Haën, punto de ebullición $64-65^\circ\text{C}$, 85:15), el volumen gastado fue de 30 mL. Posteriormente, a los extractos metanólicos obtenidos se les añadió éter de petróleo (marca

carpelar membranes and seeds. After separating wastes, they were submitted a partially dry in an air heater (Felisa mark, FE-294 AD model) at a temperature of $40 \pm 1^\circ\text{C}$ until reaching an approximately moisture of 6%. Subsequently, samples obtained were submit to a manual milling with a mill (Corona® mark) and sieved by following conditions established by Moreno-Alvarez *et al.* (17). Moisture was evaluated through a procedure established in the COVENIN rules (8).

Organic extract obtaining

Three extractions were proved with different relationships of flour mass/solvent volume (0.5:25; 1:25 and 2.0:25). Quantities were individually weighed (0.5; 1.0 and 2.0 g) of grapefruit integral flour elaborated from seeds (HS) and peels (HC) by triplicate. After, individually extractions were accomplished with a fixed volume (25 mL, 85:15) of methanol and they were stored (48 h) in the dark. The methanolic extractions were filtered at vacuum in a filter (Pirex 350 C) of porous plate and continuous washes with methanol were made (Riedel-de Haën mark, boiling point $64-65^\circ\text{C}$, 85:15), the spent volume was of 30 mL. Subsequently, to the methanolic extracts obtained was added petroleum ether (Riedel-de Haën mark, boiling point $40-60^\circ\text{C}$) concentrated in a v/v proportion of 1:1 and they were submit to agitation in a decantation funnel until appearance of two well defined phases; one damp-wet- (Ac) and other organic one (Org). The extracts obtained were concentrated in an evaporator rotate

Riedel-de Haën, punto de ebullición 40-60°C) 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; una acuosa (Ac) y una orgánica (Org). Los extractos obtenidos se concentran en un rotaevaporador (marca LaBconco, numero de catalogo 7889200) a presión reducida a una temperatura de $60 \pm 1^\circ\text{C}$ 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. Cada uno de los productos de fondo presentaron características de laca y coloración amarillo-verdoso de los cuales se obtuvieron los siguientes pesos para la cáscara, de las proporciones m/v de 1:25 ($0,53\text{g} \pm 0,01$), 2:25 ($1,88\text{g} \pm 0,01$) y 0,5:25 ($2,92\text{g} \pm 0,01$). Para la extracción de los flavonoides presentes en la semilla, las proporciones y los pesos fueron los siguientes: de una relación m/v de 1:25 ($1,03\text{g} \pm 0,01$), 2:25 ($0,61\text{g} \pm 0,01$), 0,5:25 ($0,80 \pm 0,1$); dichos pesos fueron resuspendidos ($100,00\text{g} \pm 0,01$) en aceite de soja, de estos extractos resuspendidos se tomaron por triplicado cantidades que representarían las concentraciones de extracto de flavonoides de 0,01%; 0,75% y 0,10% respectivamente, para la posterior evaluación de la actividad antioxidante.

Evaluación de la actividad antioxidante de los extractos.

La actividad antioxidante se evaluó mediante el método Schaal (15) (el cual se basa en colocar muestras de aceite bajo condiciones drástica de temperatura constante en una estu-

(LaBconco mark, catalog number 7889200) with a reduced pressure at a temperature of $60 \pm 1^\circ\text{C}$ until a total dry of extracts. The glass cylinder of evaporator used for distillations was previously weighed with the purpose of defining the final weight of the product base, came from extracts distillation. Each of products showed lacquer characteristics and yellow-greenish coloration from which the following weights for peel, of proportions m/v of 1:25 ($0.53\text{g} \pm 0.01$), 2:25 ($1.88\text{g} \pm 0.01$) and 0.5:25 ($2.92\text{g} \pm 0.01$). For the flavonoids extractions presents in seed, proportions and weights were as follows: from a m/v relationship of 1:25 ($1.03\text{g} \pm 0.01$), 2:25 ($0.61\text{g} \pm 0.01$), 0.5:25 (0.80 ± 0.1); these weights were re suspended ($100.00\text{g} \pm 0.01$) in soybean oil, from these extracts quantities were taken by triplicate that would represent the concentrations of flavonoids extracts of 0.01%; 0.75% and 0.10% respectively, for the posterior evaluation of the anti oxidant activity.

