

*Revista Electrónica Nova Scientia*

Factores que influyen en el contenido de escualeno, fitoesteroles totales y esterificados en el subproducto ácidos grasos destilados de soya para su potencial aprovechamiento

Factors affecting the content of squalene, total and esterified phytoestrogens in soybean distillated fatty acids by-product for its potential use

**José Rodríguez Rodríguez<sup>1</sup>, Carlos A. Amaya<sup>1</sup>, Porfirio Caballero<sup>2</sup>, M. Guadalupe Alanís<sup>1</sup>, Carlos Aguilera<sup>1</sup>, Juan G. Báez<sup>1</sup>, Sergio Moreno<sup>1</sup> y M. Adriana Núñez<sup>1</sup>**

---

<sup>1</sup>Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Nuevo León, San Nicolás de los Garza

<sup>2</sup>Laboratorio del Centro de Calidad Ambiental, Instituto Tecnológico y de Estudios Superiores de Monterrey, Monterrey

---

México

*José Rodríguez Rodríguez.* E-mail: [jrr@itesm.mx](mailto:jrr@itesm.mx)

## Resumen

Una necesidad actual de la industria de extracción y refinación de aceite vegetal es la reducción y/o explotación de sus subproductos. Uno de estos, conocido como Ácidos Grasos Destilados de Aceite de Soya (AGDAS), resulta potencialmente valioso para las industrias alimentaria, farmacéutica y cosmética por la presencia de compuestos con actividad biológica favorable, como los fitoesteroles y el escualeno, los primeros como agentes hipocolesterolemiantes y el escualeno como emoliente y humectante. En este trabajo, mediante cromatografía de gases se determinó el contenido de escualeno y fitoesteroles libres y esterificados para evaluar la viabilidad de aprovechamiento de AGDAS como fuente de dichos compuestos y establecer si la procedencia del grano de soya (americano o nacional), la condición de cultivo (Sequía o Normal, años 2011 y 2012 respectivamente) y el grado de calidad del aceite (Genérico o Premium) son factores determinantes en el contenido de dichos compuestos en el subproducto. En conclusión AGDAS representa una fuente viable de fitoesteroles totales con 14.92% p/p, no así de escualeno con 1.75% p/p. La concentración de escualeno está influenciada por la procedencia del grano y la condición de cultivo, mientras que la de fitoesteroles esterificados por el grado de calidad y condición de cultivo. Ninguno de los factores influyó en el contenido de fitoesteroles totales. Esto permite establecer que la composición del subproducto AGDAS no es constante y se justifican protocolos como el de este estudio para su caracterización con fines de aprovechamiento.

**Palabras clave:** utilización de subproductos, ácidos grasos destilados de aceite de soya, fitoesteroles esterificados, escualeno, influencia de factores

Recepción: 28-11-2014

Aceptación: 03-04-2015

## Abstract

Reduction and/or exploitation of byproducts from the extraction and refining industry of vegetable oils is a current need. One of these, known as Soybean Oil Deodorizer Distillate (SODD), has a potential value in the food and pharmaceutical industries by the presence of compounds with a favorable biological activity such as phytosterols and squalene, the first as hypocholesterolemic agents and squalene as emollient and moisturizer. In this work, gas chromatography was used to determine squalene, free (FP) and esterified (EP) phytosterols in SODD, in order to study the feasibility of using this as a source of such compounds and also for establishing if the provenance of the soybean (American or national), its crop condition (Drought or Normal, 2011 and 2012 respectively) and the quality level of the oil (Generic or Premium) are determinant factors in the compound's content in the by product. The SODD represents a viable source of total phytosterols (TP), 14.92% w/w, but not of squalene, 1.75% w/w. Also, the concentration of squalene in SODD is influenced by the provenance of soybean and crop conditions, while degree of oil quality and crop conditions affect the concentration of EP. The concentration of TP was not affected by any of the studied factors. This allows establishing that the composition of the SODD is not constant and protocols such as this study is justified for its characterization for purpose of its use.

**Keywords:** byproduct utilization, soybean oil deodorizer distillate, esterified phytosterols, squalene, factors evaluation

## 1. Introducción

En la industria del aceite vegetal, la deodorización de los aceites tiene la finalidad de eliminar sustancias que imparten sabores y olores indeseables a los mismos. Esta operación es una de las etapas finales en el proceso de refinación química utilizado actualmente y se lleva a cabo por destilación, mediante arrastre con vapor, de las sustancias más volátiles presentes en el aceite extraído (O'Brien 2000, 153). Junto con los compuestos que producen aromas indeseables (productos de oxidación como aldehídos, cetonas, etc.) se destilan algunos componentes minoritarios entre los que destacan los ácidos grasos libres, tocoferoles, fitoesteroles, escualeno, mono y diglicéridos, hidrocarburos pesados y algunos triglicéridos. En conjunto, este subproducto es conocido como Ácidos Grasos Destilados (AGDs).

Los ácidos grasos destilados de aceite de soya (AGDAS) son de especial interés por su alto contenido de tocoferoles, fitoesteroles totales (FT) y escualeno (E); con valores reportados de 10 y 20 % p/p para tocoferoles y fitoesteroles respectivamente (Ito *et al.*, 2005), y 5.5 % para escualeno (Dumont y Narine 2007, 1104). Sin embargo las condiciones de las etapas del proceso de refinación influyen en el contenido de estos compuestos en los AGDAS (Nergiz y Celikkale 2011, 382), específicamente las condiciones de temperatura, presión y tiempo de residencia en el deodorizador (O'Brien 2000, 161). Con base en lo anterior, la contribución de este trabajo radica en establecer un protocolo para la caracterización puntual del subproducto bajo las condiciones específicas de operación de la industria aceitera que involucra desde las condiciones de cultivo de la soya, lugar de origen (condiciones pre cosecha) y condiciones del proceso de refinación, para establecer cuáles de estos factores pudiera afectar el contenido de los compuestos de interés en los AGDAS y en consecuencia su valor económico y la factibilidad misma de su aprovechamiento.

