



## Caracterización química del LECISAN, contribución al estudio del producto natural

Chemical characterization of LECISAN, a contribution to the study of the natural product

Leidys Cala Calviño <sup>1</sup> , Yaixa Beltrán Delgado <sup>2</sup> , Juan Carlos Ferrer Romero <sup>2</sup> , Onel Fong Lores <sup>3</sup> , David Garrido Larramendi <sup>3</sup> 

<sup>1</sup> Universidad de Ciencias Médicas de Santiago de Cuba. Santiago de Cuba, Cuba.

<sup>2</sup> Centro de Estudios de Biotecnología Industrial, Facultad de Ciencias Naturales y Exactas. Universidad de Oriente. Santiago de Cuba, Cuba.

<sup>3</sup> Centro de Toxicología y Biomedicina (TOXIMED). Santiago de Cuba, Cuba.

**\*Autor para la correspondencia:**

[leidyscalacalvino@gmail.com](mailto:leidyscalacalvino@gmail.com)

**Recibido:** 12 de mayo del 2023

**Aceptado:** 3 de julio del 2023

### Citar como:

Cala-Calviño L, Beltrán-Delgado Y, Ferrer-Romero JC, Fong-Lores O, Garrido-Larramendi D. Caracterización química del LECISAN, contribución al estudio del producto natural. Rev. Cubana Tecnol. Salud [Internet]. 2023 [citado:]; 14(3):e4083. Disponible en: <http://www.revtecnologia.sld.cu/index.php/tec/article/view/4083>

### RESUMEN

**Introducción:** el interés actual por la lecitina de soya motiva a conocer la composición de este producto, para avalar el uso en régimen terapéutico. **Objetivo:** caracterizar la materia prima del suplemento nutricional LECISAN. **Método:** mediante un estudio analítico en el laboratorio de ciencias básicas biomédicas y el Centro de Toxicología y Biomedicina de la Universidad de Ciencias Médicas de Santiago de Cuba, entre octubre y diciembre de 2022, se identificaron los perfiles químicos de lípidos, fenoles y flavonoides, presentes en la materia prima utilizada para la fabricación del producto a través de las técnicas analíticas de separación, la cromatografía de capa delgada y el análisis espectrofotométrico. Se determinó el contenido de materia seca de acuerdo con los procedimientos referidos por la Asociación Oficial de Métodos Químicos Analíticos del 2019. **Resultados:** se identificó la presencia de fosfatidilcolina, fosfatidiletanolamina, fosfatidilserina y lisofosfatidilcolina en la materia prima. El contenido de sólidos totales resultó de 7mg/ml y la cuantificación total de grasas y aceites fue 0,637 g/ml. La concentración de fenoles totales fue de 9.1635 µg ácido gálico/miligramos y de flavonoides 35.14 µg quercetina/miligramos. **Conclusiones:** se caracterizó la materia prima del suplemento nutricional LECISAN. Los valores medios de las concentraciones existentes de los lípidos, fenoles y flavonoides son considerados niveles de referencia en el LECISAN de estos elementos en el área investigada y pueden ser considerados direcciones interesantes para futuras investigaciones.

**Palabras clave:** Lecitina de soya, Polifenoles, Flavonoides, Fosfolípidos, Cromatografías de capa delgada

## ABSTRACT

*Introduction:* the current interest in soy lecithin motivates to know the composition of this product, in order to endorse its use in therapeutic regimen. *Objective:* to characterize the raw material of the nutritional supplement LECISAN. *Method:* by means of an analytical study in the laboratory of basic biomedical sciences and the Center of Toxicology and Biomedicine of the University of Medical Sciences of Santiago de Cuba, between October and December 2022, the chemical profiles of lipids, phenols and flavonoids, present in the raw material used for the manufacture of the product were identified through the analytical techniques of separation, thin layer chromatography and spectrophotometric analysis. Dry matter content was determined according to the procedures referred to by the Official Association of Analytical Chemical Methods of 2019. *Results:* the presence of phosphatidylcholine, phosphatidylethanolamine, phosphatidylserine and lysophosphatidylcholine was identified in the raw material. The total solids content was 7 mg/ml and the total quantification of fats and oils was 0.637 g/ml. The concentration of total phenols was 9.1635 µg gallic acid/milligrams and of flavonoids 35.14 µg quercetin/milligrams. *Conclusions:* the raw material of the nutritional supplement LECISAN was characterized. The mean values of the existing concentrations of lipids, phenols and flavonoids are considered reference levels in the LECISAN of these elements in the investigated area and can be considered interesting directions for future research.

