

Contenido de polifenoles y actividad antioxidante de extractos de semilla de uva (*Vitis vinifera*) variedad Malvasia y Tempranillo

Polyphenols content and antioxidant activity of grape seed extract (*Vitis vinifera*) malvasia and tempranillo variety

M. Berradre, C. González, B. Sulbarán y V. Fernández

Laboratorio de Alimentos. Departamento de Química. Facultad Experimental de Ciencias. Universidad del Zulia. Apartado postal 526. Maracaibo. Venezuela.

Resumen

El estudio de componentes funcionales en semillas de uva y sus posibles beneficios a la salud representa el mayor aporte en esta investigación, aprovechando de esta manera un desecho agroindustrial. De acuerdo a importantes estudios la semilla de uva presenta metabolitos secundarios como los polifenoles, considerados como antioxidantes con comprobados beneficios a la salud como limpiadores de radicales e inhibidores de la peroxidación de lípidos. Los objetivos de la investigación fueron optimizar el tiempo de extracción para la obtención de extractos hidrofílicos y determinar el contenido de compuestos polifenólicos y la actividad antioxidante de semillas de uva de las variedades Malvasia y Tempranillo. Los extractos fueron obtenidos mediante el método Soxhlet empleando una mezcla metanol:agua:ácido acético (90,00:9,50:0,50% v/v) y tres tiempos de extracción: 7, 8 y 9 horas. El contenido de polifenoles totales fue determinado empleado el método Folin Ciocalteu y la actividad antioxidante fue evaluada por el método de decoloración del catión radical 2,2'-azino-bis-3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid (ABTS•+), empleando Trolox como estándar de referencia. El máximo rendimiento se obtuvo a las 8 horas de extracción con valores de 5,77 y 6,01% g.100g⁻¹ para variedad Malvasia y Tempranillo, respectivamente. La concentración de compuestos fenólicos fue de 1.534,85 y 1.048,59 mg GAE.100g⁻¹ de muestra para

las variedades Malvasía y Tempranillo. La actividad antioxidante para el extracto de la variedad Malvasía fue 54,51 mmol TEAC.100g⁻¹ de muestra y 48,46 mmol TEAC.100g⁻¹ de muestra para la variedad Tempranillo. Los resultados indican que los extractos de semillas de uva son una fuente potencial de antioxidantes y compuestos polifenólicos que pueden ser utilizados en el sector alimentos y salud.

Palabras clave: metabolitos secundarios, extracción, uva.

Abstract

The study of functional components in grape seed and its potential health benefits represents the greatest contribution in this research, thus taking advantage of an agro-industrial waste. According to important studies grape seed presents secondary metabolites such as polyphenols, antioxidants considered proven health benefits as radical scavengers and inhibitors of lipid peroxidation. The objectives of this research were to optimize the extraction time to obtain hydrophilic extracts and to determine the content of polyphenolic compounds and antioxidant activity of grape seed varieties Malvasía and Tempranillo. The extracts were obtained by Soxhlet method using a methanol:water:acetic acid (90,00:9,50:0,50) and three extraction times: 7, 8 and 9 hours. The total polyphenol content was determined by the Folin Ciocalteu method and antioxidant activity was evaluated by the method of radical cation discoloring of 2,2'-azino-bis-3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid (ABTS • +), using Trolox as a reference standard. The maximum yield was obtained at 8 hours extraction with values of 5.77 and 6.01% p.p⁻¹ for the Malvasia and Tempranillo variety respectively. The concentration of phenolic compounds was 1.534.85 and 1.048.59 GAE.100g⁻¹ mg sample for the Malvasia and Tempranillo variety respectively. The antioxidant activity for the extract of the Malvasia variety was 54.51 mmol TEAC.100g⁻¹ of sample and 48.46 mmol TEAC.100g⁻¹ sample for the Tempranillo variety. The results suggest that grape seed extracts are a potential source of antioxidants and polyphenolic compounds that can be used in the food and health industry.

Key words: secondary metabolites such, extraction, grape.

Introducción

Los productos alimenticios vegetales aportan gran variedad de compuestos biológicamente activos llamados metabolitos secundarios, los cuales poseen comprobada actividad antioxidante, antitumoral y propiedades inmuno-estimulantes (Craig, 1999). En los últimos años se ha prestado es-

Introduction

Vegetal food products provide a huge variety of biological active compounds called secondary metabolites, which have a known and proved antioxidant, anti-tumor activity and immune-stimulator properties (Craig, 1999). In the last years, special attention has been paid on a specific

pecial atención a una clase específica de metabolitos secundarios, como los polifenoles, que son sustancias que están naturalmente presentes en prácticamente todos los materiales vegetales, cereales y frutas, así como sus derivados, tales como el vino y la sidra (Alonso *et al.*, 2002; Skrede y Wrolstad, 2002).

