



**Benemérita Universidad Autónoma de Puebla**  
**Vicerrectoría de Investigación y Estudios de Posgrado**



**Facultad de Ingeniería Química**

**Secretaría de Investigación y Estudios de Posgrado**

---

## **Maestría en Ingeniería Química**

### **TESIS DE MAESTRÍA**

**ESTUDIO DE TRANSPORTE DE MASA EN LA  
EXTRACCIÓN ASISTIDA CON ULTRASONIDO DE  
ALTA INTENSIDAD DE COMPUESTOS FENÓLICOS  
EN UVA SYRAH (*VITIS VINÍFERA*)**

**PARA OBTENER EL GRADO DE  
MAESTRO EN INGENIERÍA QUÍMICA**

**PRESENTA  
FLOR ELIZABETH DE LEÓN SERNA**

**ASESOR  
DR. ALVARO SAMPIERI CRODA  
CO-ASESOR  
DRA. EDITH CORONA JIMENEZ**

**ENERO 2021**



# AGRADECIMIENTOS

A la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla y a la Facultad de Ingeniería Química, por el uso de las instalaciones para el desarrollo de la presente tesis.

A mi asesor de tesis, el Dr. Álvaro Sampieri Croda, por depositar su confianza en mí para hacer uso de su laboratorio, por guiarme en el proceso de desarrollo de tesis así como por su buena actitud ante cualquier problemática que surgía.

A mi co-asesora de tesis, la Dra. Edith Corona Jiménez, por su dedicación e infinito apoyo hacia mi persona para lograr concluir esta tesis. Así como también por su confianza depositada en mi en muchas situaciones.

A mi sinodal el Dr. Gamaliel Che Galicia, por asesorarme y orientarme en temas que eran totalmente nuevos para mí, por siempre acompañarme durante todo el desarrollo de la tesis. Su gran experiencia y conocimiento han sido pieza fundamental para poder concluir este trabajo.

A mi sinodal la Dra. Georgette Rebollar Pérez, por su valioso tiempo y contribución al presente trabajo. Así como también por su disponibilidad hacia mi persona a pesar de sus numerosas tareas que la ocupan.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por haberme otorgado una beca para realizar mis estudios de maestría, con número (CVU 900836).

A todas las personas que me acompañaron durante toda la maestría como mis profesores, los cuales brindaron su amplio conocimiento y experiencia para mi formación, a mis compañeros de generación por todos los momentos que pasamos juntos, al grupo de trabajo de la Dra. Edith Corona Jiménez por todo el apoyo que me brindaron y por hacer mi estadía en la maestría muy amena y agradable.

A mi familia, por siempre estar ahí cuando mas lo he necesitado y por apoyarme en todos mis malos y buenos momentos. Sin duda esta tesis va dedicada a todos ellos. A mis padres, Raúl y Sonia por todos los sacrificios que han hecho para llevarme hasta el lugar donde estoy ahora, todo lo que he logrado ha sido por y para ellos. A mi hermano, Raúl por siempre estar conmigo a pesar de la distancia. A Javier, por ser mi pareja y compañero día a día así como también por siempre motivarme a ser mejor y nunca dejarme sola. A mi hijo Santiago, por llegar a mi vida y volverse mi mayor motivación para salir adelante y superarme como persona.

# ÍNDICE

<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b>	<b>IV</b>
<b>ÍNDICE DE TABLAS</b>	<b>V</b>
<b>NOMENCLATURA</b>	<b>1</b>
<b>INTRODUCCIÓN</b>	<b>2</b>
<b>I ANTECEDENTES</b>	<b>4</b>
1.1 Generalidades de la uva . . . . .	4
1.1.1 Morfología de la uva . . . . .	5
1.1.2 Composición química y nutricional de la uva . . . . .	5
1.2 Compuestos fenólicos . . . . .	7
1.2.1 Clasificación de los compuestos fenólicos . . . . .	9
1.2.1.1 Ácidos fenólicos . . . . .	9
1.2.1.2 Flavonoides . . . . .	9
1.2.1.3 Taninos . . . . .	10
1.2.1.4 Estilbenos . . . . .	10
1.2.1.5 Lignanos . . . . .	11
1.3 Cuantificación de compuestos fenólicos . . . . .	11
1.3.1 Método Folin-Ciocalteu . . . . .	11
1.4 Actividad antioxidante . . . . .	12
1.4.1 Métodos para evaluar la capacidad antioxidante . . . . .	13
1.4.1.1 Ensayo ABTS . . . . .	13
1.4.1.2 Ensayo FRAP . . . . .	14
1.5 Extracción sólido-líquido . . . . .	14
1.5.1 Principios generales del proceso de extracción sólido-líquido .	16

1.5.1.1	Difusión . . . . .	16
1.5.1.2	Equilibrio . . . . .	18
1.6	Extracción de compuestos fenólicos . . . . .	19
1.7	Ultrasonido (US) . . . . .	20
1.7.1	Ultrasonido de alta intensidad . . . . .	21
1.7.2	Cavitación . . . . .	22
1.8	Extracción de compuestos fenólicos asistida con ultrasonido . . . . .	24
1.9	Modelación de la extracción sólido-líquido . . . . .	26
<b>II</b>	<b>Hipótesis</b>	<b>32</b>
<b>III</b>	<b>Objetivos</b>	<b>33</b>
3.1	Objetivo general . . . . .	33
3.2	Objetivos específicos . . . . .	33
<b>IV</b>	<b>Materiales y métodos</b>	<b>34</b>
4.1	Métodos experimentales . . . . .	34
4.1.1	Materia prima . . . . .	34
4.1.1.1	Preparación de la materia prima . . . . .	34
4.1.2	Extracción de compuestos fenólicos . . . . .	34
4.1.3	Cuantificación del contenido fenólico total (CFT) . . . . .	35
4.1.4	Determinación de capacidad antioxidante (CA) . . . . .	35
4.1.4.1	Método ABTS . . . . .	36
4.1.4.2	Método FRAP . . . . .	36
4.2	Métodos teóricos . . . . .	37
4.2.1	Modelación . . . . .	37
4.2.1.1	Modelo cinético . . . . .	37
4.2.1.2	Modelo difusivo . . . . .	38
<b>V</b>	<b>Resultados y discusión</b>	<b>42</b>
5.1	Extracción de CFs . . . . .	42
5.2	Capacidad antioxidante . . . . .	44
5.3	Modelado matemático . . . . .	46
5.3.1	Modelado cinético . . . . .	46
5.3.2	Modelado difusivo . . . . .	50

<b>VI Conclusiones</b>	<b>53</b>
<b>Bibliografía</b>	<b>54</b>

# ÍNDICE DE FIGURAS

1.1	Esquema del proceso de extracción sólido-líquido (Tzia and Liadakis, 2003). . . . .	15
4.1	Partícula esférica porosa. . . . .	38
5.1	Cinéticas de extracción para CV y EAU a diferentes temperaturas (González-Centeno et al., 2015). . . . .	43
5.2	Capacidad antioxidante por el método (a) ABTS y (b) FRAP (González-Centeno et al., 2015). . . . .	45
5.3	Comparación entre las cinéticas de extracción experimental (símbolos) y simulada por modelado cinético de segundo orden (curvas) de CFT durante (a) Convencional y (b) EAU a distintas temperaturas. . . . .	49
5.4	Comparación entre las cinéticas de extracción experimental (símbolos) y simulada por modelado difusivo (curvas) de CFT durante (a) Convencional y (b) EAU a distintas temperaturas. . . . .	52

# ÍNDICE DE TABLAS

1.1	Composición física y química de diferentes fracciones del racimo de uva (miliequivalentes por kg de racimo) (Moreno and Peinado, 2012).	6
1.2	Clasificación de CFs. . . . .	8
1.3	Estudios reportados de extracción de CFs con US de alta intensidad en subproductos de frutas. . . . .	24
1.4	Estudios reportados de aplicación de modelos matemáticos para la extracción sólido-líquido. . . . .	29
5.1	Contante cinética de extracción y ajuste del modelo de primer en convencional y EAU. . . . .	46
5.2	Contante cinética de extracción y ajuste del modelo de segundo orden en convencional y EAU. . . . .	47
5.3	Coefficientes de difusión efectiva a diferentes temperaturas para ECV y EAU. . . . .	51

# RESUMEN

El presente trabajo tuvo como objetivo principal desarrollar un modelo matemático que permitiera describir el fenómeno de transferencia de masa a diferentes condiciones de operación, mediante distintas aproximaciones en un proceso de extracción asistida con ultrasonido de compuestos bioactivos, a partir de datos previamente reportados en bibliografía.

En primer lugar, se realizó una amplia búsqueda bibliográfica hasta encontrar el trabajo que se adecuará y permitiera la obtención de datos experimentales que, a su vez, permitieran el desarrollo del modelo matemático propuesto. Estos datos experimentales fueron obtenidos a partir del trabajo publicado por González-Centeno et al. (2015) en donde se estudia el proceso de extracción mediante método convencional y asistido con ultrasonido a diferentes temperaturas (20, 35 y 50°C) en subproductos de uva Syrah roja.

