

Azúcares y fibra en subproductos agrícolas. I. Azúcares y fibra en la semilla de uva Palomino

Por J. M. Igartuburu, G. M. Massanet, J. A. Montiel, E. Pando y F. Rodríguez Luis
Departamento de Química Orgánica. Facultad de Ciencias. Universidad de Cádiz. Apartado 40. Puerto Real. 11510 Cádiz. España.

RESUMEN

Azúcares y fibra en subproductos agrícolas. I. Azúcares y fibra en la semilla de uva Palomino.

Se ha determinado el contenido en azúcares reductores de la semilla de uva Palomino, por el método de Somogyi-Nelson, que resultó del 2,75%, y en azúcares totales, según el método de Lane-Eynon, obteniendo un valor del 8,54%.

También se ha procedido a la cuantificación de la fibra bruta (método de Van Kramer), suponiendo ésta el 49,66% de la semilla desgrasada. Asimismo, se ha llevado a cabo la determinación de la fibra alimentaria por los métodos de Van Soest (Fibra Ácido Detergente y Fibra Neutro Detergente) y de Hellendoorn, arrojando resultados similares, cuyo valor medio fue del 58,14%.

Se ha realizado el fraccionamiento y separación de los diversos componentes de la fibra alimentaria mediante el método de Southgate modificado, destacando el alto contenido en lignina (63,63%). La celulosa representa el 17,72% de la fibra; la fracción de hemicelulosas, el 18,46%. El grupo constituido por las gomas, mucilagos y sustancias pécticas es minoritario, alcanzando apenas el 0,25%.

PALABRAS-CLAVE: Azúcares reductores - Azúcares totales - Fibra bruta - Fibra alimentaria - Uva (semilla) - Palomino (variedad).

SUMMARY

Sugars and fiber in agricultural byproducts. I. Sugars and fiber in the seed of Palomino grape.

Reducing sugars in grapeseed, Palomino variety, were determined by Somogyi-Nelson's method, yielding 2.75%, as well as total sugars by Lane-Eynon's method, about 8.54%.

Besides, the crude fiber determination was done (Van Kramer's method) 49.66% in defatted grapeseed. Likewise, the dietary fiber determination was carried out by different methods (Acid Detergent Fiber, Neutral Detergent Fiber - Van Soest - and Hellendoorn), with very similar results which mean value was 58.14%.

The constituents of dietary fiber were fractionated according to modified Southgate's method, showing up a high amount (63.63%) of lignine the major component of grapeseed fiber. Cellulose was about 17.72% of fiber, while hemicellulose fraction reached the 18.46%. The gums, mucilages and pectic substances group constituted the minor component, only 0.25%.

KEY-WORDS: Reducing sugars - Total sugars - Crude fiber - Dietary fiber - Grapeseed - Palomino (variety).

1.—INTRODUCCIÓN

Las investigaciones sobre las semillas oleaginosas se han ocupado especialmente de sus constituyentes lipídicos y proteicos. Sólo desde hace unos quince años han comenzado a interesar otros grupos de sustancias que pueden representar una importante proporción entre sus componentes: azúcares y fibra.

El mejor conocimiento de los azúcares, que hasta hace poco tiempo han figurado bajo el término de «extracto no nitrogenado» (1), tiene importancia bajo tres puntos de vista diferentes: para mejorar el valor alimentario de las harinas en nutrición animal; para facilitar la extracción y purificación de las proteínas vegetales obtenidas a partir de estas materias primas, y, finalmente, para proponer nuevos usos de los glúcidos extraídos (2).

Los hidratos de carbono representan el 65-90% del peso seco de los granos de cereales, siendo, en general, más abundante en el arroz y en la cebada (86-88%) y más escasos en la avena (alrededor del 65%). El componente principal de esta fracción es el almidón, quedando entre el 1 y el 3% el contenido en azúcares libres. También son muy abundantes en las legumbres, alrededor del 60%. En las semillas oleaginosas, su presencia es bastante inferior, del 15 al 30% en casi todos los casos, y en las frutas no alcanza el 20% (3).

