

Compuestos fenólicos y aceite de semillas de naranja y maracuyá

Compostos fenólicos e óleo de sementes de laranja e maracujá

Phenolic compounds and oil of orange and passion fruit seeds

Stalin Santacruz*, Geomar Cárdenas y Vanessa Mero

Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí, Vía a San Mateo S/N, P.O. Box 13-05-2732, Manta, Ecuador. Correo electrónico: (SS) stalin.santacruz@gmail.com, (G) (GC) geomar-93@hotmail.es, (VM) vane-meroloor@hotmail.com.

Resumen

La generación y mala disposición de subproductos de las actividades agrícola y agroindustriales ocasionan daños al ambiente, sin embargo, estos subproductos pueden contener compuestos de alto valor económico que actualmente son poco aprovechados. En el presente trabajo, se caracterizaron los aceites de semilla de naranja y maracuyá en cuanto a su densidad, índice de refracción, índice de saponificación, valor ácido y perfil de ácidos grasos; además se determinó el contenido de compuestos fenólicos y la actividad antioxidante de las cáscaras y semillas de naranja y maracuyá. Los resultados muestran que tanto las semillas como las cáscaras de ambas frutas pueden ser consideradas buenas fuentes de compuestos fenólicos (39,72 - 60,74 mg GAE.g b.s⁻¹), sin embargo, presentaron menor actividad antioxidante, en comparación con otras frutas como *Passiflora tripartita*, *Vaccinium floribundum* y *Prunus salicifoli*, las tres consideradas buenas fuentes de compuestos fenólicos y con alta actividad antioxidante. El aceite de semilla de maracuyá mostró un perfil de ácidos grasos con alto porcentaje de ácidos grasos insaturados y bajo porcentaje de ácidos grasos saturados, considerado ideal para aceites comestibles, con posibles aplicaciones en la industria alimentaria.

Palabras clave: compuestos fenólicos, actividad antioxidante, perfil de ácidos grasos, subproductos.

Abstract

Recibido el 26-11-19 • Aceptado el 31-03-20.

*Autor de correspondencia. Correo electrónico: stalin.santacruz@gmail.com

The generation and bad disposition of by-products of agricultural and agro-industrial activities cause damage to the environment, however, these by-products can contain compounds of high economic value that nowadays are little used. In the present research, the oils of orange and passion fruit seeds were characterized about their density, refractive index, saponification index, acid value and fatty acid profile; also the content of phenolic compounds and the antioxidant activity of the peels and seeds of orange and passion fruit were determined. The results show that both the seeds and the peels of both fruits can be considered good sources of phenolic compounds (39.72 - 60.74 mg GAE.g b.s⁻¹), however, they presented a lower antioxidant capacity, in comparison with other fruits as *Passiflora tripartita*, *Vaccinium floribundum* and *Prunus salicifoli*, the three considered good sources of phenolic compounds and with high antioxidant activity. The oil of passion fruit seed showed a profile of fatty acids with a high percentage of unsaturated fatty acids and low percentage of saturated fatty acids, considered ideal for edible oils with possible applications on the food industry. **Key words:** phenolic compounds, antioxidant activity, fatty acid profile, by-products.

Resumo

A geração e o descarte incorreto de subprodutos de atividades agrícolas e agroindustriais causam danos ao meio ambiente, no entanto, esses subprodutos podem conter compostos de alto valor econômico que atualmente são pouco utilizados. No presente trabalho, os óleos de sementes de laranja e maracujá foram caracterizados em termos de densidade, índice de refração, índice de saponificação, valor ácido e perfil de ácidos graxos; Além disso, foram determinados o teor de compostos fenólicos e a atividade antioxidante das cascas e sementes de laranja e maracujá. Os resultados mostram que tanto as sementes quanto as cascas dos dois frutos podem ser consideradas boas fontes de compostos fenólicos (39,72 - 60,74 mg GAE.g b.s⁻¹), no entanto, eles tiveram menos atividade antioxidante, em comparação com outras frutas como *Passiflora tripartita*, *Vaccinium floribundum* y *Prunus salicifoli*, todos os três considerados boas fontes de compostos fenólicos com alta atividade antioxidante. O óleo de semente de maracujá apresentou um perfil de ácidos graxos com alta porcentagem de ácidos graxos insaturados e baixa porcentagem de ácidos graxos saturados, considerado ideal para óleos comestíveis, com possíveis aplicações na indústria alimentícia.

Palavras-chave: compostos fenólicos, atividade antioxidante, perfil de ácidos graxos, subprodutos.

Introducción

El manejo de la biomasa residual producida por la actividad agrícola o por la agroindustria ocasiona dificultades tanto para las empresas, como para los gobiernos locales, debido a que grandes cantidades de desechos deben ser tratados internamente en las empresas, o recolectados y transportados a los centros de tratamiento y disposición de los gobiernos locales. El manejo de estos residuos no solo ocasiona costos considerables y el requerimiento de un área muy grande para su disposición, sino que representa un impacto ambiental y social. Los desechos pueden contaminar aguas y suelos por la formación de lixiviados, el aire por la formación incontrolada de gases como metano o ácidos orgánicos volátiles, y además representan un riesgo para la salud humana al atraer roedores, insectos y otros animales al sitio de generación de los mismos.

En relación con la producción de naranja en el Ecuador, las características de la fruta ecuatoriana hacen que no sea competitiva en el mercado internacional y por ende no hay interés en el desarrollo de más cultivos. La producción nacional de este cultivo, está alrededor de las 180.000 t (MIC, 2008). Una parte de dicha producción se emplea para la obtención de jugos y concentrados, con un valor de producción de 712.000 USD para el año 2011. Por otro lado, en lo que respecta al maracuyá, la producción nacional de esta fruta es de 250.000 t (Pardo, 2015) con una

Introduction

The management of the residual biomass produced by the agricultural activity or by the agro-industrial causes difficulties for both companies and local governments, due to that the big amounts of waste must be treated internally in the companies, or recollected and transported to the treatment centers and disposition of the local governments. The management of these residues not only produces considerable costs and the requirement of a very big area for its disposition, also it represents an environmental and social impact. The residues can contaminate waters and soils by the leachates formation, the air by the uncontrolled gas formation as methane or volatile organic acids, and also they represent a risk to human health by attracting rodents, insects and other animals to the site where they are generated.

