

## Composición química del aceite virgen obtenido por extracción mecánica de algunas variedades de uva (*Vitis vinifera L.*) con énfasis en los componentes minoritarios

Petra Beatriz Navas H.

Instituto de Química y Tecnología. Facultad de Agronomía. Universidad Central de Venezuela. Maracay. Venezuela

**RESUMEN.** Se determinó la composición química del aceite virgen obtenido por presión mecánica de semillas de uva de las variedades Syrah, Tintorera y de una mezcla de las variedades Syrah-Tempranillo-Merlot. Métodos analíticos oficiales fueron empleados en la determinación de dos índices de calidad (acidez e índice de peróxidos), del perfil de ácidos grasos y para la cuantificación de los componentes minoritarios más importantes. Los valores de acidez e índice de peróxidos coincidieron con los señalados por el Codex Alimentarius para los aceites comestibles de buena calidad. El ácido linoleico fue el ácido graso más abundante en todas las muestras, representando alrededor del 65%, seguido por el ácido oleico con niveles cercanos al 25%. La concentración total de fitosteroles se ubicó en el intervalo de 5179 hasta 5480 mg/kg siendo el  $\beta$ -sitosterol el más importante constituyendo más del 66% del total. El colesterol fue detectado en los aceites vírgenes provenientes de las variedades Syrah y Tintorera, con concentraciones inferiores al máximo permitido para los aceites vegetales comestibles. El éster 1-butanil-3-metil acetato, fue el componente volátil encontrado en mayor proporción con concentraciones de 5,4; 6,8 y 11,0 mg/kg para las variedades Syrah, Tintorera y la mezcla de semillas respectivamente. Otros compuestos volátiles también presentes en los aceites fueron el Trans-2-hexenal (0,1 a 0,5 mg/kg), E-2-pentenal (3,1 a 4,2 mg/kg), hexanal (1,4 a 1,9 mg/kg) y heptanal (0,1 a 0,3 mg/kg). Esos compuestos pueden ser los responsables de los aromas afrutados que se detectaron en todas las muestras de aceites vírgenes estudiadas. Los isómeros  $\alpha$  y  $\gamma$  tocotrienoles, representaron más del 80% de los tococromanos presentes, mientras que los tocoferoles constituyeron menos del 10%. El color verde intenso observado en los aceites fue asociado a la presencia de clorofila y otros pigmentos vegetales.

**Palabras clave:** Semillas de uva, extracción mecánica, aceite virgen.

### INTRODUCCION

Las semillas de uva constituyen un subproducto de la industria vinícola que han alcanzado una gran importancia, debido a su utilización como materia prima para la elaboración de suplementos nutricionales ya que poseen componentes con actividades antioxidantes, entre los que destacan la vitamina E, carotenoides, polifenoles, etc., que exhiben igualmente propiedades anticarcinogénicas, antimutagénicas, antivirales

**SUMMARY.** Chemical composition of the virgin oil obtained by mechanical pressing form several grape seed varieties (*Vitis vinifera L.*) with emphasis on minor constituents. The chemical composition of the virgin oils obtained by mechanical pressing of grape seed belonging of the varieties Syrah and Tintorera as well as a mixture of seeds of the varieties Syrah, Tempranillo and Merlot was determined. Official analytical methods were employed for the determination of two quality indexes (acidity and peroxide value), fatty acids profile and for the quantification of the most important minor constituents. The acidity and the peroxide values were in agreement with the values reported by the Codex Alimentarius for good quality edible oils. The linoleic acid was the fatty acid most abundant in all samples, representing around the 65%, followed by the monounsaturated oleic acid with concentrations close to 25%. The total phytosterol concentrations were between 5179 and 5480 mg/kg, where the  $\beta$ -sytosterol represented more than the 66% in all grape seed oils. The cholesterol was detected in the oils from the varieties Syrah and Tintorera in concentrations below the maximum allowed for vegetable edible oils. The ester 1-buthyl-3-methylacetate was the most abundant in the volatile fraction with concentrations of 5.4; 6.8 and 11.0 mg/kg for Syrah, Tintorera and the seeds mixture respectively. Other volatile compounds also present were the Trans-2-hexenal (0.1 to 0.5 mg/kg), E-2-pentenal (3.1 to 4.2 mg/kg), hexanal (1.4 to 1.9 mg/kg) and heptanal (0.1 to 0.3 mg/kg). These compounds may be the responsible for the fruity flavor detected in all virgin oils studied. The  $\alpha$  and  $\gamma$  isomers of the tocotrienols accounted for more than the 80% of the tococromanols present in the oils, while the tocopherols represented only the 10% The deep green color observed in all oil samples was associated to the presence of chlorophylls and other vegetable pigments

**Key words:** Grape seeds, virgin oil, cold pressing.

y pueden contribuir en la prevención de úlceras gástricas (1). Matthäus (2), señala que los polifenoles presentes en las semillas de uva exhiben propiedades antioxidantes al ser capaces de inactivar los radicales libres responsables de las enfermedades asociadas al estrés oxidativo.