El escualeno (E) es un hidrocarburo terpenoide que se encuentra en importante proporción en el hígado de especies marinas como ballenas y tiburones. Generalmente se utiliza en su forma natural o hidrogenada en la formulación de cosméticos por sus propiedades como humectante o agente emoliente. Sin embargo, su uso en aplicaciones cosméticas ha sido limitado ya que existe una preocupación por la conservación de las especies marinas a nivel internacional. Por esta

Factores que influyen en el contenido de escualeno, fitoesteroles totales y esterificados en el subproducto ácidos grasos destilados de soya para su potencial aprovechamiento

razón, resulta importante establecer fuentes alternas para el suministro de este hidrocarburo (Pramparo *et al.*, 2005, 229).

La estructura química de los fitoesteroles es muy similar a la del colesterol; sin embargo se conoce que los fitoesteroles tienen efectos hipocolesterolemiantes cuando se ingieren en un rango de 1-3 g por día, razón por la cual se les considera aliados importantes en la prevención de enfermedades cardiovasculares (González *et al.*, 2012, 4725). Por lo mismo, su consumo es indicado para individuos con hipocolesterolemias leve o moderada.

Los fitoesteroles libres (FL) y esterificados (FE) son componentes esenciales de las membranas de células vegetales, y se encuentran ampliamente distribuidos junto con los fosfolípidos y otros glucolípidos (Breinhölder *et al.*, 2002, 67). El contenido, tipo y proporción de FL y FE es característico de cada tipo de aceite; por ejemplo, el aceite de oliva tiene altos niveles de  $\beta$ -sitosterol y  $\Delta 7$ -avenasterol, mientras que el aceite de girasol es rico en  $\Delta 7$ - estigmaesterol (Toledano *et al.*, 2012, 610).

La interconversión de fitoesteroles libres a esterificados es muy rápida, lo cual sugiere que se da como una función regulatoria en respuesta a cambios en niveles de fitohormonas y a factores ambientales como luz, temperatura y estrés hídrico, además está también involucrada en cambios en propiedades de la membrana como respuesta a dichas condiciones de estrés (Moreau *et al.*, 2002, 471).

Particularmente, los FE tienen mayor interés en la industria alimentaria por ser más bioactivos y liposolubles que los FL, por lo que es fácil incorporarlos en productos grasos para la producción de alimentos funcionales (Teixeira *et al.*, 2011, 2865). Por lo tanto es importante conocer la proporción de los fitoesteroles libres y esterificados en los AGDAS para establecer su valor económico potencial.

La composición química de los cultivos depende de muchos factores, entre ellos el clima. Con el fenómeno del cambio climático fueron predichas condiciones climáticas extremas. En muchas regiones de cultivo, el tiempo tenderá a ser más cálido con precipitaciones más irregulares y los

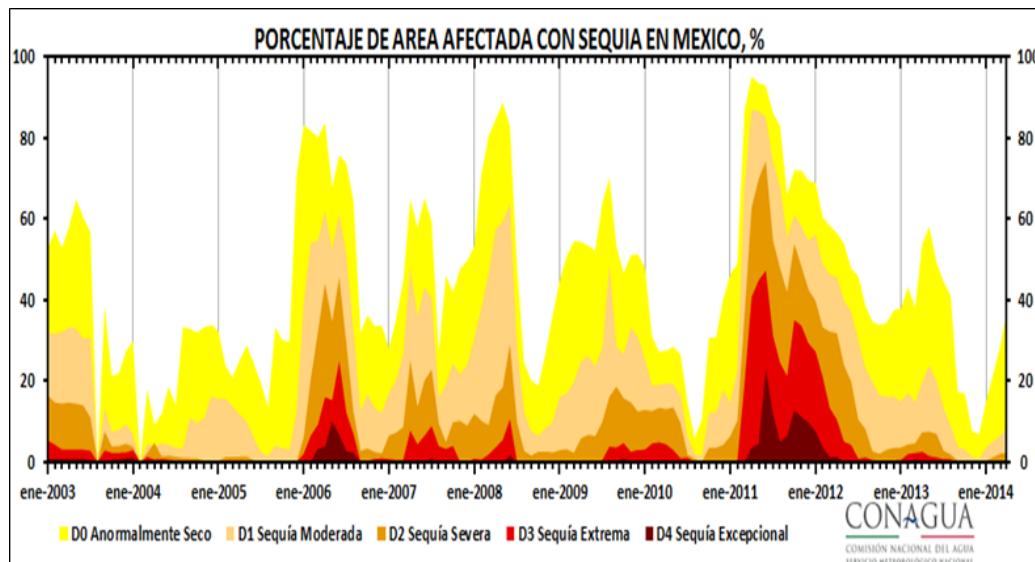
picos en los niveles de estrés más severos. El reto entonces, es no sólo aumentar la producción agrícola para una población en crecimiento, sino lograrlo bajo condiciones ambientales más adversas y además conocer las adaptaciones fisiológicas de los cultivos que invariablemente se reflejarán en la composición química de los productos que de ellos se obtienen (Redden 2013, 425).

