

## Caracterización química y cuantificación de fenoles totales en aceite de semillas de *Cucurbita* spp.

Gabriela M. Valenzuela\*, María Cecilia Giménez, Ariadna S. Soro

Departamento Química Analítica Universidad Nacional del Chaco Austral. Comandante Fernández 755, Presidente Roque Sáenz Peña, Chaco, Argentina CP 3700.

\* Autor a quien dirigir la correspondencia: gabriela@uncaus.edu.ar.

### Resumen

Los aceites vegetales son compuestos orgánicos que se obtienen a partir de semillas u otras partes de las plantas en cuyos tejidos se acumulan como fuente de energía. Este trabajo tiene como objetivos realizar una caracterización físico-química y la cuantificación de los fenoles totales en el aceite vegetal obtenido a partir de las semillas de tres variedades de cucurbita: *Cucurbita argyrosperma* C. Huber (sin. *Cucurbita mixta* Pangalo), *Cucurbita moschata* Duchesne y *Cucurbita maxima* Duchesne. El extracto lipofílico se obtuvo por extracción realizada en Soxhlet con hexano; los parámetros físico-químicos se midieron según técnicas de la Farmacopea Argentina VII Ed. La cuantificación de los ácidos grasos se realizó en un cromatógrafo gaseoso con detector FID y los fenoles totales se cuantificaron por el método de Folin-Ciocalteu. El aceite obtenido presentó óptimas propiedades organolépticas, con índices de refracción entre  $1,46 \pm 0,01$  a  $1,47 \pm 0,02$ , densidad de  $0,92 \pm 0,01$  a  $0,96 \pm 0,01$  g/ml y viscosidad de  $72 \pm 0,58$  a  $76 \pm 0,47$  cP. El índice de acidez medido ( $1,68 \pm 0,06$  a  $2,49 \pm 1,55$  mg KOH/g) indica la presencia de ácidos grasos libres; la saponificación ( $201,53 \pm 0,74$  a  $212,52 \pm 3,33$  mg KOH/g) denota un bajo contenido de ácidos grasos saturados; el índice de yodo ( $53,29 \pm 3,58$  a  $26,64 \pm 1,79$  cg I/g) revela la presencia de ácidos grasos insaturados, mientras que el índice de peróxidos ( $7,31 \pm 0,62$  a  $7,44 \pm 0,52$  meq  $O_2$ /Kg) nos confirma un bajo grado de rancidez. La composición de los ácidos grasos saturados e insaturados presentes muestran que dentro de estos últimos el predominante fue el ácido linoleico, variando entre 37,84 a 52,59 %. El ácido palmítico, el ácido esteárico y el ácido n9- oleico variaron entre 13,04 a 15,30 %, 6,49 a 9,81 % y 27,16 a 38,30 % respectivamente. El ácido araquídico fue significativamente inferior al 1% en todas las variedades analizadas (0,53 a 0,78 %). Los valores de fenoles totales van desde  $158,83 \pm 0,50$  a  $209,80 \pm 0,59$  mol AG/g de muestra. Sobre la base de sus características el aceite de las semillas de *Cucurbita* spp. puede ser considerado como una valiosa fuente de nuevos productos de usos múltiples para la industria farmacéutica y/o cosmética.

## Chemical Characterization and Quantification of Total Phenols in *Cucurbita* spp. Seed Oil

### Abstract

Vegetable oils are organic compounds that are obtained from seeds or other parts of plants in whose tissues accumulate as a source of energy. This work aims to perform a physical-chemical characterization and