Las propiedades antioxidantes que presentan los polifenoles son de gran interés en la industria de alimentos por ser útiles como preservantes y mucho más si provienen de una fuente natural y económica. Los extractos de plantas pueden mostrar propiedades antioxidantes, debido a su contenido de polifenoles (Shaker, 2006). Se sabe que parte del deterioro en la mayoría de los productos alimenticios y las células en el organismo humano se debe a la peroxidación de lípidos, este proceso complejo, que ocurre en células aerobias, refleja la interacción entre radicales libres y ácidos grasos poliinsaturados (Singh *et al.*, 2002; Yadegarinia *et al.*, 2006).

En los últimos años se han comprobado los beneficios que los polifenoles pueden proporcionar a la salud, los antioxidantes actúan como limpiadores de radicales, inhiben la peroxidación de lípidos y otros procesos que incluyen radicales libres, por lo tanto, ellos pueden proteger el organismo contra varias enfermedades atribuidas a las reacciones de los radicales (Shaker, 2006; Craig, 1999).

Las semillas de uva son una rica fuente de compuestos fenólicos monoméricos como el ácido gálico, la catequina, la epicatequina y la galocatequina, y también contienen oligómeros como las procianidinas y las

type of secondary metabolites, such as polyphenols, which are substances that are naturally present in practically all the vegetal materials, cereals and fruits, as well as their derivatives, such as wine and cider (Alonso *et al.*, 2002; Skrede and Wrolstad, 2002).

The antioxidant properties presented by the polyphenols are of great interest for the food industry by being useful as preservatives, even more if these come from a natural and economic source. The extracts of plants can show antioxidant properties, due to their polyphenols content (Shaker, 2006). It is known that part of the deterioration in most of the food products and the cells in the human organism is due to the peroxidation of lipids, this complex process, which occurs in aerobic cells, reflects the interaction among free radicals and poly-unsaturated fatty acids (Singh *et al.*, 2002; Yadegarinia *et al.*, 2006).

In the last years, the benefits of the polyphenols on the health have been tested, the antioxidants acts as radical scavengers, inhibit the peroxidation of lipids and other processes that include free radicals, therefore, these can protect the organism against diseases attributed to the reactions of the radicals (Shaker, 2006; Craig, 1999).

The grapes seeds are an excellent source of monomeric phenolic compounds such as gallic acid, the catechin, epicatechin and the galocatechin, and these also contain oligomers such as procyanidins and the anthocyanins (Saito *et al.*, 1998; Morales *et al.*, 2003; Nawaz *et al.*, 2006). The

antocianidinas (Saito *et al.*, 1998; Morales *et al.*, 2003; Nawaz *et al.*, 2006). Los extractos de semillas de uva presentan propiedades contra la oxidación de la lipoproteína de baja densidad (Mayer *et al.*, 1997; Craig, 1999, Shaker, 2006).

En el estado Zulia, específicamente en Mara, se cultivan principalmente las variedades Malvasía (Blanca) y Tempranillo (Tinta) para la elaboración de jugos y vinos. Producto del proceso de vinificación se genera gran cantidad de desechos, constituidos principalmente por semillas y piel de las uvas. Con ésta investigación se pretende primero utilizar estos desechos para disminuir la contaminación generada por la falta de disposición de los mismos, por ello surge la necesidad de convertir estos desechos agroindustriales en un producto útil y de mayor valor agregado (Jurado *et al.*, 2003), segundo se estarían ahorrando divisas para el país, al no importar extractos de semillas de uvas para aplicaciones farmacológicas y cosmetológicas, sino obtener los extractos a partir de un subproducto del proceso de vinificación generado en el país, y tercero se estaría obteniendo un antioxidante natural con posibles aplicaciones en la industria de alimentos como preservantes (Bail *et al.*, 2008).

Los objetivos de la investigación fueron optimizar el tiempo de extracción para la obtención de extractos hidrofílicos y determinar el contenido de compuestos fenólicos y la actividad antioxidante de semillas de uva de las variedades Malvasía y Tempranillo.

extracts of the grape seeds present properties against the oxidation of the low density lipoprotein (Mayer *et al.*, 1997; Craig, 1999, Shaker, 2006).