Evaluation of the anti oxidant activity of extracts

The anti oxidant activity was evaluated by using the Schaal (15) method (it is based on taking of oil samples under drastic conditions of constant temperature in a heater). Samples evaluated in this study were placed inside an oven (Felisa mark, FE-294AD model), a constant temperature ($60 \pm 1^\circ\text{C}$). Samples of soybean oil (250g) were weighed in precipitate vessels of 500 mL, to which independent quantities of organic and damp extracts re suspended in oil were added, by using concentrations of 0.01%; 0.75% and 0.10% and a con-

fa). Las muestras evaluadas en este estudio se colocaron dentro de un horno (Felisa modelo FE-294AD), a temperatura constante ($60 \pm 1^\circ\text{C}$). Se pesaron muestras (250g) de aceite de soja en vasos de precipitados de 500 mL, a los cuales le fueron adicionados cantidades independientes de los extractos orgánicos y acuosos resuspendidos en aceite, empleando concentraciones de 0,01%; 0,75% y 0,10% y una muestra control a la cual no le fue adicionado extracto (muestra testigo) que permitió comparar el comportamiento de la muestras con extractos orgánicos. Seguidamente, a cada una de las muestras acondicionadas con extractos orgánicos contentivos de metabolitos no polares y al control, se les determinó el índice de peróxido por triplicado cada 24 horas, hasta un tiempo de 25 días (600 h), esto significó que las muestras deberían presentar un valor próximo de peróxido de 100,00 meq O_2/kg . Los resultados obtenidos son promedios de tres repeticiones \pm la desviación estándar (ds). El efecto antioxidante de los extractos fue determinado por el incremento del índice de peróxido en el tiempo, siendo comparados con un test control (sin antioxidantes).

Análisis estadístico

Los índices obtenidos se analizaron mediante Anova para un diseño completamente al azar y comparación de medias (Tukey, $P < 0,05$) (20).

Resultados y discusión

En el cuadro 1 se presenta la caracterización fisicoquímica del aceite de soja desodorizado, siendo simi-

trol sample without extracts (control sample) that permitted to compare behavior of samples with organic extracts. After that to each conditioned sample with organic extracts with no polar metabolites and to the control, the peroxide index was determined by triplicate each 24 hours, during 25 days (600 h), this means that samples should presenting a next value of peroxide of 100.00 meq O_2/kg . Results obtained are averages of three repetitions \pm the Standard deviation (sd). The antioxidant effect of extracts was determined by the increase of peroxide index on time, being compared with a control test (without anti oxidants).

Statistical analysis

Indexes obtained were analyzed with Anova for a split plot design and means comparison (Tukey, $P < 0.05$) (20).

Results and discusión

In table 1 it is shown the physical chemical characterization of soybean oil deodorized by being similar to results obtained by Moreno-Alvarez *et al.* (17) for oils of the same biological origin. In general terms the iodine index obtained ($134.7 \pm 2.0 \text{ cg I}_2/\text{g}$), shows a high degree of illustrations. In relation to acidity and peroxide indexes values, they reflect a good quality of oil and a little degree of rancidity or deterioration. Tables 2 and 3 shows the evaluation of peroxide index for the deodorized soybean oil samples conditioned with organic extracts obtained from peel flour and grapefruit seed. These values shows a marked protector effect at 300

Cuadro 1. Caracterización fisicoquímica del aceite de soja desodorizado.**Table 1. Physical and chemical characterization of deodorized soybean oil.**

Índice de peróxido (meq O ₂ /kg)	Índice de yodo (cg I ₂ /g)	Índice de saponificación (mg KOH/g)	Acidez (g/100 g)
0,3 ± 0,1	134,7 ± 2,0	188,0 ± 2,0	0,08 ± 0,01

lar a los resultados obtenidos por Moreno-Álvarez *et al.*, (17) para aceites de igual origen biológico. En términos generales el índice de yodo obtenido (134,7 ± 2,0 cg I₂/g), insinúa un alto grado de insaturaciones. En cuanto a los valores de acidez y peróxido reflejan una buena calidad del aceite y un bajo grado de rancidez o deterioro. Los cuadros 2 y 3 presentan la evaluación del índice de peróxido, para las muestras de aceite de soja desodorizado acondicionados con extractos orgánicos obtenidos de las harinas de cáscara y semilla de pomelo. Estos valores señalan un marcado efecto protector muy marcado a las 300 horas de haber iniciado el ensayo al comparar con la muestra considerada como control (sin adición de extracto orgánico) independiente de la concentración suministrada a las muestra de aceite m/v de extracto. El índice de peróxido para la muestra control para este tiempo alcanzó 70,8 meq O₂/kg valor superior a los conseguidos por las muestras acondicionadas; con extractos orgánicos de cáscara que obtuvieron valores comprendidos entre 27,9 - 39,3 y 26,0 - 43,3 para aceite acondicionado con extracto de semilla observándose el efecto

hours of beginning the essay when comparing with sample considered like control (without addition of organic extract) independently of the concentration given to the oil sample m/v of extract. The peroxide index for the control simple in this time reached 70.8 meq O₂/kg, a superior value in comparison to those found for the conditioned samples; with organic extracts of peel that obtained values between 27.9 - 39.3 and 26.0 - 43.3 for oil conditioned with seed extract by being observed the anti oxidant effect given by metabolites incorporated to oil. At the 480 hours the control sample surpassed the 100 meq O₂/kg whereas the proportion 2:25 at 0.01% for the peel and seed extracts showed the little peroxide values 71.9 and 63.5 meq O₂/kg respectively, by evidencing that both treatments showed a high effectiveness against the oil oxidation. Results shows that possibly there is a protector effect characteristic of no polar compounds presents in the extracts like carotenoids, tocopherols that have the ability for inhibiting the oxidation relationships that are promoted by the presence of free radicals and oxygen, by getting stabilize it and to avoiding the formation of hydro peroxides