---

**Palabras clave:** polifenoles - aceite vegetal - *Cucurbita* spp.

**Key words:** polyphenols - vegetable oil - *Cucurbita* spp.

quantification of total phenols in vegetable oil obtained from seeds of three varieties of *Cucurbita argyrosperma* C. Huber (syn. *Cucurbita mixta* Pangalo), *Cucurbita moschata* Duchesne and *Cucurbita maxima* Duchesne. The lipophilic extract was obtained by extraction in Soxhlet with hexane; the physico-chemical parameters were measured according to the techniques of the Argentinean Pharmacopoeia VII Ed. The quantification of fatty acids was carried out in a gas chromatograph with FID detector and total phenols quantified by the method of Folin-Ciocalteu. The oil obtained presented optimal organoleptic properties, with refractive indexes between  $1.46 \pm 0.01$  to  $1.47 \pm 0.02$ , density of  $0.92 \pm 0.01$  to  $0.96 \pm 0.01$  g/ml and viscosity of  $72.00 \pm 0.58$  to  $76.00 \pm 0.47$  cP. The measured acid number ( $1.68 \pm 0.06$  to  $2.49 \pm 1.55$  mg KOH / g) indicates the presence of free fatty acids, saponification ( $201.53 \pm 0.74$  to  $212.52 \pm 3.33$  mg KOH/g) denotes a low content of saturated fatty acids; the iodine index ( $53.29 \pm 3.58$  to  $26.64 \pm 1.79$  cg I/g) reveals the presence of unsaturated fatty acids, while that peroxides index ( $7.31 \pm 0.62$  to  $7.44 \pm 0.52$  meq O<sub>2</sub>/kg) confirms the degree of rancidity. The compositions of saturated and unsaturated fatty acids present show that within the latter the predominant was linoleic acid varying between 37.84 to 52.59 %. Palmitic, stearic and n9-oleic acids ranged between 13.04 to 15.30 %, 6.49 to 9.81 % and 27.16 to 38.30 % respectively. Arachidic acid was significantly lower than 1% in all the varieties analyzed (0.53 to 0.78 %). The total phenolic values range from  $158.83 \pm 0.50$  to  $209.80 \pm 0.59$  mol AG / g of sample. On the basis of its characteristics, the oil of *Cucurbita spp.* seeds can be considered as a valuable source of new multipurpose products for the pharmaceutical and / or cosmetic industry.

## Introducción

Los aceites vegetales son compuestos orgánicos que se obtienen a partir de semillas u otras partes de las plantas en cuyos tejidos se acumula como fuente de energía. Están formados básicamente por triglicéridos, diglicéridos, ácidos grasos libres y otros constituyentes minoritarios como tocoferoles y esteroides (Kiritsakis, 1998).

Entre los constituyentes de los aceites vegetales se encuentran los ácidos grasos, compuestos que también se pueden encontrar formando parte de los fosfolípidos y de las lipoproteínas de la membrana celular. Cuando hay insuficiencia de ácidos grasos esenciales se observan síntomas de dermatitis, como escamas y deshidratación de la piel mientras que el suplemento de ácidos grasos a la piel puede curar esos síntomas (Draeos, 2006). Por esta razón, en cosmética y dermofarmacia, son ampliamente utilizados ácidos grasos como el ácido esteárico, linoleico, oleico y linoléico como compuestos emolientes que hidratan, suavizan y mejoran la flexibilidad de la piel y que además reparan la epidermis (Jurado y Muñoz, 2009).

La calabaza pertenece a la familia Cucurbitaceae, familia que comprende unas 850 especies de plantas casi siempre herbáceas, trepadoras o rastreras, que producen frutos generalmente grandes y protegidos

por una corteza firme, con semillas elípticas, achatadas, blancas grisáceas, amarillentas o negruzcas, con un núcleo blanco, con sabor amigdalino en su extracto basal (Nee, 1990).

Se reporta que a nivel mundial el ingrediente con mayor demanda corresponde a los aceites vegetales, con el 88 % de la participación del volumen total de importaciones mundiales, seguido de los extractos con un 6 %, las plantas medicinales con un 3,5 %, los aceites esenciales con un 1,5 % y los colorantes con una participación del 0,5 %. Por tal motivo, la producción de aceites vegetales de semillas de frutas presenta potencialidad de mercado para la industria cosmética mundial, industria que se fortalece cada día más gracias a una percepción, por parte del consumidor, de que el negocio de los ingredientes naturales y todo lo que se deriva de él aportan al sector cosmético calidad, diferenciación y productividad (Proexport-Colombia, 2010).

Este trabajo tiene como objetivos realizar una caracterización físico-química y la cuantificación de fenoles totales en el aceite vegetal obtenido a partir de las semillas de tres variedades de cucurbita: *Cucurbita argyrosperma* C. Huber (sin. *Cucurbita mixta* Pangalo), *Cucurbita moschata* Duchesne y *Cucurbita maxima* Duchesne.