The varieties Malvasía (White) and Tempranillo (Red) are mainly cropped in Zulia, specifically in Mara, for the elaboration of juices and wines. Product of the wine-making process, a huge quantity of waste is generated, mainly constituted by seeds and the peels of the grapes. This research intends to use these wastes to reduce the pollution generated by the lack of availability of these; therefore, there is a need to reform these agro-industrial wastes into an useful product with more aggregate value (Jurado *et al.*, 2003); also, doing this, the producers will be saving the country some money because there will not be any need to import grape seeds for pharmacy or cosmetic use, but all the extracts will be extracted after a sub-product of the wine-making process generated in the country, and last but not least, a natural antioxidant will be extracted with possible applications on the food industry as preservatives (Bail *et al.*, 2008).

The objectives of this research were to optimize the extraction time for the obtaining of hydrophilic extracts and to determine the content of phenolic compounds and the antioxidant activity of grape seeds of the varieties Malvasía and Tempranillo.

Materiales y métodos

Recolección de la muestra y muestreo. Se recolectaron semillas de uva (*Vitis vinifera*), de las variedades Malvasía y Tempranillo procedentes del Centro Socialista de Investigación y Desarrollo Vitivinícola (CESID-Vitícola) de CORPOZULIA, ubicado en el municipio Mara del estado Zulia. Las muestras se recolectaron en el mes de enero del año 2008. Se tomaron muestras, de semilla de uva con piel para cada variedad, de aproximadamente 12 kg. En el caso de la variedad Tempranillo la recolección de muestras se realizó posterior al proceso de maceración (aproximadamente 8 días). El muestreo se realizó de forma sistemática (Cámara *et al.*, 2004).

Tratamiento de la muestra. El tratamiento previo de la semilla para la obtención del extracto de semilla de uva se realizó de acuerdo a la metodología propuesta por Arveláez *et al.* (2003), para ello se procedió a separar las semillas de la piel (epicarpio de la uva) y otras impurezas. Una vez realizado el tratamiento, las semillas fueron secadas bajo campana a temperatura ambiente durante 8 días, para posteriormente ser procesadas en un molinillo mecánico y tamizadas (tamiz de 20 mesh con apertura de 850 μm). Las muestras (polvo de las semillas) fueron almacenadas en bolsas de polietileno a -5°C hasta su análisis.

Extracción. Para la obtención del extracto de semillas de uva se realizó un desgrasado previo del polvo de las semillas de acuerdo a lo recomendado por Jayaprakasha *et al.* (2003). El método consistió en realizar una extracción sólido-líquido utilizando éter de

Materials and methods

Collection of the sample and sampling. Grape seeds were collected (*Vitis vinifera*), of the varieties Malvasía and Tempranillo, coming from the Socialist Center of Research and Wine Development (CESID-Vitícola) of CORPOZULIA, located on Mara county, Zulia state. The samples were collected on January 2008. Samples were taken from seeds of grapes with skin for each variety of approximately 12 kg. In the case of the Tempranillo variety, the collection of the samples was done after the maceration process (approximately 8 days). The sampling was done systematically (Cámara *et al.*, 2004).

Treatment of the sample. The prior treatment of the seed for the obtaining of the grape seed extract was done according to the methodology proposed by Arveláez *et al.*, (2003), for this, it was proceeded to divide the seeds from the skin (epicarp of the grape) and other impurities. Once done the treatment, the seeds were let dried in a temperature chamber for 8 days, subsequently, were processed into a mechanical grinder and sift (20- mesh sieve with an aperture of 850 μm). The samples (dust of the seeds) were stored into polyethylene bags at -5°C until their analysis.

Extraction. For the obtaining of the grape seeds extract, an initial degreasing of the seeds dust was performed according to the recommended by Jayaprakasha *et al.* (2003). The method consisted of extracting the solid-liquid using oil ether (Riedel Haën, Germany) as an organic dissolvent for 6 hours. Once

petróleo (Riedel Haën, Alemania) como disolvente orgánico durante un periodo de tiempo de 6 horas. Una vez desgrasada la muestra, se realizó una extracción sólido-líquido en un equipo Soxhlet empleando como solvente una mezcla metanol:agua:ácido acético (90,00:9,50:0,50% v/v) según lo reportado por Jayaprakasha *et al.* (2003). Se procesaron tres muestras de $50,00 \pm 0,01$ g y se evaluaron tres tiempos de extracción (7, 8 y 9 horas) con la finalidad de obtener el mejor rendimiento. La temperatura de extracción fue de $65 \pm 2^\circ\text{C}$ y el flujo del solvente 30 gotas por minuto. Una vez obtenido el extracto, se destiló a una temperatura de 38°C , en un evaporador rotatorio (marca BUCHI modelo R-124) para eliminar el exceso de solvente. El extracto obtenido fue almacenado en frascos de vidrio color ámbar en atmósfera de N_2 inerte a temperatura ambiente 25°C hasta su posterior análisis.