Posteriormente, a partir de los datos experimentales previamente reportados por González-Centeno et al. (2015), se estudió el fenómeno de transferencia de masa utilizando dos modelos matemáticos desarrollados en el presente trabajo; uno que se basaba en la cinética de extracción y otro en el mecanismo de difusión. Para la cinética de extracción se utilizaron dos modelos, uno de primer y otro de segundo orden en donde se concluyó que el mejor ajuste fue obtenido por el modelo de segundo orden ( $R^2 > 0.96$ ) en el que las constantes cinéticas de extracción disminuían con el incremento de la temperatura, lo que resulta en un efecto positivo de la temperatura en el proceso de extracción para ambos métodos. Por otra parte, en el modelo de difusión se calcularon los valores de los coeficientes de difusión a diferentes temperaturas y, de igual manera que en la cinética, el incremento gradual de la temperatura durante la extracción aumenta la eficiencia del proceso. Los resultados obtenidos anteriormente permitieron estudiar y evaluar el fenómeno de transferencia de masa durante la extracción de compuestos fenólicos en uva Syrah mediante el desarrollo de modelos matemáticos basados en la cinética y difusión en ambas técnicas de extracción.

# INTRODUCCIÓN

Durante la elaboración del vino, las pieles y las semillas de las uvas se mantienen en contacto durante varios días con el vino fermentado para aumentar el contenido fenólico del vino producido, pero los residuos de la uva utilizados durante este proceso contienen niveles altos de compuestos fenólicos que quedan retenidos en la piel. Esto es un grave problema de desperdicio de residuos en las industrias, por lo que se ha buscado que la extracción de compuestos fenólicos (CFs) provenga de estos subproductos para así generar un menor impacto ambiental y una mayor rentabilidad en el proceso de extracción. El método de extracción influye mucho en la obtención de los compuestos de interés, ya que cada técnica utilizada se realiza de acuerdo a los requisitos de calidad que requiere cada una de las industrias. Por lo tanto, el desarrollo de un método de extracción que sea efectivo, adecuado y de bajo costo es de suma importancia. Es así como la extracción asistida con ultrasonido (EAU) se ha vuelto una alternativa viable para la extracción de estos compuestos y para el aprovechamiento de estos subproductos ya que ataca la integridad de las paredes celulares vegetales resultando en la liberación de compuestos, lo que permite la penetración del disolvente en la matriz de la muestra incrementando el área de contacto entre la fase sólida y líquida. Como resultado, la transferencia de masa y energía aumenta y el soluto se disuelve más rápidamente en el disolvente. Otra de las ventajas del ultrasonido es que tiene el potencial de reducir los tiempos de extracción y el uso de solventes que no son benéficos para el medio ambiente. Este método se ha convertido en una técnica bien establecida, tanto en laboratorios como a escala industrial por la sencillez y eficiencia de la misma.

Para entender la EAU de CFs es necesario el uso de modelos matemáticos ya que, como herramienta útil de ingeniería, facilitan considerablemente la optimización, simulación, diseño y control de los procesos lo que contribuye a mejores usos de energía, tiempo y solventes. Algunos de estos modelos matemáticos mecánicos, empíricos y semi-empíricos son los modelos de primer orden, basados en la segunda ley de Fick, modelos de tipo Weibull, modelo de hinchazón, modelo fenomenológico, modelo cinético de dos sitios, entre otros. Por lo tanto, en el presente proyecto se busca entender la EAU de CFs en uva Syrah (*Vitis vinífera* L.) utilizando

un modelo matemático que permita entender lo que ocurre a nivel partícula durante este proceso, así como describir el fenómeno de transferencia de masa tomando por separado la cinética de extracción y la difusión. Esto debido a que la bibliografía actualmente reportada realiza estudios para describir el fenómeno de transferencia de masa ya sea considerándolo como una cinética de extracción o como un proceso de difusión.

# I. ANTECEDENTES

## 1.1. Generalidades de la uva

Las uvas son las bayas producidas por el género *Vitis* que abarca aproximadamente 60 especies de vides. *Vitis vinífera* L. es la especie más comúnmente cultivada y representa un 90 % de las uvas que se encuentran en el mercado. Estas frutas se consumen tanto frescas como en productos procesados que incluyen vino, mermelada, jugo, gelatina, vinagre, extractos y aceites de semilla de uva (Pan et al., 2019).

La uva Syrah proviene de la cruce de dos variedades francesas, Dureza y Mondeuse Blanche. La primera es una variedad color negro oscuro y la segunda es una variedad ligeramente blanca (Bettiga, 2003). Los racimos de esta especie son medianos con una forma cilíndrica alargada y se encuentran llenos de pedúnculos lo que ocasiona que los racimos se separen de los bastones. Las bayas tienen un tamaño de pequeño a mediano, son ovalados con una coloración entre azul y negro y tienden a marchitarse cuando llegan a la maduración. En lo que respecta a las hojas, éstas son medianas; y en su mayoría presentan de 3 a 5 lóbulos con senos laterales inferiores reducidos (Bettiga, 2003).

Las uvas se clasifican entre las cinco primeras en todas las frutas en lo que respecta a términos de producción global total (Alimentación y Agricultura Organización de las Naciones Unidas, 2017). Según datos de la Organización Internacional de Vigne et du Vin (OIV), en 2012 esto equivalía a alrededor de 70 millones de toneladas de uva donde el 60 % se usa para «uvas prensadas» (es decir, principalmente para producción de vino y jugo de uva); a su vez se produjeron casi 26 millones de litros de vino en todo el mundo. Durante el proceso de vinificación, los residuos sólidos conocidos como orujo o bagazo de uva son generados después de extraer el jugo para fermentar el vino blanco, y después de la fermentación y prensado para el vino tinto. En la actualidad, se generan 9 millones de toneladas de desechos orgánicos durante la producción de vino. Esto ha provocado un impacto ambiental negativo; ya que a pesar de existir una mejora en los sistemas de gestión de residuo, la industria vinífera sólo ha aprovechado alrededor de un tercio de las uvas utilizadas en la producción de vino (Makris et al., 2007). Al igual que todos los sub-

productos provenientes de fuentes vegetales, éstos se consideran de bajo costo y son fuente rica de componentes valiosos que pueden recuperarse y utilizarse como aditivos alimentarios naturales, nutracéuticos y otros ingredientes funcionales (Arvanitoyannis et al., 2006; Galanakis, 2012; Hang, 1988; Prokopov et al., 2015). Específicamente, los subproductos provenientes de la industria vinífera se caracterizan por sus altas propiedades antioxidantes con varios beneficios potenciales para la salud humana (Teixeira et al., 2014; Xia et al., 2010). Durante la última década se ha generado un creciente interés no sólo en el control ambiental de estos residuos sino también el aprovechamiento adecuado de estos subproductos para otras aplicaciones nutraceútics.

### 1.1.1. Morfología de la uva

La especie *Vitis vinífera L.* se puede dividir en dos partes diferentes. La parte subterránea la cual está formada por las raíces de distinto grosor y edad. Este sistema se encarga de diversas funciones para la vida de la planta, una es mecánica ya que es capaz de darle el sostén necesario para fijarse en el terreno donde se encuentra. Otra función muy importante es la relacionada con la respiración, ya que se encargan de absorber el oxígeno del aire o del agua que circula en el suelo, y transformarlo en dióxido de carbono ( $CO_2$ ) lo que le proporciona energía a la planta (Togores, 2006).

Por otro lado, la parte aérea conforma al tronco, los brazos, sarmientos, brotes, hojas, frutos y zarcillos. El tronco se encarga de soportar a los sarmientos y de transportar la savia bruta hacia los órganos verdes, y una vez transformada en savia elaborada la transportan a través de toda la planta. Las hojas se encuentran una en cada nudo y sus funciones mas importantes son la fotosíntesis, respiración y la transpiración. Los zarcillos son considerados inflorescencias estériles, es decir, sin flores ni bayas y su única función es de sostén. Las yemas se consideran brotes en miniatura y desarrollan un papel muy importante en la vida ya que tienen como función asegurar la perennidad de la especie (Púrez et al., 2003).

### 1.1.2. Composición química y nutricional de la uva

En su mayoría, la uva está compuesta principalmente por agua, azúcares y ácidos orgánicos como el ácido tartárico, málico y cítrico. La Tabla 1.1 muestra la composi-

ción física y química de diferentes fracciones del racimo de uva.

Tabla 1.1. Composición física y química de diferentes fracciones del racimo de uva (miliequivalentes por kg de racimo) (Moreno and Peinado, 2012).

Componentes	Fracciones del racimo de uva		
	Raspón	Piel	Pulpa
% en peso fresco del racimo	4-4.5	3.8-4.3	83-91
Azúcares (g/kg)	<10	0.7-3	180-240
Agua	78-80	78-80	70-85
pH	4.1-4.5	3.8-4.3	3.2-4.0
Ácidos libres	60-90	55-94	98-125
Sales ácidas	102-140	65-148	43-58
Ácido tartárico	30-90	64-99	45-90
Ácido málico	80-150	40-132	70-90
Ácido cítrico	4-10	3-9	1.5-2.9
Aniones totales	170-183	123-240	130-170
Cationes totales	160-205	120-242	150-170

Las uvas contienen en abundancia diferentes compuestos que son extraídos total o parcialmente durante el proceso de vinificación. Diversos estudios han encontrado que los residuos de uva son una buena fuente de fito químicos entre los que destacan los fenoles, pigmentos y antioxidantes (Caldas et al., 2018; Corrales et al., 2008; Mazza et al., 2019).