## Materiales y Métodos

### Material vegetal analizado

Las especies vegetales *Cucurbita argyrosperma* C.Huber (sin. *Cucurbita mixta* Pangalo), *Cucurbita moschata* Duchesne y *Cucurbita maxima* Duchesne (familia Cucurbitaceae), se recolectaron los meses de abril y mayo del 2016 dentro de la ciudad de Quitilipi, provincia del Chaco. La localización por coordenadas para las especies de *Cucurbita* spp. estudiadas fueron (s) 26°52'19,2" (w) 60°13'16,2".

Se compararon las semillas de las tres especies, tres lotes de cada una, colectados de productores de la zona: *Cucurbita argyrosperma* C.Huber (sin. *C. mixta* Pangalo) (CMi) "calabaza rayada", *C. moschata* Duchesne "coreanito" (CMo) y *C. maxima* Duchesne "calabaza plomo" (CMA).

### Métodos

Extracción del aceite: 10 g de semillas se extrajeron con 100 ml con n-hexano en un extractor Soxhlet a 90 °C durante 6 h, (AOAC, 1995). El solvente se eliminó mediante el empleo de un evaporador rotatorio y el aceite se secó a 105 °C, hasta peso constante, bajo nitrógeno en un horno de secado.

### Análisis fisicoquímicos

- Índice de peróxido: se realizó por titulación yodométrica, según Anwar y col. (2007).
- Índice de yodo: se basó en la adición de halógenos a los dobles enlaces de los ácidos grasos insaturados (AOAC, 2002).
- Índice de saponificación: se hizo reaccionar una cierta cantidad de muestra de aceite con un exceso de solución de KOH 0,5 N y se determinó por diferencia los mg de KOH que reaccionan con la muestra, titulando con HCl 0,5 N (AOAC, 2002).
- Índice de refracción: se determinó con un refractómetro Abbe 2WAJ
- Viscosidad: se determinó con un viscosímetro de Ostwald.
- Densidad del aceite: por picnometría, método 962.37 AOAC (1995).
- Índice de acidez: se analizó de acuerdo con la norma UNE - 55011.

### Cuantificación de ácidos grasos

La cuantificación se realizó en un cromatógrafo gaseoso con detector FID, Agilent 6890 equipado con una columna capilar (Supelco 2340) y metilésteres de ácidos grasos 99 % de pureza (FAME-MIX Sigma-Aldrich) como estándares externos y C19 como estándar interno

### Extracción de compuestos fenólicos

Según Taga y col. (1984) con modificaciones menores, usando extracción líquido - líquido. Veinte gramos de aceite se disolvieron en 50 ml de hexano y se extrajo tres veces con 30 ml de metanol/agua (80:20, v/v).

### Determinación de fenoles totales

Según Singleton y Rossi, 1965 se fundamenta en que los compuestos fenólicos reducen el reactivo de Folin-Ciocalteu para formar un complejo azulado que absorbe a 765 nm. Se midió en un espectrofotómetro UV-Visible Perkin Elmer Lambda 25. Los resultados se expresan en mg de ácido gálico por g de extracto (mg AG/g extracto).

Los reactivos usados fueron calidad analítica, siendo el reactivo Folin-Ciocalteu (Fluka).

### Resultados

Los aceites extraídos son de color verde y el contenido de lípidos varió entre  $30,4 \pm 0,8$  a  $40,8 \pm 2,5$  % en m.s. El análisis de varianza muestra una diferencia significativa en el contenido de lípidos en estas semillas ( $p < 0,05$ ). Estos valores son inferiores a los obtenidos por Murkovic y col. (1996) con contenido de aceite de 41,8 a 54,9 % y a los determinados por Idouraine y col. (1996) de 34,5-43,6 % ambos en *C. pepo* y también son inferiores a los de girasol 45,6 % y maní 47,5 % (FAO, 1982), pero superiores a los de soja 19,1 % (Oyenuga, 1968).

Estas semillas en general tienen altos niveles de aceites, los que presentaron óptimas propiedades organolépticas de aceite comestible, físicamente estable y no mostraron signos de rancidez, con índices de refracción entre  $1,46 \pm 0,01$  a  $1,47 \pm 0,02$ , densidad de  $0,92 \pm 0,01$  a  $0,96 \pm 0,01$  g/ml y viscosidad de  $72,00 \pm 0,58$  a  $76,00 \pm 0,47$  centipois (Tabla 1).