**Keywords:** Soy lecithin, Polyphenols, Flavonoids, Phospholipids, Thin Layer Chromatography

## INTRODUCCIÓN

Según la Food and Drug Administration (FDA), los productos naturales representan más de un tercio de todos los aprobados. <sup>(1)</sup> No obstante, el Programa de las Naciones Unidas para el Medioambiente (PNUM), estima que sólo el 6% de las especies vegetales existentes han sido investigadas de forma sistemática. <sup>(2)</sup>

La lecitina de *Glycine max L. Merr* (soya) perteneciente al género botánico *Glycine* y a la familia de las *Fabaceae*, es utilizada desde hace siglos. <sup>(3)</sup> Se aisló por primera vez en 1846 por el químico y farmacéutico francés Theodore Gobley, quién en 1850 la nombró fosfatidilcolina obtenida de la yema de huevo. Luego, en 1874 se estableció la fórmula química completa y se demostró la presencia de ella en una variedad de muestras biológicas.

El Grupo de Investigadores de Innovación Tecnológica del Laboratorio Farmacéutico Oriente, registraron en calidad de suplemento nutricional el producto farmacéutico LECISAN. Fue elaborado a partir del aprovechamiento de un subproducto proveniente del proceso de refinación del aceite de frijol de soya, en la fábrica procesadora de esa leguminosa, de la provincia Santiago de Cuba. <sup>(3)</sup>

En la actualidad realizar ensayos clínicos rigurosos, necesarios para el registro de medicamentos a partir de productos naturales, representa un gran reto. Además de las cuestiones relacionadas con patentes, cabe mencionar el interés de la industria farmacéutica por proteínas o ácidos nucleicos. <sup>(1)</sup> Todo ello asociado a las herramientas bioinformáticas ha sido decisivo en el diseño y desarrollo de los estudios de productos naturales. <sup>(4)</sup>

El estudio de productos de origen natural declinó a principios de la década de 1990, las compañías farmacéuticas se reenfocaron hacia bibliotecas de compuestos sintéticos. <sup>(1)</sup> Si bien la complejidad intrínseca del descubrimiento de fármacos requiere enfoques interdisciplinarios integrados, el desarrollo tecnológico y las tendencias de investigación indican que continúan entre las fuentes más importantes de nuevos fármacos en el futuro. <sup>(4)</sup>

Se han desarrollado técnicas analíticas de separación, que facilitan la obtención de perfiles químicos detallados, con identificación y aislamiento de moléculas bioactivas rápida y precisa. <sup>(5)</sup> Destacan las cromatografías de capa delgada (TLC), de alta presión de líquidos (HPLC), de gases (GC), y líquida de ultra-resolución (UPLC), Además de técnica de análisis espectrométrico de masas (MS) y resonancia magnética nuclear (NMR).

Tras el registro del suplemento nutricional LECISAN, se ha incrementado la demanda por la población debido a las supuestas propiedades que se le atribuyen. Aun es escasa la evidencia que demuestre las potencialidades terapéuticas, por lo que hace necesario el estudio de este suplemento. <sup>(3)</sup> El objetivo de este trabajo es caracterizar la materia prima del suplemento nutricional LECISAN.

## MÉTODO

Se realizó un estudio observacional analítico en el laboratorio de ciencias básicas biomédicas y el Centro de Toxicología y Biomedicina (TOXIMED). En la Universidad de Ciencias Médicas de Santiago de Cuba, entre octubre y diciembre de 2022.