El raspón es potencialmente rico en CFs (particularmente en variedades de uva roja), pero debido a que presentan un sabor amargo, reducen la calidad del vino. Aunque esta fracción sólo representa alrededor de un 4.5% del peso del racimo, contienen alrededor del 20% del total de CFs, 15% de taninos, 26% de las leucoantocianinas (constituyentes de los taninos condensados y están vinculados a la astringencia), el 15% de las catequinas, el 16% del ácido gálico y el 9% del ácido cafeico total (Moreno and Peinado, 2012). En lo que respecta a la piel, la cantidad de CFs es

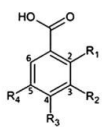
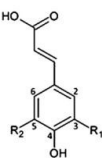
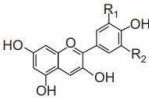
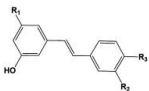
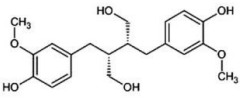
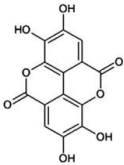
muy variable y depende principalmente de la variedad de la uva. La piel contiene entre un 12 y 61 % del contenido total de polifenoles de la fruta, entre 14 y 50 % de los taninos, 17 a 47 % de las procianidinas y casi todos las antocianinas (Moreno and Peinado, 2012).

## 1.2. Compuestos fenólicos

Existen aproximadamente más de 200,000 sustancias químicas aisladas e identificadas con diversas estructuras y clases provenientes de plantas alrededor del planeta. Estas sustancias químicas se dividen en dos grupos principales: metabolitos primarios y secundarios (Chikezie et al., 2015). Los metabolitos primarios son esenciales para el mantenimiento celular y agrupa a los ácidos grasos, proteínas, carbohidratos y ácidos nucleicos (Chikezie et al., 2015). Por otro lado, los metabolitos secundarios a pesar de que no participan directamente en el metabolismo fotosintético o respiratorio de la planta, son esenciales para la supervivencia de la misma. Su estructura química es diversa cuando se compara con la de los metabolitos primarios y son el sistema de defensa de la planta (Chikezie et al., 2015).

Los metabolitos secundarios también actúan como compuestos de señal, atrayendo a los polinizadores para la dispersión de semillas además de proteger a la planta de los agentes oxidantes y la radiación ultravioleta. Uno de los metabolitos secundarios más importantes y ampliamente distribuidos en las plantas son los CFs. Estos compuestos juegan un papel esencial en el crecimiento y reproducción de la planta, brindan protección contra patógenos y depredadores. Adicionalmente, contribuyen a las características sensoriales de vegetales y frutas (Chikezie et al., 2015). Su estructura se compone de un anillo aromático con uno o más sustituyentes hidroxilos y debido a su gran diversidad estructural existe una amplia gama de estos compuestos (Tabla 1.2).

Tabla 1.2. Clasificación de CFs.

Tipo	Ácido hidroxibenzoico				
Estructura básica	R1	R2	R3	R4	Ejemplo de ácido
	OH	H	H	H	Salicilico
	H	OCH <sub>3</sub>	OH	H	Vanílico
	H	OH	OH	OH	Galico
	H	OCH <sub>3</sub>	OH	OCH <sub>3</sub>	Siringico
Ácido hidroxiácido					
	H	H			P-Cumárico
	OH	H			Cafeico
	OCH <sub>3</sub>	H			Ferulico
	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>			Sinápico
Flavonoides					
	OH	H			Cianidina
	OCH <sub>3</sub>	H			Peonidina
	OCH <sub>3</sub>	OH			Petunidina
	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>			Maldivina
Estilbenos					
	OH	H	OH		Resveratrol
	OGcl	OH	OH		Astringina
					Lignanos
					Secoisolariciresinol
					Taninos
					Ácido elágico

## 1.2.1. Clasificación de los compuestos fenólicos

### 1.2.1.1. Ácidos fenólicos

Los ácidos fenólicos contienen al menos un anillo aromático en donde al menos un hidrógeno está sustituido por un grupo hidroxilo (Heleno et al., 2015). Se subdividen en dos grupos: ácidos hidroxibenzoicos (HBA, por sus siglas en inglés) e hidroxicinámicos (HCA, por sus siglas en inglés). Los HBAs tienen una estructura general  $C_6 - C_1$ , con algunas variaciones en su estructura básica como hidroxilaciones y metoxilaciones en los anillos aromáticos. Las principales fuentes en las que se pueden encontrar estos compuestos son frutas, vegetales, té y cereales. Por otra parte, los HCAs tienen una estructura básica  $C_6 - C_3$  con un doble enlace en la cadena lateral que puede presentar una configuración cis o trans. Se pueden encontrar en frutas como manzanas, cerezas y algunos cítricos.

### 1.2.1.2. Flavonoides

Los flavonoides son compuestos de bajo peso molecular, caracterizados por un esqueleto de 15 carbonos dispuestos como  $C_6 - C_3 - C_6$  con diferentes sustituciones, grado de insaturación y disposición del esqueleto básico lo que resulta en diferentes subclases (Lafay and Gil-Izquierdo, 2008). Su estructura básica está constituida de dos anillos aromáticos, A y B, unidos a un puente de tres carbonos, frecuentemente en la forma de un anillo heterocíclico, C. Las variaciones en los patrones de sustitución de este último anillo proporcionan las principales clases de flavonoides como flavonoles, flavonas, flavanonas, flavanoles, isoflavonas, flavononoles y antocianidinas (Birt and Jeffery, 2013).

El número de flavonoides presente en frutas y vegetales puede variar según la variedad de especies, condiciones climáticas, parte de la planta, cultivo y grado de madurez. Además, en los alimentos, no sólo son responsables del color sino que también participan en el sabor y en la protección a la peroxidación lipídica (Ferrer et al., 2008). Las principales fuentes de estos compuestos son las especias y hierbas, grasas y aceites de frutas, vegetales, granos de cereal y pastas (Faggio et al., 2017).

### 1.2.1.3. Taninos

Los taninos tienen un gran valor en las interacciones que se dan entre las plantas y sus ecosistemas ya que pueden actuar contra los herbívoros o desempeñar un papel como agentes antimicrobianos. Son compuestos solubles en agua y contienen un gran número de hidroxilos u otros grupos funcionales y, por lo tanto, se pueden encontrar en forma de ésteres o heterosis (Ferrer et al., 2008).

Son compuestos químicos muy reactivos y forman puentes de hidrógeno intra o intermolecular. Es importante mencionar que tienen la capacidad de precipitar proteínas como es el caso de las glucoproteínas salivales lo que lleva a la pérdida de la capacidad lubricante que es la responsable de la astringencia de muchas frutas y productos vegetales (Ferrer et al., 2008). Por otra parte, los taninos se oxidan fácilmente por metales, cloruro férrico o incluso con ciertas enzimas vegetales que conducen al oscurecimiento de las soluciones (Chung et al., 1998). Se pueden clasificar químicamente en dos grupos: hidrolizables y no hidrolizables o condensados. Las frutas, vegetales, vino tinto, el chocolate y algunos cereales y leguminosas son las principales fuentes en donde se pueden encontrar este tipo de compuestos (Tsao, 2010).

### 1.2.1.4. Estilbenos

Los estilbenos son un grupo de compuestos derivados de los fenilpropanoides y se caracterizan por una columna de 1,2-difeniletieno ( $C_6 - C_2 - C_6$ ) (Goyal et al., 2012). Bajas cantidades de estos compuestos se pueden encontrar en la dieta humana y el compuesto principal de este grupo es el resveratrol, principalmente en forma glicosilada (Delmas et al., 2006; Ignat et al., 2011).

El resveratrol es una fitoalexina y es principalmente producida en la vid de la uva en respuesta a lesiones e infecciones por hongos (Atanacković et al., 2012). Varios estudios han indicado que el resveratrol tiene la capacidad de prevenir el cáncer y la enfermedad coronaria, las enfermedades neurológicas y degenerativas (Anekonda, 2006; Das and Das, 2010; Saiko et al., 2008)

#### 1.2.1.5. Lignanos

Este grupo comprende una gran variedad de estructuras individuales que constan principalmente de dos fenilpropanoides conectados a través de su carbono C<sub>8</sub> de cadena lateral (Aehle et al., 2011; Davin and Lewis, 2003). Los lignanos son una de las principales clases de fitoestrógenos, que son compuestos químicos similares al estrógeno. En el tracto gastrointestinal, estas moléculas se convierten en compuestos que tienen tanto propiedades estrógenicas como antiestrogénicas (Meagher and Beecher, 2000). Se pueden encontrar en bajas concentraciones en fresas y arándanos (Meagher and Beecher, 2000), aunque la fuente con más alta cantidad de estos compuestos es la semilla de lino.

### 1.3. Cuantificación de compuestos fenólicos

La cuantificación de CFs totales así como la expresión de valores significativos de este método se ha vuelto un desafío analítico (Waterhouse, 2002). Actualmente, se han desarrollado diversos procedimientos para cuantificar y analizar las diferentes clases de fenoles, pero solamente algunas se han aplicado con éxito en la industria vinífera.

Actualmente, existen dos métodos que se han utilizado para el análisis de los fenoles totales en el vino. El método Folin-Ciocalteu tiene la gran ventaja de arrojar una respuesta equivalente con diferentes fenoles, aunque presenta la desventaja de que puede responder ante la presencia de dióxido de azufre y azúcar (Waterhouse, 2002). Por otra parte, el método de análisis de absorbancia espectral directa es rápido y simple, lo que lo hace adecuado para el monitoreo de procesos. Sin embargo, este método responde de manera diferente a las diversas clases de fenoles, lo que ocasiona problemas a la hora de realizar comparaciones entre diferentes tipos de vino; y también se ve afectado por la presencia del sorbato (Waterhouse, 2002).

#### 1.3.1. Método Folin-Ciocalteu

El fundamento del método colorimétrico Folin-Ciocalteu se basa en una reducción química del reactivo conformado por una mezcla de tungsteno y óxidos de molibdeno. Los productos de esta reducción de óxido metálico presentan una co-

loración azul que se exhibe en una absorbancia amplia con un máximo a 765 nm. La intensidad de absorción de luz a esa longitud de onda es proporcional a la concentración de fenoles (Waterhouse, 2002). Este método ha sido adoptado como el procedimiento adecuado para la cuantificación de CFs en el vino.

