

Tratamiento enzimático en la extracción de aceite de pipa de uva, *Vitis vinifera*, por prensado en frío

Por E. G. Guerra y M. E. Zúñiga*

Escuela de Ingeniería Bioquímica, Universidad Católica de Valparaíso, General Cruz 34, Valparaíso, CHILE. Tel: 56-32-273650. Fax: 56-32-273803
E-mail: mzuniga@ucv.cl

RESUMEN

Tratamiento enzimático en la extracción de aceite de pipa de uva, *Vitis vinifera*, por prensado en frío.

Se analiza el efecto de la incorporación de enzimas sobre el rendimiento de extracción de aceite por prensado en frío. Con el prensado en frío se busca preservar los compuestos activos de la pipa de uva y minimizar el impacto medioambiental en comparación con los métodos convencionales de extracción de aceite que utilizan altas temperaturas. El tratamiento enzimático se efectúa previo al prensado con una enzima comercial y su efectividad se compara con un control sin catalizador. Un rendimiento de extracción de aceite del 72% b.s. se logra con un pre-tratamiento enzimático durante 4 horas a 50°C, y 60% de humedad, superando en un 26 % al control. Se concluye que la incorporación de un tratamiento enzimático sería una alternativa factible para extraer el aceite de pipa de uva bajo condiciones suaves de proceso mejorando el rendimiento de extracción en comparación con el mismo tipo de proceso sin enzima.

PALABRAS-CLAVE: Aceite de *vitis vinifera* – Aceite pipa de uva – Extracción de aceite – Extracción enzimática de aceite.

SUMMARY

Enzymatic treatment in the grapeseed oil extraction, *Vitis vinifera*, by cold pressing.

The effect of enzyme incorporation is analyzed over the yield of grapeseed oil extraction by cold pressing. By this type of process the objective is to preserve grapeseed active compounds and to diminish the environmental impact in comparison to oil extraction conventional methods which use higher temperatures. The enzymatic hydrolysis takes place with a commercial enzyme previous to pressing stage. Its effectiveness is compared to a control without the biocatalyst. An oil extraction yield of 72 % d.b. is obtained with an enzymatic pre-treatment for 4 hours at 50°C, and 60% of moisture, increasing in 26 % the control result. It is concluded that the incorporation of an enzymatic processing would be a feasible alternative to extract grapeseed oil under softer process conditions improving the yield of extraction in comparison to the same type of methodology without an enzyme.

KEY-WORDS: Enzyme oil extraction – Grapeseed oil – Oil extraction – *Vitis vinifera* oil.

1. INTRODUCCIÓN

En Chile la evolución de la superficie vitivinícola en los últimos años ha sido considerable, aumentan-

do de 53.093 has. cultivadas el año 1994 a 75.388 has. en el año 1999, y para el 2002 se proyectan once mil hectáreas más. En la industria vitivinícola, como en las destiladoras de alcohol para la producción de pisco, producto típico de la región, se utiliza sólo el zumo de uva, por lo que se genera una gran cantidad de desperdicios de uso potencial para la elaboración de subproductos, entre los cuales se destaca el aceite de pipa de uva.

La *Vitis Vinifera*, más conocida como vid, pertenece a la familia *Vitaceae*. Entre sus características destaca que su tronco puede crecer hasta 35 m de longitud en estado nativo, pero para cultivo es reducido anualmente hasta 1 - 3 m. El fruto, la uva, mide entre 6-22 mm de largo, su forma es circular a circular - ovalada, la piel esta adherida a su pulpa, su color puede ser amarillo o verde, rojo o morado, dependiendo de la variedad cultivada. Cada fruto posee entre 2 a 4 semillas, a excepción de especies que no generan pepitas (Bombardelli, 1995). La pipa de uva contiene entre 13,0 y 18,4% de lípidos, presentando un alto porcentaje de ácidos grasos polinsaturados. Los más abundantes son el ácido oleico y el ácido linoleico, con 22% y 67% respectivamente (Padley, 1994).