Los carbohidratos proporcionan la principal fuente de energía de las dietas de la mayoría de los pueblos. Sin embargo, en los más desarrollados, menos de la mitad de las calorías tiene este origen. Existe la idea de considerar a los hidratos de carbono como productos que engordan, que son molestos y no esenciales; de aquí que haya disminuido el consumo de artículos con elevado contenido en ellos. Esto preocupa de manera especial a los expertos en nutrición, que opinan que para disfrutar de una salud satisfactoria se necesitan cantidades importantes de carbohidratos, tanto de los asimilables como de los integrantes de la fibra alimentaria (4). En este sentido, Southgate (5) (6) (7) (8) clasifica a los carbohidratos contenidos en los alimentos según su utilización por el hombre, en carbohidratos disponibles y carbohidratos no disponibles. La disponibilidad nutritiva depende de la posibilidad de romper sus enlaces glicosídicos.

Los glúcidos disponibles representan el material químico indispensable como fuente de energía para las reacciones metabólicas que tienen lugar en el organismo. Los más frecuentes en la alimentación son: glucosa y fructosa (monosacáridos), sacarosa y lactosa (disacáridos) y almidón (polisacárido). Todos ellos son hidrolizados por los enzimas del tracto gastro-intestinal humano. Los glúcidos no disponibles (no hidrolizables) reciben esta denominación por no ser utilizables como fuente de energía. Estos compuestos forman parte de las paredes celulares vegetales, y son polisacáridos estructurales en su mayoría. Este grupo, celulosa, hemicelulosas, gomas, mucílagos y sustancias pécticas, junto con la lignina, constituyen la fibra alimentaria.

En el presente trabajo se determina el contenido en azúcares reductores y azúcares totales de la semilla de uva Palomino (*Vitis vinifera*, var. Palomino), la más extendida y característica del Marco del Jerez, así como el contenido en almidón, fibra bruta y fibra alimentaria en dicha semilla. La determinación de fibra bruta, aún siendo imprecisa, está justificada para valorar la calidad de los alimentos de origen vegetal; de cualquier modo, sus resultados infravaloran el contenido real en fibra alimentaria, ya que sólo suponen una fracción de la misma, por lo que la cuantificación de la fibra alimentaria es el dato que posee verdadero significado práctico. Por último, también se realiza la separación y cuantificación de los diversos componentes de la fibra alimentaria, basada en el método de Southgate con algunas modificaciones (5) (6) (7) (8).

2.—MATERIALES Y MÉTODOS

2.1.—Extracción de azúcares libres.

Los azúcares pueden extraerse con mezclas etanol-agua, según aparece en la Bibliografía (9) (10) (11) (12) (13). Así, partiendo de 100,0 g de semilla desgrasada y por sucesivos tratamientos con etanol del 80% y del 70%, obtenemos la disolución de azúcares, que posteriormente se purifica por intercambio iónico (10).

2.2.—Determinación de azúcares reductores.

Se ha seguido el método clásico de Somogyi-Nelson (14), basado en la propiedad de los azúcares reductores de actuar sobre el sulfato cúprico transformándolo en óxido, que se trata con un reactivo de arsenomolibdato, formando un complejo coloreado cuya intensidad se puede determinar espectrofotométricamente (15).

2.3.—Determinación de azúcares totales.

Se ha llevado a cabo según el método de Lane-Eynon, recomendado por la A.O.A.C. (15), que consiste en la hidrólisis previa de los azúcares y valoración posterior de los monosacáridos obtenidos.

2.4.—Determinación de almidón.

Se ha comprobado la ausencia de almidón en la semilla de

uva Palomino por cromatografía en papel, técnica que presenta gran sensibilidad (17) (18).

2.5.—Determinación de fibra bruta.

Se ha realizado siguiendo el método de Van Kramer, modificado por Heredia Moreno (19), que consiste en la hidrólisis de la semilla molida y desgrasada con una mezcla de ácidos tricloroacético, acético y nítrico.

2.6.—Determinación de fibra alimentaria.

Se ha efectuado por los métodos de Hellendoorn, Noordhoff y Slagman (20) y de Van Soest, este último en sus dos versiones: el método de la fibra ácido-detergente (ADF) (19) (21) y el método de la fibra neutro-detergente (NDF) (22). El método de Hellendoorn et al (20) se basa en la digestión enzimática con pepsina y pancreatina. Los métodos de Van Soest (19) (21) (22) tratan la fibra con detergentes en medio ácido (bromuro de cetiltrimetilamonio en ácido sulfúrico 1 N) o en medio neutro (solución acuosa de laurilsulfato sódico).