Una desventaja de este método es que no es específico y puede verse afectado por otras moléculas reductoras de naturaleza no fenólica debido a que depende de la oxidación selectiva de sustancias fácilmente oxidables que, cuando se encuentran presentes, contribuyen a la cuantificación total aparente de fenoles. Algunos ejemplos de estas sustancias son las aminas aromáticas, el dióxido de azufre y el ascorbato (Rover and Brown, 2013).

## 1.4. Actividad antioxidante

Los radicales libres (ROS) se producen para mantener la vida en condiciones aeróbicas manteniendo el equilibrio entre agentes oxidantes y defensas antioxidantes (Gupta y Verma 2010). Sin embargo, existe estrés oxidativo si la producción de radicales libres excede la capacidad antioxidante de un sistema vivo, estas especies de oxígeno y nitrógeno reactivas, llamadas especies reactivas, pueden atacar a lípidos, proteínas y al ADN ocasionando daño estructural y funcional a enzimas y material genético (Barreiros et al., 2006).

Para entender el mecanismo de estas especies reactivas es necesario definir cada uno de los grupos. Las especies reactivas de oxígeno (ROS) y las especies reactivas de nitrógeno (RNS) son radicales o especies químicas que participan en reacciones de tipo radical (ganancia o pérdida de electrones) como radicales anión superóxido, especies de radicales hidroxilo, óxido nítrico y dióxido de nitrógeno (Halliwell and Gutteridge, 2015; Magder, 2006).

De acuerdo a estudios especializados, existen al menos tres mecanismos que el cuerpo humano utiliza para combatir el exceso de ROS o estrés oxidativo: (1) mecanismo preventivo en el cual las proteínas que tienen un núcleo coordinado de hierro o cobre con la capacidad de unirse a otras moléculas previenen la sobreproducción de OH; (2) mecanismo de reparación que consta de enzimas que reparan o eliminan biomoléculas dañadas por ROS como glutatión peroxidasa, glutatión reductasa y metionina-sulfóxido reductasa; y (3) mecanismo eliminador en el cual se encuentran

enzimas con capacidad para eliminar el exceso de ROS como superóxido dismutasa, glutatión peroxidasa, catalasa, entre otras metaloenzimas y sustancias químicas con capacidad de eliminación entre las que destacan las grasas poliinsaturadas, ácidos, vitaminas C y E, ácido úrico, bilirrubina, carotenoides y flavonoides (Martínez Sánchez et al., 2003).

Por otra parte, las investigaciones han declarado que, bajo estrés, el cuerpo humano puede tener mayor cantidad de ROS que agentes antioxidantes generando daño celular (Gupta, 2010; Krishnaiah et al., 2011). Si hay un desequilibrio entre ROS y antioxidantes se pueden desencadenar diversas enfermedades del tipo cardiovasculares y neurodegenerativas como cáncer, Alzheimer, diabetes, de tipo neurológicas, endocrinas, respiratorias, inmunes, autoinmunes, trastornos gástricos y carcinogénesis (Jang et al., 2010). Debido a esto se ha generado un interés creciente en el estudio de compuestos que posean actividad antioxidante.

Los antioxidantes son sustancias presentes en bajas concentraciones que retrasan o inhiben significativamente la oxidación. De acuerdo a Velioglu et al. (1998), los antioxidantes naturales más importantes son los CFs como tocoferoles, flavonoides y ácidos fenólicos, compuestos nitrogenados (alcaloides, derivados de clorofila, aminoácidos y aminas), carotenoides o ácido ascórbico .

### **1.4.1. Métodos para evaluar la capacidad antioxidante**

Actualmente, el estudio de la capacidad antioxidante es uno de los temas de estudio más populares entre la comunidad científica. Los métodos *in-vitro* son los más comúnmente utilizados y se basan en la reacción de transferencia de un solo electrón o de tipo redox que presentan variaciones en la coloración correlacionadas con con la concentración de antioxidantes en la muestra (Moharram and Youssef, 2014).

#### **1.4.1.1. Ensayo ABTS**

El primer ensayo ABTS fue descrito en 1993 por Miller et al. (1993); el método se desarrolló basado en la absorción del radical catión  $ABTS^{\bullet+}$  para evaluar la capacidad antioxidante total de fluidos corporales y soluciones farmacológicas (Miller et al., 1993).

El radical  $ABTS^{\bullet+}$  se genera a través del ácido 2,2-azino-bis(3-etilbenzoatixolin)-

6-sulfónico. Este radical es un compuesto cromóforo químicamente estable con un amplio rango de pH, es soluble en agua y exhibe una fuerte absorción en el rango de 600-750 nm (Miller et al., 1993). Se puede generar también a partir de la reacción entre ABTS y persulfato de potasio con una producción directa del  $ABTS^{\bullet+}$  con una coloración verde y/o azul presentando absorciones máximas en longitudes de onda de 645, 734 y 815 nm o más comúnmente con un máximo de 415 nm. El radical se genera entonces directamente en forma estable antes de la reacción con los antioxidantes. La extensión de la decoloración del ABTS está determinada por el porcentaje de inhibición del catión radical  $ABTS^{\bullet+}$  como función de la concentración y tiempo después de considerar como estándar y de medir la reactividad relativa del Trolox (Nenadis et al., 2004).

#### 1.4.1.2. Ensayo FRAP

Este método mide la capacidad de los antioxidantes para reducir el hierro férrico por lo que se basa en la reducción del complejo de hierro férrico y 2,3,5-trifenil-1,3,4-triaza-2-cloruro de azoniaciclopenta-1,4-dieno (TPTZ) a la forma ferrosa en pH bajo. Esta reducción se controla midiendo el cambio de absorción a 593 nm en un espectrofotómetro.

### 1.5. Extracción sólido-líquido

La extracción sólido-líquido o lixiviación es un proceso de separación que implica la transferencia de solutos de una matriz sólida a un solvente. Esta operación unitaria es ampliamente utilizada en la industria alimenticia para extraer componentes de diversas matrices como la sacarosa en la caña o remolacha, lípidos de semillas oleaginosas, proteínas en harinas de semillas, fitoquímicos de plantas e hidrocoloides de algas, entre otros (Tzia and Liadakis, 2003). Todas las técnicas de extracción tienen algunos objetivos en común como, (a) la extracción de compuestos bioactivos específicos de muestras vegetales complejas, (b) la eliminación de posibles interferencias, (c) incrementar la concentración de los compuestos bioactivos que conducen al aumento en la sensibilidad de la técnica, (d) convertir el analito en una forma adecuada que permita su fácil detección y separación y finalmente, (e) para proporcionar un método reproducible que sea independiente de las variaciones que

presente la muestra (Smith, 2003).

Desde el punto de vista ingenieril, la lixiviación es una operación de transferencia de masa en estado dinámico, multifásica y multicomponente. De acuerdo a Rodríguez-Jimenes et al. (2013), la lixiviación es una operación unitaria en la que un material extraíble se transporta entre dos fases en contacto, el refinado y el extracto. El refinado es el medio sólido heterogéneo que representa a la fuente extraíble y por otro lado, el extracto, es el medio líquido homogéneo compuesto principalmente por el disolvente en el cual se recupera el material extraíble.

Una serie de etapas fenomenológicas ocurren durante la interacción de la partícula que contiene al soluto y el solvente que efectúa la separación como se representa en la Figura 1.1. Las etapas son:

1. El solvente se transfiere desde la solución en el seno del fluido a la superficie del sólido.
2. El solvente penetra o se difunde en el sólido a través de los poros.
3. El soluto se disuelve desde el sólido al solvente (cinética de extracción).
4. El soluto se difunde a través de la mezcla a la superficie del sólido (difusión intrapartícula o interna)
5. El soluto se transfiere de la superficie del sólido a la solución en el seno del fluido.

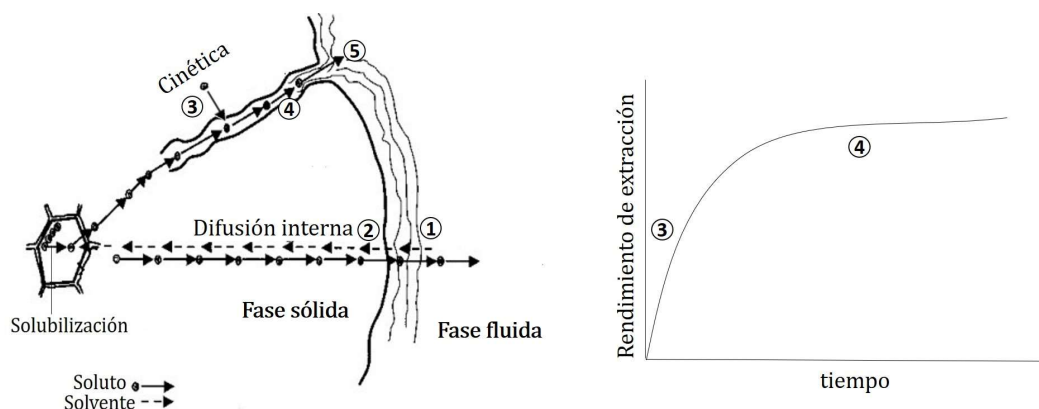


Figura 1.1. Esquema del proceso de extracción sólido-líquido (Tzia and Liadakis, 2003).