En este sentido, Anastopoulos *et al.*, (2011, 173) determinaron que la composición química del aceite de oliva virgen estaba determinada por diversos factores tales como: etapa de maduración, año de cosecha y forma de cultivo, los cuales tienen influencia en los índices de calidad tanto cualitativos como cuantitativos de polifenoles, escualeno, ácidos grasos y esteroles.

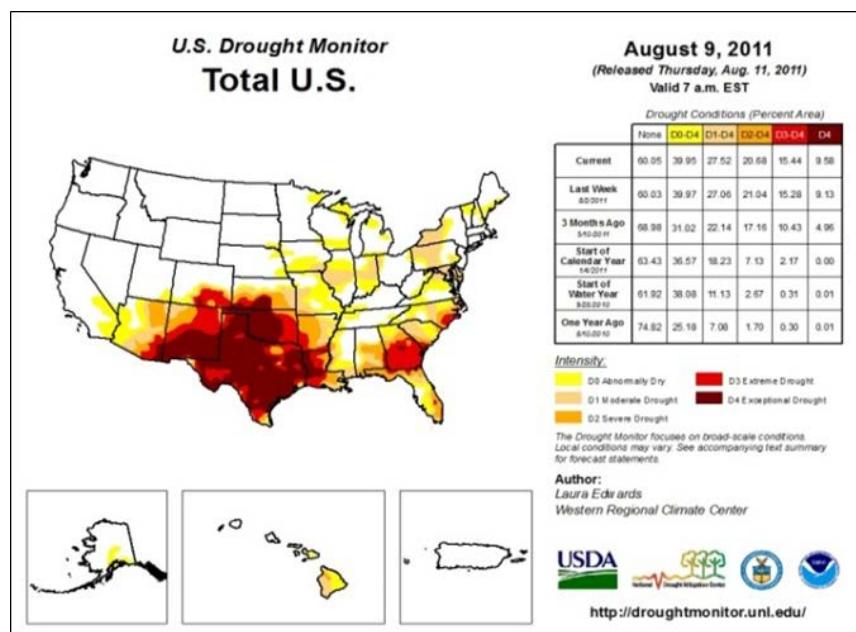
Los niveles de fitoesteroles esterificados se incrementan con la senescencia y como respuesta a estrés fisiológico (Wen-Hui *et al.*, 2008, 186). Asimismo, se ha encontrado que las altas temperaturas y la localización del cultivo son factores significativos para el incremento de los niveles de fitoesteroles en semilla de soya (Vlahakis y Hazebroek, 2000, 52).

De acuerdo con la Comisión Nacional del Agua (2014), el año 2011 fue anormalmente seco como se observa en la Fig. 1. El 31.2% de la superficie total de México presentó sequía Extrema (D3) y el 50% sequía Excepcional (D4); fue la más intensa de los últimos nueve años, superando a la que ocurrió en 2006, en donde la mayor afectación ocurrió en el Noroeste y el Centro del país. La sequía del 2011 fue de mayor extensión y formó parte de la que afectó el Sureste de los Estados Unidos, como se aprecia en la Fig. 2 (Monitor de Sequía de América del Norte 2011). Estos datos, resultan importantes en este trabajo, ya que los AGDAS materia de este estudio fueron generados de grano de soya cultivada en 2011 y 2012 y justamente en la zona de mayor afectación de la sequía (Tamaulipas y el Valle de Texas).

Factores que influyen en el contenido de escualeno, fitoesteroles totales y esterificados en el subproducto ácidos grasos destilados de soya para su potencial aprovechamiento



**Figura 1.** Monitor de Sequía de México. (Reporte del Clima en México, Comisión Nacional del Agua, 2003-2014)



**Figura 2.** Afectación por sequía en el año 2011 en el sureste de Estados Unidos (United States Drought Monitor 2011).

En el tema de los métodos analíticos para el análisis de fitoesteroles por cromatografía de gases, existe abundante información que cita la etapa previa de derivatización, específicamente la sililación. Esta etapa consiste en el remplazo de un hidrógeno ácido por un grupo alquilsililo dentro de la molécula, consecuentemente mejorando su volatilidad, estabilidad térmica y

detección del analito (Lin *et al.*, 2008). Un inconveniente de este procedimiento es que se utilizan reactivos como piridina y N, O-bis (trimetilsilil) trifluoroacetamida con 1 % de trimetil cloro silano (TMCS), los cuales son difíciles de manejar en el laboratorio y representan un costo adicional para su adecuada disposición. Otra desventaja de la derivatización son las condiciones y los tiempos de reacción que llegan a ser de 1 a 2 h. (Saba *et al.*, 2012, 974).

En un trabajo previo (Rodríguez *et al.*, 2014) se optimizó y validó un método de purificación de FL y FE. Igualmente se evaluó estadísticamente la diferencia entre dos modalidades de cuantificación, estándar interno y estándar externo, así como la etapa de derivatizar y no derivatizar. Se estableció que no existe diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) entre las dos modalidades de cuantificación ni entre derivatizar o no.

Dado que los AGDAS son considerados un subproducto de la industria del aceite vegetal, existe un interés en particular de aprovechar su potencial valor económico, por lo que es necesaria la caracterización del contenido de FT, FL, FE y E usando para este propósito un procedimiento de purificación optimizado y un método analítico validado, donde se utiliza la cuantificación con estándar interno y sin derivatización, que puede asegurar la calidad de los resultados y refleje una reducción de costos, tiempo y residuos tóxicos, sin comprometer la calidad de los resultados analíticos (Rodríguez *et al.*, 2014).