Cuadro 2. Valores promedios de peróxido (meqO₂/kg) obtenido en e¹ aceite de soja acondicionado con extracto de orgánico de cáscara¹

Table 2. Mean values of peroxide (meqO₂/kg) obtained in the soybean oil conditioned with extract of organic peel¹

	Tiempo (h)																								
	24	48	72	96	120	144	168	192	216	240	264	288	312	336	360	384	408	432	456	480	504	528	552	576	600
Control	0,4 ^a	0,8 ^a	2,0 ^b	2,4 ^b	2,8 ^b	2,9 ^b	5,5 ^b	11,2 ^c	24,0 ^d	28,2 ^d	31,1 ^f	35,1 ^f	70,8 ^f	71,8 ^e	79,0 ^b	79,9 ^b	83,7 ^b	92,1 ^j	98,3 ^k	101,2 ^k	111,0 ⁱ	113,9 ^m	114,6 ^m	115,7 ^m	126,8 ⁿ
Orgánico 2:25 al 0,01%	0,4 ^a	0,7 ^a	1,3 ^b	1,9 ^b	2,0 ^b	2,1 ^b	2,9 ^b	8,7 ^c	15,2 ^d	15,8 ^d	21,5 ^e	27,9 ^e	32,0 ^e	43,4 ^f	47,9 ^f	53,3 ^f	59,5 ^f	71,3 ^m	71,4 ^m	71,9 ^m	76,3 ^z	79,1 ^p	79,1 ^p	87,7 ^z	91,9 ^r
Orgánico 2:25 al 0,10%	0,8 ^a	1,1 ^a	2,0 ^b	2,0 ^b	2,0 ^b	2,4 ^b	4,7 ^c	7,6 ^d	10,3 ^d	11,7 ^d	17,0 ^e	29,9 ^e	30,4 ^e	58,2 ^h	65,0 ^h	67,5 ^h	67,5 ^h	68,0 ^h	69,3 ^h	80,5 ^k	81,1 ^k	87,2 ^l	87,8 ^l	91,3 ^m	91,6 ^m
Orgánico 2:25 al 0,75%	0,4 ^a	1,0 ^b	1,0 ^b	2,0 ^b	2,0 ^b	2,4 ^b	4,2 ^c	6,8 ^d	16,9 ^e	17,8 ^e	23,0 ^e	29,0 ^h	34,1 ⁱ	40,7 ^j	55,3 ^k	69,0 ^l	71,7 ^m	72,9 ⁿ	78,1 ^o	80,8 ^o	103,9 ^p	105,1 ^p	105,3 ^p	105,9 ^p	126,8 ⁿ
Orgánico 1:25 al 0,01%	0,4 ^a	0,8 ^a	1,0 ^b	1,6 ^b	1,7 ^b	2,4 ^b	3,7 ^c	6,1 ^c	12,8 ^d	14,3 ^d	19,4 ^e	31,7 ^f	35,8 ^f	44,1 ^h	47,6 ^h	53,2 ^h	55,8 ^h	59,9 ^h	80,6 ^m	81,2 ^m	87,5 ^z	91,2 ^z	91,9 ^z	93,9 ^z	94,7 ⁿ
Orgánico 1:25 al 0,75%	0,9 ^a	1,2 ^a	2,0 ^b	2,0 ^b	2,0 ^b	2,0 ^b	4,0 ^c	6,7 ^c	13,9 ^d	19,9 ^d	20,5 ^d	27,9 ^e	31,5 ^e	32,0 ^e	61,0 ^e	65,4 ^e	67,8 ^e	70,4 ^e	75,2 ^e	76,7 ^e	79,1 ^e	82,2 ^m	83,8 ^z	86,7 ⁿ	90,9 ^p
Orgánico 1:25 al 0,10%	0,4 ^a	0,8 ^a	1,3 ^b	1,7 ^b	1,7 ^b	2,0 ^b	4,3 ^c	7,5 ^c	15,5 ^d	19,4 ^e	22,1 ^e	31,4 ^f	36,0 ^f	51,5 ^h	51,5 ^h	68,3 ⁱ	71,8 ^j	71,8 ^j	84,6 ^l	85,2 ^l	85,6 ^l	88,0 ^l	88,3 ^m	91,2 ^m	91,2 ^m
Orgánico 0,5:25 al 0,01%	0,4 ^a	0,7 ^a	1,0 ^b	1,6 ^b	2,0 ^b	2,3 ^b	3,5 ^b	8,2 ^c	11,6 ^d	14,7 ^e	17,1 ^f	29,5 ^e	39,3 ^h	45,3 ^h	55,6 ^h	56,1 ^h	59,5 ^h	71,8 ^l	76,0 ^m	86,5 ⁿ	87,7 ^z	88,0 ^z	88,7 ^z	90,9 ^p	98,8 ^q
Orgánico 0,5:25 al 0,75%	0,4 ^a	0,7 ^a	1,0 ^b	2,0 ^b	2,4 ^b	2,4 ^b	4,0 ^c	6,4 ^c	15,4 ^d	18,9 ^d	20,6 ^d	27,9 ^e	27,9 ^e	57,3 ^e	68,1 ^h	71,4 ⁱ	71,8 ^j	71,9 ^j	75,5 ^j	77,6 ^j	91,6 ^l	92,0 ^l	92,0 ^l	98,9 ^l	98,9 ^l
Orgánico 0,5:25 al 0,10%	0,7 ^a	0,9 ^a	2,0 ^a	2,3 ^a	2,4 ^a	2,5 ^a	5,0 ^b	7,3 ^b	16,3 ^d	18,5 ^d	20,6 ^d	29,9 ^e	31,8 ^e	39,8 ^h	52,2 ⁱ	53,3 ⁱ	59,9 ^j	59,9 ^j	60,0 ^j	71,3 ^z	79,4 ^l	79,8 ^l	83,6 ^z	83,6 ^z	93,8 ^q