Una de las ventajas que presenta el consumo de aceite de pipa de uva, es la capacidad que tiene de elevar el colesterol "bueno" HDL (*High Density Lipoprotein*) y bajar el colesterol "malo" LDL (*Low Density Lipoprotein*). Esto es atribuido al alto contenido en ácido linoleico, conocido como omega 6, el cual es uno de los dos ácidos grasos esenciales. También se ha demostrado que reduce la agregación plaquetaria, ayuda a prevenir la hipertensión causada por el exceso de sodio, y ayuda a normalizar las lesiones causadas por la diabetes y la obesidad. Dentro de los compuestos activos de la pipa de uva se pueden encontrar abundantes polímeros derivados de catequina y epicatequina, denominados Procianidinas. Estos compuestos tienen un gran valor farmacéutico, por su actividad antioxidante (Bombardelli, 1995), lo cual le concede una utilización integral a este residuo vitivinícola.

Se ha descrito que la pared celular de la pipa de uva contiene aproximadamente 90% en peso de polisacáridos y menos del 10% de proteínas. Celulosa y ácido poligalacturónico son los mayores constituyentes de la pared, cada uno responsable del 30-40% del total de los polisacáridos que la componen (Numan, 1997).

En la extracción de aceite de semillas oleaginosas existen diferentes alternativas, siendo la extracción por solvente con o sin pre-prensado los procesos más utilizados a nivel industrial, en estos la semilla es sometida a condiciones extremas como altas presiones y/o temperaturas, lo que resulta eficiente en cuanto a los rendimientos de extracción alcanzados, sin embargo la calidad del aceite y de la harina desgrasada es disminuida (Hoffmann, 1989), debido a la inactivación de vitaminas y sustancias activas presentes en la materia prima. Se ha descrito que la calidad de los aceites obtenidos por prensas hidráulicas es superior a los obtenidos por prensas de tornillos sin fin (Rohne, 1971), los cuales provocan mayores incrementos de temperatura durante su operación.

El alto poder antioxidante que se ha descrito en la pipa de uva (Rappoport, 2001; Bagchi, 1997), hace necesario buscar un método alternativo para la extracción de su aceite, manteniendo de esta forma sus compuestos activos. En los últimos años, se han descrito diversas investigaciones referente a la extracción de aceites vegetales asistida por enzimas, lo que favorece la extractibilidad del aceite al degradar la pared celular de la semilla (Domínguez, 1994). La aplicación de la tecnología enzimática se ha estudiado con éxito en la extracción de aceites vegetales de girasol, colza, soja, afrecho de arroz, coco, cacahuete, maíz, aguacate, oliva, palma, entre otros, por distintas técnicas como extracción acuosa (Barrios, 1990; Che Man, 1996; Olsen, 1988; Rosenthal, 1996; Tano-Debra, 1997; Freitas, 1993, Freitas, 1998) por solvente orgánico (Bathanagar, 1987; Badr, 1992; Domínguez, 1995; Sengupta, 1996; Sosulski, 1988; Tano-Debra, 1995) y por prensado. La extracción por prensado con el uso de enzimas es la operación extractiva menos estudiada, a pesar de que presenta ventajas medioambientales frente al uso de hexano y de productividad frente a la extracción acuosa. Con esta técnica se han obtenido incrementos en el rendimiento de extracción de aceite de colza (Sosulski, 1993; Zúñiga, 1998), de girasol (Zúñiga, 1995), *Rosa rubiginosa* (Chamy, 2001; Zúñiga, 2001), *Guevina avellana mol* (Zúñiga, 2001) y de soja (Smith, 1993).

Este trabajo evalúa la incorporación del preparado enzimático comercial Ultrazym 100G, sobre el rendimiento de extracción de aceite de pipa de uva por prensado en frío, como tratamiento enzimático previo al proceso extractivo.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Semillas

La pepita de uva es proporcionada por la industria TRIO S.A. adquirida principalmente de la VII región, Curicó, CHILE.

2.2. Enzimas

En el proceso de hidrólisis se utiliza el preparado enzimático Ultrazym 100G, donado por Novozymes A/S.

2.3. Métodos analíticos

Para la mayoría de los análisis efectuados en las muestras de pipa de uva se utilizan los métodos descritos en el manual Association of Official Analytical Chemist (AOAC, 1990). La fibra cruda es medida por el procedimiento descrito en AOAC 920.86. Las cenizas son medidas de acuerdo al procedimiento 923.03 del AOAC. El contenido en aceite es determinado en equipo Soxhlet por 6 h de acuerdo a la norma chilena Nch 485 (INN; 1988a). La humedad se mide según la norma chilena Nch 484 (INN, 1988b).