In relation with the production of orange in Ecuador, the characteristics of the Ecuadorian fruit make it not be competitive in the international market and therefore there is no interest in the development of more crops. The national production of this crop, it is around of 180,000 t (MIC, 2008). A part of this production is used for obtaining juices and concentrates, with a production value of 712,000 USD for the year 2011. On the other hand, regarding to the passion fruit, the national production of this fruit is of 250,000 t (Pardo, 2015) with a production of juices and concentrates of 18 millions of USD in 2011 (FLACSO-MIPRO, 2011).

producción de jugos y concentrados de 18 millones de USD en el 2011 (FLACSO-MIPRO, 2011).

Las agroindustrias del procesamiento de naranja y maracuyá dejan grandes cantidades de subproductos (residuos) que son subutilizadas, como abono o alimentación animal, o no tienen ningún uso y por ende se convierten en un foco de contaminación que afecta al ambiente y a la población. En el caso del procesamiento de la naranja, aproximadamente un 50 % constituye subproducto, formado por cáscaras y semillas, mientras que, para el maracuyá, entre el 60 y 70 % constituye subproducto (García, 2002). Muchos de los subproductos agroindustriales son ricos en fibra, aceite y compuestos fenólicos, entre otros. Las semillas de maracuyá por ejemplo tienen entre un 20 y 25 % de aceite.

En general una dieta rica en frutas y vegetales está relacionada con varios efectos beneficiosos para la salud humana, tales como la reducción del desarrollo de enfermedades coronarias (Dauchet *et al.*, 2006), cáncer (Zhang *et al.*, 2009), hipertensión (Mignone *et al.*, 2009), diabetes y procesos inflamatorios (Zafra-Stone *et al.*, 2007). Estos beneficios son el resultado de la ingesta entre otros, de los compuestos fenólicos presentes.

El conocimiento de las características de compuestos que pueden ser extraídos de los subproductos, puede ayudar a su aprovechamiento, disminuyendo así la cantidad de subproductos actualmente generados. Es por

The agro-industries of orange and passion fruit processing leave big amounts of by-products (residues) that are underused, as compost or animal feed, or they do not have any use and therefore they become a focus of contamination that affects the environment and the population. In the case of the orange processing, approximately 50 % constitutes a by-product, formed by peels and seeds, while for the passion fruit, between 60 % and 70 % constitutes a by-product (García, 2002). Many of agro-industrial by-products are rich in fiber, oil and phenolic compounds, among others. The seeds of passion fruit for example have between 20 and 25 % of oil.

In general a diet rich in fruits and vegetables is related to various beneficial effects on human health, such as the reduction of the development of coronary heart disease (Dauchet *et al.*, 2006), cancer (Zhang *et al.*, 2009), hypertension (Mignone *et al.*, 2009), diabetes and inflammatory processes (Zafra-Stone *et al.*, 2007). These benefits are the intake result, among others, of the phenolic compounds present.

The acknowledge of the characteristics of compounds that can be extracted from the by-products, can help their use, decreasing in this way the amount of by-products nowadays generated. It is for that, that in the present research, the oils of orange and passion fruit seeds were characterized, according to their density, refractive index, saponification index, acid value and fatty acid profile; as well as the quantification of the

ello que en el presente trabajo se caracterizaron los aceites de semilla de naranja y maracuyá en cuanto a su densidad, índice de refracción, índice de saponificación, valor ácido y perfil de ácidos grasos; así como la cuantificación del contenido de compuestos fenólicos y la actividad antioxidante de las cáscaras y semillas de naranja y maracuyá.

Materiales y métodos

Las cáscaras y semillas de naranja se obtuvieron de un local de expendio de jugos de frutas, mientras que las de maracuyá se obtuvieron de fruta adquirida en un mercado local, ambos de la ciudad de Manta, Ecuador.

Las cáscaras y semillas de las frutas se secaron en una estufa a una temperatura de 50 °C. Una vez secos, los materiales se trituraron con ayuda de un molino casero (molino Corona, Colombia) y posteriormente se tamizaron, desechándose las partículas con tamaño superior a 1 mm.

Extracción de los compuestos fenólicos totales

La extracción de los compuestos fenólicos se realizó con base en la metodología propuesta por Slinkard y Singleton (1977). Cinco g de muestra homogeneizada (semilla o cáscara, según sea el caso), se mezclaron con 50 mL de etanol (95 % v/v), manteniendo la mezcla en agitación por 24 h a 20 °C. Posteriormente, las muestras fueron centrifugadas a 1792 x g por 10 min (centrifuga, Sigma, Alemania). La fracción de sobrenadante fue filtrada en vacío

phenolic compounds content and the antioxidant activity of the peels and orange and fruit passion seeds

Materials and methods

The peels and seeds of orange were obtained from a fruit juice outlet, while those of passion fruit were obtained from a fruit purchased from a local market, both in Manta city, Ecuador.

The peels and the seeds of the fruits were dried in a stove at a temperature of 50 °C. Once the materials dried, they were crushed, with a help of a homemade mill (Corona mill, Colombia) and after they were sifted, discarding the particles with a size higher to 1 mm.

Extraction of total phenolic compounds

The extraction of phenolic compounds was realized based on the methodology proposed by Slinkard and Singleton (1977). Five grams of homogenized sample (seed or peel, according to the case), were mixed with 50 ml of ethanol (95 % v/v), keeping the mixture in agitation for 24 h to 20°C. After, the samples were centrifuged at 1792 x g for 10 min (Sigma, centrifuge, Germany). The supernatant fraction was vacuum filtered (Gast, vacuum pump, U.S.A.) with the help of a filter paper (Fisher Scientific Q2, China).

Quantification of total phenolic compounds

The quantification of total phenolic compounds was realized according to the Folin-Ciocalteu method, modified by Slinkard and Singleton (1977). For that, 10 mL of the supernatant of the extract

(bomba de vacío, Gast, U.S.A.) con ayuda de papel filtro (Fisher Scientific Q2, China).