En el estudio se tomaron muestras de lecitina de soya (materia prima del suplemento nutricional LECISAN) y se disolvió, en dimetil sulfoxido (DMSO), con un porcentaje inferior a 2%, para evitar interferencias en las reacciones químicas. Se determinó el contenido de materia seca en la materia prima, de acuerdo con los procedimientos referidos por la Asociación Oficial de Métodos Químicos Analíticos. <sup>(6)</sup>

En la obtención de perfiles químicos de lípidos, fenoles y flavonoides, se utilizaron las técnicas analíticas de separación, la TLC, y el análisis espectrofotométrico. Al separar los lípidos se emplearon solventes químicos y el posterior revelado químico de la presencia de fosfolípidos por TLC con tres diferentes reactivos. <sup>(7-9)</sup>

Se calcularon los factores de retardo (Rf) y compararon los patrones. Los valores Rf de referencia para fosfolípidos fueron tomados de Avanti Polar Lipids, Inc. 2011. <sup>(10,11)</sup> Los reactivos utilizados fueron:

- reactivo yodo: identifica lípidos que contengan dobles enlaces
- reactivo de ninhidrina: reacciona con grupos amino libres de manera muy sensible
- reactivo bismuto: identifica a fosfolípidos que contienen colina

El método con modificaciones, consistió en la homogenización de la materia prima empleada con agitador magnético a alta velocidad, con una mezcla metanol/cloroformo/cloruro de sodio 0.9 % en proporción 2:1:1. Se agregó cloroformo, cloruro de sodio 0.9 %, que incrementa la pureza de la muestra, se realiza la filtración y centrifugación a 4000 revoluciones por minuto (rpm) que facilitó la extracción.

Quedaron separadas las fases metanólica y clorofórmica, contentiva de la mayoría de los lípidos en la materia prima. Se realizó la separación de las fases con un embudo separador, colectándose un extracto de color ámbar oscuro, traslúcido y libre de partículas en suspensión.

El análisis espectrofotométrico se utilizó para la determinación del contenido de fenoles totales se llevó a cabo según Slinkard y Singlenton <sup>(12)</sup> con el empleo del reactivo de Folin-Ciocalteu al 50 %. Se determinó la absorbancia (A) a 765 nanómetros (nm) en espectrofotómetro (T60 UV-Visible Spectrophotometer) y se comparó con una curva de calibración de ácido gálico ( $y=0,0152x$ ;  $R^2=0,9789$ ).

El contenido de flavonoides totales se realizó por el método de Zhang *et al.* <sup>(13)</sup> 250  $\mu$ L del extracto, se mezcló con 1,25 mL de agua destilada y 75  $\mu$ L de una solución al 5 % de NaNO<sub>2</sub>

(Riedel-de Haén). Se añadió 150 µL de una solución acuosa de AlCl<sub>3</sub> (Reachim) al 10 %. Se agregaron 500 µL de NaOH 1 M y 275 µL de agua destilada. Se determinó la absorbancia (A) a 510 nm. Se utilizó catequina para la curva de calibración ( $y=0,0149x$ ;  $R^2=0,9911$ ).

Se utilizó el procesador estadístico Minitab® (64-bit) © 2019, versión 19.2 de Minitab. Así, fueron establecidos, la desviación estándar y la media. Al comparar los valores de ensayos de cuantificación de fenoles y flavonoides totales se empleó la prueba t-Student  $p < 0,05$  diferente.