El índice de acidez medido ( $1,68 \pm 0,06$  a  $2,49 \pm 1,55$  mg KOH/g) indica la presencia de ácidos grasos libres, la saponificación ( $201,53 \pm 0,74$  a  $212,52 \pm 3,33$  mg KOH/g) denota un bajo contenido de ácidos grasos saturados, y el de yodo ( $53,29 \pm 3,58$  a  $26,64 \pm 1,79$  cg I/g) revela la presencia de ácidos grasos insaturados, que pueden clasificarse como semiseca-

do, mientras que el de peróxidos ( $7,31 \pm 0,62$  a  $7,44 \pm 0,52$  meq O<sub>2</sub>/Kg) nos confirma que estos aceites tienen bajo grado de rancidez (Tabla 2).

La composición de los ácidos grasos saturados e insaturados (Tabla 3) presentes en las semillas ensayadas muestran que dentro de estos últimos el predominante fue el ácido linoleico, variando entre

**Tabla 1.-** Propiedades físicas del aceite de semillas de *Cucurbita* spp.

	Índice de refracción 20 °C	Densidad mg/ml	Viscosidad centipoise
<b>Calabaza rayada</b>	$1,46 \pm 0,02$	$0,92 \pm 0,01$	$74,12 \pm 0,51$
<b>Coreanito</b>	$1,47 \pm 0,02$	$0,92 \pm 0,01$	$72,36 \pm 0,57$
<b>Calabaza plomo</b>	$1,46 \pm 0,01$	$0,95 \pm 0,01$	$76,11 \pm 0,47$

**Tabla 2.-** Propiedades fisicoquímicas del aceite de semillas de *Cucurbita* spp.

	Acidez (mg KOH/g)	Saponificación (mg KOH/g)	Iodo (cg I/g)	Peróxido (meq O <sub>2</sub> /Kg)	Esterificación
<b>Calabaza rayada</b>	$2,49 \pm 1,55$	$212,52 \pm 3,33$	$26,64 \pm 1,79$	$7,44 \pm 0,52$	$210,01 \pm 3,69$
<b>Coreanito</b>	$1,96 \pm 0,12$	$208,24 \pm 1,41$	$53,96 \pm 3,68$	$7,71 \pm 0,95$	$206,03 \pm 1,53$
<b>Calabaza plomo</b>	$1,68 \pm 0,06$	$201,53 \pm 0,74$	$53,29 \pm 3,58$	$7,31 \pm 0,62$	$200,16 \pm 0,26$

**Tabla 3.-** Composición de ácidos grasos de semillas de *Cucurbita* spp.

% Ácidos Grasos	Calabaza rayada	Coreanito	Calabaza plomo
Palmítico (16:0)	13,04	15,30	13,23
Palmitoleico (16:1)	-	-	-
Heptadecanoico (17:0)	-	-	-
Heptadecenoico (17:1) c	-	-	-
Stearico (18:0)	6,49	8,11	6,98
Elaidico (18:1) n9 t	-	-	-
Oleico (18:1) n9 c	27,17	38,30	30,07
Linoelaídico (18:2) t	-	-	-
Linoleico (18:2) n-6	52,60	37,48	49,26
Araquidico (20:0)	0,38	0,49	0,44

37,84 a 52,59 %, que por su naturaleza de polinsaturado (dos dobles enlaces) y de pertenecer al grupo omega-6, le confiere al aceite sus características de líquido. El ácido palmítico, el ácido esteárico y el ácido n9-oleico variaron entre 13,04 a 15,30 %, 6,49 a 9,81 % y 27,16 a 38,30 % respectivamente. El ácido araquídico fue significativamente inferior al 1 % en todas las variedades analizadas (0,53 a 0,78 %), este bajo nivel de aceites saturado le otorga mejor calidad de aceite vegetal comestible, resultados que concuerdan con los reportados por Ortiz Grisales y col. (2009).