Cuantificación de compuestos fenólicos totales

La cuantificación de los compuestos fenólicos totales fue realizada de acuerdo con el método de Folin-Ciocalteu modificado por Slinkard y Singleton (1977). Para ello, 10 mL del sobrenadante del extracto previamente obtenido se mezclaron con 5 mL de etanol (95 % v/v), aforando la mezcla resultante a 100 mL con agua destilada (extracto etanólico). 0,4 mL del extracto etanólico se mezclaron con 2 mL del reactivo de Folin-Ciocalteu, y se dejaron en reposo por 5 min, posteriormente, 4 mL de solución de carbonato de sodio (5 % m/v) se añadieron a la mezcla antes preparada para luego aforarla a 25 mL con agua destilada. La solución se dejó en reposo en la oscuridad por una hora. La absorbancia de la solución obtenida fue medida a 760 nm en un espectrofotómetro (ThermoSpectronic, USA). La cuantificación de los compuestos fenólicos totales se realizó usando una curva de calibración con ácido gálico como estándar (0; 0,005, 0,01 y 0,02 mg de ácido gálico.mL⁻¹) y los resultados se expresaron como equivalentes de ácido gálico (GAE).

Actividad antioxidante

Para la determinación de la actividad antioxidante, en primer lugar se preparó el radical ABTS^{•+} mediante la reacción acuosa de persulfato de potasio 2,45 mM y ABTS 7 mM en un balón de vidrio. Se cubrió el balón con papel aluminio y se dejó reposar en la oscuridad por 16 horas

previously were mixed with 5 mL of ethanol (95 % v/v), measuring the resulting mixture to 100 ml with distilled water (ethanol extract). 0.4 mL of the ethanol extract was mixed with 2 mL of Folin-Ciocalteu reagent, and they were left to rest for 5 min, later, 4 mL of sodium carbonate solution (5 % m/v) were added to the mixture prepared before, to measure it later to 25 mL with distilled water. The solution was left to rest in the dark for an hour. The absorbance of the obtained solution was measured at 760 nm in a spectrophotometer (ThermoSpectronic, USA). The quantification of the total phenolic compounds was realized using a calibration curve with gallic acid as standard (0, 0.005, 0.01 and 0.02 mg of gallic acid.mL⁻¹) and the results were expressed as gallic acid equivalents (GAE).

Antioxidant activity

For determination of the antioxidant activity, in the first place the radical ABTS^{•+} was prepared, through the aqueous reaction of the potassium persulfate 2.45 mM and ABTS 7 mM in a ball of glass. The ball was covered with aluminum foil and it left to rest in the dark for 16 hours at a temperature of 20 °C (Re *et al.*, 1999; Vasco 2009; Bompadre *et al.*, 2004). The solution of ABTS^{•+} must be calibrated with ethanol before its use in the quantification of the antioxidant activity. For this, the solution of radical ABTS^{•+} must be diluted with ethanol until obtain an absorbance of 0.70 (± 0.02) to 734 nm balanced at 20 °C (ThermoSpectronic spectrophotometer, U.S.A.).

a temperatura de 20 °C (Re *et al.*, 1999; Vasco 2009; Bompadre *et al.*, 2004). La solución de ABTS^{•+} debe ser calibrada con etanol antes de su utilización en la cuantificación de la actividad antioxidante. Para esto, se debe diluir la solución de radical ABTS^{•+} con etanol hasta obtener una absorbancia de 0,70 (± 0,02) a 734 nm equilibrada a 20 °C (espectrofotómetro ThermoSpectronic, U.S.A.).

Para la cuantificación de la actividad antioxidante, se realizó una curva de calibración para lo cual en primera instancia se colocó en una celda 1 mL de la solución de radical ABTS^{•+} calibrada, y se registró la medición determinada por el espectrofotómetro (absorbancia inicial). Entonces se añadió a la celda 10 µL de solución preparada del estándar Trolox, y se tomó la lectura de absorbancia que arroja el espectrofotómetro (absorbancia final) a 734 nm. Se repitió la última etapa para un total de cinco soluciones estándar (0, 10, 20, 40, 60 µM Trolox), midiendo la absorbancia frente a un blanco de etanol.

Para las muestras se trabajó de manera similar con la diferencia de que se reemplazó los 10 µL de la solución de Trolox por los extractos de cada muestra. Se tomaron las lecturas espectrofotométricas al tiempo cero y a los seis (6) min de la adición de los 10 µL de la muestra. La medición de la actividad antioxidante para cada tratamiento se realizó por triplicado.

Extracción de aceite

La extracción del aceite se realizó empleando el método de Sánchez *et al.* (2015). Se utilizó etanol como solvente

For the quantification of the antioxidant activity, a calibration curve was realized, for which, it was placed in a cell 1ml of the radical ABTS^{•+} calibrated solution, and the determined measurement was registered by the spectrophotometer (Initial absorbance). Then, it was added to the cell 10 µL of prepared solution of Trolox standard, and the reading of the absorbance that gives the spectrophotometer was taken (Final absorbance) at 734 nm. The last stage was repeated for a total of five standard solutions (0, 10, 20, 40, 60 µM Trolox), measuring the absorbance in front of an ethanol control.

For the samples, it was worked similarly with the difference that the 10 µL were replaced from the Trolox solution by the extracts of each sample. The spectrophotometric readings were taken at zero time and at the six (6) min of the addition of 10 µL of sample. The measurement of the antioxidant activity for each treatment was realized by triplicate.

Oil extraction

The oil extraction was realized using the method of Sánchez *et al.* (2015). Ethanol was used as solvent in a relationship of 17:1 (mL of solvent: grams of sample), keeping a constant agitation during its incubation at a temperature of 50 °C for 2 h. After, the sample was centrifuged (Sigma 2-16P, centrifuge, Germany) at 1792 x g for 5 min and the supernatant was filtered with filter paper (Fisher Scientific Q2, China). The filtered liquid was collected in a ball to evaporate the ethanol using a rotary evaporator (IKA RV8, China).

en una relación de 17:1 (mL de solvente: gramo de muestra), manteniendo una agitación constante durante su incubación a una temperatura de 50 °C por 2 h. Posteriormente, la muestra se centrifugó (centrifuga Sigma 2-16P., Alemania) a 1792 x g por 5 min y el sobrenadante se filtró con papel filtro (Fisher Scientific Q2, China). El líquido filtrado se recogió en un balón para evaporar el etanol utilizando un evaporador rotatorio (IKA RV8, China).