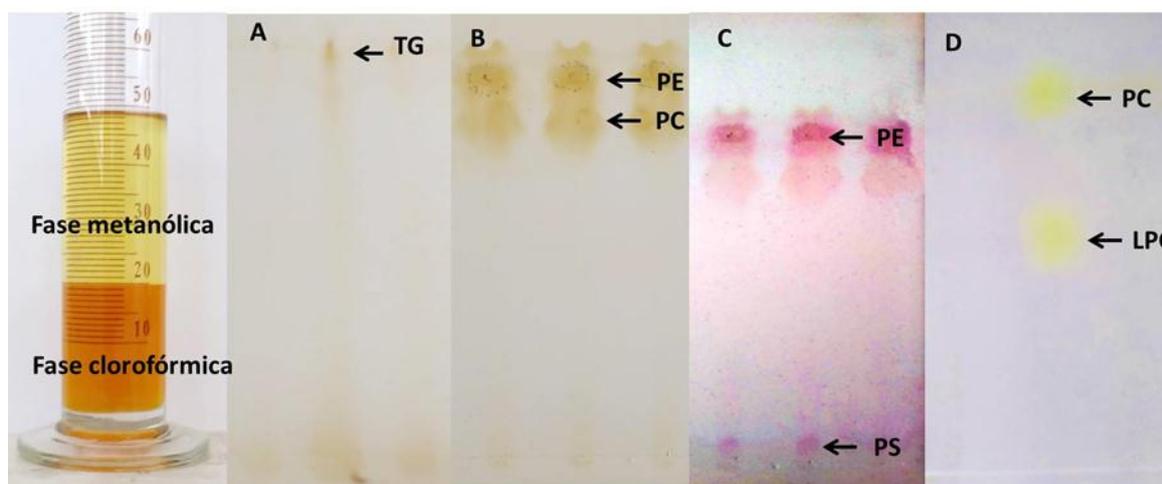
El estudio es un resultado secundario de la investigación "Efectos nutricionales, farmacología y toxicología preclínica del LECISAN®". Sometido a la aprobación del Comité de Ética de las entidades involucradas, según las regulaciones de seguridad biológica. La garantía en la calidad de los experimentos realizados fue avalada por especialistas para el desarrollo de investigaciones con este perfil.

## RESULTADOS

La intensidad de las manchas obtenidas por las cromatografías de capa delgada (TLC) varió en dependencia de la concentración de fosfolípidos presentes en la muestra. El revelado de los cromatogramas con tres diferentes reactivos (Figura. 1) resultó que:

- Reactivo yodo: identificó fosfatidilcolina (PC) y fosfatidiletanolamina (PE).
- Reactivo de ninhidrina: manifestó la presencia de PE y fosfatidilserina (PS).
- Reactivo bismuto: mostró la presencia de PC y lisofosfatidilcolina (LPC).

En la figura 1 se puede observar la aparición de dos manchas color violeta y cada uno de los valores de R<sub>f</sub> obtenidos en las manchas se asemeja con los valores de R<sub>f</sub> para PE (0,74), en la mancha superior y PS (0,09) en la mancha inferior, fosfolípidos encontrados en la referencia con R<sub>f</sub> de 0,75 y 0,12.<sup>(11)</sup> Además de la aparición de dos manchas de color amarillo de las cuales los valores de R<sub>f</sub> se asemejan con los valores de los fosfolípidos PC y LPC.<sup>(10,11)</sup>



**Figura 1.** Identificación de compuestos lipídicos de lecitina de soya por cromatografía en capa fina (TLC). **Leyenda:** **A:** cromatoplaca obtenida de fase clorofórmica, revelado con yodo; **B:** cromatoplaca obtenida de fase metanólica, revelado con yodo; **C:** cromatoplaca obtenida de fase metanólica, revelado con ninhidrina (identificación de amino-fosfolípidos); **D:** cromatoplaca obtenida de fase metanólica, revelado con bismuto (identificación de fosfolípidos con colina). TG-triglicéridos; PC- fosfatidilcolina; PE- fosfatidiletanolamina; PS-fosfatidilserina; LPC-lisofosfatidilcolina

La tabla 1 muestra los valores de R<sub>f</sub> obtenidos y patrones empleados para cada uno de los revelados cromatográficos, que permitieron identificar la presencia de fosfolípidos en la muestra estudiada. En revelado con yodo, los valores de R<sub>f</sub> patrón de PE (0,75) y los R<sub>f</sub> de la mancha superior (0,76), fueron similares.

El Rf de la mancha inferior (0,66) es equivalente al Rf del patrón de PC (0,67) descritos en este estudio. Se realizó también la identificación de otros componentes lipídicos en la fracción de metanol, obteniéndose la posible presencia de triglicéridos, lo cual se comprobó al comparar los Rf calculados (0,92) con los reportados en la referencia (0,9). (Tabla 1).