¹Valor promedio de tres repeticiones
Letras diferentes en una fila indican diferencias significativas (P<0,05)

Cuadro 3. Valores promedio de peróxido (meqO₂/kg)obtenido en el aceite de soja acondicionado con extracto orgánico de semilla¹

Table 3. Mean values of peroxide (meqO₂/kg) obtained in the conditioned soybean oil with seed organic extract¹

	24	48	72	96	120	144	168	192	216	240	264	288	312	336	360	384	408	432	456	480	504	528	552	576	600
Control	0,4 ^a	0,8 ^a	2,0 ^b	2,4 ^b	2,8 ^b	2,9 ^b	5,5 ^b	11,2 ^c	24,0 ^d	28,2 ^c	31,1 ^c	35,1 ^c	70,8 ^e	71,8 ^e	79,0 ^b	79,9 ^b	83,7 ^c	92,1 ^c	98,3 ^k	101,2 ^k	111,0 ^l	113,9 ^m	114,6 ^m	115,7 ^m	126,8 ⁿ
Orgánico 2:25 al 0,01%	0,5 ^a	0,8 ^a	2,0 ^b	2,1 ^b	2,4 ^b	2,8 ^b	3,6 ^b	4,7 ^b	13,9 ^f	14,8 ^f	16,0 ^f	23,1 ^d	27,9 ^f	37,2 ^f	39,2 ^f	48,9 ^e	49,1 ^e	55,6 ^g	60,0 ^g	63,5 ^g	76,0 ^l	76,1 ^l	79,2 ^l	79,3 ^l	85,0 ^o
Orgánico 2:25 al 0,75%	0,8 ^a	0,8 ^a	2,0 ^b	2,2 ^b	2,4 ^b	2,8 ^b	3,2 ^b	4,0 ^b	11,5 ^d	12,4 ^d	15,5 ^e	27,1 ^f	27,8 ^f	39,5 ^e	40,2 ^e	47,9 ^b	49,1 ^b	60,0 ^g	67,5 ^j	80,0 ^h	80,0 ^h	83,7 ⁱ	85,8 ^m	87,0 ^m	98,8 ⁿ
Orgánico 2:25 al 0,10%	0,8 ^a	0,8 ^a	1,0 ^a	1,3 ^a	1,3 ^a	2,0 ^a	3,1 ^a	4,0 ^a	13,8 ^b	15,8 ^b	19,3 ^b	29,2 ^d	35,5 ^d	40,0 ^d	40,1 ^d	47,5 ^e	48,0 ^e	60,0 ^g	67,8 ⁱ	70,9 ⁱ	77,3 ^j	80,0 ^k	80,9 ^l	84,0 ^m	85,8 ⁿ
Orgánico 1:25 al 0,01%	0,4 ^a	0,8 ^b	1,2 ^b	1,6 ^b	1,6 ^b	2,1 ^c	3,1 ^c	4,0 ^c	8,2 ^d	14,7 ^e	19,2 ^e	24,9 ^e	31,9 ^f	49,5 ^f	51,4 ^f	63,6 ^f	63,7 ^f	75,4 ^k	75,4 ^k	75,8 ^k	76,3 ^k	83,6 ^l	83,7 ^l	84,1 ^l	84,6 ^l
Orgánico 1:25 al 0,75%	0,4 ^a	1,2 ^a	2,0 ^a	2,0 ^a	2,1 ^a	2,4 ^a	3,2 ^a	8,5 ^b	16,6 ^c	23,3 ^d	23,7 ^d	26,0 ^e	29,6 ^e	31,8 ^e	56,0 ^e	63,6 ^b	91,3 ^g	91,4 ^g	91,8 ^g	92,2 ^g	92,2 ^g	92,2 ^g	98,8 ^g	98,9 ^g	99,9 ^g
Orgánico 1:25 al 0,10%	0,4 ^a	0,8 ^b	1,6 ^b	1,6 ^b	2,0 ^b	2,4 ^b	3,7 ^b	4,5 ^b	10,8 ^c	14,3 ^c	23,9 ^e	26,2 ^b	33,4 ^c	39,7 ^c	40,0 ^c	43,5 ^k	59,2 ^l	75,6 ^m	76,0 ^m	76,2 ^m	98,8 ⁿ	99,5 ⁿ	100,1 ⁿ	100,5 ⁿ	106,9 ⁿ
Orgánico 0,5:25 al 0,01%	0,4 ^a	0,7 ^a	1,6 ^b	1,6 ^b	2,0 ^b	2,0 ^b	2,4 ^b	6,0 ^b	7,9 ^b	17,6 ^c	25,6 ^d	31,8 ^e	44,9 ^e	46,9 ^e	47,5 ^e	64,1 ^f	67,4 ^f	67,8 ^h	71,5 ⁱ	83,5 ^j	83,5 ^j	83,5 ^j	83,9 ^j	87,2 ^k	87,8 ^k
Orgánico 0,5:25 al 0,75%	0,4 ^a	0,9 ^b	1,2 ^b	2,0 ^c	2,4 ^c	2,5 ^c	3,5 ^c	5,9 ^c	7,3 ^d	17,6 ^c	23,2 ^d	29,7 ^e	35,6 ^f	39,6 ^f	47,7 ^f	55,6 ^k	71,3 ^l	79,6 ^m	83,4 ⁿ	83,6 ⁿ	98,1 ^o	99,5 ^o	99,6 ^o	99,7 ^o	99,9 ^o
Orgánico 0,5:25 al 0,10%	0,4 ^a	0,4 ^a	1,2 ^b	2,1 ^b	2,4 ^b	2,4 ^b	2,9 ^b	5,1 ^c	7,5 ^d	17,5 ^c	23,0 ^d	23,7 ^e	43,3 ^h	43,6 ^h	43,8 ^h	50,1 ⁱ	63,7 ⁱ	71,2 ^j	75,0 ^j	75,5 ^j	87,9 ^m	91,2 ⁿ	91,3 ⁿ	91,4 ⁿ	92,0 ⁿ