La cuantificación de FT, FE y E permitirá evaluar si los AGDAS son una fuente significante de estos compuestos. Así mismo, mediante un análisis multifactorial será posible determinar si la procedencia del grano de soya (americano o nacional), la condición del cultivo (Sequía o Normal, años 2011 y 2012 respectivamente) y el grado de calidad del aceite (Genérico o Premium) son factores determinantes en el contenido de fitoesteroles y escualeno en los AGDAS.

## 2. Materiales y métodos

### 2.1 Materiales

Los ácidos grasos destilados de la refinación del aceite de soya (AGDAS) se obtuvieron de una industria de refinación de aceite vegetal en la ciudad de Monterrey, México. Todas las muestras se mantuvieron a  $-15^{\circ}\text{C}$  hasta el momento de su análisis. El escualeno,  $\beta$ -sitosterol, campesterol,

Factores que influyen en el contenido de escualeno, fitoesteroles totales y esterificados en el subproducto ácidos grasos destilados de soya para su potencial aprovechamiento

estigmaesterol, colesterol y gel de sílice grado cromatográfico de 100-200 mesh se obtuvieron de Sigma Aldrich (St. Louis, MO). El resto de los reactivos y solventes, de grado analítico, se consiguieron de Fisher Scientific (Monterrey, México).

## 2.2 Metodología

### 2.2.1 Tratamiento de la muestra

La purificación de fitoesteroles y escualeno se llevó a cabo en una columna de gel de sílice de 3.0 g, usando como eluyentes 21 mL de una mezcla hexano:acetato de etilo (90:10) para la fracción no polar, y 21 mL de una mezcla hexano:éter etílico:etanol (25:25:50) para la fracción polar, para obtener fitoesteroles esterificados (FE), escualeno (E) y fitoesteroles libres (FL), respectivamente (Rodríguez *et al.*, 2014).

#### 2.2.1.1 Fracción no polar (Verleyen *et al.*, 2002a, 118)

La fracción no polar que resultó de la etapa de purificación, que contenía los FE y E, fue concentrada hasta 2 mL aproximadamente. Posteriormente el concentrado fue saponificado añadiendo 20 mL de una solución al 6 % p/p de KOH en etanol, es colocado en un baño de agua a 75 °C por 1 h. Subsecuentemente se realizó una extracción líquido-líquido en un embudo de separación de 250 mL con dos porciones de 25 mL de éter etílico; las fracciones de éter se lavaron con KOH 0.25 M (50 mL) y agua destilada (50 mL), y recolectadas, pasando por sulfato de sodio, en un matraz bola de 100 mL. Después se concentró a 3 mL aproximadamente, y finalmente se llevó a un volumen de 10 mL con hexano.

#### 2.2.1.2 Fracción polar (Verleyen *et al.*, 2002a, 118)

La fracción polar que contiene los FL se concentró a 3 mL aproximadamente y se llevó a un volumen de 10 mL con hexano.

Todas las etapas de concentración se llevaron a cabo a presión reducida en un rotavapor (Heildolph, Caframo Ltd. W 2000) a 150 rpm, y 50 °C de temperatura.

### 2.2.2 Análisis de la muestra

La cuantificación de fitoesteroles se realizó por cromatografía de gases, utilizando estandar interno y sin la etapa previa de derivatización (Rodríguez *et al.*, 2014).

### 2.2.3 *Condiciones cromatográficas*

El análisis se realizó en un cromatógrafo de gases, 6890N, acoplado a un espectrómetro de masas, 5973N, con una columna capilar HP 5MS: 30 m x 0.25 mm x 0.25 µm (Agilent Technologies, Alemania). Se determinó el contenido de FE y E en la fracción no polar de la extracción, y de FL en la fracción polar. Las condiciones cromatográficas fueron las siguientes: temperatura inicial de la columna de 190 °C, la cual se mantuvo por 1 min; posteriormente con una rampa de 15 °C se alcanzó una temperatura de 300 °C, que se mantuvo por 10 min. Las temperaturas del inyector y detector fueron de 270 y 230 °C respectivamente. Se utilizó helio como gas acarreador con un flujo de 0.8 mL·min<sup>-1</sup>.

### 2.2.4 *Diseño y análisis estadístico*

Una vez realizado el análisis de los compuestos de interés con la metodología optimizada y validada, con los resultados obtenidos se realizó un análisis multifactorial con arreglo completamente al azar, ya que éste permite investigar todas las combinaciones posibles de los niveles de los factores, así como sus interacciones para evaluar el efecto de la procedencia del grano, calidad del aceite y condiciones de cultivo en la composición de los AGDAS, bajo el siguiente diseño experimental a x b x c x n:

a = Procedencia del grano de soya: americano, nacional

b = Calidad del aceite: Premium, genérico

c = Condición de cultivo: sequía, normal

n = 5 repeticiones

Para el análisis multifactorial, se realizó un análisis de varianza (ANOVA) de tres factores y comparación múltiple de medias para establecer diferencias mínimas significativas entre los factores, utilizando el programa estadístico MINITAB (Versión 14.12, PA, USA) con un nivel de confianza del 95 %.