Determinación de los compuestos polifenólicos totales y la actividad antioxidante del extracto de semillas de uva. Se pesaron 50 mg del extracto y se disolvieron en 10 mL de una mezcla de acetona:agua (6:4% v/v) según lo indicado por Jayaprakasha *et al.* (2003), el residuo obtenido fue utilizado para la evaluación del contenido de polifenoles totales y la actividad antioxidante de los extractos. El contenido de polifenoles totales se determinó de acuerdo a lo indicado por Amerine y Ought (1976), empleando un espectrofotómetro CaryUV-50 VARIAN (Mulgrave, Victoria, Australia). Los resultados fueron expresados en miligramos equivalentes de ácido gálico (GAE) por cada 100 gramos de muestra.

degreased the sample, a solid-liquid extraction was carried out in a Soxhlet equipment, using as a solvent a mix methanol:water:acetic acid (90.00:9.50:0.50% v/v) according to the reported by Jayaprakasha *et al.* (2003). Three samples of 50.00 ± 0.01 g were processed and three extraction times were evaluated (7, 8 and 9 hours) with the aim of obtaining the best yield. The extraction temperature was of $65 \pm 2^\circ\text{C}$ and the flow of the solvent of 30 drops per minute. Once obtained the extract, it was distilled at a temperature of 38°C in a rotator evaporator (brand BUCHI, model R-124), in order to eliminate the excess of the solvent. The extract obtained was stored into amber glass jars in an atmosphere of inert N_2 at an environment temperature of 25°C until its posterior analysis.

Determination of total polyphenolic compounds and the antioxidant activity of the grape seeds extract. 50 mg of the extract was extracted and dissolved in 10 mL of an acetone:water mix (6:4% v/v) according to Jayaprakasha *et al.* (2003), the residue obtained was used for evaluating the content of total polyphenols and the antioxidant activity of the extracts. The content of total polyphenols was determined according to the indicated by Amerine and Ought (1976), using a spectrophotometer CaryUV-50 VARIAN (Mulgrave, Victoria, Australia). The results were expressed in milligrams equal to gallic acid (GAE) for each 100 grams of the sample.

The determination of the antioxidant activity of the extract was carried out by the meted ABTS reported Miller *et al.* (1993) and Rice-

La determinación de la actividad antioxidante de los extractos se realizó por el método ABTS reportado por Miller *et al.* (1993) y Rice- Evans *et al.* (1994) empleando como estándar de referencia TROLOX (Calbiochem, Dinamarca) el cual fue empleado en las mismas condiciones establecidas para las muestras. Los resultados fueron expresados en actividad antioxidante equivalente a TROLOX (TEAC).

Diseño estadístico. El ensayo se realizó con un diseño experimental completamente aleatorizado de mediciones repetidas. Los datos obtenidos se procesaron estadísticamente con el programa estadístico SAS versión 9.1 (Statistical Analysis System, 2001). Para la evaluación de diferencias significativas entre los resultados obtenidos para la determinación del mejor rendimiento con respecto al tiempo de extracción, se empleó la prueba de rangos múltiples de Tukey ($\alpha:0,05$).

Resultados y discusión

Rendimientos obtenidos del extracto de semillas de uva variando el tiempo de extracción. Los resultados para la determinación del mejor rendimiento de extracto de semillas de uva variando el tiempo de extracción se muestran en el cuadro 1.

Los valores de rendimiento obtenidos para ambas variedades se encuentran en el rango de 5,07 y 6,02% g.100⁻¹. El resultado del análisis estadístico señaló que existen diferencias significativas entre el rendimiento del extracto obtenido con 7 horas y los rendimientos de los extractos obtenidos con 8 y 9 horas de extracción para la variedad Tempranillo, no existiendo

Evans *et al.* (1994) employing as reference pattern TROLOX (Calbiochem, Denmark) which was used on the same conditions established for the samples. The results were expressed into antioxidant activity equal to TROLOX (TEAC).

Statistical design. The research was carried out in a randomized design with replications. The data obtained was processed statistically using the statistic package SAS version 9.1 (Statistical Analysis System, 2001). For the elaboration of the significant differences among the results obtained for the determination of a better yield, in relation to the extraction time, the Tukey's multiple rank test was used ($\alpha:0.05$).

Results and discussion

Yields obtained from the grape seeds varying the extraction time. The results for the determination of the best yield of the grape seeds with variations in the extraction time are shown on table 1. The yield values obtained for both varieties are on the rank from 5.07 and 6.02% g.100⁻¹. The result of the statistical analysis stated that there are significant differences between the yield of the extract obtained within 7 hours, and the yields of the extracts obtained within 8 and 9 hours of extraction for the Tempranillo variety, without significant differences among the last ones, therefore it was decided to work with the extraction time of 8 hours, to which was obtained the highest extraction yield, and at the

Cuadro 1. Rendimiento de los extractos de semillas de uva (*Vitis vinifera*) (% p.p⁻¹) de la variedad Malvasía y Tempranillo obtenidos a diferentes tiempos de extracción (horas).