¹Valor promedio de tres repeticiones

Letras diferentes en una misma fila indican diferencias significativas (P<0,05)

antioxidante que aportan los metabolitos incorporados al aceite. A las 480 horas la muestra control sobrepasa la cifra de 100 meq O_2 /kg en tanto la proporción de 2:25 al 0,01% para los extractos de cáscara y semilla presentaron los menores valores de peróxido 71,9 y 63,5 meq O_2 /kg respectivamente, demostrando que ambos tratamientos presentaron una mayor efectividad en contra de la oxidación del aceite. Los resultados arrojados indican posiblemente que se trata de un efecto protector característicos de compuestos no polares presentes en los extractos como carotenoides, tocoferoles que tienen la capacidad de inhibir las reacciones de oxidación que son promovidas por la presencia de radicales libres y oxígeno, logrando así estabilizarlas y evitando la formación de radicales hidropéroxidos que conllevan al deterioro del aceite (14,18).

En la figura 1, 2 y 3 se presentan la variación del índice de peróxido en función del tiempo para el aceite de soja desodorizado acondicionado con extractos orgánicos obtenidos de la harina de cáscara. En general se observó un comportamiento exponencial de las curvas similar hasta las 300 horas, posteriormente, se aprecia un incremento de la oxidación del control con respecto a los tratamientos. Se evidencia durante el periodo de estudio un efecto antioxidante de los tratamientos acondicionados independientemente de la relación harina - solvente y concentración evaluada. Proceso similar se presenta con las figuras 4, 5 y 6 correspondientes al efecto de los extractos orgánicos de la semillas donde la concentraciones 0,01- 2:25; 0,75

radicals that takes to the oil deterioration (14, 18).

In the figures 1, 2 and 3 are shown the variation of peroxide index as a function of time for the deodorized soybean oil with organic extracts obtained from peel flour. In general, it was observed an exponential behavior of curves similar to 300 hours; after an increase on control oxidation respect to treatments. During the study period, an anti oxidant effect of treatments conditioned independently of the flour – solvent relationship and concentration evaluated. A similar process is shown with figures 4, 5 and 6 corresponds to the effect of the organic extracts of seeds in where concentrations 0.01- 2:25; 0.75 -1:25 and 0.01-05:25 showed the little slopes which indicate that the protector effect was maintained during the 600 study hours. This result is different to those described by Carrasquero *et al.* (3) who established that the inclusion of a commercial powder (Inmatol Plus[®]) obtained from grapefruit permitted the pro-oxidation of commercial oil. This discrepancy is attributed possibly to differences in profile (variation on chemical composition) of metabolites presents in the extracts to oil studied. Because of differences in the chemical composition between the powder and the chemical compounds extracted by solvents.