Los valores de fenoles totales van desde  $0,159 \pm 0,001$  a  $0,210 \pm 0,001$  mg EAG/g extracto, los cuales son superiores a los encontrados por otros investigadores que han analizado los aceites de semillas de *Cucurbita pepo* (Andjelkovic y col., 2010). Parry y col. (2008) analizaron el contenido de compuestos fenólicos totales en el aceite extraído de semillas de calabaza tostadas (*C. pepo* L.), utilizando el reactivo de Folin-Ciocalteu y verificaron la presencia de 1,58 mg EAG/g extracto. Además Veronezi y Jorge (2012) hallaron valores superiores a todos los mencionados anteriormente al analizar las semillas de las variedades de calabaza (*Cucurbita* spp.) Nova Caravela, Mini Paulista, Menina Brasileira y Moranga de Mesa.

## Conclusión

Sobre la base de sus características el aceite de semilla de *Cucurbita* spp. puede ser considerado como una valiosa fuente de nuevos productos de usos múltiples para la industria farmacéutica y/o cosmética.

## Referencias bibliográficas

- Andjelkovic, M.; Van Camp, J.; Trawka, A.; Verhé, R. (2010). "Phenolic compounds and some quality parameters of pumpkin seed oil". *European journal of lipid science and technology* 112(2): 208-217.
- Anwar, F.; Shahzad, A.; Shahid, C., Abdullah, I.; Hussain, H. (2007). "Evaluación de la degradación oxidativa del aceite de soja almacenado a temperatura ambiente y a la luz solar". *Grasas y Aceites* 58: 3989.
- AOAC (1995) *Official methods of analysis*. Washington. D.C. (USA): Editorial Ass. Off. Agric. Chem, 16th.
- AOAC (2002) *Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society*. Champaign, Illinois: American Oil Chemists Society ed. Firestone.
- Draeos, Z. (2006). *Serie dermatología estética. Cosmeceuticos*. Elsevier España: 23.
- FAO (1982) Food Composition Table For the Near East. Nuts and Seeds. FAO Food and Nutrition Paper 26: 85.
- Farmacopea Argentina Septima Ed. Página web en línea [http://www.anmat.gov.ar/webanmat/fna/pfds/Libro\\_Primer.pdf](http://www.anmat.gov.ar/webanmat/fna/pfds/Libro_Primer.pdf) [Consulta: 15 de noviembre de 2014].
- Jurado, J.; Muños, V. (2009). *Caracterización del aceite de las semillas de Solanum quitoense L. variedad la selva y evaluación de su actividad antioxidante*. Pereira. Tesis de grado. Universidad Tecnológica de Pereira. Facultad de Tecnología. Escuela de Química.
- Idouraine, A.; Kohlhepp, E.A.; Weber, C.W. (1996). "Nutrient constituents from eight lines of naked seed squash (*Cucurbita pepo* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 44: 721-724.
- Kiritsakis, A.K (1998). *Composition of olive oil: Olive oil from the tree to the table*. 2th Ed. Food & Nutrition Press Inc USA.
- Murkovic, M.; Hillebrand, A.; Winkler, J.; Pfannhauser, W. (1996). "Variability of vitamin E content in pumpkin seeds (*Cucurbita pepo* L.)". *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung* 202(4): 275-278.
- Nee, M. (1990) "The domestication of *Cucurbita*". *Economic Botany* 44: 56.
- Ortiz Grisales, S.; Pasos López, S.C.; Rivas Abadía, X.C.; Valdés Restrepo, M.P.; Cabrera, V. (2009). "Squash seed oil extraction and characterization". *Acta Agronómica*, 58(3): 145-151.
- Oyenuga, V.A. (1968). *Nigeria's foods and food-stuffs*. Ibadan, University Press.
- Parry, J.W.; Cheng, Z.; Moore, J.; Yu, L. (2008). "Fatty acid composition, antioxidant properties, and antiproliferative capacity of selected cold-pressed seed flours". *Journal of the American Oil Chemists Society* 85: 457-464.
- Proexport Colombia (2010). *Perfil sectorial. Sector Cosmético*. Fiducoldex-Fideicomiso Proexport Colombia, 1 (2), Bogotá.

Singleton, V.; Rossi, J. (1965).” Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents”. *American Journal Enology Viticulture* 16: 144-58.

Taga M.S; Miller E.E; Pratt D.E. (1984). “Chia seeds as a source of natural lipid antioxidants”.

*Journal of the American Oil Chemists Society* 61: 928-993.

Veronezi, C.M.; Jorge, N. (2012). “Bioactive compounds in lipid fractions of pumpkin (*Cucurbita* sp) seeds for use in food”. *Journal of Food Science* 77(6): 653-657.