Table 1. Yield of grape seeds extract (*Vitis vinifera*) (% p.p⁻¹) of the variety Malvasía and Tempranillo obtained at different extraction times (hours).

| Tiempo de extracción (Horas) | Rendimiento (% g.100g ⁻¹) | |
|------------------------------|---------------------------------------|------------------------|
| | Variedad Malvasía | Variedad Tempranillo |
| 7 | 5,70±0,02 ^a | 5,07±0,09 ^b |
| 8 | 5,77±0,04 ^a | 6,01±0,07 ^a |
| 9 | 5,77±0,07 ^a | 6,02±0,04 ^a |

X ± DE de un triplicado

^a^bíndices de Tukey (α :0,05)

diferencias significativas entre estos últimos, por lo que se optó trabajar con el tiempo de extracción de 8 horas, con el cual se obtuvo el mayor rendimiento de extracción y a su vez involucra una disminución de costos de operatividad. Los rendimientos de los extractos de la variedad Malvasía no presentaron diferencias significativas con el tiempo, sin embargo, se utilizó el tiempo de extracción de 8 horas para mantener la igualdad en las condiciones de extracción empleadas para ambas variedades.

El rendimiento en la obtención del extracto de semillas de uva en esta investigación son similares a los obtenidos por Jayaprakasha *et al.* (2003), quienes señalan rendimientos entre 5 y 6% g.100⁻¹ empleando diferentes mezclas de solventes. Baydar *et al.* (2007), reportaron rendimientos en el rango de 15 y 16% g.100⁻¹ para extractos obtenidos utilizando acetato de etilo:metanol:agua (60:30:10% v/v)

same time it involves a reduction of the operation costs. Yields of the extracts Malvasía, did to present significant differences with the time, however, the extraction time of 8 hours was used to keep the equality in the extraction conditions employed for varieties.

The yield in the obtaining of grape seeds extract in this research is similar to the ones presented by Jayaprakasha *et al.* (2003), who mention yields from 5 to 6% g.100⁻¹ employing different mixes of solvents. Baydar *et al.* (2007), reported yields in the rank from 15 to 16% g.100⁻¹ for extracts obtained, using ethyl:methanol:water acetate (60:30:10% v/v) as dissolvent mix and 8 extracting hour; this differences between the yields reported indicate that the yield of the grape seed extracts depend on the solvent used for the extraction.

Total polyphenols of the grape seeds extract. In table 2 are shown the results of the evaluation of

como mezcla de disolventes y 8 horas de extracción; esta disparidad entre los rendimientos reportados indica que el rendimiento de los extractos de semillas de uva dependen del solvente utilizado para la extracción.

Polifenoles totales de los extractos de semillas de uvas. En el cuadro 2 se muestran los resultados de la evaluación del contenido de compuestos fenólicos totales en las muestras analizadas.

El contenido de compuestos polifenólicos totales en los extractos de semillas de uva de la variedad Malvasía fue de 1.534,85 mg GAE.100g⁻¹ de muestra y para la variedad Tempranillo fue de 1.048,59 mg GAE.100g⁻¹ de muestra. Los valores obtenidos para el contenido de compuestos polifenólicos totales está en el intervalo señalado por Guendez *et al.* (2005), quienes analizaron extractos de semillas de uva (*Vitis vinifera*) de nueve variedades tintas, la variedad que mostró la menor concentración de compuestos polifenólicos totales fue la Xinomavro con 143,00 mg GAE.100g⁻¹ de semillas y el mayor valor se observó en la variedad Mandilaría con 2.228,00 mg GAE.100g⁻¹ de semillas.

Cuadro 2. Contenido de compuestos polifenólicos totales en extracto de semillas de uva (*Vitis vinifera*) de las variedades Malvasía y Tempranillo.

Table 2. Total polyphenolic compounds content in grape seeds extract (*Vitis vinifera*) of the varieties Malvasía and Tempranillo.

| Variedad | Polifenoles totales (mg GAE.100 ⁻¹ g de muestra) |
|-------------|-------------------------------------------------------------|
| Malvasía | 1.534,85±2,34 |
| Tempranillo | 1.048,59±2,36 |

X ± DE de 9 determinaciones

the total phenolic compounds content in the analyzed samples.