Análisis físicos de los aceites

La determinación de la densidad relativa se realizó de acuerdo con el método propuesto en la norma Técnica Ecuatoriana del Instituto Nacional de Normalidad del Ecuador (NTE INEN 0035:2012). Haciendo uso de un picnómetro, se determinó la masa de las muestras de aceite y de la referencia (agua destilada) a una temperatura de 25 °C.

La densidad relativa a 25 °C se calculó por medio de la siguiente ecuación:

$$\rho_{25} = \frac{m_2 - m_0}{m_1 - m_0}$$

Donde:

ρ_{25} : es la densidad relativa a 25 °C

m_0 : es la masa, en gramos, del picnómetro vacío

m_1 : es la masa, en gramos, del picnómetro lleno de agua

m_2 : es la masa, en gramos, del picnómetro lleno de muestra

Índice de refracción

Se utilizó el método propuesto en la Norma Técnica Ecuatoriana del Instituto Nacional de Normalidad del Ecuador (NTE-ISO 6320:2013).

Physical analysis of oils

The determination of the relative density was made according to the method proposed in "La Técnica Ecuatoriana del Instituto Nacional de Normalidad del Ecuador" (NTE INEN 0035:2012). Making use of a pycnometer, the mass of the oil samples was determined and the reference (distilled water) at a temperature of 25 °C.

The relative density at 25 °C was calculated through the next equation:

$$\rho_{25} = \frac{m_2 - m_0}{m_1 - m_0}$$

Where:

ρ_{25} : It's the relative density at 25 °C

m_0 : It's the mass, in grams, of the empty pycnometer.

m_1 : It's the mass, in grams, of the pycnometer full of water.

m_2 : It's the mass, in grams, of the pycnometer full of sample.

Refractive index

The method proposed in the "Norma Técnica Ecuatoriana del Instituto Nacional de Normalidad del Ecuador" (NTE-ISO 6320:2013) was used. The method consisted of measuring the refractive index of the liquid sample at a specific temperature using a refractometer. (Mettler Toledo, U.S.A).

Saponification index

It was made according to the NTE INEN 169:1975 02 method. In a flat-bottomed round flask of 10 ml Provitec "PVT-MEC-000" brand, 0.5 g of the sample were measured, with precision of 0.0001 g using an analytical balance (Velab VE-204 analytical balance). With a digital pipette a (1) ml of

El método consistió en medir el índice de refracción de una muestra líquida a una temperatura específica empleando un refractómetro (Mettler Toledo, U.S.A.).

Índice de saponificación

Se realizó de acuerdo con el método NTE INEN 169:1975 02. En un matraz redondo de fondo plano de 10 mL marca Provitec PVT-MEC-0001, se pesaron 0,5 g de la muestra, con precisión de 0,0001 g usando una balanza analítica Velab VE-204. Con una pipeta digital se adicionó un (1) mL de ciclohexano para disolver la muestra más 5 mL de solución alcohólica de hidróxido de potasio 0,71 N. El matraz se acopló a un condensador para reflujo marca Provitec PVT-MEC-0015. Se aplicó calor al matraz por medio de un sartén eléctrico marca Oster modelo CKSTSKFM05, manteniendo el reflujo durante 60 min. Al término de ese lapso, se retiró el sartén eléctrico y se permitió fluir el agua fría durante 5 min adicionales para el enfriamiento total del sistema. Una vez transcurrido el tiempo estipulado, se añadió fenolftaleína al 0,1 % m/v a la solución contenida en el matraz, titulando el KOH residual contra una solución estandarizada de HCl 0,5 N. El punto final de la titulación se detectó cuando el color de la solución viró del rosa al incoloro. Como blanco se utilizó 1 mL de ciclohexano y 5 mL de la solución etanólica de hidróxido de potasio 0,71 N de acuerdo al procedimiento descrito. Con los datos de ambas titulaciones se calculó el índice de saponificación, aplicando la siguiente ecuación:

$$\text{Índice de saponificación} = \frac{(A - B)(N)(56,11)}{m}$$

ciclohexane was added to dissolve the sample, plus 5 ml of alcoholic solution of potassium hydroxide 0.71 N. The flask was attached to a condenser for reflux, Provitec brand PVT-MEC-0015. Heat was applied to the flask through of an electric pan Oster brand, CKSTSKFM05 model, maintaining the reflux during 60 min. At the end of this period, the electric pan was removed and was allowed to flow the water during 5 min additional for total system cooling. After the stipulated time, phenolphthalein was added at 0.1 % m/v to the solution contained in the flask, titling the residual KOH against to a standardized solution of HCl 0.5 N. The final point of the titling was detected when the color of the solution changed to a colorless pink. As a control 1 mL of cyclohexane was used and 5 ml of the ethanol solution of potassium hydroxide 0.71 N according to the described procedure. With the data of both degrees, the saponification index was calculated, using the next equation:

$$\text{Índice de saponificación} = \frac{(A - B)(N)(56,11)}{m}$$

Where: A: HCl solution volume spent in the titling of the control.

B: HCl solution volume spent in the titling of the sample.

N: Normality of the HCl standard solution.

56.11: Equivalent mass of KOH

m: Mass of the sample in grams.

Acid value

The analysis of acid value was realized based on the method proposed by AOCS (2009). Approximately 500 mg were taken of the oil sample, and were dissolved in 50 ml of alcohol

Donde: A: Volumen de solución de HCl gastados en la titulación del blanco

B: Volumen de solución de HCl gastados en la titulación de la muestra

N: Normalidad de la solución del HCl estandarizado

56,11: masa equivalente de KOH

m: masa de la muestra en gramos

Valor ácido

El análisis de valor ácido fue realizado con base en el método planteado por AOCS (2009). Se tomó aproximadamente 500 mg de la muestra de aceite y se disolvió en 50 mL de alcohol con calentamiento suave. La solución se tituló con KOH 0,1 N usando fenolftaleína como indicador hasta que se desarrolló un ligero color rosa. El valor ácido se calculó utilizando la siguiente ecuación.

$$\text{Valor ácido} = V \times N \times 56,11 / W$$

Donde:

V: es el volumen de KOH añadido en la titulación mL

N: es la normalidad de KOH

W: es la masa de la muestra de aceite en gramos.