Factores que influyen en el contenido de escualeno, fitoesteroles totales y esterificados en el subproducto ácidos grasos destilados de soya para su potencial aprovechamiento

### 3. Resultados y discusión

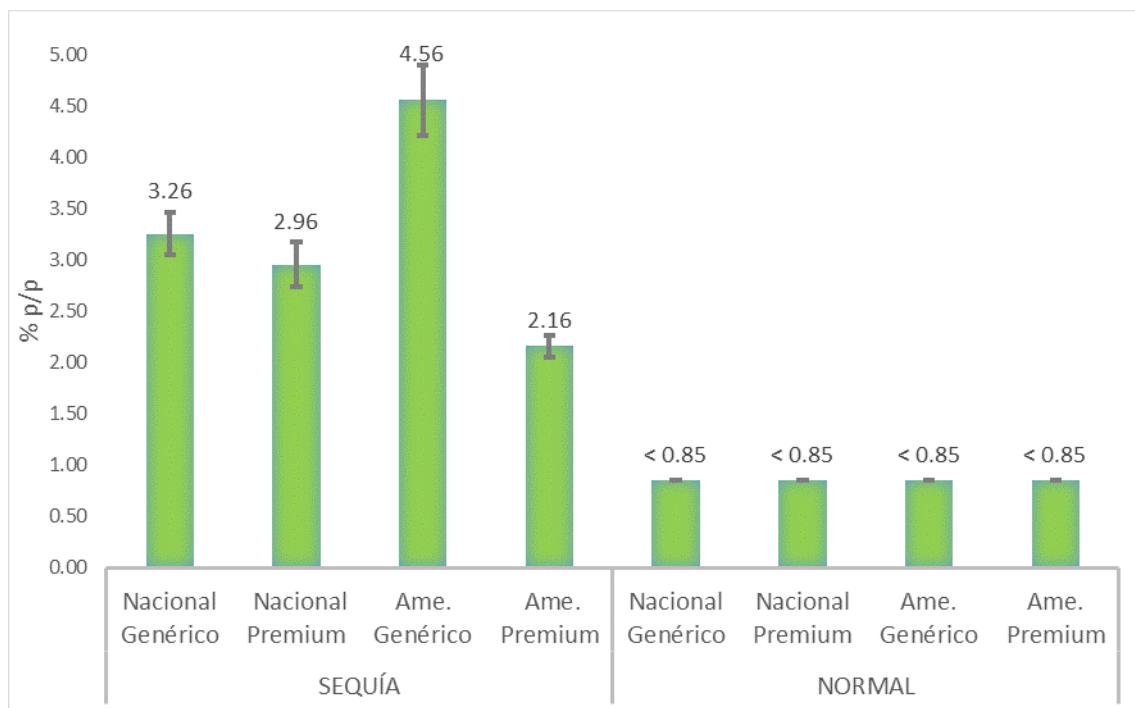
#### 3.1 Análisis de AGDAS

Los valores promedio de cinco réplicas para fitoesteroles totales de las diferentes condiciones evaluadas se muestran en la Fig. 3a. Como promedio global se encontró una concentración de fitoesteroles totales de 14.92% p/p, que resultan mayores a las referenciadas por Dumont y Narine (2007, 1104) y Khatoon *et al.*, (2009, 323) quienes reportan concentraciones en un rango de 6.1 – 7.8%, y por debajo de la concentración de 20% reportada por Ito *et al.* (2005).



**Figura 3a.** Contenido de fitoesteroles totales en AGDAS de diferente procedencia (nacional y americano), grado de calidad (Premium y genérico) y condición de cultivo (sequía y normal). El valor que se muestra en las barras corresponde a un promedio de 5 réplicas.

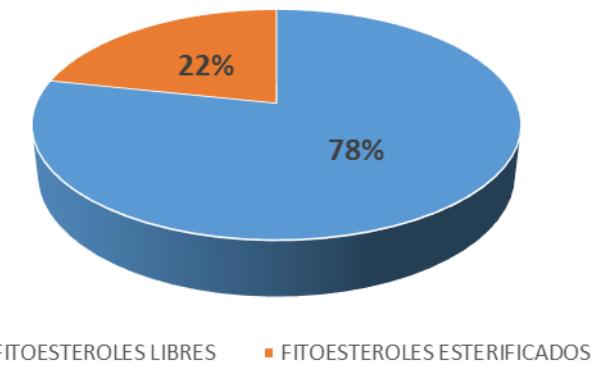
Los valores promedio de cinco réplicas para fitoesteroles esterificados de las diferentes condiciones evaluadas se muestran en la Fig. 3b.



**Figura 3b.** Contenido de fitoesteroles esterificados en AGDAS diferente procedencia (nacional y americano), grado de calidad (Premium y genérico) y condición de cultivo (sequía y normal). El valor que se muestra en las barras corresponde a un promedio de 5 réplicas.