The content of the total polyphenolic compounds in the grape seeds extracts of the Malvasía variety was of 1.534,85 mg GAE.100g⁻¹ of sample, and for the variety Tempranillo was of 1.048,59 mg GAE.100g⁻¹ of the sample. The values obtained for the content of total polyphenolic compound is in the interval mentioned by Guendez *et al.* (2005), who analyzed grape seeds extracts (*Vitis vinifera*) of nine tinted varieties, the variety which showed the lowest concentration of total polyphenolic compounds was Xinomavro with 143.00 mg GAE.100g⁻¹ of seeds, and the highest value was observed in the Mandilaría variety with 2.228,00 mg GAE.100g⁻¹ of seeds.

The results of this research are also comparable to the ones obtained by Paladino and Zuritz, 2011, who obtained 1.258,7 mg GAE.100g⁻¹ of seeds of the tinted grape variety Cabernet Sauvignon, in spite of obtaining the extracts with water at 90°C as extraction solvent. Padilla *et al.*, 2008, analyzed the phenolic compound content of seeds and/or pericarps of:

Los resultados de la investigación también son comparables con los obtenidos por Paladino y Zuritz, 2011, quienes obtuvieron 1.258,7 mg GAE.100g⁻¹ de semillas de la variedad de uva tinta Cabernet Sauvignon, a pesar de obtener los extractos con agua a 90°C como solvente de extracción. Padilla *et al.*, 2008 analizaron el contenido de compuestos fenólicos de semillas y/o pericarpios de: *Theobroma cacao* (cacao), *Campsiandra comosa Benth* (chiga), *Sorghum bicolor*, L. Moench (sorgo), *Melicoccus bijugatus* (mamón), presentando el pericarpio del mamón el más bajo contenido de compuestos fenólicos de 1.400 mg GAE. 100g⁻¹ y el cacao el más alto contenido de compuestos fenólicos 6.660 mg GAE. 100g⁻¹, resultados comparables con los obtenidos en este estudio.

La variabilidad observada en el contenido de compuestos polifenólicos de las semillas de uva (*Vitis vinifera*) variedad Malvasía y Tempranillo se atribuye a diferentes factores tales como, el potencial genético de plantas para biosintetizar los polifenoles y el estado de madurez de la fruta de uva, el cual se ha demostrado afecta el contenido de polifenoles haciendo que este varíe significativamente de una temporada a otra, así mismo destacan el tipo de clima, el terreno y las prácticas de manejo agronómico aplicadas al cultivo (Infante, 1997; De Freitas *et al.*, 1998; Guendez *et al.*, 2005).

Otro factor que puede influir en el contenido de compuestos polifenólicos en los extractos de semillas de uva (*Vitis vinifera*) de las variedades estudiadas es el proceso de maceración que se realiza para la formulación de los vinos de variedades

Theobroma cacao (cacao), *Campsiandra comosa Benth* (chiga), *Sorghum bicolor*, L. Moench (sorghum), *Melicoccus bijugatus* (mamón), presenting the pericarp of *Melicoccus bijugatus* the lowest content of phenolic compounds of 1.400 mg GAE. 100g⁻¹ and the cacao, the highest content of phenolic compounds 6.660 mg GAE. 100g⁻¹, this results are compared to the ones obtained in the current research.

The variability observed on the polyphenolic compounds content of the grape seeds (*Vitis vinifera*) of the variety Malvasía and Tempranillo, is attributed to different factors such as, the genetic potential of the plants to bio-synthesize the polyphenols and the maturity phase of the grape fruit, which is proved it affects the polyphenols content producing that this varies significantly from season to season, likewise, are outstanding the type of weather, land and the agronomy handle practice applied to the crop (Infante, 1997; De Freitas *et al.*, 1998; Guendez *et al.*, 2005).

Another factor that might influence the content of polyphenolic compounds in the grape seeds extracts (*Vitis vinifera*) of the varieties studied, is the maceration process done for formulating the wines of red varieties, such as Tempranillo, since the maceration makes a direct contact with the seeds and the grape wort, the last one might be acting as a solvent extracting polyphenolic compounds from the seeds and the skin, which gives the red wines a higher polyphenolic content, leaving aside the seeds with lower quantity of polyphenols (Darías-Martín *et al.*, 2000).

Antioxidant activity of the grape seeds extracts. The evaluation

tintas como el Tempranillo, ya que la maceración pone en contacto las semillas con el mosto de uva, pudiendo estar actuando éste último como solvente extrayendo compuestos polifenólicos de las semillas y de la piel, lo que le confiere a los vinos tintos un mayor contenido de polifenoles, quedando las semillas con menor cantidad de polifenoles (Darías-Martín *et al.*, 2000).

Actividad antioxidante de los extractos de semillas de uva. Los resultados de la evaluación de la actividad antioxidante en los extractos de semillas se muestran en el cuadro 3.