Conclusion

Samples of deodorized soybean oil conditioned with organic extracts

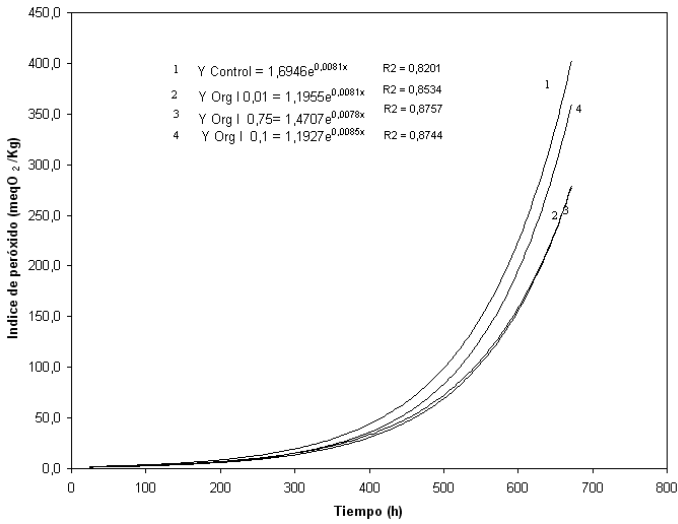


Figura 1. Efecto del extracto orgánico de la cáscara en un aceite desodorizado de soja en proporción p/v 2:25.

Figure 1. Effect of the peel organic extract of in a soyben deodorized oilin a proportion w/v 2:25.

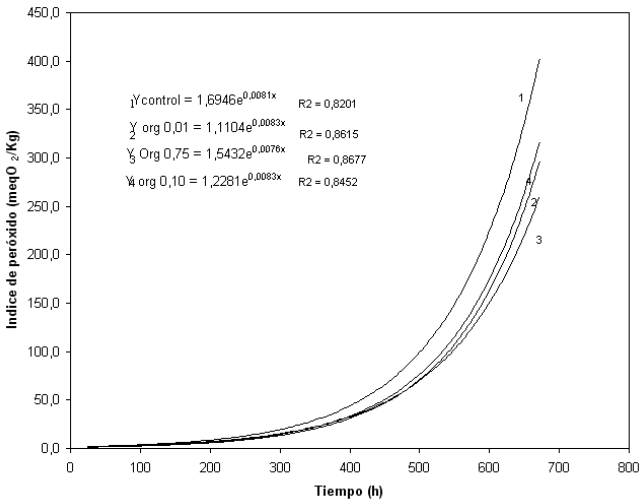


Figura 2. Efecto del extracto orgánico de la cáscara en un aceite desodorizado de soja en proporción p/v1:25.

Figure 2. Effect of the peel organic extract in a soybean deodorized oil in a proportion w/v 1:25.

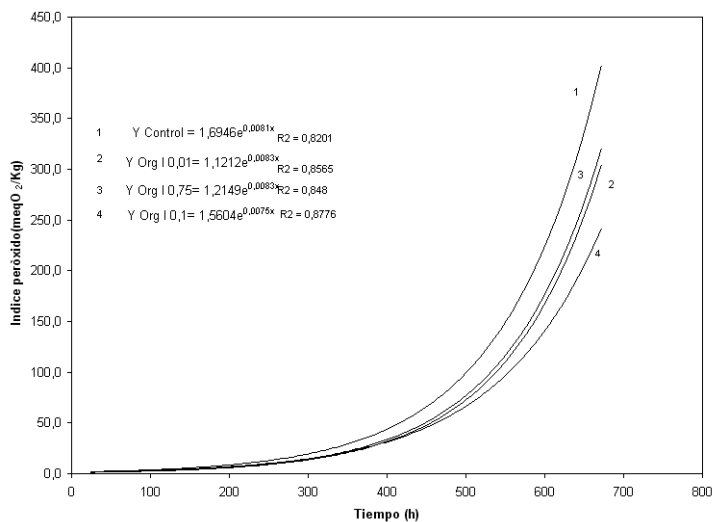


Figura 3. Efecto del extracto orgánico de la cáscara en un aceite desodorizado de soja en proporción p/v 0,5 :25.

Figure 3. Effect of the peel organic extract in a soybean deodorized oil in a proportion w/v 0.5:25.