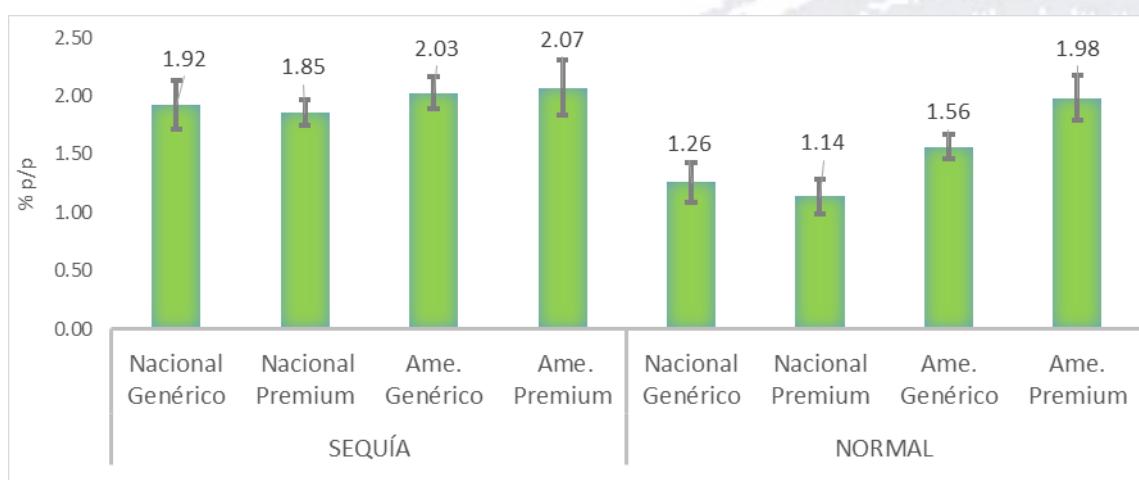
De acuerdo con Fernandes y Cabral (2007, 2335) los FL y FE están presentes en aceites comestibles. Con los resultados obtenidos en este estudio se establece que esto también ocurre en AGDAS, siendo mayor el contenido de FE (4.56% p/p) cuando las condiciones de desarrollo del cultivo fueron de sequía como se muestra en la Fig. 3b. Además, los resultados obtenidos mostraron que los FE representan un 22% de los fitoesteroles totales (Fig. 4). Esto es importante si consideramos que Teixeira *et al.*, (2011, 2865) mencionan que el interés de la industria alimentaria por los FE es debido a que son más bioactivos y liposolubles que los libres, además de su fácil incorporación en productos grasos de alimentos funcionales. Como promedio global se encontró una concentración de FE de 3.23% p/p.

Factores que influyen en el contenido de escualeno, fitoesteroles totales y esterificados en el subproducto ácidos grasos destilados de soya para su potencial aprovechamiento



**Figura 4.** Proporción de fitoesteroles esterificados y libres en AGDAS.

La concentración promedio de escualeno (Fig. 5) fue de 1.75% p/p, el cual se encuentra por debajo del 1.83 y 5.5% p/p reportados (en ese orden) por Gunawan *et al.*, (2008, 131) y Dumont y Narine (2007, 1104); y superior al 0.9 y 1.19% p/p reportados por Verleyen *et al.*, (2001, 282) y Pramparo *et al.*, (2005, 232), respectivamente. Estas variaciones son debido a factores que propician cambios en la composición de los AGDAS tales como procedencia de la soya, condiciones de cultivo y grado de calidad de aceite a obtener en el proceso de refinación (Premium o genérico) (Redden 2013, 427; Anastasopulus *et al.*, 2011, 173; Kellens y De Greyt 2000, 160).



**Figura 5.** Contenido de escualeno en AGDAS de diferente procedencia (nacional y americano), grado de calidad (Premium y genérico) y condición de cultivo (sequía y normal). El valor que se muestra en las barras corresponde a un promedio de 5 réplicas.

### 3.2 Evaluación de la influencia de los factores en la composición de AGDAS

En la Tabla 1 se presenta el ANOVA multifactorial para la evaluación de la influencia de la procedencia, grado de calidad y condición de cultivo en el contenido de fitoesteroles totales, ninguno de los factores evaluados fue determinante en el contenido de estos compuestos,  $p>0.05$ . Al respecto, Vlahakis y Hazebroek (2000, 52) reportan que altas temperaturas y localización del cultivo fueron significativos para el incremento de los niveles de fitoesteroles en semilla de soya y en consecuencia un incremento de estos en los AGDAS; no obstante en el presente estudio no se observó una diferencia en el contenido por la condición de estrés por sequía.

**Tabla 1.** ANOVA multifactorial para la evaluación de la influencia de procedencia, grado de calidad y condición de cultivo en el contenido (% p/p) de fitoesteroles totales en AGDAS.

Fuente	GL	SC Sec.	SC Ajust.	MC Ajust.	F	P
<b>Grado Calidad</b>	1	8.208	8.208	8.208	2.99	0.092
<b>Condición de cultivo</b>	1	6.656	6.656	6.656	2.43	0.128
<b>Procedencia</b>	1	4.773	4.773	4.773	1.74	0.195
<b>Error</b>	36	98.668	98.668	98.668		
<b>Total</b>	39	118.305				
<b>Significativo <math>p&lt;0.05</math></b>		<b>n=5</b>				

Procedencia (nacional y americano), grado de calidad (Premium y genérico) y condición de cultivo (sequía y normal).

Para el caso de la evaluación de la influencia de la procedencia, grado de calidad y condición de cultivo en el contenido de fitoesteroles esterificados, como se puede apreciar en la Tabla 2 que muestra el ANOVA multifactorial, los factores grado de calidad y condición de cultivo influenciaron el contenido de estos compuestos,  $p<0.05$ , no así la procedencia,  $p>0.05$ . Moreau *et al.*, (2002, 471) reportan que la interconversión de fitoesteroles libres a esterificados es muy rápida, lo que sugiere una función regulatoria a cambios en niveles de fitohormonas y a factores ambientales como luz, temperatura y estrés de hídrico. Estas modificaciones en la forma de los fitoesteroles están involucradas en cambios en propiedades de la membrana como respuesta a condiciones de estrés. Incluso, está reportado que los niveles de fitoesteroles esterificados incrementan con la senescencia y como respuesta a estrés fisiológico (Wen-Hui *et al.*, 2008, 186).

Factores que influyen en el contenido de escualeno, fitoesteroles totales y esterificados en el subproducto ácidos grasos destilados de soya para su potencial aprovechamiento

Así mismo, con respecto al grado de calidad, O'Brien (2000, 160) refiere que las condiciones de temperatura, presión y tiempo de residencia en la etapa de blanqueo y desodorizado influyen en la composición de los AGDAS. Verleyen *et al.*, (2002b, 949) menciona la variación en la proporción de FL y FE por las condiciones específicamente de neutralización, blanqueo y desodorización, sin embargo el contenido de fitoesteroles totales no se ve afectado.