Según Sineiro et al. (3), muchas de las semillas de uva que se producen como subproducto de la actividad vinícola y alcoholera son desechadas o se emplean como abono sin considerar la calidad; por lo que se hace muy importante el

desarrollo de productos en los que se aprovechen las cualidades nutricionales de este material. Un aprovechamiento industrial consistiría en la extracción del aceite, lo que puede representar una interesante fuente de ingreso para el sector agrícola en países con una producción vinícola importante. Asimismo, el aceite destaca por su bajo contenido en ácidos grasos saturados y alto contenido en ácido linoleico, el cual participa en la síntesis de las prostaglandinas, que son sustancias necesarias para reducir la agregación de las plaquetas y cualquier tipo de inflamación. Las elevadas concentraciones de vitamina E junto con niveles bajos de colesterol, contribuirían en la reducción del riesgo de desarrollar problemas cardíacos y circulatorios comúnmente observados cuando se consumen aceites más saturados (4).

El objetivo de este trabajo fue determinar la composición química de aceites vírgenes extraídos por prensa de semillas de uva de variedades tintas, mediante la determinación de índices de calidad, perfil de ácidos grasos y componentes minoritarios como fitoesteroles, componentes volátiles, tocoferoles, tocotrienoles y pigmentos.

## MATERIALES Y METODOS

### Materia prima

Se trabajó con tres lotes de semillas de 50 kg, dos de ellos correspondieron a las variedades Syrah y Tintorera, mientras que el último lote estuvo constituido por una mezcla a partes iguales de semillas de las variedades Tempranillo, Merlot y Syrah. Cada lote provino de una bodega vinícola específica localizada en la provincia de Ciudad Real de la Comunidad Autónoma de Castilla-La Mancha, España. Las muestras se limpiaron cuidadosamente para eliminar de ellas restos de hojas, tallos y tierra, posteriormente se determinó la humedad (5) y rendimiento graso por el método de Soxhlet (6).

Para la extracción mecánica del aceite se utilizó una prensa modelo KOMET SCREW OIL, Expeller CA59G- CA 5963 (Alemania) y una cantidad de semillas igual a 10 kg por lote. El aceite virgen bruto contenía impurezas sólidas y materiales gomosos, por lo que fue necesario una fase de centrifugación a fin de obtener un aceite virgen limpio. Esta centrifugación fue hecha utilizando una centrífuga de laboratorio (Hettich Universal 32R), aplicando una fuerza centrífuga relativa de 3857,1 g durante un tiempo de 20 minutos.

### Determinación de la composición química del aceite virgen de semillas de uva

#### Índices de calidad

Para las determinaciones de acidez y peróxidos, se siguió la metodología descrita en los siguientes reglamentos: Índice de Acidez: Reglamento CEE 2568/91. Anexo II (7). Índice de peróxidos (IP): Reglamento CEE 2568/91. Anexo III (7).

### Perfil de ácidos grasos

La composición en ácidos grasos de los triacilgliceroles se expresó como porcentaje de área de sus éteres metílicos, tal como lo establecen los métodos oficiales de análisis (8). Se utilizó un cromatógrafo de gases Agilent serie 6890, equipado con inyector automático (Agilent 7863) y detector de ionización de llama (FID), con una columna capilar recubierta interiormente de una película de 0,25  $\mu\text{m}$  de espesor de la fase SGL-1000 (polietilenglicol acidificado), con una longitud de 50 m y un diámetro interno de 0,25 mm. Como gas portador se empleó helio con un flujo de 1 ml/min, el volumen de inyección de muestra fue de 1  $\mu\text{l}$  y la relación split 50:1. Durante el análisis la temperatura del inyector y el detector fue de 250°C y el horno se mantuvo a 210°C.

### Fitoesteroles

La composición en fitoesteroles se determinó a partir de la fracción de grasa insaponificable de 5,0 g de aceite, según el procedimiento descrito en el Anexo V del Reglamento CEE n° 2568/91 (7). La preparación de la muestra, se hizo en varias etapas: primero preparación de la fracción insaponificable, seguido de su extracción, luego separación de los esteroides por cromatografía en capa fina y preparación de los trimetilsilil derivados, los cuales fueron separados y cuantificados por cromatografía de gases en columna capilar. Para ello se utilizó un cromatógrafo de gases HP5890, dotado con un inyector automático HP7673 y un detector de ionización de llama (FID). La columna empleada, fue del tipo SGL-5 (5% difenilmetilsilicona), de 25m de longitud, 0,25 mm de diámetro interno y 0,25 $\mu\text{m}$  de espesor de fase. Las condiciones cromatográficas consistieron de gas portador helio, flujo a través de la columna de 1,2 mL/min, temperatura del inyector de 280 °C, temperatura del detector 290 °C y horno isoterma a 260 °C.