2.4. Metodología experimental

El proceso de extracción de aceite se presenta en la figura 1. La limpieza de la materia prima se realiza en dos etapas: primero se utiliza un tamiz vibratorio con malla 4mm por un tiempo de 30 minutos para eliminar las impurezas de menor tamaño, luego las impurezas de mayor tamaño se retiran manualmente. La molienda de la semilla se efectúa directamente luego de la etapa de limpieza, en molino de disco simple con capacidad de 100g. La humedad de la semilla no es ajustada para esta etapa, manteniendo su contenido inicial (aproximadamente 8-12% b.s.). La semilla molida es fraccionada utilizando un tamiz vibratorio con malla de 0,6 mm de diámetro. La fracción menor a 0,6 mm de diámetro es la utilizada en el proceso de extracción. Antes de realizar la extracción por prensado en frío, se efectúa un tratamiento térmico para inactivar las enzimas presentes en la pipa de uva donde 30 g de semilla se incuban a 100°C por 20 minutos. Posteriormente en el tratamiento enzimático se ajusta el contenido en humedad hasta 60% b.s. app., disolviendo las enzimas en el agua necesaria para alcanzar dicha humedad. La hidrólisis enzimática se evalúa para razones E/S del 0,5 y 2% (p/p) b.s a una temperatura de 5°C por 4 horas. Para cada experiencia se prepara un control, el cual consiste en el mismo procedimiento sustituyendo la solución enzimática por agua. Previo al prensado, las semillas se secan en estufa a 105 °C hasta alcanzar un contenido en humedad cercana al

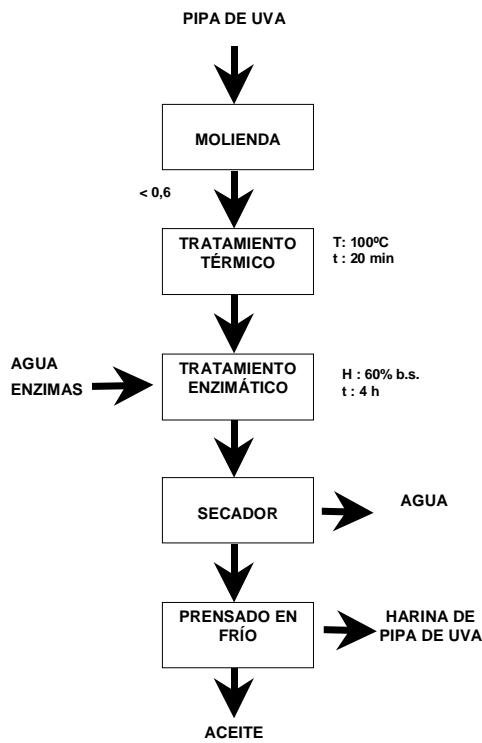


Figura 1

Diagrama de bloques del proceso propuesto para la extracción de aceite de pipsa de uva por prensado en frío

14% b.s que ha sido seleccionado como el más adecuado para la operación de prensado.

El prensado se realiza en una prensa hidráulica (Carver press, USA) bajo una presión de 39,2 MPa por 30 minutos. El aceite extraído se calcula por diferencia entre el contenido en aceite inicial y el remanente en la torta residual de prensado, el rendimiento de extracción se expresa en base al contenido inicial de aceite en la muestra.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La composición proximal de la pipsa de uva se presenta en la figura 2, donde se observa que fracciones presentan características diferentes según el tamaño de la partícula, destacando que la fracción menor a 0,6 mm, posee un alto contenido en aceite y bajo contenido en fibra cruda, a diferencia de la fracción entera (sin tamizar) que presenta un menor contenido en aceite y mayor contenido en fibra cruda. La diferencia en la composición puede ser explicada debido a que la cáscara de la pipsa de uva, que presenta un alto contenido en fibra, proporciona rigidez en la operación de molienda, generando partículas de tamaño mayor, las que son retenidas en el tamizado. La fracción de partículas menores a 0,6 mm proviene principalmente de la parte interna de la semilla, la que es menos rígida y proporciona partículas de menor tamaño, ricas en aceite.