La curva de extracción generalmente se compone de una primera etapa de extracción rápida (etapa de lavado) seguida de una etapa lenta (etapa de difusión). Esta primera etapa hace referencia a la entrada del solvente a la matriz vegetal generando la disolución de los compuestos bioactivos en el solvente o lo que se conoce como cinética de extracción. Durante la segunda etapa también conocida como etapa de difusión intrapartícula, los compuestos bioactivos se difunden desde el interior de la matriz vegetal y avanzan por los poros hasta llegar a la fase fluida (Chan et al., 2014). Como resultado de estas etapas, la extracción se interpreta como una velocidad en términos de masa de soluto lixiviado/unidad de tiempo o, más comúnmente, como cambio en la concentración de soluto en el sólido/unidad de tiempo (Tzia and Liadakis, 2003).

### **1.5.1. Principios generales del proceso de extracción sólido-líquido**

#### **1.5.1.1. Difusión**

La difusión molecular es el proceso por el cual las moléculas son transportadas desde una parte del sistema a otra como resultado de un gradiente de concentración. En la extracción sólido-líquido de matrices vegetales o alimenticias, el interior del sólido no puede ser agitado y es poco probable que ocurra turbulencia en los pequeños capilares y poros, lo que deja a la difusión molecular como el principal mecanismo de transporte dentro de la fase sólida (Tzia and Liadakis, 2003). La velocidad de difusión determina el tiempo necesario para lograr el equilibrio entre las dos fases (Toledo et al., 1991).

Las leyes de Fick proporcionan las bases semiempíricas para el análisis de la difusión molecular. La primera ley de Fick es útil para definir un coeficiente de difusión o la difusividad ( $D$ ), la cual establece que bajo condiciones de estado estacionario (es decir, que la concentración no cambia con el tiempo) el flujo unidireccional del soluto ( $J$ ,  $mol/s$ ) en la dirección  $r$  es directamente proporcional a la difusividad del soluto, al área atravesada por el flujo y el gradiente de concentración entre dos puntos expresados en términos de concentración absoluta o fracción molar (Tzia and Liadakis, 2003). Esta ley describe la difusión referente a un sistema de coordenadas fijo y para el caso unidireccional toma la forma:

$$j = \frac{J}{A} - cD \frac{dx}{dr} = - \frac{Ddc}{dr} \quad (1.1)$$

donde  $j$  es el flux molar en moles por unidad de tiempo y área,  $r$  es la dirección del flujo,  $A$  es el área de transferencia de masa por unidad de partícula en la que ocurre el fenómeno de difusión y  $c$  es la concentración molar total. El signo negativo da un término de flujo positivo debido a que se parte de la referencia de gradiente de concentración negativo (Tzia and Liadakis, 2003).

En situaciones reales existen condiciones dinámicas lo que conlleva a que la concentración del soluto varíe con el tiempo ( $t$ ) y la posición ( $r$ ) dentro del sólido (Tzia and Liadakis, 2003). Para estos caso se puede emplear la segunda Ley de Fick (o ecuación de difusión) y toma la siguiente forma general.

$$\frac{\partial c}{\partial t} = D \frac{\partial^2 c}{\partial r^2} = D \frac{\partial}{\partial r} \left( \frac{\partial c}{\partial r} \right) \quad (1.2)$$

La cual hace referencia a que el flujo del soluto es directamente proporcional al cambio en el gradiente de concentración con la posición. Cuando este gradiente es constante, es decir  $\partial c / \partial t = 0$ , significa que las condiciones de estado estacionario están presentes por lo que se utiliza la Ecuación 1.1 (Tzia and Liadakis, 2003).

La desventaja de la Ecuación (1.1) es que debe ser conocida la distancia sobre la cual ocurren los cambios de concentración para poder determinar el gradiente; lo cual se vuelve difícil a la hora de cuantificar el proceso dentro de un equipo de extracción y, además, es importante considerar la transferencia de masa interfacial. Debido a esto, algunos estudios (Lazar et al., 2016; Pan et al., 2012; Sivarajan et al., 2013; Tušek et al., 2016) han optado por estudiar la transferencia de masa utilizando coeficientes multiplicados por una fuerza impulsora que sea medible; por lo que, el problema de la distancia se oculta en el coeficiente que también contiene implícitamente a la difusividad (Tzia and Liadakis, 2003). Una de las expresiones más utilizadas en la actualidad es,

$$\text{Velocidad de extracción} = \text{coeficiente de transferencia de masa} \times \text{fuerza impulsora}$$

(1.3)

La fuerza impulsora en el proceso de extracción se considera como la diferencia entre la actividad química del soluto dentro del sólido y en la solución madre. Por razones prácticas, la velocidad es expresada como el producto de la diferencia entre la concentración del soluto externa ( $c_{out}$ ) y la del interior del sólido ( $c_{in}$ ), y un coeficiente de transferencia de masa basado en la concentración. Es importante mencionar que, generalmente,  $c_{in}$  se toma usualmente como la concentración del soluto en la fase líquida que debe estar en equilibrio con la concentración del sólido ( $c^*$ ). Entonces, la fuerza impulsora de la extracción se expresa como  $(c^* - c_s)$ , donde  $c_s$  puede ser medido en la solución madre. Debido a lo anterior, la Ecuación (1.3) toma la siguiente forma,

$$N = k_c(c^* - c_s) \quad (1.4)$$

donde la velocidad de extracción  $N$  depende de la diferencia en la variable termodinámica (expresada como concentración) y un coeficiente global de transferencia de masa  $k_c$  que incluye los parámetros físicos y microestructurales del proceso. Si el área de la interfase ( $a$ ) no se conoce, entonces el coeficiente se transforma en  $k_c a$  (Tzia and Liadakis, 2003).

#### 1.5.1.2. Equilibrio

Cuando la relación sólido/solvente es adecuada para satisfacer la solubilidad del soluto, existe el equilibrio el cual es una condición donde la concentración de solutos en ambas fases (sólida y líquida) son iguales. Cuando la cantidad de solvente es inadecuada para disolver todo el soluto presente, el equilibrio se considera como una condición en la que no se producirán más cambios en la concentración de soluto en ninguna de las fases con un tiempo de contacto prolongado; por lo que para que se produzca el equilibrio debe haber un tiempo de contacto suficiente entre ambas fases (Toledo et al., 1991).

## 1.6. Extracción de compuestos fenólicos

Los compuestos bioactivos provenientes de fuentes vegetales se encuentran dentro de estructuras insolubles tal es el caso de las vacuolas en las células vegetales y en bicapas de lipoproteínas que pueden dificultar su extracción (Corrales et al., 2008). Actualmente, se han desarrollado una gran variedad de técnicas de extracción para los compuestos bioactivos de origen vegetal. Éstas se han aplicado a diversas condiciones para poder investigar y comprender los mecanismos de extracción y la selectividad de diversas fuentes naturales. Los objetivos principales de desarrollo y optimización del método de extracción son obtener el máximo rendimiento de los compuestos objetivo, separar los compuestos funcionales de los compuestos indeseables (impurezas, compuestos tóxicos), evitar la descomposición, deterioro y/o la pérdida de la funcionalidad durante el procesamiento y mantener el proceso con los requisitos industriales reglamentarios asegurando la naturaleza de grado alimenticio del producto final (Hogervorst et al., 2017).

La extracción convencional (ECV) sigue siendo la técnica de extracción más aplicada para la obtención de compuestos bioactivos provenientes de vegetales a pesar de que presentan grandes desventajas como largos tiempos de extracción, pérdida de compuestos debido al proceso de hidrólisis y oxidación durante la extracción, así como la contaminación ambiental debido a los grandes volúmenes de solventes orgánicos utilizados (Bonfigli et al., 2017; Caldas et al., 2018; Drosou et al., 2015; Galanakis et al., 2015). Estos métodos convencionales se basan predominantemente en procesos de calentamiento lo que facilita la transferencia de masa entre las diferentes fases del sistema; sin embargo, pueden dar como resultado la degradación de compuestos termolábiles y también requieren de un consumo significativo de energía (Barba et al., 2016). Algunos ejemplos de estas técnicas convencionales son la maceración y la extracción Soxhlet.

Hoy en día, las tecnologías innovadoras y emergentes están atrayendo cada vez más el interés de las industrias alimentarias para afrontar problemas relacionados con la aplicación de técnicas de ECV. Estas nuevas tecnologías (es decir, campos pulsados, US, alta presión, fluidos supercríticos, etc. ) se encuentran en constante investigación para satisfacer el crecimiento de la demanda de los consumidores de alimentos y subproductos mínimamente procesados, y para cumplir con los requisitos del concepto de extracción ecológica. Este concepto representa una tenden-

cia efectiva para la recuperación sostenible de compuestos de alto valor agregado con menor consumo de energía (Galanakis, 2013). Además, estas técnicas presentan grandes ventajas como la minimización del uso de solventes orgánicos, acortamiento del tiempo de extracción, disminución de la temperatura de procesamiento, intensificación de la transferencia de masa, aumento en el rendimiento y alta calidad del extracto (Chemat et al., 2015).

En la actualidad, el US es una de las técnicas de extracción más utilizadas debido a su facilidad de operación y a sus altos rendimientos. Ésta tecnología puede mejorar el proceso de extracción ya que incrementa la transferencia de masa entre el solvente y la matriz vegetal. Además, el colapso de las burbujas conduce a una mejor disrupción celular debido a la implosión de éstas cerca de la superficie sólida; esto permite una mejor penetración del solvente en la muestra. Por ende, esta alternativa ha llamado la atención debido a que tiene grandes ventajas como el aumento de la transferencia de masa, mejor penetración del solvente, menor dependencia del solvente utilizado, extracción a temperaturas bajas, tasas de extracción más rápidas y mayor rendimiento de productos. Estas características hacen que el uso del US sea una propuesta atractiva para la extracción de compuestos bioactivos en muestras vegetales (J Mason et al., 2011).