Como ya se ha indicado, los datos determinados se refieren a la semilla desgrasada. Sin embargo, para expresarlos en función de la semilla sin desgrasar es necesario tener en cuenta el contenido en aceite de la misma, ya determinado en un trabajo anterior (23), 10,20%, por lo que debe dividirse cada uno de los resultados relativos a la semilla desgrasada por 1,1136, cociente entre 100 y (100-10,20).

2.7.—Análisis de la fibra alimentaria.

La separación y cuantificación de las fracciones componentes de la fibra se ha realizado según el método descrito por Southgate, con algunas modificaciones (5) (6) (7) (8), algunas de ellas introducidas por nosotros (desgrasado previo de la semilla y secado de los distintos residuos), que permiten medir los diversos componentes por pesada. De este modo, el procedimiento operativo consta de las siguientes etapas:

- 1) Desgrasado.—Se realiza por extracción en soxhlet con hexano durante una hora.
- 2) Extracción con metanol del 85%.—Se hace para eliminar los azúcares libres y pigmentos, con varias porciones, durante 15 minutos a reflujo. El residuo sólido se lava con éter etílico y se seca.
- 3) Extracción con agua.—Se toman 300 mg del sólido procedente de los tratamientos anteriores y se tratan con 10 ml de agua a 80°C durante 30 minutos. El proceso se repite dos veces más, centrifugándose la muestra después de cada una de ellas y recuperándose el líquido sobrenadante.
- 4) Tratamiento del extracto acuoso.—Los sobrenadantes combinados se tratan con cuatro volúmenes de etanol, precipitando las gomas, mucílagos y sustancias pécticas, que se separan por centrifugación. En los análisis de muestras que contengan almidón éste precipita junto con las gomas, mucílagos y sustancias pécticas y es necesario separarlo de ellos por hidrólisis enzimáticas. En este trabajo, esta operación no es necesaria, porque esta semilla carece de almidón.
- 5) Tratamiento del residuo insoluble en agua.—Se añaden 5 ml de agua hirviendo y se mantiene la ebullición durante 10 minutos. Tras dejar enfriar se adicionan 1,2 ml de disolución tampón acetato 2 M (pH 4,5), 5 ml de takadiastasa al 5% y unas gotas de tolueno. La mezcla se incuba a 37°C durante 18 horas. Se

agregan cuatro volúmenes de etanol y se centrifuga, descartando el sobrenadante. El residuo se lava con etanol al 80% por resuspensión y centrifugación. Se añaden 10 ml de ácido sulfúrico al 5% y se calienta a 100°C durante dos horas y media. Tras dejar enfriar, se agregan 10 ml de etanol y se centrifuga. El residuo se lava con etanol al 50%. De los sobrenadantes combinados se extraen las hemicelulosas hidrolizadas, en forma de hexosas, pentosas y ácidos urónicos. Por consiguiente, el contenido de las hemicelulosas de la muestra se calcula por diferencia de peso entre el residuo sólido seco procedente del tratamiento con takadiastasa al 5% y el obtenido después de la hidrólisis.

6) Tratamiento del residuo resistente a la hidrólisis ácida.— El sólido procedente del paso anterior se lava con etanol y con éter etílico (dos veces). Se deja secar al aire y se mantiene en estufa a 95-100°C durante 10 minutos. A continuación, se le adicionan 5 ml de disolución de sulfúrico al 72%, previamente enfriada, conservando la mezcla entre 0 y 4°C, durante 24 horas, con agitación ocasional. Se le añade agua, se centrifuga (dos veces) y se lava posteriormente con éter etílico (tres veces). Se deja secar al aire y luego en estufa a 95°C, pesando el residuo. En los sobrenadantes se encuentra la glucosa procedente de la hidrólisis de la celulosa. Por tanto, el contenido en celulosa de la muestra viene dado por la diferencia de peso con respecto al residuo sólido procedente de la etapa anterior y el obtenido en la presente, que sólo se halla constituido por lignina.

3.—RESULTADOS Y DISCUSION

Todas las determinaciones se han realizado por duplicado, siendo los resultados expuestos el valor medio de las mismas.