### Compuestos volátiles

En este caso se aplicó el protocolo desarrollado por Vichi et al. (9). En primer lugar se procedió a la extracción de estos compuestos mediante micro extracción en fase sólida (SPME) y posteriormente a su análisis cromatográfico mediante un cromatógrafo de gases Agilent serie 6890 equipado con un detector de ionización de llama (FID). La separación de los compuestos volátiles se realizó mediante una columna capilar Supelcowax-10 (30 m x 0,25 mm, Supelco Inc., USA). Como sistema de cuantificación se utilizó el método del patrón interno, en este caso el 4-metil-2-pentanol (Sigma Chemical Co.). La identificación de los compuestos fue hecha por comparación de los tiempos de retención de sustancias puras y por detección con espectrometría de masas para lo cual se utilizó un espectrómetro de masas MS Agilent serie 5975C equipado con un detector de ionización por impacto

electrónico (IE+) y acoplado a un GC Agilent serie 6850, con columna capilar DB-Wax (30 m x 0,25 mm, J&W Scientific, USA) recubierta interiormente de una película de 0,25 µm de espesor de 100% polietilenglicol. Como gas portador se utilizó helio.

#### Tocoferoles y tocotrienoles

La determinación de estos componentes minoritarios del aceite se hizo por cromatografía líquida (HPLC), según el método de la AOCS, Ce 8-89. (8). El equipo empleado para la separación y cuantificación de los tocoferoles y tocotrienoles fue un cromatógrafo de líquidos *Agilent* de la serie 1100 acoplado a un detector de fluorescencia *Thermo Finnigan* modelo FL3000 y la columna utilizada (250 x 4,6 mm) fue de relleno Lichrosorb Si-60 de 5 µm (*Sugelabor Madrid*). La fase móvil que se empleó en la separación fue una mezcla de n-hexano-isopropanol 98,5:1,5 (v/v) con un flujo de 1 ml/min, y un volumen de inyección de 20 µl. Para la detección mediante fluorescencia se empleó una longitud de onda de excitación de 290 nm y una longitud de onda de emisión de 330 nm.

#### Pigmentos (clorofilas y carotenoides)

Los pigmentos clorofílicos y los carotenoides se determinaron según el método propuesto por Mínguez-Mosquera *et al.* (10), empleando un espectrofotómetro *Agilent 8453* con una celda de 1 cm de paso óptico.

#### Análisis estadístico

Todas las determinaciones analíticas fueron realizadas por triplicado. Los tratamientos estadísticos se realizaron mediante análisis de varianza, aplicando la prueba de Duncan con un nivel de significación del 95% ( $P < 0,05$ ), utilizando el programa SPSS 11.5 para Windows.

## RESULTADOS

#### Extracción mecánica del aceite virgen de semillas de uva

La humedad promedio de los tres lotes de semillas estuvo alrededor del 8%, por lo que no fue necesario secar el material antes de la extracción. Luego de pruebas preliminares se pudieron establecer las siguientes condiciones óptimas de funcionamiento de la prensa: velocidad de giro del tornillo sinfín 17 rpm, con lo cual se mantuvo una temperatura de 100°C en la cámara de prensado. Esta temperatura es la recomendada por el fabricante para alcanzar el máximo de eficiencia de la extracción. Se utilizó un troquel o boquilla de salida de la cámara de prensado de un diámetro interno de 1,5 cm, en función a las dimensiones de las semillas utilizadas. El tiempo total de procesamiento de la masa de 10 kg de semillas fue de aproximadamente 2 horas y la temperatura de los aceites obtenidos estuvo alrededor de 27° C.

El rendimiento de la extracción para los tres lotes fue de aproximadamente 5,7 g de aceite 100g<sup>-1</sup> de semillas, lo que representa una eficiencia de extracción del 67% si se toma en cuenta que el contenido total de aceite en las semillas (extraído por el método Soxhlet) fue de 8,9 g 100g<sup>-1</sup>.

#### Índices de calidad y composición de ácidos grasos en el aceite virgen

Los valores de acidez en las muestras correspondientes a las variedades Syrah y Tintorera estuvieron por debajo del 2%, que es el máximo establecido por la Norma CODEX-STAN 210 del Codex Alimentarius para los aceites vírgenes de semillas de uva (Tabla 1); mientras que en el aceite obtenido de la mezcla Syrah-Tempranillo-Merlot, el índice alcanzó un valor de 2,21 %, que es ligeramente superior al establecido en la norma. En cuanto al Índice de Peróxidos, los resultados mostraron valores inferiores al límite máximo permitido por la misma norma del Codex Alimentarius (15 meq O<sub>2</sub> Kg<sup>-1</sup>), lo que refleja la buena calidad de los aceites extraídos.