## 1.7. Ultrasonido (US)

El US se define como ondas de sonido que tienen una frecuencia que excede el límite de audición del oído humano (~20 kHz). Actualmente, es una alternativa emergente que ha sido desarrollada para minimizar el tiempo de procesamiento, maximizar la calidad y garantizar la seguridad de los productos alimenticios. Esta técnica presenta efectos positivos en el procesamiento de alimentos entre los que destacan la transferencia de masa, la conservación de alimentos, asistencia de tratamientos térmicos y la manipulación de texturas y análisis de alimentos (Knorr et al., 2011).

Basado en el rango de frecuencia, las aplicaciones del US en el procesamiento, análisis y control de calidad de los alimentos se divide en dos categorías: baja y alta intensidad. El US de baja energía (baja potencia, baja intensidad) tiene frecuencias superiores a 100 kHz a intensidades inferiores de  $1 \text{ W} \cdot \text{cm}^2$  lo que le permite

ser utilizado en análisis no invasivos y monitoreo de diversas matrices alimenticias durante el procesamiento y almacenamiento para garantizar calidad y seguridad. También se ha utilizado como apoyo en programas de mejora genética para evaluar la composición de productos cárnicos, crudos y fermentados, pescado y aves de corral (Awad et al., 2012)

Por otro lado, el US de alta energía (alta potencia o alta intensidad) utiliza intensidades superiores a  $1 \text{ W}\cdot\text{cm}^2$  en un rango de frecuencia entre 20 y 500 kHz, lo que lo hace un método destructivo con efectos prometedores en el procesamiento de alimentos, preservación y seguridad. Esta frecuencia del US se ha utilizado como alternativa a las operaciones convencionales de procesamiento de alimentos para controlar la microestructura y modificar las características de textura de productos grasos (sonocristalización). También se ha utilizado en la inactivación o aceleración de la actividad enzimática para mejorar la vida útil y la calidad de los productos alimenticios, en la inactivación microbiana, congelación y descongelación, liofilización, secado y mejoras en de los procesos de extracción para obtener compuestos bioactivos de diversos alimentos (Awad et al., 2012).

### **1.7.1. Ultrasonido de alta intensidad**

La propagación del US a través de un material biológico induce a una serie de compresiones y descompresiones de partículas que genera una alta cantidad de energía. El US de alta intensidad presenta frecuencias superiores a 20 kHz que ocasionan efectos mecánicos, químicos y/o bioquímicos que se utilizan para modificar las propiedades fisicoquímicas y mejorar la calidad de varios sistemas alimentarios durante el procesamiento (Mason, Chemat y Vinatoru, 2011). Este tipo de US se puede aplicar usando baños de sonicación o sondas de inmersión ultrasónicas con diferentes longitudes, diámetros y geometrías de puntas en función de la aplicación.

Debido a que el US es una onda mecánica; la frecuencia, la longitud de onda y la amplitud pueden influir en el proceso de extracción (Pingret et al., 2013b).

1. Frecuencia ( $f$ ) se mide en hertz y expresa el número de ciclos por segundo. Para propósitos de extracción las frecuencias más comunes son 20-50 kHz.
2. Periodo ( $P$ ) es el recíproco de la frecuencia ( $1/f$ ) y representa el tiempo de un ciclo. Tanto el periodo como la frecuencia están determinados solamente por

la fuente ultrasónica.

3. Longitud de onda ( $\lambda$ ) representa la longitud o distancia de un ciclo y está determinada por la fuente ultrasónica (con una frecuencia dada) y el medio (con una velocidad de propagación).
4. Amplitud ( $A$ ) representa la altura de la onda y es usualmente medida en decibeles (dB) o pascales (Pa). La amplitud tiene un efecto importante en la formación e implosión de las burbujas de cavitación.
5. Velocidad de propagación ( $C$ ) representa qué tan rápida la onda se mueve a través del medio.

### 1.7.2. Cavitación

La cavitación acústica generalmente hace referencia a la formación, crecimiento e implosión de burbujas que ocurren durante la propagación de la onda ultrasónica en un medio líquido (Kentish and Ashokkumar, 2011). Las moléculas que constituyen al medio líquido se mantienen unidas por fuerzas de atracción. La propagación de la onda ultrasónica a través de un medio induce a una serie de fases de compresión y descompresión, lo que resulta en un desplazamiento longitudinal de las moléculas del líquido moviéndolas temporalmente de su posición original ocasionando el choque con otras moléculas cercanas. Durante la fase de descompresión, se ejerce una presión negativa ocasionando que las moléculas se separen entre ellas (Suslick, 1989). El alcance de esta presión depende de la naturaleza y pureza del líquido (Mason and Lorimer, 2002; Suslick, 1989).

Durante una fase de descompresión y con una suficiente intensidad de la onda ultrasónica, se podría generar una cavidad en el líquido o una burbuja de cavitación (Mason and Lorimer, 2002). Estas burbujas de cavitación pueden crecer por coalescencia y/o difusión rectificadas (Ashokkumar, 2011; Leong et al., 2011), ya que los vapores o el gas que se encuentra disuelto en el medio entra a la burbuja en la fase de descompresión y no se expulsa por completo durante el ciclo de compresión. Las burbujas de cavitación se clasifican comúnmente en dos tipos: estables y transitorias (Leong et al., 2011; Mason and Lorimer, 2002). Las burbujas de cavitación estables pasan por varios ciclos de compresión y descompresión y, a menudo, oscilan linealmente alrededor de un tamaño de equilibrio. Por el contrario las transitorias existen

uno o sólo algunos ciclos acústicos, en los cuales se expanden muy rápidamente para al menos duplicar su tamaño inicial antes de colapsar violentamente en burbujas más pequeñas. También se les conoce como “burbujas de cavitación activas”. De acuerdo a Ashokkumar (2011), ambos tipos de burbuja son de alta energía de colapso.

Cuando las burbujas de cavitación alcanzan un valor crítico, colapsan durante un ciclo de compresión y se crea un punto caliente transitorio (Flint and Suslick, 1991). El colapso de estas burbujas genera condiciones locales extremas: temperatura de hasta aproximadamente 5000 K (Flint and Suslick, 1991) y presiones alrededor de 50-1000 atm (Suslick, 1989).

Se han reportado diversos efectos cuando las burbujas de cavitación colapsan cerca de la superficie de un material sólido (Suslick, 1989). El colapso de estas burbujas genera chorros de alta velocidad de líquidos en la superficie y daños por ondas de choque, lo que puede conducir a la fragmentación de los materiales y a la erosión localizada. Cuando se trata de un sistema sólido-líquido, la cavitación acústica y las ondas de choque inducen macro-turbulencia, micro-mezclado y subsecuentemente colisiones intrapartícula. Esto resulta en una mayor reactividad general en el medio y un aumento en la transferencia de masa de partículas sólidas debido a la reducción del tamaño de partícula (Chemat et al., 2015).

Aunque el US posee grandes ventajas en lo que respecta a parámetros de calidad de diversas matrices alimenticias, los efectos fisicoquímicos de la aplicación de esta técnica puede ocasionar deterioros de calidad en los alimentos como aparición de sabores desagradables, modificaciones en los parámetros físicos y degradación de compuestos. La cavitación acústica puede producir radicales  $OH^-$  y H que se acumulan en la superficie de las burbujas de cavitación, los cuales son los responsables de generar productos de degradación que, a su vez, pueden desencadenar reacciones de formación de radicales en cadena y ocasionar alteraciones en las matrices alimenticias (Pingret et al., 2013a).

## 1.8. Extracción de compuestos fenólicos asistida con ultrasonido

Actualmente se han realizado varios estudios (Tabla 1.3) para evaluar el uso del US de alta intensidad para la extracción de CFs en matrices vegetales. De acuerdo a Vilkhue et al. (2008), los beneficios de ésta técnica más destacados incluyen, (a) mejoría en el rendimiento o la tasa de extracción, (b) permite el uso de disolventes amigables con el medio ambiente o GRAS (Generalmente reconocido como seguro por sus siglas en inglés) y (c) reducción tanto en los tiempos de extracción como en las temperaturas de operación.

Tabla 1.3. Estudios reportados de extracción de CFs con US de alta intensidad en subproductos de frutas.

Matriz vegetal	Analito	Equipo de US	Condiciones de operación	Referencia
Semillas de uva Campbell Early	Fenoles y antocianinas	Baño	T=30-50°C, t=5-25 min, E=25 y 50 (%v/v), f=40 kHz, P=250 W	(Ghafoor et al., 2009)
Cáscara de naranja ( <i>Citrus sinensis</i> L.)	Flavanonas	Baño	T=25-40°C, t=30 min, E=20-80 (%v/v), f=25 kHz, P=50-150 W	(Khan et al., 2010)
Residuos de café molido	Fenoles	Sonda	T=30-50°C, t=5-45 min, R=1:05-1:30, f=30.8 kHz, P=100-300 W	Al-Dhabi et al. (2017)
Pulpa de morera ( <i>Morus nigra</i> )	Fenoles y antocianinas	Sonda	T=10-70°C, t=0.2-0.7 s, R=10:1-5-20:1.5, E=50-100 (%v/v), f=24 kHz, P=200 W, A=30-70 %, pH=3-7	(Espada-Bellido et al., 2017)

Ghafoor et al. (2009) evaluaron la influencia de distintas variables de proceso en la extracción de CFs de semillas de uva "*Campbell Early*" utilizando la metodología de superficie de respuesta. Los resultados mostraron que las condiciones óptimas de extracción fueron con una temperatura de 52.8°C, un tiempo de 29.55 min, un porcentaje en volumen de 54.8 % de etanol con lo que se obtuvo un máximo rendimiento de 5.47 mg GAE/100 mL de fenoles totales, 12.22 mg/mL de antioxidantes y 2.48 mg/mL de antocianinas. También observaron que existe una correlación importante entre el contenido total de CFs, CA y los niveles de antocianinas obtenidos de las semillas de uva utilizando el US.