**Tabla 1.** Valores de Rf obtenidos y patrones empleados en revelados cromatográficos para identificar fosfolípidos en la lecitina de soya

Lípidos Revelados	Yodo		Reactivo Ninhidrina		Bismuto	
	Rf obtenido	Rf patrón	Rf obtenido	Rf patrón	Rf obtenido	Rf patrón
TG	0,92**	0,90	0	0	0	0
PC	0,66*	0,67	0	0	0,60*	0,68
LPC	0	0	0	0	0,12*	0,16
PE	0,76*	0,75	0,74*	0,75	0	0
PS	0	0	0,09*	0,12	0	0

\*Extracción en fase metanólica \*\* Extracción en fase clorofórmica.

**Leyenda:** TG-triglicéridos; PC-fosfatidilcolina; LPC-lisofosfatidilcolina (lisolecitina); PE-fosfatidiletanolamina; PS-fosfatidilserina.

La cuantificación de aceites y grasas totales en la fase clorofórmica, mostró resultados aproximados de 0,637g/ml (Tabla 2). El contenido de sólidos totales (s.t.) resultó de 7mg/ml. La determinación de flavonoides demostró que posee 35,14 µg quercetina/miligramos (s.t.) de estos compuestos bioactivos. La concentración de fenoles totales resultó en 9,1635 µg ácido gálico/miligramos (s.t.) según reacción de Folin-Ciocalteu.

**Tabla 2.** Caracterización química de la lecitina de soya

Contenido de aceites y grasas totales			
Valores (X±S)		Contenido total (unidades)	
0,637±0,68		0,64 g/mL	
Contenido de sólidos totales			
Peso seco (X±S)		Contenido total (unidades)	
7,03±0,05		7 mg/ml.	
Contenido de flavonoides (1) y fenoles (2)			
A (nm)	X±S	Contenido total (unidades)	
A 510	(1) 0,0366±0,009	35,14 µg quercetina/mg	
A 765	(2) 0,0195±0,006	9,1635 µg ácido gálico/mg	

p>0,05

**Leyenda:** Densidad óptica de transmitancia o absorbancia (A); X- media; S- desviación estándar.

## DISCUSIÓN

Los resultados de la identificación cromatográfica, coinciden <sup>(3,14)</sup>, confirma la presencia de PC, PE, PS y LPC en la lecitina de soya empleada para la fabricación del LECISAN. Predominan los fosfolípidos con carga positiva (colina y etanolamina). La cuantificación de aceites y grasas totales en la fase clorofórmica, supera el 60 % de conformidad. Resultaría conveniente para investigaciones posteriores realizar el estudio de lípidos no polares y neutros si se considera la cuantificación de aceites y grasas totales en la materia prima.

Colina y col. <sup>(15)</sup> plantean que los elevados valores de índices de acidez, peróxidos, yodo y saponificación, son indicativos de la susceptibilidad a oxidación de los lípidos presentes en el frijol de soya integral. Puede atribuirse al almacenamiento prolongado y expone los lípidos a un deterioro químico, oxidación y rancidez, lo que causa la pérdida de calidad de ingredientes con alto contenido de grasa.

El ensayo Folin-Ciocalteu se ha aplicado en la determinación del contenido total de fenol/polifenol de alimentos de origen vegetal y muestras biológicas. Aunque los datos resultantes de los alimentos, suplementos o extractos de plantas no se pueden extrapolar a los efectos *in vivo* en humanos, existen estudios clínicos y de cohortes, que los correlacionan de manera inversa con los parámetros de riesgo cardiovascular, el envejecimiento y la oxidación del ADN. <sup>(16)</sup>

Se han informado más de 8000 compuestos fenólicos de las plantas, y casi la mitad son flavonoides que han sido reportados por los efectos antioxidantes, anticancerígenos, antibacterianos, agentes cardioprotectores, antiinflamatorios y promotores del sistema inmunológico. Varios investigadores reconocen estos componentes alimentarios mínimos en las plantas oleaginosas. <sup>(17)</sup>

La soya contiene ocho ácidos fenólicos, ácido p-hidroxibenzoico, clorogénico, ácido cinámico, ferúlico, gentísico, salicílico, siríngico y vanílico. El ácido clorogénico se hidroliza para formar ácido caféico, que causa oscurecimiento, y pérdida de nutrientes. <sup>(16,17)</sup> Otro aspecto es la variación en contenido atribuido a varios factores, incluidos el cultivo, momento de la cosecha y tipos de suelo. No obstante, pueden ser considerados direcciones interesantes en futuras investigaciones.