56,11: es la masa equivalente de KOH

Perfil de ácidos grasos

Los ésteres metílicos de ácidos grasos se prepararon de acuerdo con el método de Hartman & Lago (1973). La separación se realizó empleando cromatografía de gases en un equipo Agilent 6890 con una columna capilar cianopropilsiloxano (60 m x 0,32 mm x 0,25 mm), aplicando un programa de temperatura de columna:

with gentle heating. The solution was titled with KOH 0.1 N, using phenolphthalein as an indicator until a slight pink color was developed. The acid value was calculated using the next equation.

$$\text{Acid value} = V \times N \times 56.11 / W$$

Where:

V: The volume of the KOH added in the mL degree.

N: It's the KOH normality.

W: It's the mass of the oil sample in grams.

56.11: Equivalent mass of KOH.

Fatty acids profile

The methyl esters of fatty acids were prepared according to the Hartman & Lago method (1973). The separation was carried out using chromatography of gases in Agilent 6890 apparatus, with a cyanopropyl siloxane capillary column (60 m x 0.32 mm x 0.25mm), applying a temperature program of column: initial temperature 100 °C for 3 min; later, it was increased to 150 °C to a reason of 50 °C.min⁻¹, and to 180 °C at 1°C.min⁻¹, for finally, increase the temperature to 200 °C at 25 °C.min⁻¹, temperature that was kept for 10 min. The hydrogen was used as a gas carrier to a flow reason of 2.5 mL.min⁻¹ (measured at 40 °C). A (1.0) µL was injected of sample in a solution of dichloromethane at 2 % in the injector at a temperature of 250 °C in split mode (1:50), the temperature of the FID detector was 280 °C. The results were expressed as percentage in mass and as mass per unit mass of dry material. The identification and the

temperatura inicial 100 °C por 3 min; posteriormente, se incrementó a 150 °C a una razón de 50 °C.min⁻¹, y a 180 °C a 1°C min⁻¹, para finalmente, elevar la temperatura a 200 °C a 25 °C.min⁻¹, temperatura que fue mantenida por 10 min. El hidrógeno fue utilizado como gas portador a una razón de flujo de 2,5 mL min⁻¹ (medida a 40 °C). Se inyectó un (1,0) µL de muestra en solución de diclorometano al 2 % en el inyector a una temperatura de 250 °C en modo split (1:50), la temperatura del detector FID fue 280 °C. Los resultados se expresaron como porcentaje en masa y como masa por unidad de masa de material seco. La identificación y cuantificación de los FAME se basó en la comparación de los tiempos de retención y áreas de los picos cromatográficos de los FAME con los de estándares puros (Supelco, Bellefonte, EE. UU).

Resultados y discusión

Los resultados (cuadro 1) muestran que las semillas de naranja y maracuyá presentaron mayor contenido de compuestos fenólicos, con valores de 50,47 y 60,74 mg GAE g⁻¹ b.s. respectivamente, que las cáscaras de naranja, 43,98 mg GAE g⁻¹ y maracuyá 39,72 mg GAE g⁻¹. Sánchez *et al.* (2010) reportaron menores contenidos de compuestos fenólicos (8,6 mg GAE g⁻¹ b.s.), en semillas de maracuyá. La diferencia entre los resultados pudiera deberse al uso de variedades de maracuyá diferentes. Tanto las semillas como las cáscaras de ambas frutas pueden ser consideradas buenas fuentes de

quantification of FAME was based on the comparison of the retention times and areas of chromatographic peaks of FAME with the pure standards (Supelco, Bellefonte, EE. UU).

Results and discussion

The results (table 1) show that the seeds of orange and passion fruit, presented a higher content of phenolic compounds, with values of 50.47 and 60.74 mg GAE g⁻¹ b.s. respectively, than the orange, 43.98 mg GAE g⁻¹ and fruit passion peels 39.72 mg GAE g⁻¹. Sánchez *et al.* (2010) reported low contents of phenolic compounds (8.6 mg GAEg⁻¹ b.s.), in seeds of fruit passion. The difference between the results could be due to the use of varieties of different passion fruits. Both the seeds and the peels of both fruits can be considered good sources of phenolic compounds, taking as a reference fruits with high content of phenolic compounds, as *Passiflora tripartita* with 17.23 mg GAEg⁻¹ fruits b.s. (Ruiz *et al.*, 2018); *Vaccinium floribundum* with 25.1 mg GAEg⁻¹ frutas b.s. (Vasco, 2009) and 17.83 mg anthocyanins g⁻¹frutas b.s. (Tupuna *et al.*, 2016) and *Prunus salicifoli* with 17.32 mg GAE g⁻¹ extract (Jimenez *et al.*, 2011).

In the table 2, the results obtained of the antioxidant activity are presented. Higher values can be observed for the seeds and peels of orange (4.95 and 6.55 mg ETg⁻¹ b.s), in comparison to those of the seeds and peels of fruit passion (2.46 and 6.02 mg ETg⁻¹ b.s). The antioxidant activities of seeds and

compuestos fenólicos, tomando como referencia frutas con alto contenido de compuestos fenólicos, como *Passiflora tripartita* con 17,23 mg GAE g⁻¹frutas b.s. (Ruiz *et al.*, 2018); *Vaccinium floribundum* con 25,1 mg GAE g⁻¹frutas b.s. (Vasco, 2009) y 17,83 mg antocianinas g⁻¹frutas b.s. (Tupuna *et al.*, 2016) y *Prunus salicifoli* con 17,32 mg GAE g⁻¹ extracto (Jimenez *et al.*, 2011).

peels determined by the radical ABTS^{•+} method, correspond to water-soluble and fat-soluble phytochemicals. These values resulted lower to those that fruits present with high antioxidant activity as *Passiflora tripartita* 243 mg ETg⁻¹ b.s. (Vasco, 2009); *Vaccinium floribundum* with 48.64 mg ETg⁻¹ b.s. (Vasco, 2009) and 59.64 mg ETg⁻¹ b.s. (Tupuna *et al.*, 2016); *Prunus salicifoli* with 80 mg ET g⁻¹ b.s. (Mejía, 2019).