Khan et al. (2010), de igual manera, utilizaron la metodología de superficie de respuesta para evaluar el efecto que tenían las variables de proceso en la extracción de flavanonas glicosiladas en cáscara de naranja (*Citrus sinensis* L.). Las condiciones óptimas que se encontraron en este estudio son una temperatura de 40°C, una potencia ultrasónica de 150 W y un porcentaje en volumen de 80 % etanol-agua. Bajo estas consideraciones, se encontró que el contenido total de CFs obtenido por US durante 15 min fue significativamente alto comparado con el obtenido por el método convencional durante 60 min, lo que demuestra que el US permite tener rendimientos de extracción altos en periodos cortos de tiempo. Por otra parte, las cantidades de flavanonas (naringina y hesperidina) obtenidas en el US (70.3 y 205.2 mg/100 g de muestra fresca, respectivamente) fueron considerablemente altas con aquellas obtenidas por ECV (50.9 y 144.7 mg/100 g de muestra fresca, respectivamente).

Al-Dhabi et al. (2017) estudiaron el efecto que tienen las variables de proceso en la extracción de diversos CFs en residuos de café molido mediante EAU. Las condiciones óptimas obtenidas fueron una potencia ultrasónica de 243.9 W, una temperatura de 39.8°C, un tiempo de 33.9 min y una proporción sólido-líquido de 1:16.7 g/mL. Con lo anterior, se obtuvo un rendimiento de extracción de 36.25 mg GAE/g de CFs totales, 4.50 mg QE/g de flavonoides, 1.36 mg/g de ácido clorogénico y 0.53 mg/g de ácido protocatechuico respectivamente.

Espada-Bellido et al. (2017) utilizaron un análisis estadístico para evaluar la influencia de las variables de proceso en la extracción de fenoles y antocianinas en pulpa de morera (*Morus nigra*) aplicando US de alta intensidad. Las condiciones óptimas para la extracción de antocianinas fueron con un porcentaje en volumen de 76 % de etanol-agua a un pH de 3, una temperatura de extracción de 48°C, una

amplitud ultrasónica del 70 %, un ciclo de 0.7 s y una proporción sólido-líquido de 12:1.5. Mientras que, para el contenido total de CFs fueron con una un porcentaje en volumen de 61 % de etanol-agua a un pH de 7, una temperatura de extracción de 64°C, una amplitud ultrasónica del 70 %, un ciclo de 0.7 s y una proporción sólido-líquido de 11:1.5. El tiempo de extracción óptimo para ambos casos fue de 10 min. Con lo anterior, se concluyó que la EAU puede ser considerada una herramienta fácil y económica para la extracción de fenoles y antocianinas en morera.

## **1.9. Modelación de la extracción sólido-líquido**

La extracción de CFs se considera un proceso multifactorial que involucra diferentes mecanismos con un alto grado de variabilidad. Habitualmente, este tipo de proceso comprende una gran cantidad de parámetros o variables, las cuales son complejas de determinar. Por lo tanto, entender las relaciones entre las variables de entrada y cómo afectan la calidad del producto es esencial para mejorar el rendimiento de extracción de estos compuestos (Das and Dewanjee, 2018).

El modelo matemático de los procesos de extracción sólido-líquido es una herramienta ingenieril muy importante en el diseño de procesos para optimización de energía, tiempo y consumo de reactivos químicos (Wang et al., 2019). Los modelos matemáticos pueden dividirse en empíricos y mecanísticos.

El modelado empírico es utilizado cuando los procesos que controlan el comportamiento del sistema de interés son insuficientes o indirectamente conocidos, ya que este tipo de modelo no toma en cuenta las interacciones de las variables en el proceso (Carranza, 2008). Este tipo de modelo solamente predice cómo una variable se ve afectada y se basa en aproximaciones empíricas y técnicas de regresión (Ramírez et al., 2007); a pesar de que no explican físicamente el proceso de extracción, este tipo de modelos intentan determinar la relevancia y relaciones entre las variables de proceso (González-Centeno et al., 2015) Por el contrario, el modelo mecanístico aplica el conocimiento fundamental y/o teórico de las variables y sus interacciones para predecir o comprender la variable objetivo de interés. Se basa en ecuaciones matemáticas que describen las interacciones entre las variables que controlan el comportamiento del sistema de interés, y para la resolución de estas ecuaciones se utilizan suposiciones generales o simplificadas como condiciones iniciales o de

frontera (Carranza, 2008).

Los modelos de extracción de sólido-líquido pueden basarse en ecuaciones fenomenológicas que permiten explicar el fenómeno de transferencia de masa usando leyes físicas, los más populares son aquellos modelos en los que se utiliza la teoría de difusión (Blasco et al., 2006). Es importante mencionar que la mayoría de los estudios que han sido reportados se basan en los siguientes formalismos: modelos de difusión en los que se omiten los términos cinéticos y modelos que hacen uso sólo de la cinética para tener en cuenta tanto el proceso de difusión y cinética de extracción (Castillo-Araiza et al., 2015). La aplicación actual de los modelos de transferencia de masa, ya sea tomando en cuenta la cinética de extracción o la difusión, representa una importante área de investigación debido a la falta de estudios de los dos fenómenos por separado. La Tabla 1.4 muestra algunos ejemplos de la aplicación de modelos cinéticos y difusivos en el proceso de extracción sólido-líquido.

Pan et al. (2012) estudiaron la cinética de extracción de antioxidantes en residuos de cáscara de granada con US en modo continuo y pulsado. Para este estudio utilizaron un modelo de segundo orden en donde  $k$  representa la constante de extracción (L/g min),  $PC_e$  la concentración equilibrio de fenoles en el extracto líquido (g/L) y  $PC_t$  la concentración total en el líquido a un determinado tiempo  $t$  (g/L). Los resultados demostraron que  $k$  y  $PC_e$  pueden ser afectadas por el uso de US en modo continuo y pulsado. Con un valor de intensidad de  $59.2 W/cm^2$ , el US con un intervalo de pulso de 5 segundos y el US continuo mostraron valores más altos de  $k$  que el método convencional, lo que verifica que la EAU (ya sea en modo continuo o pulsado) puede mejorar la velocidad de extracción de antioxidantes a partir de cáscara de granada.

Tsibranska et al. (2011) evaluaron la extracción de fenoles y flavonoides en un híbrido de *Sideritis ssp.* La extracción se realizó con el método convencional utilizando etanol-agua como solvente. Para el estudio de difusión tomaron en cuenta la ley de Fick donde  $C$  es la concentración local de soluto ( $kg/m^3$ ) en la partícula en el tiempo  $t$  (s),  $D$  es el coeficiente efectivo de difusión ( $m^2/s$ ),  $r$  es la distancia radial (m),  $\bar{C}$  y  $C_1$  hacen referencia al volumen promedio del sólido y a la concentración en la fase líquida,  $V_s$  y  $V_l$  son los respectivos volúmenes de la fase sólida y líquida ( $m^3$ ). Los resultados mostraron que se alcanza una extracción de compuestos en un 90 % después de 2 horas con valores de  $105.07 \pm 1.97$  mg/100 mL de CFs y de  $41.46 \pm 0.72$  mg/100 mL de flavonoides; y se encontró que la relación entre el total de fenoles

y flavonoides era lineal, para diferentes tiempos. También se encontró un valor de  $D = 1.5 \times 10^{-12} \text{ m}^2/\text{s}$  con un tamaño de partícula constante y se observó que con la presencia de partículas pequeñas se obtienen tiempos bajos de difusión lo que conduce a un rápido aumento en la concentración de especies extraídas al comienzo del proceso.

Tabla 1.4. Estudios reportados de aplicación de modelos matemáticos para la extracción sólido-líquido.

Matriz vegetal	Analito	Técnica de extracción	Tipo de modelo matemático	Modelo matemático	Referencia
Cáscara de granada	Fenoles	Convencional y US	Cinético	$\frac{d(PC_t)}{dt} = k(PC_e - PC_t)^2$	(Pan et al., 2012)
Sideritis ssp. L.	Fenoles y flavonoides	Convencional	Difusivo	Fase sólida: $\frac{\partial C}{\partial t} = D \frac{1}{r} \frac{\partial}{\partial r} \left( r \cdot \frac{\partial C}{\partial r} \right)$ Fase líquida: $\frac{dC_L}{dt} = -\frac{V_s}{V_l} \frac{dC}{dt}$	(Tsihranska et al., 2011)
Artemisia sp.	Fenoles y flavonoides	Soxhlet y US	Cinético	$\frac{q_0 - q}{q_0} = (1 - b') \cdot e^{-k't}$	(Karabegović et al., 2011)
Semillas de uva	Fenoles	US	Cinético	$C(t) = C_0 + \frac{t}{K_1 + K_2 \cdot t}$	(Bucić-Kojić et al., 2007)
Semillas de girasol.	Aceite	Convencional	Difusivo	$\frac{M_t}{M_\infty} = 1 - \sum_{n=1}^{\infty} \frac{1}{n} B_n t$ $A_n \exp(-B_n t)$	(Rakotondramasy-Rabesiaka et al., 2010)

Karabegović et al. (2011) estudiaron el contenido total de CFs y su CA de extractos obtenidos de *Artemisia* sp. mediante Soxhlet y EAU basándose en un modelo cinético simple donde  $b'$  es el coeficiente de lavado,  $k'$  es el coeficiente de extracción ( $1/\text{min}$ ),  $q$  es el contenido total de sustancias extraíbles en la matriz vegetal ( $\text{g}/(100\text{g})$ ),  $t$  es el tiempo en minutos y  $(q - q_0)$  es la cantidad de sustancias extraíbles en el solvente. Se concluyó que independientemente de la técnica de extracción y el tipo de sustancia de extracción, el efecto del US se reflejó en el coeficiente  $b'$ . Por otro lado,  $k$  se vio negativamente afectada por el uso del US lo que se debe a la oxidación y degradación de los compuestos bioactivos por tiempos de sonicación prolongados.