Las principales isoflavonas de soja son la daidzeína y la genisteína. Ejercen efectos antagonistas de los estrógenos en un ambiente con niveles altos de estrógenos, o agonistas con niveles bajos. Pero los mecanismos involucrados en este modo de acción dual, necesitan ser considerados. <sup>(18)</sup> También se ha demostrado que inhiben la activación de la vía de señalización del factor nuclear kappa B (NF-κB), relacionado con la supervivencia celular y la apoptosis. <sup>(19, 20)</sup>

Wang y col. <sup>(21)</sup>, encontraron que podía modular el estrés oxidativo mitocondrial a través del mecanismo de la vía oxidativa en fibroblastos dérmicos humanos. Se plantea que influencia la osteogénesis y la osteoclastogénesis, por activación de la ruta de señalización de proteínas morfogenéticas del hueso. <sup>(3)</sup> Si se toma en cuenta esta premisa, la lecitina de soya pudiera tener efectos sobre el crecimiento y desarrollo relacionados con la presencia de fitoestrógenos.

Según la literatura consultada, la lecitina de la soya contiene 21 % de fosfatidilcolina, 22 % de fosfatidiletanolamina y 19 % de fosfatidilinositol. <sup>(3)</sup> El contenido informado de lisofosfatidilcolina formada tras hidrólisis intestinal es de 3,85 a 4,56 %, lisofosfatidilinositol de 0,88 a 1,36 %, lisofosfatidiletanolamina de 1,67 a 2,31 % y ácido lisofosfatídico de 1,19 a 1,34 %. El contenido de colina que libera de la fosfatidilcolina oscila entre 13,2 y 20,2 %. <sup>(14)</sup>

Las isoflavonas son compuestos difenólicos y reconocidos fitoestrógenos (FE). Existen 230 tipos de isoflavonas, tres de ellas (daidzeína, genisteína y gliciteína) están presentes en la soya. Para Mijiti y col. <sup>(22)</sup> la daidzeína tiene un potencial antiinflamatorio a través de la inhibición de la producción de IL-6.

Wu y Liu, <sup>(23)</sup> le confieren a las isoflavonas de la soya efectos antiinflamatorios, antioxidantes, anticancerígenos y protector contra la osteoporosis. De igual manera, se ha considerado un efecto inhibidor de la tirosina quinasa a través de vías de señalización NF-κB. <sup>(19, 20)</sup>

Se presentan argumentos a favor de considerarlas moduladores selectivos de los receptores de estrógeno (SERM) naturales en base a datos recientes de la unión conformacional a estos por similitudes estructurales y funcionales con los estrógenos humanos. Además, se plantea que la potencia de los fitoestrógenos determinada mediante ensayos *in vitro* se compara con la potencia de los estrógenos endógenos *in vivo*. <sup>(18,22)</sup>

Los polifenoles son una familia de fitoquímicos con gran diversidad química, conocidos por ser compuestos bioactivos de alimentos, especies, plantas medicinales y nutraceuticos. Se ha

informado de la acción *in vitro* de muchos polifenoles representativos. Sin embargo, los efectos en enfermedades de alta prevalencia son difíciles de demostrar debido a la amplia variabilidad en estructuras, acciones bioactivas y variaciones en el metabolismo por acción de la microbiota intestinal. <sup>(16)</sup>

De manera general, se ha demostrado que la presencia de una amplia gama de compuestos fenólicos en plantas oleaginosas contribuye a las propiedades terapéuticas. No obstante, estos compuestos se reconocen por ser las moléculas fitoquímicas más grandes con propiedades antioxidantes del reino vegetal. <sup>(17)</sup>

## CONCLUSIONES

Se caracterizó la materia prima del suplemento nutricional LECISAN. Los valores medios de las concentraciones existentes de los lípidos, fenoles y flavonoides son considerados niveles de referencia y pueden ser considerados direcciones interesantes para futuras investigaciones.