TABLA 1

Índice de peróxidos, acidez y composición en ácidos grasos de los aceites vírgenes extraídos de semillas de uva (*Vitis vinifera L.*)

	Syrah	Tintorera	Syrah-Tempranillo-Merlot
IP(meq/kg)	11,60 ± 0,05	6,80 ± 0,04	9,93 ± 0,04
Acidez (%)	0,82 ± 0,01	1,42 ± 0,01	2,21 ± 0,01
Ácidos Grasos (%)			
Mirístico	0,06 ± 0,01	0,08 ± 0,01	Nd
Palmitico	7,95 ± 0,02	8,47 ± 0,02	8,10 ± 0,02
Esteárico	4,42 ± 0,02	4,60 ± 0,02	4,51 ± 0,02
Oleico	22,2 ± 0,1	24,9 ± 0,2	20,5 ± 0,2
Linoleico	64,5 ± 0,3	61,4 ± 0,3	66,5 ± 0,3
Linolénico	0,64 ± 0,01	0,46 ± 0,01	0,40 ± 0,02
Araquídico	0,17 ± 0,01	0,15 ± 0,01	Nd
SFA	12,43	13,15	12,61
MUFA	22,26	24,88	20,52
PUFA	65,34	61,97	66,87

Promedios con la misma letra en cada fila no difieren significativamente ( $p < 0,05$ )

Nd: No detectable ( $< 0,1$  %)

SFA: Ácidos grasos saturados.

MUFA: Ácidos grasos monoinsaturados.

PUFA: Ácidos grasos poliinsaturados

El perfil de ácidos grasos fue característico para este tipo de aceite, con un porcentaje de ácido linoleico entre 61,36% y 66,47%, seguido del monoinsaturado ácido oleico con valores que oscilaron entre 20,52% y 24,88%, detectándose el mayor porcentaje para la variedad Tintorera, seguida por Syrah y en tercer lugar la mezcla Syrah-Tempranillo-Merlot; mientras que las concentraciones del ácido linoleico mostró

un orden inverso. El ácido linolénico, que es un ácido graso poliinsaturado de la familia de los ácidos grasos omega 3, estuvo presente en concentraciones pequeñas pero cuantificables en todos los aceites analizados.

### Composición de fitosteroles

Las concentraciones totales de fitosteroles fueron de 5179, 5238 y 5480 mg/kg para las variedades Syrah, Tintorera y la mezcla de semillas, respectivamente. Con respecto al perfil de fitosteroles, destaca el  $\beta$ -sitosterol como el mayoritario en todas las muestras (Tabla 2), con concentraciones entre 66,58% y 67,35%, las cuales fueron semejantes a las señaladas por Beveridge et al. (11) para aceites vírgenes obtenidos a partir de otras variedades de uva. Con excepción del brasicasterol y  $\Delta^7$ -campesterol, el resto de los esteroides presentes no mostraron diferencias estadísticas significativas entre las variedades. La concentración de colesterol en el aceite proveniente de la mezcla de semillas estuvo por debajo del límite de detección de la técnica analítica, mientras que en las variedades Syrah y Tintorera los aceites presentaron concentraciones de 0,10% y 0,09% respectivamente, los cuales son inferiores al 0,5 % que es el máximo permitido por el Codex Alimentarius (12).

TABLA 2  
Composición porcentual y concentración total (mg/kg) de los fitosteroles en los aceites vírgenes de semillas de uva (*Vitis vinifera* L.)