**Tabla 2.** ANOVA multifactorial para la evaluación de la influencia de procedencia, grado de calidad y condición de cultivo en el contenido (% p/p) de fitoesteroles esterificados en AGDAS.

Fuente	GL	SC Sec.	SC Ajust.	MC Ajust.	F	P
<b>Procedencia</b>		2.087	2.087	2.087	1.63	0.209
<b>Grado Calidad</b>		8.467	8.467	8.467	6.62	<b>0.014</b>
<b>Condición de cultivo</b>		48.063	48.063	48.063	37.60	<b>0.000</b>
<b>Error</b>	6	46.013	46.013	1.278		
<b>Total</b>	9	104.630				
<b>Significativo p&lt;0.05</b>		<b>n=5</b>				

Procedencia (nacional y americano), grado de calidad (Premium y genérico) y condición de cultivo (sequía y normal).

La Tabla 3 corresponde al ANOVA multifactorial para el caso del escualeno, como se puede apreciar, los factores procedencia y condición de cultivo influenciaron el contenido de este compuestos,  $p<0.05$ , no así el grado de calidad,  $p>0.05$ . En concordancia con diferentes autores, el contenido de tocoferoles, fitoesteroles y escualeno en algunos cultivos, depende de las condiciones climáticas así como de la genética de la especie (Singh *et al.*, 2013; Financiera Rural, 2013; Anastasopoulos *et al.*, 2011, 171; Britz *et al.*, 2007, 7563).

**Tabla 3.** ANOVA multifactorial para la evaluación de la influencia de procedencia, grado de calidad y condición de cultivo en el contenido (% p/p) de escualeno.

Fuente	GL	SC Sec.	SC Ajust.	MC Ajust.	F	P
<b>Procedencia</b>		1.7111	1.711	1.7111	8.88	<b>0.005</b>
<b>Grado de Calidad</b>		0.1371	0.1371	0.1371	0.71	0.405
<b>Condición de cultivo</b>		1.8944	1.8944	1.8944	9.83	<b>0.003</b>
<b>Error</b>	36	6.9385	6.9385	0.1927		

<b>Total</b>	9	10.6812				
<b>Significativo p&lt;0.05</b>	<b>n=5</b>					

Procedencia (nacional y americano), grado de calidad (Premium y genérico) y condición de cultivo (sequía y normal).

## Conclusiones

El aprovechamiento del subproducto de la etapa de deodorización del aceite de soya como fuente de fitoesteroles es factible ya que el contenido supera el 10 % p/p; no así para escualeno que resultó menor al 5 % p/p. La concentración de escualeno en AGDAS está influenciada por la procedencia y condición de cultivo de la soya de origen; su concentración promedio en todo el estudio fue de 1.75 % p/p. Estos factores además del grado de calidad no son determinantes en el contenido de Fitoesteroles totales en AGDAS cuya concentración promedio fue de 14.92 % p/p. Mientras que la proporción de fitoesteroles esterificados (4.9%) está relacionada con el grado de calidad y la condición del cultivo, pero no con la procedencia.

## Agradecimientos

Agradecemos al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), al Centro de Calidad Ambiental del ITESM y al Departamento de Ciencia de Alimentos, FCB, UANL por apoyar financieramente este proyecto.

## Referencias

- Anastasopoulos, E., N. Kalogeropoulos, A.C. Kaliora, A. Kountouri, y N.K. Andrikopoulos. (2011). The influence of ripening and crop year on quality indices, polyphenols, terpenic acids, squalene, fatty acid profile, and sterols in virgin olive oil (Koroneiki cv.) produced by organic versus non-organic cultivation method. International Journal of Food Science and Technology (46): 170–178.
- Breinhölder, P., L. Mosca y W. Lindner. (2002). Concept of sequential analysis of free and conjugated phytosterols in different plant matrices. Journal of Chromatography B, Analytical technologies in the biomedical and life sciences (777): 67–82.
- Britz, S.J., P.V. Prasad, R.A. Moreau, L.H. Allen Jr., D.F. Kremer y K.J. Boote. (2007). Influence of growth temperature on the amounts of tocopherols, tocotrienols, and gamma-oryzanol in brown rice. Journal of Agricultural and Food Chemistry (55): 7559–7565.

Factores que influyen en el contenido de escualeno, fitoesteroles totales y esterificados en el subproducto ácidos grasos destilados de soya para su potencial aprovechamiento