El contenido en azúcares reductores de la semilla desgrasada de uva Palomino resultó del 2,75%, mientras que en azúcares totales fue del 8,54%. El único estudio realizado anteriormente es el de Castriotta y Canella sobre semilla de uva Marsala (24), que encuentra un contenido en azúcares totales del 9,7%, algo mayor al hallado por nosotros para la semilla de uva palomino. Para finalizar con la determinación de los carbohidratos asimilables se ha investigado la presencia de almidón, con resultados negativos.

El contenido en fibra bruta de la semilla desgrasada de uva Palomino resultó del 49,66%, lo que supone un 44,59% con respecto a la semilla sin desgrasar.

En la tabla I se recogen los resultados obtenidos por los distintos métodos de determinación del contenido en fibra alimentaria de la granilla de uva Palomino. Como puede apreciarse, los datos obtenidos son muy similares, oscilando para la semilla desgrasada entre el 55,67% y el 61,44%, con un valor medio de 58,14%. Al considerar el contenido en fibra alimentaria respecto a la semilla sin desgrasar, resulta un valor medio del 52,20%. Comparando con los datos de la Bibliografía de las semillas de las diversas variedades de uva estudiadas(24)(25)(26)(27), mostrados en la Tabla II, referentes a semillas italianas, se aprecia un paralelismo casi total entre ellos.

En la Tabla III se muestran los resultados relativos a la composición de la fibra alimentaria de la semilla de uva Palomino. Cabe resaltar el elevado contenido en lignina,

TABLA I
Contenido en fibra alimentaria de la semilla de uva Palomino según los diversos métodos de análisis

Método	% de fibra sobre semilla desgrasada	% de fibra sobre semilla sin desgrasar
Hellendoorn	57,31	51,46
Van Soest ADF	61,44	55,17
Van Soest NDF	55,67	49,99
Valor medio	58,14	52,20

TABLA II
Contenido en fibra alimentaria de la semilla de las distintas variedades de uva estudiadas por otros autores

Variedad	% de fibra sobre semilla desgranada	Referencia
Italiana no especificada	58,69	(25)
Marsala	57,40	(24)
Pinot	42,53*	(26)
Red Blend	32,39*	(26)
Cataratto	52,90	(27)

* Referido a la semilla completa, en %

TABLA III
Composición de la fibra alimentaria de la semilla de uva Palomino (Método de Southgate), en %

Lignina	63,63
Celulosa	17,72
Hemicelulosas	18,46
Gomas, mucílagos y sustancias pécticas	0,25

un 63,63%, que resulta el componente mayoritario. El contenido en celulosa, 17,72%, es similar al de la celulosa presente en la fibra de semilla de uva Cataratto(27), único antecedente bibliográfico, que alcanza el 19,02%. La fracción de hemicelulosa es ligeramente superior, con un 18,45%. Finalmente, la fracción constituida por gomas, mucílagos y sustancias pécticas es muy escasa, ya que apenas llega al 0,25%. Es necesario destacar la imposibilidad de realizar comparaciones con datos de composición de la fibra alimentaria de otras variedades de semilla de uva por no existir antecedentes bibliográficos.

AGRADECIMIENTO

Los autores agradecen al M.E.C. la concesión de una beca del F.P.I. a uno de nosotros (J.A.M.) y a la Excm. Diputación Provincial de Cádiz, la financiación parcial de este trabajo.