Esterol	Syrah	Tintorera	Syrah-Tempranillo-Merlot
Colesterol	0,10 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>	0,09 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>	Nd
Brasicasterol	0,75 $\pm$ 0,03 <sup>a</sup>	0,60 $\pm$ 0,01 <sup>b</sup>	0,90 $\pm$ 0,01 <sup>c</sup>
2,4-metilcolesterol	0,18 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>	0,16 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>	Nd
Campesterol	0,1 $\pm$ 0,4 <sup>c</sup>	9,3 $\pm$ 0,3 <sup>c</sup>	9,1 $\pm$ 0,3 <sup>c</sup>
Campestanol	0,45 $\pm$ 0,04 <sup>b</sup>	0,53 $\pm$ 0,02 <sup>b</sup>	0,54 $\pm$ 0,02 <sup>b</sup>
Estigmaserol	10,6 $\pm$ 0,1 <sup>a</sup>	10,2 $\pm$ 0,3 <sup>a</sup>	10,8 $\pm$ 0,3 <sup>a</sup>
$\Delta^7$ -Campesterol	0,27 $\pm$ 0,02 <sup>a</sup>	0,26 $\pm$ 0,02 <sup>a</sup>	0,16 $\pm$ 0,02 <sup>b</sup>
Clerosterol	0,90 $\pm$ 0,02 <sup>a</sup>	0,93 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>	0,94 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>
$\beta$ -Sitosterol	66,6 $\pm$ 0,8 <sup>d</sup>	67,4 $\pm$ 0,8 <sup>d</sup>	66,7 $\pm$ 0,5 <sup>d</sup>
Sitostanol	3,92 $\pm$ 0,04 <sup>b</sup>	4,00 $\pm$ 0,03 <sup>b</sup>	4,70 $\pm$ 0,05 <sup>b</sup>
$\Delta^5$ -Avenasterol	2,00 $\pm$ 0,02 <sup>b</sup>	1,98 $\pm$ 0,02 <sup>b</sup>	2,09 $\pm$ 0,09 <sup>b</sup>
$\Delta^5,24$ -Estigmastadienol	0,45 $\pm$ 0,03 <sup>a</sup>	0,47 $\pm$ 0,03 <sup>a</sup>	0,41 $\pm$ 0,03 <sup>a</sup>
$\Delta^7$ -Estigmastanol	1,99 $\pm$ 0,02 <sup>b</sup>	2,10 $\pm$ 0,02 <sup>b</sup>	2,30 $\pm$ 0,05
$\Delta^7$ -Avenasterol	0,98 $\pm$ 0,05 <sup>a</sup>	0,99 $\pm$ 0,05 <sup>a</sup>	1,10 $\pm$ 0,05 <sup>a</sup>
Total (mg/kg)	5179	5238	5480

Promedios con la misma letra en cada fila no difieren significativamente ( $p < 0,05$ )

Nd: No detectable ( $< 0,1$  %)

### Componentes volátiles

En los aceites extraídos fueron cuantificados compuestos volátiles pertenecientes a los aldehídos, alcoholes, alcanos, ésteres de ácidos carboxílicos y terpenos (Tabla 3). Entre los primeros destacan el E-2-pentanal, E-2-octenal y el hexanal. Entre los alcoholes estuvieron presentes el hexan-1-ol, 1-butanol y el pentanol, junto con otros compuestos como el 1,3 butanodiol y el 2,3 butadiol, que son utilizados como marcadores de calidad de vinos (13). El 1-butanol-3 metilacetato, fue el componente volátil encontrado en mayor proporción en los tres aceites vírgenes evaluados, siendo más notable su presencia en el aceite virgen extraído de la mezcla de semillas Syrah-Tempranillo-Merlot con una concentración de 11,0 mg/kg. El estireno,  $\alpha$  pineno y limoneno fueron compuestos terpénicos detectados en los aceites vírgenes con concentraciones entre 0,30 y 0,80 mg/kg sin observarse diferencias entre las muestras.

TABLA 3  
Componentes volátiles en el aceite virgen de semillas de uva (mg/kg) (*Vitis vinifera* L.)

Compuesto	Syrah	Tintorera	Syrah-Tempranillo Merlot
n-octano	0,30 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>	0,50 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>	0,40 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>
Hexanal	1,40 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>	1,80 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>	1,90 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>
E-2-pentanal	3,50 $\pm$ 0,01 <sup>b</sup>	3,10 $\pm$ 0,01 <sup>b</sup>	4,20 $\pm$ 0,01 <sup>b</sup>
2- Pentilfurano	2,10 $\pm$ 0,01 <sup>b</sup>	0,10 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>	1,80 $\pm$ 0,01 <sup>b</sup>
Hexan-1-ol	4,10 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>	3,70 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>	3,40 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>
E-2- octenal	0,90 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>	0,70 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>	1,40 $\pm$ 0,01 <sup>b</sup>
Trans-2-hexenal	0,10 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>	0,10 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>	0,50 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>
1-butanol	0,30 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>	0,40 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>	0,30 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>
1,3 Butanodiol	1,10 $\pm$ 0,01 <sup>b</sup>	0,90 $\pm$ 0,01 <sup>b</sup>	1,00 $\pm$ 0,01 <sup>b</sup>
2,3 Butadiol	0,70 $\pm$ 0,01 <sup>c</sup>	0,60 $\pm$ 0,01 <sup>c</sup>	0,60 $\pm$ 0,01 <sup>c</sup>
1-butanol-3methyl acetato	5,40 $\pm$ 0,01 <sup>b</sup>	6,80 $\pm$ 0,01 <sup>b</sup>	11,0 $\pm$ 0,01 <sup>d</sup>
Heptanal	0,10 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>	0,30 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>	0,30 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>
Pentanol	0,10 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>	0,40 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>	0,80 $\pm$ 0,01 <sup>b</sup>
Estireno	0,80 $\pm$ 0,01 <sup>b</sup>	0,70 $\pm$ 0,01 <sup>b</sup>	0,80 $\pm$ 0,01 <sup>b</sup>
$\alpha$ - Pineno	0,50 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>	,50 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>	0,60 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>
Limoneno	0,30 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>	0,60 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>	0,50 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>