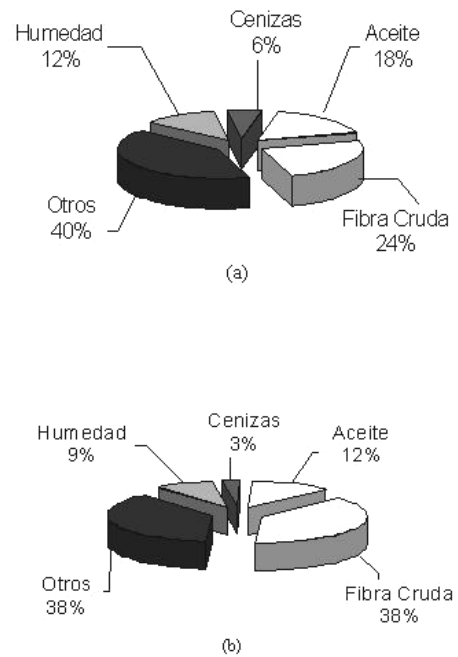


Figura 2

Composición proximal de la pipsa de uva. Fracción de tamaño de partícula menor a 0,6 mm de diámetro (a) y fracción entera sin tamizar (b).

En relación a la extracción del aceite, obviamente resulta más adecuado trabajar con la fracción más fina que por contener más aceite provocaría mejores rendimientos de extracción por prensado, esto ha sido validado en la extracción de aceite de pipsa de uva con y sin descascarado que varía entre el 30 y 15 % respectivamente (Rohne, 1971).

En la figura 3 se muestra el efecto de la humedad en la etapa de prensado sobre el rendimiento de extracción de aceite en muestras control que han sido pre-incubadas sin adición de enzima durante 4 horas a una temperatura de 50°C y 60% de humedad. El prensado se efectúa a una presión de 39,2 MPa durante 30 minutos. De este estudio resulta que para el $15 \pm 2\%$ b.s de humedad de prensado de las muestras control se obtiene una estabilización de su rendimiento de extracción de aceite del $57 \pm 3\%$ b.s, fuera de este rango la extracción de aceite es afectada negativamente. La humedad de prensado más adecuada depende del tipo de semilla (Vadke y Sosulski, 1988: Norris 1982): Con pipsa de uva descascarillada Rohne (1971) obtiene un rendimiento de extracción del 30% b.s para muestras con humedad de prensado entre 12 y 14 % b.s., valor sensiblemente menor al que resulta en los resultados de la figura 3 en tales condiciones, posiblemente la diferencia se deba a los diferentes equipos de extracción utilizados.

En la figura 4 se observa que al efectuar el tratamiento enzimático con una concentración del 2% b.s. (p/p) de enzimas, con humedad de prensado

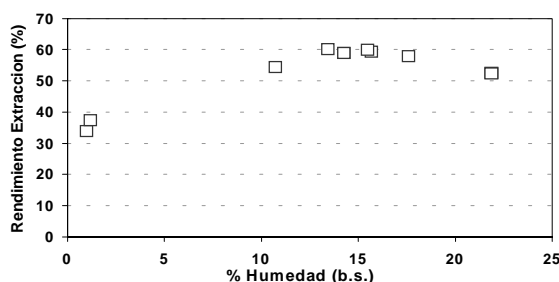


Figura 3
Efecto de la humedad de la muestra en el prensado sobre el rendimiento de extracción de aceite de pipa de uva. Pre-incubación a 50°C por 4 h; Prensado a 39,2 Mpa durante 30 min

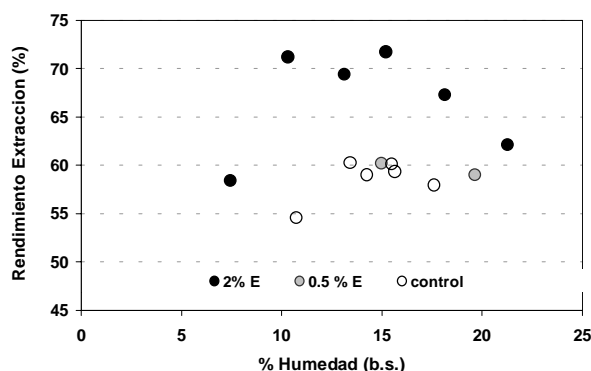


Figura 4
Efecto del tratamiento enzimático sobre el rendimiento de extracción de aceite de pipa de uva. Pre-incubación a 50°C por 4 h; Prensado a 39,2 Mpa durante 30 min