Cuadro 1. Contenido (mg GAE.g b.s⁻¹ ± S) de compuestos fenólicos presentes en cáscara y semilla de naranja y maracuyá.

Table 1. Content (mg GAE.g b.s⁻¹ ± S) of phenolic compounds present in peels and seeds of orange and passion fruit.

Muestra	Contenido de compuestos fenólicos (mg GAE.g b.s ⁻¹ ± S)
Semilla de maracuyá	60,74± 19,97
Cáscara de maracuyá	39,72± 17,72
Semilla de naranja	50,47± 16,66
Cáscara de naranja	43,98± 8,83

S= desviación estándar

S=Standard deviation

En el cuadro 2 se presentan los resultados obtenidos de la actividad antioxidante. Puede observarse mayores valores para las semillas y cáscara de naranja (4,95 y 6,55 mg ET g⁻¹ b.s), en comparación con los de semillas y cáscaras de maracuyá, (2,46 y 6,02 mg ET g⁻¹ b.s). Las actividades antioxidantes de semilla y cáscara determinadas por el método del radical ABTS^{•+} corresponden a fitoquímicos hidrosolubles y liposolubles. Estos valores resultaron inferiores a a los que presentan frutas con alta actividad antioxidante como *Passiflora tripartita* con 243 mg ET

The oils of orange and fruit passion seeds presented densities of 0.88 and 0.83 g.cm⁻³, respectively, with refraction index of 1.4515 and 1.4692, respectively (table 3). Similar results of density have been reported (0.845 g.cm⁻³) and refraction index (1.477) for essential oil of orange (Rueda, *et al.*, 2007) and of 0.91g.cm⁻³ and 1.4557 g.cm⁻³ for oil of fruit passion seeds (Cruz and Meléndez, 2004). In the norm of CODEX STAN 210-1999 (FAO/OMS, 2017), specifications are established for 24 oils of different sources of vegetable, with densities

g⁻¹ b.s. (Vasco, 2009); *Vaccinium floribundum* con 48,64 mg ET g⁻¹ b.s. (Vasco, 2009) y 59,64 mg ET g⁻¹ b.s. (Tupuna *et al.*, 2016); *Prunus salicifoli* con 80 mg ET g⁻¹ b.s. (Mejía, 2019).

between 0.881 and 0.927 g.cm⁻³ and refraction indexes between 1.447 and 1.477, that shows that the values obtained in the present study are found within the reported values.

Cuadro 2. Actividad antioxidante (mg equivalente Trolox.g b.s⁻¹±S) de compuestos fenólicos presentes en cáscara y semilla de naranja y maracuyá.

Table 2. Antioxidant activity (equivalent mg Trolox.g b.s⁻¹±S) of phenolic compounds present in the peel and seed of orange and passion fruit.

Muestra	Actividad antioxidante (mg equivalente Trolox.g b.s ⁻¹ ± S)
Semilla de maracuyá	6,02 ±1,92
Cáscara de maracuyá	2,46 ±0,82
Semilla de naranja	4,95 ±1,41
Cáscara de naranja	6,55 ±0,54

S=desviación estándar

S=Standard deviation

Los aceites de semillas de naranja y maracuyá presentaron densidades de 0,88 y 0,83 g.cm⁻³, respectivamente, con índices de refracción de 1,4515 y 1,4692, respectivamente (cuadro 3). Se han reportado resultados similares de densidad (0,845 g.cm⁻³) e índice de refracción (1,477) para aceite esencial de naranja (Rueda, *et al.*, 2007) y de 0,91 g.cm⁻³ y 1,4557 g.cm⁻³ para aceite de semillas de maracuyá (Cruz y Meléndez, 2004). En la Norma del CODEX STAN 210-1999 (FAO/OMS, 2017), se establecen especificaciones para 24 aceites de diferentes fuentes vegetales, con densidades entre 0,881 y 0,927 g.cm⁻³ e índices de refracción entre 1,447 y 1,477, lo que demuestra que los valores obtenidos en el presente estudio se encuentran dentro de los valores reportados.

The acid value obtained from the oils of orange and passion fruit was of 40.3 and 7.8 mg KOH.g⁻¹, respectively. The Codex Alimentarius (FAO/OMS, 2017) defined a maximum acid value for edible oils of 4.0 mg KOH.g⁻¹ for raw oils and of 0.6 mg KOH.g⁻¹ for refined oils, so the passion fruit seed oil, for being close to the limit accepted by the Codex, can have applications in the food industry, not so the one from orange seed that is well above of the allowed limit.

The table 4 shows that the oil of passion fruit seed is mostly composed by unsaturated fatty acids, being in decreasing order the polyunsaturated (70.116 %) of total fatty acids, followed by the monounsaturated (15.155 %) and finally the saturated (14.48

Cuadro 3. Densidad, índices de refracción, saponificación y valor ácido de aceites de semilla de naranja y maracuyá.**Table 3. Density, indexes of refraction, saponification and acid value of orange and passion fruit seed oil.**

	Naranja	Maracuyá
Densidad (g.cm ⁻³)	0,88	0,83
Índice de refracción	1,4515	1,4692
Índice de saponificación		192,01
(mg KOH.g ⁻¹)	194,49	
Valor ácido (mg KOH. g ⁻¹)	40,3	7,8

El valor ácido obtenido de los aceites de semilla de naranja y maracuyá fue de 40,3 y 7,8 mg KOH.g⁻¹, respectivamente. El Codex Alimentarius (FAO/OMS, 2017) definió para los aceites comestibles un valor ácido máximo de 4,0 mg KOH.g⁻¹ para aceites crudos y de 0,6 mg KOH.g⁻¹ para aceites refinados, por lo que el aceite de semilla de maracuyá, por estar cerca del límite aceptado por el Codex, puede tener aplicaciones en la industria alimenticia, no así el proveniente de semilla de naranja que está muy por encima del límite permitido.