Promedios con la misma letra en cada fila no difieren significativamente ( $p < 0,05$ )

### Tocoferoles, tocotrienoles y pigmentos

Los cuatro isómeros del tocoferol estuvieron presentes en el aceite proveniente de la mezcla de semillas, siendo el mayoritario el  $\alpha$  tocoferol (55,8 mg/kg), seguido del  $\beta$  tocoferol (38,2 mg/kg),  $\gamma$  tocoferol (29,2 mg/kg) y  $\delta$  tocoferol (2,5 mg/kg). Este último compuesto no fue detectado en los aceites de las variedades Syrah y Tintorera. Por otro lado, los isómeros  $\alpha$  tocotrienol,  $\gamma$  tocotrienol y  $\delta$  tocotrienol, estuvieron presentes en todas las muestras analizadas, siendo el  $\gamma$  tocotrienol el mayoritario con concentraciones entre 482,5 y 556,1 mg/kg.

TABLA 4  
Tocoferoles, tocotrienoles y pigmentos presentes en el  
aceite virgen de semillas de uva (mg/kg)

Compuesto	Syrah	Tintorera	Syrah-Tempranillo -Merlot
$\alpha$ tocoferol	47,3 $\pm$ 0,3 <sup>a</sup>	50,1 $\pm$ 0,3 <sup>b</sup>	55,8 $\pm$ 0,2 <sup>c</sup>
$\alpha$ tocotrienol	215,7 $\pm$ 1,3 <sup>a</sup>	230,8 $\pm$ 1,0 <sup>b</sup>	278,5 $\pm$ 1,1 <sup>c</sup>
$\beta$ tocoferol	48,4 $\pm$ 0,5 <sup>c</sup>	40,5 $\pm$ 0,4 <sup>b</sup>	38,2 $\pm$ 0,3 <sup>a</sup>
$\gamma$ tocoferol	16,8 $\pm$ 0,5 <sup>a</sup>	21,5 $\pm$ 0,5 <sup>b</sup>	29,2 $\pm$ 0,5 <sup>c</sup>
$\gamma$ tocotrienol	482,5 $\pm$ 2,1 <sup>a</sup>	498,3 $\pm$ 1,9 <sup>b</sup>	556,1 $\pm$ 2,4 <sup>c</sup>
$\delta$ tocoferol	Nd	Nd	2,5 $\pm$ 0,1
$\delta$ tocotrienol	16,8 $\pm$ 0,9 <sup>a</sup>	12,6 $\pm$ 0,6 <sup>a</sup>	14,9 $\pm$ 0,5 <sup>a</sup>
Total	827,7 <sup>a</sup>	853,8 <sup>a</sup>	997,7 <sup>b</sup>
Pigmentos			
Carotenoides			
totales	26,7 $\pm$ 0,3 <sup>a</sup>	26,5 $\pm$ 0,2 <sup>a</sup>	26,5 $\pm$ 0,3 <sup>a</sup>
Clorofilas	91,1 $\pm$ 1,5 <sup>a</sup>	90,8 $\pm$ 1,2 <sup>a</sup>	90,6 $\pm$ 0,8 <sup>a</sup>

Promedios con la misma letra en cada fila no difieren significativamente (p < 0,05)

Nd: No detectable (< 0,1%)

Si bien los resultados muestran diferencias estadísticamente significativas en el contenido de tocoferoles y tocotrienoles entre los aceites vírgenes, en todos los casos predominaron los isómeros  $\alpha$  y  $\gamma$  tocotrienoles, constituyendo más del 80% del contenido total, mientras que la suma de las concentraciones de los tocoferoles representó menos del 10%.

Los pigmentos en estos aceites fueron cuantificados como clorofilas y carotenoides totales. En cuanto a las primeras las concentraciones estuvieron alrededor del 90,8 mg/kg sin diferencias significativas entre las muestras, mientras que los niveles de carotenoides totales oscilaron entre 26,5 y 26,7 mg/kg. La presencia de esos carotenoides resulta importante ya que ellos además de influir en el color de los aceites algunos son precursores de la vitamina A.