bordeando el 15%, se obtiene un rendimiento de extracción de aceite del 72%, lográndose un incremento del mismo de 26% al compararlo con las muestras control sin enzima bajo las mismas condiciones. Al utilizar un 0,5% b.s. (p/p) de enzimas, los rendimientos obtenidos son similares a los entregados por las muestras control mostrándose un efecto nulo de la acción enzimática.

Los resultados obtenidos en la figura 4 y los estudios descritos por (Zúñiga, 2001a; Zúñiga, 2001b) motivan a los autores recomendar un estudio más detallado que incluya evaluar otros parámetros y condiciones durante el tratamiento enzimático y el prensado, tales como tamaño de partícula y su nivel de descascarado; el tiempo de hidrólisis enzimática y la razón E/S entre 0,5 y 2%; temperatura y humedad de reacción, como también otras condiciones de prensado.

4. CONCLUSIONES

Basándose en los resultados obtenidos se puede concluir que la incorporación de enzimas, con una concentración de 2% (p/p) en base al sustrato, incre-

menta el rendimiento de extracción de aceite en aproximadamente 26% por sobre las muestras control. Se espera que este valor pueda ser mejorado al efectuar un estudio más detallado de efecto de los distintos parámetros que afectan el proceso.

AGRADECIMIENTOS

Proyecto Fondecyt N° 1000.300. Conicyt Chile

BIBLIOGRAFÍA

- Badr, F.H., Sitohy, M.Z. (1992) Optimizing conditions for enzymatic extraction of sunflower oil. *Grasas y Aceites*, **43** (5), 281-283.
- Bagchi, D., Garg, A., Krohn, R. L., Bagchi, M., Tran, M. X., Stohs, S. J. (1997) Oxygen free radical scavenging abilities of vitamins C and E, and a grape seed proanthocyanidin extract in vitro. *Res Commun Mol Pathol Pharmacol*, **95**, 89-179
- Barrios, V.A., Olmos, D.A., Noyola, R.A. López-Munguía, C.A. (1990) Optimization of an enzymatic process for coconut oil extraction. *Oleagineux*, **45**, 35-42.
- Bhatnagar, S. and Johari, B. N. (1987) Microbial enzymes in the processing of oil seeds. *Current Science*, **56** (15), 775-776.
- Bombardelli, E. y Morazzoni, P. (1995) *Vitis vinifera*: a review. *Fitoterapia*, **66**(4), 291-317
- Chamy, R., Domínguez, H., Franco, D., Lema, J. M., López-Munguía, A., Moure, A., Núñez, M.J., Santamaría, R. I., Sineiro, J., Soto, C., Zúñiga, M.E. (2001) Enzyme-aided alternative processes for the extraction of oil from *Rosa rubiginosa*. *J. Am. Oils Chem. Soc.* **78**, 437- 439.
- Che Man, Y.B., Suhardiyono, A., B., Asbi, A.B., Azudin, M.N., Wei, L.S. (1996) Aqueous enzymatic extraction of coconut oil. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **73** (6), 683-686.
- Domínguez, H., Nuñez, M.J., Lema, J.M. (1994) Enzymatic pretreatment to enhance oil extraction from fruits and oilseeds: A review. *Food Chem.* **49**, 271-286.
- Domínguez, H., Nuñez, M.J., Lema, J.M. (1995) Procesado acuoso de soja con tecnología enzimática: extracción de aceite y producción de aislados. *Grasas y Aceites*. **46**(1), 11-20.
- Freitas, S.P., Lago R.C.A., Jablonka, F.H., Hartman, L. (1993) Aqueous enzymatic extraction of avocado oil from fresh pulp. *Revue Francaise des Corps Gras*. **40**, 365-371.
- Freitas, S.P., Silva, F.C., Lago R.C.A., Couri, S. (1998) Efeito de enzimas hidrolíticas no comportamento reológico do óleo de palma cru. *Ciência Technol. Aliment.* **18**(1), 127-130.
- Hoffmann, G. (1989) The chemistry and technology of edible oils and fats and their high fat products. *Food Science and Technology, A Series of monographs*. p. 29-137. Academic Press Limited, London.
- Instituto Nacional de Normalización (INN), (1988a). Nch 485. Granos o semillas oleaginosas. Determinación del extracto al éter de petróleo denominado contenido de aceite.
- Instituto Nacional de Normalización (INN), (1988b). Nch 484. Granos o semillas oleaginosas. Determinación de la humedad y materias volátiles.
- Norris, F. A. (1982). Extraction of fats and oils. In: *Bailey's industrial oil and fat products*. **2**, p. 178-253, Swern, D. (Ed.) John Wiley and Sons Inc., Canada.
- Nunan, K. J., Sims, I. M., Bacic, A., Robinson, S. P., Fincher, G. B. (1997) Isolation and characterization of