## CONTRIBUCIÓN DE AUTORÍA

**Leidys Cala-Calviño:** Conceptualización, visualización, curación de datos, análisis formal, Supervisión, Redacción-Revisión.

**Yaixa Beltrán Delgado:** Curación de datos, investigación.

**Juan Carlos Ferrer Romero:** Investigación.

**Onel Fong Lores:** participó Análisis Formal, curación de datos, recursos, investigación.

**David Garrido Larramendi:** Investigación, Redacción-Revisión.

Todos los autores aprueban la versión final del manuscrito.

## FINANCIACIÓN

No se recibió financiación para el desarrollo del presente estudio.

## CONFLICTOS DE INTERESES

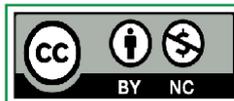
No se declaran conflictos de intereses.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Schuhmacher A, Wilisch L, Kuss M, Kandelbauer A, Hinder M, Gassmann OR. Efficiency of leading pharmaceutical companies - A 20-year analysis. *Drug Discov Today* [Internet]. 2021[citado 12 May 2023]; 26(8):1784-1789. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34022459/>
2. Majolo F, Oliveira LK de, Marmitt DJ, Bustamante-Filho IC, Goettert, MI. Medicinal plants and bioactive natural compounds for cáncer treatment: Important advances for drug Discovery. *Phytochem. Letters*[Internet]. 2019[citado 12 May 2023]; 31:196-207. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.phytol.2019.04.003>
3. Cala-Calviño L, Morris-Quevedo H. LECISAN® y sus potencialidades terapéuticas para el abordaje farmacológico de la obesidad. *Revista Cubana de Endocrinología* [Internet]. 2022 [citado 12 May 2023]; 32 (3) Disponible en: <https://revendocrinologia.sld.cu/index.php/endocrinologia/article/view/316>
4. De las Heras-Polo B. Productos naturales: De la medicina tradicional a cabezas de serie para el desarrollo de nuevos fármacos del siglo XXI. *An Real Acad Farm*[Internet]. 2021[citado 12 May 2023]; 87(1):97-104. Disponible en: [https://analesranf.com/articulo/8701\\_05/](https://analesranf.com/articulo/8701_05/)
5. Salem MA, Perez de Souza L, Serag A, Fernie A R, Farag MA, Ezzat SM, Alseekh S. Metabolomics in the Context of Plant Natural Products Research: From Sample Preparation to Metabolite Analysis. *Metabolites* [Internet]. 2020[citado 12 May 2023]; 10(1):37. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/metabo10010037>