## DISCUSION

La extracción mecánica es un procedimiento efectivo y eficaz para la extracción del aceite presente en las semillas de uva, con lo cual se podrían aprovechar estos residuos de la industria vinícola. La extracción por medios mecánicos tiene como ventaja el no tener que emplear solventes orgánicos, potencialmente peligrosos para la salud de los consumidores así como también durante el proceso de la extracción debido al riesgo de explosiones. La limpieza del aceite resultante se hizo por métodos físicos, obteniéndose de este modo un aceite que conserva gran parte de sus componentes minoritarios.

Las concentraciones de los ácidos grasos se encuentran en los intervalos establecidos por el Codex Alimentarius (12) para estos aceites vírgenes y también coinciden con los valores señalados en la literatura para aceites provenientes de otras

variedades de uva (14,15). Específicamente los contenidos en ácido oleico y linoleico han sido los parámetros más significativos para diferenciar entre las variedades estudiadas. Al comparar el aceite de semillas de uva con otros aceites vegetales, destaca el elevado contenido en ácido linoleico, que es un ácido graso esencial, lo que unido al contenido del monoinsaturado ácido oleico, junto con un cierto aporte en ácido linolénico, que es un ácido graso relacionado con la prevención de enfermedades coronarias (2), le confiere a este aceite buenas propiedades nutricionales.

En relación a los fitosteroles, compuestos bioactivos y de gran interés en la actualidad, resalta el contenido del  $\beta$ -sitosterol como el mayoritario. Fernández y Cabral (16), señalan que en las especies vegetales existen más de cien tipos diferentes de fitoesteroles, siendo los más abundantes el  $\beta$ -sitosterol, estigmasterol y el campesterol. Las bajas concentraciones de colesterol en las muestras analizadas representan una cualidad de suma importancia desde el punto de vista nutricional para la prevención de enfermedades cardiovasculares. Las concentraciones totales de fitoesteroles en los tres aceites vírgenes analizadas fueron mayores que los contenidos reportados para el aceite de girasol (11), lo cual es importante debido al rol que desempeñan estos componentes de los aceites vegetales en el control de los niveles de colesterol y en la reducción de la arteroesclerosis (4). Asimismo, Ostlund (17) señala que los fitoesteroles al ser análogos del colesterol, compiten con él por los sitios de absorción intestinal por los cuales tienen una mayor afinidad, reduciéndose la absorción del colesterol.

Los componentes volátiles del aceite estuvieron constituidos por el trans-2-hexanal, el E-2-pentanal, el hexanal y heptanal, compuestos que se forman por la acción enzimática y pueden ser los responsables, junto con otros componentes, del ligero aroma a frutas y hierbas que se percibe en el aceite extraído de semillas de uva y que es característico de un aceite virgen no refinado. Los terpenos como por ejemplo el estireno,  $\alpha$  pineno y limoneno son compuestos que se encuentran en forma natural en muchos vegetales, cuando están presentes en los aceites contribuyen al desarrollo de aromas fuertes y pueden ser utilizados para diferenciar entre distintos tipos de aceites de semillas e incluso para detectar adulteraciones, como en el caso del aceite de girasol al que se adiciona aceite de amapola (18). De acuerdo a Gurbuz et al. (19), la presencia de alcoholes volátiles como el 2 metilbutanol y hexanol o de ésteres del tipo 1-butanol-3 metilacetato, es el resultado de procesos fermentativos que experimentan las semillas durante el almacenamiento previo a la extracción del aceite.

Una característica resaltante de los aceites vírgenes de las variedades de uva evaluadas es la presencia de los distintos isómeros del tococromanol, ya que además de ser potentes antioxidantes, exhiben una acción antiinflamatoria por

inhibición de la producción de superóxido y de radicales libres (20). En general los resultados obtenidos en este estudio son superiores a los reportados por Crews et al. (14), para otras variedades de semillas de uva, con concentraciones máximas de  $\gamma$  tocotrienol de 399 mg Kg<sup>-1</sup>. Asimismo, Beveridge et al. (11), encontraron entre 217 y 350 mg Kg<sup>-1</sup> del isómero  $\gamma$  tocotrienol en aceites de cultivares de uva de América del Norte, mientras que Gokturt y Oskan (21), reportan concentraciones de tocoferoles totales en el intervalo de 328 a 578 mg Kg<sup>-1</sup> para variedades cultivadas en Turquía. Los pigmentos clorofílicos, además de exhibir un ligero efecto antioxidante (15), son responsables del intenso color verde que presentan estos aceites y que los diferencian de otros aceites de semillas donde predominan las tonalidades amarillas.