El cuadro 4 muestra que el aceite de semilla de maracuyá está compuesto mayoritariamente por ácidos grasos insaturados, siendo en orden decreciente los poliinsaturados (70,116 %) del total de ácidos grasos, seguidos de los monoinsaturados (15,155 %) y por último los saturados con (14,48 %). Comparando la relación de ácidos grasos saturados/insaturados del aceite de semilla de maracuyá (1/5,9) se puede observar que esta relación es mayor que la de aceite de maíz (1/6,7) y colza (1/14,9)

%). Comparing the relationship of saturated/unsaturated fatty acids of the passion fruit seed (1/5.9) can be observed that this relationship is higher than the corn oil (1/6.7) and colza (1/14.9) and lower than the olive oil (1/4.5) (Orsavova *et al.*, 2015). The linoleic, oleic, palmitic and stearic acids presented a higher percentage in the oil of fruit passion seed. This profile of fatty acids with high percentage of unsaturated fatty acids and low percentage of saturated fatty acids, is considered ideal for the edible oils, with possible applications of the oil of passion fruit seed in cooking, for salads or in the margarines formulation.

The seeds of passion fruit contain two essential fatty acids (linoleic and linolenic). The presence of these essential acids in appropriate levels is important from the nutritional view point. The content of linoleic acid (69.45%) was higher than the linolenic (0.447%). Similar results were obtained for the oil of passion fruit seed by other authors, 73.14 and 0.41% (Cassia and Neuza, 2012); 66.27 and 0.39% (Alvarenga *et al.*, 2015). On

y menor que aceite de oliva (1/4,5) (Orsavova *et al.*, 2015). Los ácidos grasos linoléico, oléico, palmítico y esteárico presentaron mayor porcentaje en el aceite de semilla de maracuyá. Este perfil de ácidos grasos con alto porcentaje de ácidos grasos insaturados y bajo porcentaje de ácidos grasos saturados, es considerado ideal para aceites comestibles, con posibles aplicaciones del aceite de semilla de maracuyá en cocción, para ensaladas o en la formulación de margarinas.

the other hand, the contents of fatty acids as myristic, pamic, stearic, arachidic, behenic, palmitoleic, oleic, linoleic, eicosenoic, trans-eicosenoic, conjugate linoleic, are similar to the reported by Cassi and Neuza (2012) and Alvarenga *et al.* (2015).

In addition to being used in the food industry, the oils that present high contents of unsaturated fatty acids, can be used in the elaboration of hair and skin conditioning agents, as well as in the makeup manufacturing.

Cuadro 4. Composición de ácidos grasos (AG) de aceite de semilla de maracuyá.

Table 4. Fatty acids composition (AG) of passion fruit seed oil.

Ácido graso	Datos experimentales (% AG del total de AG)	Referencias de otros estudios (% AG del total de AG)
10:0, Caprico	0,086	
12:0, Laurico	0,007	
14:0, Miristico	0,089	0,08 ²
16:0, Palmitico	11,33	9,73 ¹ , 10,6 ²
18:0, Estearico	2,746	2,58 ¹ , 3,09 ²
20:0, Araquidico	0,157	0,1 ¹ , 0,16 ²
22:0, Behenico	0,065	
16:1, Palmitoleico	0,205	0,11 ¹
18:1, Oléico	14,761	13,83 ¹ , 18,96 ²
18:2, Linoléico	69,454	73,14 ¹ , 66,27 ²
18:3, Linolénico	0,447	0,41 ¹ , 0,39 ²
16:1, trans-hexadecenoico	0,007	
18:1, trans-octadecenoico	0,033	
18:2, trans-octadecadienoico	0,175	
20:1, eicosenoico	0,14	0,10 ¹
20:1, trans-eicosenoico	0,009	
18:2, conjugado linoleico	0,040	
Total ácidos grasos saturados (SFA)	14,48	12,41 ¹

¹Cassia y Neuza (2012)

²Alvarenga *et al.* (2015)

Cuadro 4. Composición de ácidos grasos (AG) de aceite de semilla de maracuyá.**Table 4. Fatty acids composition (AG) of passion fruit seed oil.**

Ácido graso	Datos experimentales (% AG del total de AG)	Referencias de otros estudios (% AG del total de AG)
Total ácidos grasos monoinsaturados (MUFA)	15,155	14,04 ¹
Total ácidos grasos poliinsaturados (PUFA)	70,116	73,55 ¹
Total ácidos grasos trans	0,224	
Total ácidos grasos conjugados	0,04	
SFA/(MUFA+PUFA)	1/5,9	

¹Cassia y Neuza (2012)²Alvarenga *et al.* (2015)

Las semillas de maracuyá contienen dos ácidos grasos esenciales (linoléico y linolénico). La presencia de estos ácidos esenciales en niveles apropiados es importante desde el punto de vista nutricional. El contenido de ácido linoléico (69,45 %) fue mayor que el de linolénico (0,447 %). Similares resultados se obtuvieron para aceite de semilla de maracuyá por otros autores, 73,14 y 0,41 % (Cassia y Neuza, 2012); 66,27 y 0,39 % (Alvarenga *et al.*, 2015). Por otra parte, los contenidos de los ácidos grasos mirístico, pamítico, esteárico, araquídico, behénico, palmitoléico, oléico, linoléico, linolénico, eicosenoico, trans-eicosenoico, conjugado linoléico, son similares a los reportados por Cassi y Neuza (2012) y Alvarenga *et al.* (2015).

Además de ser usados en la industria de alimentos, los aceites que presentan altos contenidos de ácidos grasos insaturados, pueden ser empleados en la elaboración de

Conclusions

The oil of passion fruit seed shows characteristics that indicate that it can be used in the food and cosmetic industries. The use of passion fruit seed as raw material could decrease the amount of by-products generated by the procedure of passion fruit. On the other hand, the seeds and the peels of passion fruit are good source of antioxidant compounds; however, these compounds have a low antioxidant activity, so they are not of much interest to the industry.

End of English Version

agentes acondicionadores de cabello y piel, así como en la elaboración de maquillaje.

Conclusiones

El aceite de semilla de maracuyá muestra características que indican que

puede ser utilizado en las industrias alimenticias y de cosméticos. El uso de semillas de maracuyá como materia prima para la extracción de aceite podría disminuir la cantidad de subproductos generados por el procesamiento de maracuyá. Por otro lado, las semillas y cáscaras de naranja y maracuyá son buena fuente de compuestos antioxidantes, sin embargo, estos compuestos poseen baja actividad antioxidante por lo que no son de mucho interés para la industria.