BIBLIOGRAFIA

1. Eldrige, A.C., Black, L.T. y Wolf, W.J.—«Carbohydrate composition of soybean flours, protein concentrates, and isolates».—*J. Agric. Food Chem.* **27** (1979) 799-807.
2. Guilbot, A. y Tollier, M.—«Extraction et dosage de différents glucides de graines oléagineuses et de leur dérivés».—*Rev. Franç. Corps Gras.* **23** (1976) 323-330.
3. Primo Yufera, E.—«Química Agrícola. Vol. III. Alimentos».—Alhambra, Madrid, España, (1981).
4. Fennema, O.R.—«Introducción a la Ciencia de los Alimentos».—Vol. I. Reverté, Barcelona, España (1982).
5. Southgate, D.A.T.—«Determination of carbohydrates in food. II. Unavailable carbohydrates».—*J. Sci. Food Agric.* **20** (1969) 331-335.
6. Southgate, D.A.T.—«Determination of carbohydrates in food. I. Available carbohydrates».—*J. Sci. Food Agric.* **20** (1969) 326-330.
7. Heredia Moreno, A.—«Composición de fibra. I. Métodos de determinación de lignina y celulosa».—*Grasas y Aceites* **30** (1979) 105-111.
8. Torija, M. y Martínez, M.C.—«La fibra alimentaria».—*Alimentaria* **17**(117) (1980) 47-56.
9. Fernández-Bolaños, J., Fernández Díez, M.J., Rivas Moreno, M. y Gil Serrano, A.—«Azúcares y polioles en aceitunas verdes. II. Identificación y determinación cuantitativa por cromatografía sobre papel».—*Grasas y Aceites* **33** (1982) 208-211.
10. Rivas Moreno, M.—«Azúcares y polioles de la semilla de aceituna. I. Identificación por cromatografía sobre papel y cromatografía gas-líquido».—*Grasas y Aceites* **34** (1983) 13-16.
11. García Ruiz, P.A., Soler, A. y Barba, F.—«Azúcares libres en algunas palmáceas».—*An. Quim.* **71** (1975) 391-395.
12. Canella, M. y Bernardi, A.—«Changes in phenolics and oligosaccharide during sunflower seed germination».—*Riv. Ital. Sostanze Grasse* **60** (1983) 761-767.
13. Navarro, S., Barba, A. y López Roca, J.M.—«Azúcares libres en hojas y zumos de diversas especies y variedades de Citrus, del sureste español».—*Compt. Ren.* **1** (1976) 382-391.
14. Nelson, N.—«A photometric adaptation of the Somogyi method for the determination of glucose».—*J. Biol. Chem.* **153** (1944) 375-380.
15. Carballido, A., Valdehita, M.T. y Sánchez Morón, A.—«Métodos espectrofotométricos aplicados a la determinación de azúcares en alimentos».—*Anal. Bromatol.* **26** (1974) 263-288.
16. A.O.A.C. (Association of Official and Analytical Chemists).—«Standard methods of Analysis».—13th Ed. Washington D.C. (1980).
17. Heredia Moreno, A.—«Métodos para la determinación de almidón en plantas».—*Grasas y Aceites* **27** (1976) 335-340.
18. Heredia Moreno, A.—«Almidón en aceitunas verdes».—*Grasas y Aceites* **27** (1976) 1-4.
19. Collings, G. y Yokoyama, M.—«Analysis of fiber components in feed an forages using gas-liquid chromatography».—*J. Agric. Food Chem.* **27** (1979) 373-377.
20. Marlett, J. y Lee, S.—«Dietary fiber, lignocellulose and hemicellulose contents of selected food determined by modified and unmodified Van Soest procedures».—*J. Food Sci.* **45** (1980) 1688-1693.
21. McConnel, A.A., y Eastwood, M.A.—«A comparison of methods of measuring of «fibre» in vegetable material».—*J. Sci. Food Agric.* **25** (1974) 1451-1456.
22. Southgate, D.A.T.—«Fiber in nutrition».—*Bibthca. Nutr. Dieta.* **22** (1975) 109-124.
23. Galán, M., Massanet, G.M., Montiel, J.A., Pando, E. y Rodríguez Luis F.—«Estudio de subproductos agrícolas. I. Aceites de semilla de uva Palomino. Extracción, constantes y ácidos grasos».—*Grasas y Aceites* **37** (1986) 179-182.
24. Castriotta, G. y Canella, M.—«Protein classification and nitrogen extractability of grape seed meal».—*J. Agric. Food Chem.* **26** (1978) 763-765.
25. Defrancesco, F., Margheri, G., Avancini, D. y Casagrande, S.—«Prodotti collaterali della vinificazione».—*Riv. Soc. Ital. Sci. Alim.* **1**(1976) 15-21.
26. Fantozzi, P.—«Grape seed: A potential source of protein».—*J. Am. Oil Chemists' Chem. Soc.* **58** (1981) 1027-1031.
27. Fazio, G., Cilluffo, V., Indovina, M.C. y Pirrone, L.—«Il vinacciolo. Nota I. Caratteristiche e composizione della farina».—*Riv. Soc. Ital. Sci. Alim.* **11** (1982) 349-354.

(Recibido: Abril 1987)