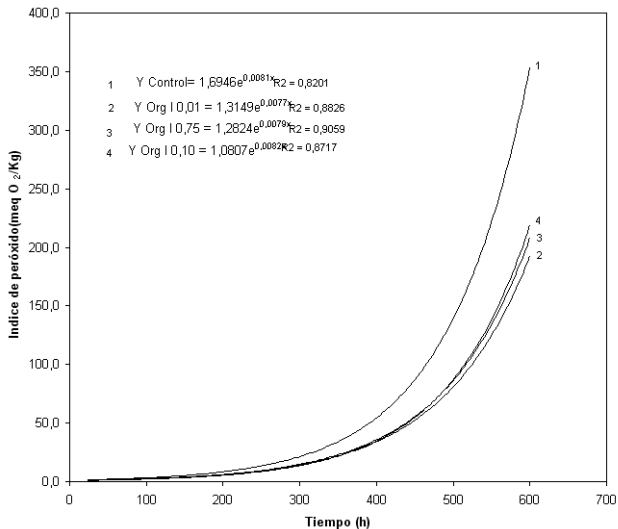


Figura 4. Efecto del extracto de orgánico de la semilla en un aceite desodorizado de soja en proporción p/v a 2:25.

Figure 4. Effect of the seed organic extract in a soybean deodorized oil in a proportion w/v 2:25.

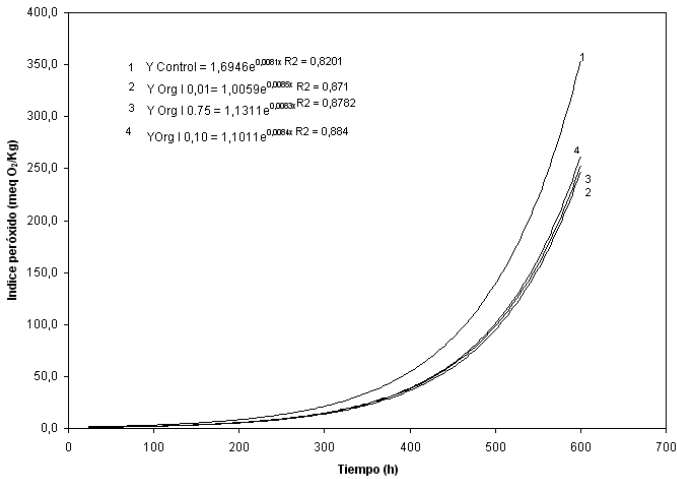


Figura 5. Efecto del extracto orgánico de la semilla en un aceite desodorizado de soja en proporción 1:25.

Figure 5. Effect of the seed organic extract in a soybean deodorized oil in a proportion 1:25.

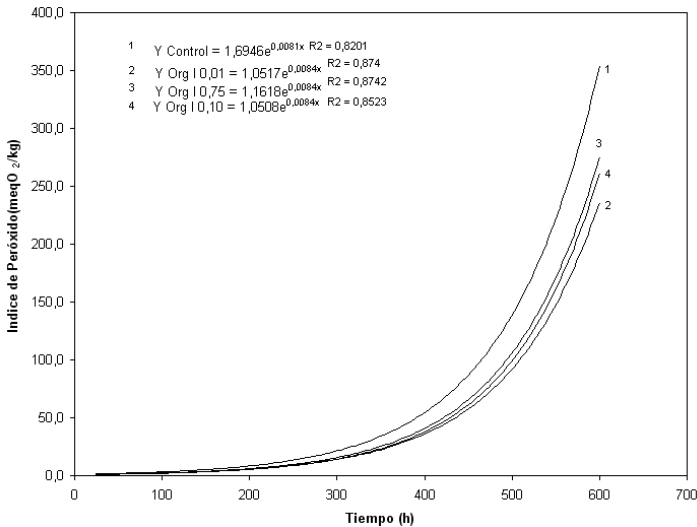


Figura 6. Efecto del extracto orgánico de la semilla en un aceite desodorizado de soja en proporción p/v 0,5:25.

Figure 6. Effect of the seed organic extract in a soybean deodorized oil in a proportion w/v 0.5:25.

-1:25 y 0,01-05:25 mostraron las menores pendientes lo cual indica que el efecto protector se mantuvo durante las 600 horas de estudio. Este resultado es diferente al descrito por Carrasquero *et al.* (3) quien señala que la inclusión de un polvo comercial (Inmatol Plus®) obtenido de semillas de pomelo permitió pro-oxidar un aceite comercial. Esta discrepancia se atribuye posiblemente a diferencias en el perfil (variación en la composición química) de los metabolitos presentes en los extractos al aceite estudiado. Debido a diferencias en la composición química intrínsecamente entre el polvo y los compuestos químicos extraídos por los solventes.

Conclusiones

Las muestras de aceites de soja desodorizados acondicionados con extractos orgánicos extraídos de harinas de cáscaras y semillas de grapefruit presentaron un importante efecto antioxidativo, con respecto a las muestras consideradas como control (sin acondicionamiento con extractos). Lo cual establece que los metabolitos naturales de naturaleza no polar presente en los extractos pueden ser utilizados como agentes antioxidantes naturales. Las harinas evaluadas resultan un subproducto hasta ahorra no explotado en el campo de los antioxidante de grasas y aceites, con lo cual se estaría utilizando una fuente no convencional de metabolitos secundarios con capacidad antioxidativa y el uso integral de un fruto producido en el país.

taken from grapefruit peels flours and seeds showed an anti oxidative effect respect to samples considered like control (without conditioning with extracts) which establish that metabolites of no polar nature present in the extracts can be used like natural anti oxidants agents. Flours evaluated results a sub product without exploitation in the field of the anti oxidant fatty and oils which would be using a no conventional source of secondary metabolite with anti oxidative capability and the integral use of a fruit produced in country.