Los resultados de la actividad antioxidante para ambos extractos fueron superiores a la actividad antioxidante de la pulpa de uva y semillas de uva reportados por Pérez-Jiménez *et al.*, (2008), quienes indican valores promedios de 12,44 mmol TEAC.100 g⁻¹ de pulpa y 3 a 6 mmol TEAC. 100g⁻¹ de semillas secas, respectivamente.

Es importante indicar que la actividad antioxidante en un material de origen vegetal no viene dada sólo por la suma de las capacidades antioxidantes de cada componente, también depende

results of the antioxidant activity in the seeds extracts are shown on table 3.

The results of the antioxidant activity for both extracts were superior to the antioxidant activity of the grape pulp and the grape seeds reported by Pérez-Jiménez *et al.* (2008), who indicate average values of 12.44 mmol TEAC.100 g⁻¹ of the pulp and 3 to 6 mmol TEAC 100g⁻¹ of dry seeds, respectively.

It is important to indicate that the antioxidant activity in a vegetal material is not only the sum of the antioxidant capacities of each component, it also depends of the micro-environment where the compound is located, with possible interactions in between, thus producing synergic or inhibitory effects (Muñoz *et al.*, 2007), however, it can be indicated that the highest part of the antioxidant activity is related to the high concentration of polyphenols (Baydar *et al.*, 2007), which was also observed in this research for the extracts obtained from both varieties of the grape.

Conclusions

The best yields of the grape seeds extracts of the varieties Malvasía and

Cuadro 3. Actividad antioxidante del extracto de semillas de uva (*Vitis vinifera*) de las variedades Malvasía y Tempranillo.

Table 3. Antioxidant activity of the grape seeds extract (*Vitis vinifera*) of the varieties Malvasía and Tempranillo.

| Variedad | AA (mmol TEAC.100 ⁻¹ g de muestra) |
|-------------|-----------------------------------------------|
| Malvasía | 56,5±0,02 |
| Tempranillo | 48,06±0,02 |

X ± DE de 9 determinaciones

del microambiente en el que se encuentran el compuesto, pudiendo interactuar entre sí, produciéndose efectos sinérgicos o inhibitorios (Muñoz *et al.*, 2007), sin embargo, se puede indicar que la mayor parte de esta actividad antioxidante está directamente relacionada con la alta concentración de polifenoles (Baydar *et al.*, 2007), lo cual también fue observado en esta investigación para los extractos obtenidos de ambas variedades de uva.

Conclusiones

Los mejores rendimientos de extractos de semillas de uva para las variedades Malvasía y Tempranillo se obtuvieron para el tiempo de 8 horas.

El extracto de semillas de uva de la variedad Malvasía presentó mayor contenido de polifenoles y actividad antioxidante que el extracto de semillas de la variedad de Tempranillo.

Agradecimientos

Los autores agradecen al Centro Socialista de Investigación y Desarrollo Vitivinícola (CESID-Vitícola) del estado Zulia por el asesoramiento y el suministro de las muestras para el desarrollo de esta investigación.

Literatura Citada

- Alonso, A., D. Guillen, C. Barroso, B. Puertas y A. García. 2002. Determination of antioxidant activity of wine byproducts and its correlation with polyphenolic content. *J. Agr Food Chem.* 50:5832-5836
- Amerine, M. y C. Ough. 1976. Análisis de vino y mostos. Zaragoza, España. Editorial Acirbia. pp. 90-91
- Tempranillo were obtained within 8 hours.
- The grape seeds extracts of the variety Malvasía had the highest content of polyphenols and antioxidant activity than the seeds extract of the Tempranillo variety.
- ## Acknowledgments
- The authors thank the Socialist Center of Beekeeping Research and Development (CESID-Vitícola) of Zulia state, for their consulting and supply of samples for carrying out this research.
- End of english version*
-
- Arvelález, A., A. Mieres y C. Hernández C. 2003. Diseño experimental aplicado a la extracción de aceite de la almendra de corozo (*Acrocomia aculeata*). *Rev. Fac. Agron. (LUZ)*, 20:174-175
- Baydar, N., G. Ozkan y S. Yasar. 2007. Evaluation of the antiradical and antioxidant potencial of grape extracts. *Food Control*, 18:1131-1136
- Bail, S., G. Stuebiger, S. Krist, H. Unterweger and G. Buchbauer. 2008. "Characterisation of various grape seed oils by volatile compounds, triacylglycerol composition, total phenols and antioxidant capacity". *Food Chemistry*. 108; 1122–1132.
- Cámara, C., P. Fernández, A. Martín-Esteban, C. Pérez-Conde y M. Vidal. 2004. Toma y tratamiento de muestras. Primera Reimpresión. Madrid, España. Editorial Síntesis 114
- Craig, W. 1999. Helth-promotingproperties of common herbs. *Am J Clin Nutr.*, 70: 491-495
- Darías-Martín, J., O. Rodríguez, E. Díaz y R. Lamuela-Raventos. 2000. Effect of skin contacto on the antioxidant phenolics in White wine. *Food Chem.*, 71: 483-487