### CONCLUSIONES

La extracción mecánica es un proceso eficiente y eficaz para la extracción del aceite de las semillas de uva, evitando el uso de solventes orgánicos potencialmente peligrosos. De esta forma se obtiene un aceite comestible con un ligero aroma afrutado en función a sus componentes volátiles, que presenta una adecuada relación entre los ácidos grasos saturados e insaturados, además contiene compuestos bioactivos como los tocoferoles y tocotrienoles, de suma importancia en virtud a sus propiedades antioxidantes, los cuales podrían contribuir en la desactivación de los radicales libres responsables del envejecimiento y degeneración celular. Este aceite contiene otros componentes minoritarios de gran valor desde el punto de vista nutricional como son los fitoesteroles necesarios para el control de la absorción del colesterol y reducción de arteroesclerosis.

### REFERENCIAS

- Ashraf-Khorassani M, Taylor L. Sequential fractionation of grape seeds into oils, polyphenols and procyanidins via a single system employing CO<sub>2</sub> based fluids. *J. Agric Food Chem* 2004; 52: 2440-2444.
- Matthäus B. Virgin grape seed oil: Is it really a nutritional highlight?. *Eur J Lipid Sci Technol* 2008; 110: 645-650.
- Sineiro J, Dominguez H, Nuñez M. Pepitas de uva como fuente de aceite y proteína. *Alimentación, Equipos y Tecnología* 1995; 14(3): 49-56.
- Lecerf L. Phytostérols et risque cardiovasculaire *Nutrition clinique et métabolisme* 2007; 21: 17-27.
- Norma UNE 55-030. Humedad y materias volátiles (Método de la estufa de aire). AENOR. 2002.
- Norma UNE 55-030. Cuerpos Grasos. Determinación del contenido en materia grasa total de la aceituna. AENOR. 2002.
- Commission of the European Community. Regulation CEE/2568/1991. *Official Journal of European Communities*, N° L. 248/91. 1991.
- AOCS. *Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists Society*, Official methods and Recommended Practices. 5<sup>th</sup> Ed. AOCS Press. Champaign Illinois, U.S.A. 1998.
- Vichi S, Castellote A, Pizzale L, Conte L, Buxaderas S, Lopez-Tamames, E. Analysis of virgin olive oil volatile compounds by headspace solid-phase microextraction coupled to gas chromatography with mass spectrometric and flame ionization detection *J Chromatogr A* 2003; 983:19-33.
- Minguez-Mosquera M, Gandul B, Garrido J. Color-pigment correlation in virgin olive oil *J Am Oils Chem Soc* 1991; 67(3): 192-196.
- Beveridge T, Girard B, Kopp T, Drover C. Yield and composition of grape seed oils extracted by supercritical carbon dioxide and petroleum ether, varietal effects *J. Agric Food Chem* 2005; 53: 1799-1804.
- CODEX STAN 210 19- 1981 (Rev. 2-1999). Norma del Codex para grasas y aceites comestibles no regulados por normas individuales. P 1-5. 1981
- Bail S, Stuebigger G, Krist S, Unterweger H, Buchbauer G. Characterization of various grape seed oils by volatile compounds, triacylglycerol composition, total phenols and antioxidant capacity *Food Chem* 2008; 108: 1122-1132
- Crews C, Hough P, Godward J, Brereton P, Lees M, Guiet S, Winkelmann W. Quantitation of the main constituents of some authentic grape-seed oils of different origin *J Agric Food Chem* 2006; 54: 6261-6265.
- Parry J, Su L, Luther M, Zhou K, Peter M, Whittaker P, Yu L. Fatty acid composition and antioxidant properties of cold-pressed marionberry, boysenberry, red raspberry and blueberry seed oils. *J Agric Food Chem* 2005; 53: 566-573.
- Fernández P, Cabral J. Phytosterols: Applications and recovery methods *Bioresource Technolog.* 2007; 98: 2335-2350.
- Ostlund R. Phytosterols, Cholesterol Absorption and Healthy Diets. *Lipids* 2007; 42:41-45.
- Krist S, Stuebiger G, Bail S, Unterweger H. Detection of adulteration of poppy seed oil with sunflower oil based on volatiles and triacylglycerol composition *J Agric Food Chem* 2006; 53(21): 8310-8316
- Gurbuz O, Rouseff M, Rouseff L. Comparison of aroma volatiles in commercial Merlot and Cabernet Sauvignon wines using gas chromatography-Olfactometry and gas chromatography-mass spectrometry *J Agric Food Chem* 2006; 54(11): 3990-3996
- Liebler DC. The role of metabolism in the antioxidant functions of vitamin E *Critical Reviews in Toxicology* 1993; 23: 147-169.
- Gokturt B, Oskan, G. Tocopherol contents of some Turkish wine by-products *European Food Research and Technology.* 2006; 23(2): 290-293.

Recibido: 12-01-2009

Aceptado: 19-03-2009