- Comisión Nacional del Agua (2014). Reporte del Clima en México. Servicio Meteorológico Nacional. Gerencia de Meteorología y climatología. <http://smn.cna.gob.mx/climatologia/analisis/reporte/Anual2011.pdf> (Mayo 2014).
- Dumont, M.J. y S.S. Narine. (2007). Characterization of Flax and Soybean Soapstocks, and Soybean Deodorizer Distillate by GC-FID. *Journal of the American Oil Chemists' Society* (84): 1101–1105.
- Durant, A.A., Dumont, M.J., Narine, S.S. (2006). In situ silylation for the multicomponent analysis of canola oil by-products by gas chromatography–mass spectrometry. *Anal Chim Acta* 559:227–233
- Edwards, L. (2011). United States Drought Monitor. <http://droughtmonitor.unl.edu/> (Junio 2014).
- Fernandes, P. y J.M.S. Cabral. (2007). Phytosterols: Applications and recovery methods. *Bioresource Technology* (98): 2335-2350.
- Financiera Rural. (2013). Semilla para Siembra de Soya. Dirección General Adjunta de Planeación Estratégica y Análisis Sectorial. Dirección Ejecutiva de Análisis Sectorial. 1-14.
- González, M., A. Cilla, G. García, R. Barbera y M.J. Lagarda. (2012). Plant Sterols and Antioxidant parametrs in enriched beverages: Storage Stability. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* (60): 4725-4734.
- Gunawan, S., N.S. Kasim y Y-H. Ju. (2008). Separation and purification of squalene from soybean oil deodorizer distillate. *Separation and Purification Technology* (60): 128–135
- Ito, V., P. Martins, C.B. Batistella y M.R. Wolf Maciel. (2005). Tocopherols and phytosterols concentration from soybean oil deodorizer distillate. Presentado en 4<sup>th</sup> Mercosur Congress on process systems Engineering and 2<sup>nd</sup> Mercosur Congress on Chemical Engineering, Rio de Janeiro. 1-9.
- Khatoon, S., R.G.R. Rajan y A.G.G. Krishna. (2009). Physicochemical Characteristics and Composition of Indian Soybean Oil Deodorizer Distillate and the Recovery of Phytosterols. *Journal of the American Oil Chemists' Society* (87): 321–326.
- Lin, D.L., S.M. Wang, C.H. Wu, B.G. Chen y R.H. Liu. (2008). Chemical Derivatization for the Analysis of Drugs by GC-MS: A Conceptual Review. *Journal of Food and Drug Analysis* (16): 1-1
- Moreau, R.A., B.D. Whitakerb y K.B. Hicksa. (2002). Phytosterols, phytostanols, and their conjugates in foods: structural diversity, quantitative analysis, and health-promoting uses. *Progress in Lipid Research* (41): 457–500
- Nergiz, C. y D. Celikkale. (2011). The effect of consecutive steps of refining on squalene content of vegetable oils. *Journal of Food Science and Techchnology* (48): 382-385.
- Kellens M., y De Greyt W. (2000). Deodorization. En *Fats and Oils: Formulating and Processing for Applications*, Editado por O'Brien, R.D. 235-268. 3ra ed. E.E.U.U.: CRC Press.
- Pramparo, P.M., S. Prizzon y M.A. Martinello. (2005). Estudio de la purificación de ácidos grasos, tocoferoles y esteroles a partir del destilado de desodorización. *Grasas y Aceites* (56): 228–234.

- Redden R. (2013). New Approaches for Crop Genetic Adaptation to the Abiotic Stresses Predicted with Climate Change. *Agronomy* (3) 419-432.
- Rodríguez, A., C. Amaya, P. Caballero, G. Alanís, C. Aguilera, J. Báez, S. Moreno, A. Núñez, J. Maldonado, J. Rodríguez. (2014). Optimización mediante el método de superficie de respuesta y validación de un método para determinación de fitoesteroles y escualeno en ácidos grasos destilados. Presentado en el XXVII Congreso Nacional de Química Analítica Presentacion AL09, Puebla, 25-27 de junio. 46-51.
- Saba, Naz, Sherazi, S. T. H., Talpur, Farah N., Talpur, M. Younis, Huseyin Kara. (2012). Determination of Unsaponifiable Constituents of Deodorizer Distillates by GC-MS. *J Am Oil Chem Soc.* (89):973–977.
- Singh, R.P., P.P Vara y R. Raja†. (2013). Impacts of Changing Climate and Climate Variability on Seed Production and Seed Industry. *Advances in Agronomy* (118): 49–110.
- Teixeira, A.R.S., J.L.C. Santos y J.G. Crespo. (2011). Production of Steryl Esters from Vegetable Oil Deodorizer Distillates by Enzymatic Esterification. *Industrial & Engineering Chemistry Research* (50): 2865–2875.
- Toledano, R.M., J. Cortes, A. Rubio-Moraga, J. Villen y A. Vázquez. (2012). Analysis of free and esterified sterols in edible oils by online reversed phase liquid chromatography-gas chromatography (RPLC-GC) using the through oven transfer adsorption desorption (TOTAD) interface. *Food Chemistry* (135): 610–615.
- Vlahakis, C. y J. Hazebroek. (2000). Phytosterol accumulation in canola, sunflower, and soybean oils: Effects of genetics, planting location, and temperature. *Journal of the American Oil Chemists' Society* (77): 49-53.
- Verleyen, T., M. Forcades, R. Verhe, K. Dewettinck, A. Huyghebaert y W. De Greyt. (2002a). Analysis of free and esterified sterols in vegetable oils. *Journal of the American Oil Chemists' Society* (79): 117–122.
- Verleyen, T., R. Verhe, L. Garcia, K. Dewettinck, A. Huyghebaert y W. De Greyt. (2001). Gas chromatographic characterization of vegetable oil deodorization distillate. *Journal of Chromatography A* (921): 277-285.
- Verleyen T., U. Sosinska, S. Ioannidou, R. Verhe, K. Dewettinck, A. Huyghebaert y W. De Greyt. (2002b). Influence of the vegetable oil refining process on free and esterified sterols. *Journal of the American Oil Chemists' Society* (79): 947-953.
- Wen-Hui, L., Y. Guo-Ping, L. Fang, S.K. Wang, H.J. Bai, J.H. Jiang y S.M. Liu. (2008). Free and Conjugated Phytosterols in Cured Tobacco Leaves: Influence of Genotype, Growing Region, and