- cell wall from the mesocarp of mature grape berries (*vitis vinifera*). *Planta.*, **203**, 93-100.
- Olsen, H. S. (1988) Aqueous enzymatic extraction of oil from seeds. In: *Asian Food Conference Proceedings*, Bangkok, Thailand. Reprinted by: Novo Industry A/S, A-06041a.
- Padley, F.B., Gunstone, F. D., Harwood, J.L. (1994) Occurrence and characteristics of oils and fats. In: *The Lipid Handbook*. 2nd edition, p.88-113. Gunstone, F., D., Harwood, J., L., Padley, F., B (Eds). Chapman & Hall, London.
- Rapport, L., Pharm, B., Pharm, M., Lockwood, B. (2001) Proanthocyanidins and grape seed extract. *The pharmaceutical journal*. **266**, 581 – 584.
- Ronhe, G. (1971) Extracción del aceite de granilla de uva. *Grasas y Aceites.*, **22**(5), 393-400.
- Rosenthal, A., Pyle, D.L., Niranjana, K. (1996) Aqueous and enzymatic processes for edible oil extraction. *Enzyme Microb. Technol.* **19**(11), 402-420.
- Sengupta, R., Bhattacharyya, D.K. (1996) Enzymatic extraction of mustard seed and rice bran. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **73** (6), 687-692.
- Smith, D.D., Agrawal, Y.C., Sarkar, B.C. y Snigh, B.P. (1993) Enzymatic hydrolysis pretreatment for mechanical expelling of soybeans. *Journal American Oil Chemistry Society.*, **70** (9), 885-890.
- Sosulski, K., Sosulski, F. W. y Coxworth, E. (1988) Carbohydrase hydrolysis of canola to enhance oil extraction with hexane. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **65**, 357-361.
- Sosulski, K., Sosulski, F.W. (1993) Enzyme- aided vs. Two-stage processing of canola: Technology, product quality and cost evaluation. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **70** (9), 825-829.
- Tano-Debrah, K. Ohta, Y. (1995). Enzyme-assisted aqueous extraction of shea fat: A rural approach. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **72** (2), 251-256.
- Tano-Debrah, K. Ohta, Y. (1997) Aqueous extraction of coconut oil by an enzyme-assisted process. *J. Sci. Food. Agric.* **74**, 497-502.
- Zúñiga, M. E., Chamy, R., Dominguez, H., Nuñez M.J., Lema, J.M. (1995) Enzymatic Treatment to Improve Sunflower and Rapeseed Oil Production by Pressing. *Alimentación, Equipos y Tecnología.*, **4**, 43-46.
- Zuñiga, M.E., Concha J, Soto C., Chamy R. (2001a) Enzyme Formulation Effect of the Rosehip Oil Cold-Pressed Extraction Process. In: *Proceedings of the World Conference and Exhibition on Oilseed Processing and Utilization* p. 210 – 213, (R.F. Wilson, ed.) AOCS Press, Champaign, IL, USA .
- Zuñiga, M.E, Chamy, R, Lema J.M. (2001b) Canola and Chilean Hazelnut Products Obtained by Enzyme-Assisted Cold-Pressed Oil Extraction. In: *Proceedings of the World Conference and Exhibition on Oilseed Processing and Utilization* p.203 – 209, (R.F. Wilson, ed.) AOCS Press, Champaign, IL, USA

Recibido: Noviembre 2001
Aceptado: Septiembre 2002