End of english version

Agradecimiento

Los autores expresan su agradecimiento al FONACIT-UNESR por el cofinanciamiento a esta investigación del Programa Proyecto Emergentes Pem-2001002271. La empresa Cargill de Venezuela ubicada en Valencia, dono el aceite de soja utilizado en esta investigación.

Literatura citada

1. Arthey, D. 1997. Procesados de frutas. Zaragoza. España: Acribia.
2. Auerbach, RH. y D. Gray. 1999. Oat antioxidant extraction and measurement towards a comercial process. *J. Sci. Food Agri.* 79:285-289.
3. Carrasquero, A., M. Salazar, y PB. Navas. 1998. Antioxidant Activity

- of grapefruit seed extracts in vegetable oils. *J. Sci. Food Agri.* 77: 463-467.
4. Comisión Venezolana de Normas Industriales (COVENIN) 1978. Norma 508; Aceites y Grasa Vegetales. Determinación de Índice de peróxido COVENIN, Caracas 6p
 5. Comisión Venezolana de Normas Industriales (COVENIN), 1982. Norma 324; Aceites y Grasa Vegetales. Determinación de Índice de Iodo por el método de Wijs.COVENIN, Caracas 7 p
 6. Comisión Venezolana de Normas Industriales (COVENIN) 1988.Norma 323; Aceites y Grasa Vegetales. Determinación de Índice de saponificación. COVENIN, Caracas 4 pp.
 7. Comisión Venezolana de Normas Industriales (COVENIN) 1980 Norma 325; Determinación de Índice de la Acidez. COVENIN, Caracas 4 p
 8. Comisión Venezolana de Normas Industriales (COVENIN) 1976 Norma; 1156. Alimentos para animales y Determinación de Humedad. COVENIN, Caracas 6p
 9. Durán, M. y MJ, Moreno-Álvarez. 2000. Evaluacion de algunas mezclas de solvente en la extracción de carotenoides del pericarpio de tamarillo (*Cyphomandra betaceae* Sendt). *Cienc. Tecnol. Aliment.*3 (1):34-38.
 10. FAO. 2001. Organización Mundial de las Naciones Unidas Para la Agricultura Alimentaria. Anuario de Producción. Roma.
 11. Hernández, G. y MJ, Moreno-Álvarez. 2000. Efecto del secado y del acido cítrico sobre la degradación de los carotenoides de tamarillo (*Cyphomandra betaceae* Sendt). *Cienc. Tecnol. Aliment.* 2: 228-223.
 12. Karakaya, S., SN. El. y A. Tas. 2001. Antioxidant activity of some food containing phenolic compounds. *Journal of Food Sci. Nutr.* 52: 501-508.
 13. Martínez-Valverde, I., MJ, Periago. y G. Ros. 2000 Significado nutricional de los compuestos fenólicos de la dieta. *Arch. Latin. Nutric.* 50:5-17
 14. Martínez-Valverde, I., MJ, Periago., G. Provan. y A. Chesson. 2002. Phenolic compounds in commercial varieties of tomato (*Lycopersicon esculentum*) *J. Sci. Food Agri.* 82: 323-330.
 15. Mehlenbacher, VC 1979. Análisis de Grasas y Aceites. URMO S.A de Ediciones Bilbao, España.
 16. Moreno-Álvarez, MJ., C. Gómez., J. Mendoza. y D, Belén 1999. Carotenoides totales en cáscara de naranja (*Citrus sinensis* L.) var. Valencia. *Rev. Unell. Cien Tec.* 17: 92-99.
 17. Moreno-Álvarez, MJ., DR. Belén., MP. Sánchez., M. Viloria-Matos. y D. García. 2004. Evaluación de la actividad antioxidante de extractos de flavonoides de cáscaras de naranja en el aceite de soja desodorizado. *Interciencia.*29 (9):532-538.
 18. Pízzale, L., R. Bortolomeazzi., S. Vichi., E. Überegger. y L. Conte. 2002. Antioxidant activity of sage (*Salvia onites* and *O. indercedens*) extracts related to their phenolic compound content. *J. Sci. Food Agri.* 82(14): 1645-1651.
 19. Sánchez, A., L. Flores-Cotera., E. Langley., R. Martín., G. Maldonado y S. Sánchez.1999. Carotenoides: estructuras, función, biosíntesis, regulación y aplicaciones. *Rev. Lat.-Amer. Microbiol.* 41:175-191.
 20. SAS, 1999. *User's guide SAS Statgraphics. Versión 6.0* Statistical Analysis System Institute.