- De Freitas, V., Y. Glories, G. Bourgeois y C. Vitry. 1998. Characterisation of oligomeric and polymeric procyanidins from grape seeds by liquid secondary ion mass spectrometry. *Phytochemistry*. 49:1435-1441
- Guendez, R., S. Kallithraka, D. Makris y P. Kefalas. 2005. Determination of low molecular weight polyphenolic constituents in grape (*Vitis vinifera* sp.) seed extracts: correlation with antiradical activity. *Food Chem.*, 89:1-9
- Infante, R. 1997. Polifenoles del vino y oxidabilidad de las lipoproteínas. *Clínica e Investigación en Arterioesclerosis.*, 9:19-22
- Jayaprakasha, G., T. Selvi y K. Sakariah. 2003. Antibacterial and antioxidant activities of grape (*Vitis vinifera*) seed extracts. *Food Res Int.*, 36:117-122
- Jurado, P., J. Mutuberría, N. Oliver, R. Charadia, S. Bruhly N. Garcia. 2003. "Diseño de un proceso de aprovechamiento integral de residuos agroindustriales". *Jornadas SAM/CONAMET/ Simposio Materia*. 17; 1118-1121
- Mayer, A., Y. Ock- Soo, D. Person, A. Waterhouse y E. Frankel. 1997. Inhibition of human low-density lipoproteína oxidation in relation to composition of phenolic antioxidants in grapes (*Vitis vinifera*). *J. Agr Food Chem.*, 45:1638-1646
- Miller, N., C. Rice-Evans, M. Davies, V. Gopinathan y A. Milner. 1993. A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring antioxidant status in premature neonatos. *Clin Sci.*, 84:407-412
- Morales, M., H. Figueroa y S. Bustamante. 2003. Bases farmacológicas y clínicas del extracto de *Vitis vinifera* en patologías asociadas al estrés oxidativo. *Rev. de Fitoterapia.*, 3: 135-144
- Nawaz, H., J. Shi, J.G. Mittal y Y. Kakuda. 2006. Extraction of polyphenols from grape seeds and concentration by ultrafiltration. *Sep Purif Technol.*, 48:176-181
- Padilla, F., A. Rincón y L. Bou-Rached. 2008. Contenido de polifenoles y actividad antioxidante de varias semillas y nueces. *ALAN*, 58:303-308
- Paladino, S. y C. Zuritz. 2011. Extracto de semillas de vid (*Vitis vinifera* L.) con actividad antioxidante: eficiencia de diferentes solventes en el proceso de extracción. *Rev. FCA UNCUIYO*, 43: 187-199.
- Pérez-Jiménez, J., S. Arranz, M. Tabernero, M. Díaz-Rubio, J. Serrano, I. Goñi y F. Saura-Calixto. 2008. Updated methodology to determine antioxidant capacity in plant foods, oils and beverages: extraction, measurement and expression of results. *Food Res Int.*, 41: 274-285
- Rice-Evans, C., N. Miller y G. Papaganda. 1994. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic Biol Med.*, 26:933-956
- Statistical Analysis System. 2001. User's Guide. Statistics. SAS Institute Inc, Cary, North Carolina.
- Saito, M., H. Hocoyama, A. Arigat, S. Kataoka y N. Yamaji. 1999. Antiulcer activity of grape seed extract and procyanidins. *J. Agr Food Chem.*, 46:1460-1464
- Shaker, E. 2006. Antioxidative effect of extracts from red grape seed and Peel on lipid oxidation in oils of sunflower. *LWT*. 39:883-892
- Singh, R., K. Chidambara y G. Jayaprakasha. 2002. Studies on the antioxidant activity of pomegranate (*Punica granatum*) Peel and Seed Extracts Using in Vitro Models. *Food Chem.*, 50:81-86
- Skrede, G y R. Wrolstad- 2002. Flavonoids and other polyphenolics in grapes and other berry fruit. In: *Functional Foods Biochemical Processing Aspects*. Volumen 2. Food Science Publisher. Lancaster-USA. pp 71-130
- Yadegarinia, D., L. Gachkar, M. Bagher, M. Taghizadeh, S. Alipoor e I. Rasooli. 2006. Biochemical Activities of Iranian *Mentha piperita* L. and *Myrtus communis* L. essential oils. *Phytochemistry*. 67:1249-1255.