6. AOAC. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists: Official Methods of Analysis of AOAC International. 21st Edition, AOAC, Washington DC; 2019
7. Bligh EG, Dyer WJ. A rapid method of total lipid extraction and purification. Canadian journal of biochemistry and physiology[Internet]. 1959[citado 12 May 2023]; 37(8): 911–917. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/13671378/>
8. Hadrich B, Akremi I, Dammak M, Barkallah M, Fendri I, Abdelkafi S. Optimization of lipids' ultrasonic extraction and production from *Chlorella* sp. using response surface methodology. Lipids in Health and Disease [Internet]. 2018[citado 12 May 2023]; 17(1): 1–9. Disponible en: <https://lipidworld.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12944-018-0702-z>
9. Hofmann T, Barth M, Meister A, Kastritis PL, Schmidt C. Thin-Layer Chromatography and Coomassie Staining of Phospholipids for Fast and Simple Lipidomics Sample Preparation. Analysis & Sensing [Internet]. 2021[citado 1 junio 2023]; 1(4): 171-179. Disponible en: <https://chemistry-europe.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/anse.202100029>
10. Valls JE, Bello RA, Kodaira MS. Semiquantitative analysis by thin-layer chromatography (TLC) of biogenic amines in dried, salted and canned fish products. Journal of Food Quality[Internet]. 2002[citado 12 May 2023]; 25: 165-176. Disponible en: <https://doi.org/10.1111/j.1745-4557.2002.tb01016.x>
11. Tamargo-Santos B, Herrera-Belén L, Bello-Alarcón A, Cuéllar A, González-Rodríguez H, Sierra-González G, Morales-González M, y Ortiz-Zamora L. Obtención de fosfolípidos a partir de la lecitina de soya (*Glycine max* L), para usos biomédicos. Revista Cubana de Química [Internet]. 2011[citado 12 May 2023]; XXIII(3): 5-14. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/4435/443543724001.pdf>
12. Slinkard K, Singleton VL. Total phenol analyses: automation and comparison with manual method. Am J Enol Vitic. 1977;28 (1) :49-55.
13. Zhang Q, Yang W, Liu J, Liu H, Lv Z, Zhang C, et al. Identification of Six Flavonoids as Novel Cellular Antioxidants and Their Structure-Activity Relationship. Oxidative medicine and cellular longevity [Internet]. 2020[citado 1 jul 2023]; 4150897. Disponible en: <https://doi.org/10.1155/2020/4150897>
14. Panel on Food Additives and Flavourings (EFSA). Safety of use of oat lecithin as a food additive. EFSA Journal [Internet]. 2020 [citado 12 May 2023]; 18(11), e05969. Disponible en: <https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.2903/j.efsa.2020.5969>
15. Colina J, León M, Castañeda M, Matos A. Composición química e indicadores de calidad del frijol de soya (*Glycine max*) integral procesado con vapor para la alimentación de aves y cerdos. ALAN[Internet]. 2017[citado 12 May 2023];67(1): 49-55. Disponible en: <https://www.alanrevista.org/ediciones/2017/1/art-7/>
16. Dini I, Grumetto L. Recent Advances in Natural Polyphenol Research. Molecules (Basel, Switzerland) [Internet]. 2022 [citado 1 jul 2023]; 27(24): 8777. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/molecules27248777>
17. Dias MC, Pinto DCGA, Silva AMS. Plant Flavonoids: Chemical Characteristics and Biological Activity. Molecules (Basel, Switzerland). [Internet]. 2021 [citado 1 jul 2023]; 26(17): 5377. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/molecules26175377>
18. Kim IS, Kim CH, Yang WS. Physiologically Active Molecules and Functional Properties of Soybeans in Human Health. A Current Perspective. Int. J. Mol. Sci[Internet]. 2021[citado 12 May 2023]; 22(8): 4054. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/ijms22084054>
19. Ceccarelli I, Bioletti L, Peparini S, Solomita E, Riccin C, Casini I, et al. Estrogens and phytoestrogens in body functions. Neurosci Biobehav Rev [Internet]. 2022[citado 12 May 2023]; 132:648-663. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2021.12.007>.
20. Swallah MS, Yang X, Li J, Korese JK, Wang S, Fan H, et al. The Pros and Cons of Soybean Bioactive Compounds: An Overview. Food Reviews International [Internet]. 2022[citado 12 May 2023]; 1-28. Disponible en: <https://doi.org/10.1080/87559129.2022.2062763>.

21. Wang Q, Spenkelink B, Boonpawa R, Rietjens I. Use of Physiologically Based Pharmacokinetic Modeling to Predict Human Gut Microbial Conversion of Daidzein to S-Equol. *Journal of agricultural and food chemistry* [Internet]. 2022[citado 12 May 2023]; 70(1): 343–352. Disponible en: <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.1c03950>
22. Mijiti N, Someya A, Nagaoka I. Effects of isoflavone derivatives on the production of inflammatory cytokines by synovial cells. *Experimental and therapeutic medicine*[Internet]. 2021[citado 12 May 2023]; 22(5):1300. Disponible en: <https://doi.org/10.3892/etm.2021.10735>
23. Wu Z, Liu L. The protective activity of genistein against bone and cartilage diseases. *Frontiers in pharmacology*[Internet]. 2022[citado 12 May 2023];13:1016981. Disponible en: <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.1016981>



Los artículos de *Revista Cubana de Tecnología de la Salud* se compar-  
ten bajo los términos de la Licencia **Creative Commons Atribución-No  
Comercial 4.0. Internacional**