Literatura citada

- AOCS (American Oil Chemists Society). 2009. Official methods and recommended practices. Champaign. 1200p
- Alvarenga, S., E. Resende, R. Antoniassi. 2015. Oil quality of passion fruit seeds subjected to a pulp-waste purification process. *Ciência Rural*, Santa Maria 45: 977-984.
- Bompadre, S., L. Leone, A. Politi, M. Battino. 2004. Improved FIA-ABTS Method for Antioxidant Capacity Determination in Different Biological Samples. *Free Radical Research* 38: 831-838.
- Cassia, R. y J. Neuza. 2012. Yellow Passion Fruit Seed Oil (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*): Physical and Chemical Characteristics. *Brazilian Archives of Biology and Technology* 55: 127-134.
- Cruz, L., C. Meléndez. 2004. Obtención, Refinación y Caracterización del aceite de la semilla de *Passiflora edulis flavicarpa* (maracuyá). Universidad de El Salvador. San Salvador, El Salvador.
- Dauchet, L., P. Amouyel, S. Herberg, J. Dallongeville. 2006. Fruit and vegetable consumption and risk of coronary heart disease: A meta-analysis of cohort studies. *Journal of Nutrition* 136: 2588-2593.
- FAO/OMS. 2017. Codex Alimentarius. Normas internacionales de los alimentos. Norma para aceites vegetales especificados codex stan 210-1999 adoptada en 1999. Revisada en 2001, 2003, 2009 y 2017. Enmendada en 2005, 2011, 2013, 2015 y 2017. FAO/OMS. Roma.
- FLACSO. 2011. Boletín mensual de análisis sectorial de MIPYMES. Noviembre 2011. Elaboración de jugos y conservas de frutas. FLACSO-MIPRO, Quito, Ecuador.
- García, M. 2002. Guía Técnica. Cultivo de maracuyá amarillo. Centro Nacional de Tecnología Agropecuaria y Forestal CENTA. El Salvador.
- Hartman, L. y R. Lago. 1973. Rapid preparation of fatty acid methyl esters from lipids. *Lab Pract.* 22: 475-476.
- Jimenez, M., I. Castillo, E. Azuara, C. Beristain. 2011. Antioxidant and antimicrobial activity of capulin (*Prunus serotina* subsp. *capuli*). *Revista Mexicana de Ingeniería Química* 10: 29-37.
- Mejía, A. 2019. Extracción, microencapsulación y actividad antioxidante de antocianinas del capulí (*Prunus serotina*). Universidad Técnica de Ambato. Ambato, Ecuador.
- MIC. 2008. Naranja. Estudio Agroindustrial en el Ecuador. Ministerio de Industrias y Competitividad, Quito, Ecuador.
- Mignone, L., E. Giovannucci, P. Newcomb, L. Titus-Ernstoff, A. Trentham-Dietz, J.M. Hampton, W. C. Willett, K.M. Egan. 2009. Dietary carotenoids and the risk of invasive breast cancer. *International Journal of Cancer* 124: 2929-2937.
- NTE INEN 169. 1975. Determinación del índice de saponificación. Instituto Ecuatoriano de Normalización. Quito, Ecuador.
- NTE INEN 0035. 2012. Aceites y grasas de origen animal y vegetal determinación de la densidad relativa. Instituto Ecuatoriano de Normalización. Quito, Ecuador.
- NTE INEN-ISO 6320. 2013. Aceites y grasas de origen animal y vegetal. determinación del índice de refracción.

- (IDT). Instituto Ecuatoriano de Normalización. Quito, Ecuador.
- Orsavova, J., L. Misurcova, J. Ambrozova, R. Vicha, J. Mlcek. 2015. Fatty Acids Composition of Vegetable Oils and Its Contribution to Dietary Energy Intake and Dependence of Cardiovascular Mortality on Dietary Intake of Fatty Acids. *Int. J. Mol. Sci.* 16: 12871-12890.
- Pardo, A. 2015. Evaluación de la capacidad antioxidante y compuestos fenólicos en la pulpa de la maracuyá (*Passiflora edulis*). Universidad Técnica de Machala.
- Re, R., N. Pellegrini, A. Proteggente, A. Pannala, M. Yang, C. Rice-Evans. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology & Medicine* 26: 1231 - 1237.
- Rueda, Y., L. Mancilla, D. Parada. 2007. Estudio del aceite esencial de la cáscara de la naranja dulce (*Citrus sinensis* var. Valenciana) cultivada en Labateca (Norte de Santander, Colombia). *Bistua* 5: 3-8.
- Ruiz, S., E. Venegas, J. Valdiviezo, J. Plasencia. 2018. Contenido de fenoles totales y capacidad antioxidante in vitro del zumo de "pur pur" *Passiflora tripartita* var. mollissima (Passifloraceae). *Arnaldoa* 25: 1003-1014.
- Sánchez, W., E. Murillo, J. Méndez. 2010. Potencial antioxidante de residuos agroindustriales de tres frutas de alto consumo en el Tolima. Universidad Tecnológica de Pereira. Pereira, Colombia.
- Sánchez, R., M. Fernández, S. Nolasco. 2015. Aceite de canola: estudio exploratorio de extracción con etanol. VIII Congreso de Ingeniería Química. Buenos Aires.
- Slinkard, K. y V. Singleton. 1977. Total Phenol Analysis: Automation and Comparison with Manual Methods. *American Journal of Enology and Viticulture* 28: 49-55.
- Tupuna, S., E. Vera, J. Ruales (2016). Obtención de jugo clarificado concentrado de mortinño (*Vaccinium floribundum* Kunth) mediante el uso de tecnología de membranas. *Revista Politécnica*, 38: 18-28.
- Vasco, C., 2009. Phenolic Compounds in Ecuadorian Fruits. Doctoral Thesis. Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala.
- Zafra-Stone, S., T. Yasmin, M. Bagchi, A. Chatterjee, J. Vinson, D. Bagchi. 2007. Berry anthocyanins as novel antioxidants in human health and disease prevention. *Molecular Nutrition & Food Research* 51: 675-683.
- Zhang, C.X., S.C. Ho, Y.M. Chen, J.H. Fu, S.Z.Cheng, & F.Y. Lin. 2009. Greater vegetable and fruit intake is associated with a lower risk of breast cancer among Chinese women. *International Journal of Cancer* 125: 181-188.