Bucić-Kojić et al. (2007) evaluaron el efecto de las variables de proceso en la velocidad de extracción de residuos de semillas de uva mediante ECV. Para este estudio se utilizó un modelo cinético de Peleg donde  $C(t)$  se refiere a la concentración total de fenoles en el tiempo  $t$  ( $\text{mg GAE}/\text{g}$ ),  $t$  es el tiempo de extracción en minutos,  $C_0$  es la concentración inicial de fenoles en  $t = 0$  ( $\text{mg GAE}/\text{g}$ ),  $K_1$  es la constante de velocidad de Peleg ( $\text{min} \cdot \text{g}/\text{mg GAE}$ ) y  $K_2$  es la constante de capacidad de Peleg ( $\text{g}/\text{mg GAE}$ ). Se obtuvieron un total de CFs de  $14.72 \text{ mg GAE}/\text{g}$  a  $66.81 \text{ mg GAE}/\text{g}$  bajo las condiciones experimentales. Por otra parte, se logró extraer el 80-90% de los fenoles en los primeros 40 minutos de extracción. La temperatura y el tamaño de partícula, así como la interacción entre estas, tuvo una influencia significativa en las cinéticas de extracción. Los valores de la tasa de extracción inicial ( $1/K_1$ ) y la extensión de extracción ( $1/K_2$ ) se incrementaron cuando el tamaño de partícula disminuyó, mostrando una tendencia exponencial. En lo que respecta a la temperatura de extracción, se encontró gran influencia en los valores de  $1/K_1$  y  $1/K_2$  para partículas de tamaño mayor que para las de menor tamaño, lo cual se comprobó por los altos valores de energía de activación encontrados.

Rakotondramasy-Rabesiaka et al. (2010) estudiaron la transferencia de masa durante la extracción de aceite a partir de semillas de girasol mediante el método convencional, utilizando un modelo de difusión derivado de la Ley de Fick donde  $t$  es el tiempo de difusión (s),  $M_t$  y  $M_\infty$  representan la masa de la sustancia (kg aceite/kg alimento seco sin grasa) que se difunden en el tiempo  $t$  y en el tiempo infinito y  $A_n$  y  $B_n$  representan los parámetros de ajuste del modelo. En este estudio se encontró que los valores para el coeficiente  $A$  disminuyen cuando la concentración inicial de aceite de las muestras incrementa. Mientras que para el coeficiente  $B$  que

incluye al coeficiente de difusión, se observó que se incrementó con la temperatura y el contenido inicial de aceite. Los valores de difusión calculados en este estudio se encontraron en un rango de  $1.34 \times 10^{-12}$  a  $1.87 \times 10^{-12} \text{ m}^2/\text{s}$  para semillas provenientes de confitería, de  $2.06 \times 10^{-12}$  a  $5.03 \times 10^{-12} \text{ m}^2/\text{s}$  para semillas de *Helianthus annuus* y de  $9.06 \times 10^{-13}$  a  $1.18 \times 10^{-12} \text{ m}^2/\text{s}$  para semillas de *Helianthus petiolaris*. Además, encontraron que el coeficiente de difusión incrementó con la temperatura, el contenido inicial de aceite y el grado de insaturación.

## II. Hipótesis

A partir de estudios teórico/experimentales que describan los mecanismos cinéticos y difusivos en la extracción asistida por ultrasonido de alta intensidad de CFs en uva Syrah (*Vitis vinífera*), se permitirá proporcionar información para entender el fenómeno de transferencia de masa en un sistema por lotes.

# III. Objetivos

## 3.1. Objetivo general

Modelar la extracción asistida con US de alta intensidad de CFs en uva Syrah (*Vitis vinífera* L.) en un sistema por lotes.

## 3.2. Objetivos específicos

- Realizar una búsqueda bibliográfica para obtener datos experimentales de extracción de CFs mediante EAU en uva Syrah.
- Desarrollar un modelo cinético que describa el comportamiento del proceso evaluado mediante método convencional y EAU.
- Describir el fenómeno de difusión en la extracción de CFs en partículas de uva Syrah (*Vitis vinífera* L.) mediante método convencional y EAU, estimando el coeficiente de difusión.

# IV. Materiales y métodos

## 4.1. Métodos experimentales

Con el fin de aplicar los modelos matemáticos propuestos, se tomaron datos experimentales a partir del trabajo previamente reportado por González-Centeno et al. (2015) y a continuación se describen cada una de las metodologías que dichos autores aplicaron para cada una de las pruebas.

### 4.1.1. Materia prima

#### 4.1.1.1. Preparación de la materia prima

La materia prima consiste en bagazo de uva Syrah roja (*Vitis vinífera*) que incluye semillas y pieles, las cuales fueron obtenidas después de prensar y macerar la uva por dos semanas a 25°C. Estas muestras se utilizaron en una proporción semilla/piel de 0.2 y un contenido de humedad de 1.18 g H<sub>2</sub>O/g dm, el cual fue determinado de acuerdo a la AOAC. Posteriormente fueron almacenadas al vacío a -80°C hasta su procesamiento y análisis.

### 4.1.2. Extracción de compuestos fenólicos

Antes de la extracción, se redujo el tamaño de partícula a 5±1 mm. Se utilizó agua como solvente de extracción en una proporción 1:20 (w/v, g/mL) con un volumen total de 200 mL. Todos los experimentos se llevaron a cabo en un reactor enchaquetado para tener un adecuado control de temperatura durante el proceso. Para cumplir con este propósito, se utilizó una bomba peristáltica (VitaTech 600, Vitakraft, Alemania) la cual recirculaba una solución de etilenglicol al 50% (v/v) desde el depósito de enfriamiento el cual estaba acompañado de una unidad de enfriamiento (Frigedor, J.P. Selecta, España). Las extracciones se realizaron a tres diferentes temperaturas (20±2°C, 35±3°C y 50±4°C).

Se tomaron cuatro muestras de cada temperatura y tipo de extracción. Las alícuotas de 1 mL se tomaron a 2.5, 5, 7.5, 10, 12.5, 15, 20, 25, 30, 40, 50 y 60 min. Posterior-

mente, se filtraron con una membrana de  $0.45 \mu\text{m}$  (RC-membrane, Sartorius Stedim Biotech GmbH, Alemania) y se almacenaron a  $4^\circ\text{C}$  para su posterior análisis.

#### ■ Método convencional por agitación

Para la ECV se utilizó agitación mecánica con un agitador (RZR 2021, Heidolph, Alemania) equipado con una propela de 4 aspas (50 mm diámetro) a 200 rpm. Se colocó en el punto central del volumen de extracción ( $X=2.4 \text{ cm}$  del la interfase del líquido y el fondo del reactor enchaquetado) .

#### ■ Método convencional asistido con ultrasonido

Para la EAU, la agitación mecánica fue reemplazada por una sonda ultrasónica (UP400S, Hielscher Ultrasound Technology, Alemania) que trabajaba a una frecuencia de  $55 \pm 5 \text{ kHz}$ , una densidad de potencia acústica de  $435 \pm 5 \text{ W/L}$ , una intensidad ultrasónica de  $22.9 \pm 0.1 \text{ W/cm}^2$  y ciclos de 0.5 s. El sonotrodo, con una una superficie de emisión de  $3.8 \text{ cm}^2$ , fue inmerso  $Y=1.3 \text{ cm}$  en la solución de extracción.

### 4.1.3. Cuantificación del contenido fenólico total (CFT)

La CFT se llevó a cabo el método analítico Folin-Ciocalteu descrito por González-Centeno et al. (2012). Se prepararon soluciones de 4 mg de extracto con 10 mL de solvente etanol-agua (25:75, v/v). Para el análisis se mezclaron  $184 \mu\text{L}$  de agua destilada,  $24 \mu\text{L}$  de la solución muestra,  $12 \mu\text{L}$  de reactivo Folin y  $30 \mu\text{L}$  de una solución al 20 % (p/v) de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ . Las micropipetas se colocaron un espectrofotómetro (MultiSkan Spectrum, Thermo Scientific) para incubar la muestra durante 1 hora a condiciones de oscuridad y  $25^\circ\text{C}$ . Posteriormente se midió la absorbancia a  $765 \text{ nm}$ . La CFT se midió mediante una curva de calibración con respecto al Ácido Gálico (GAE) donde los resultados fueron expresados en miligramos equivalente a GAE por mililitro de extracto (mg GAE/ mL). Todos los análisis se realizaron por triplicado.

### 4.1.4. Determinación de capacidad antioxidante (CA)

Debido a que ningún método es capaz de evaluar totalmente la capacidad antioxidante de una muestra se utilizaron dos ensayos espectrofotométricos diferentes:

ABTS y FRAP. Ambos ensayos se realizaron mediante la metodología descrita por González-Centeno et al. (2012).

#### 4.1.4.1. Método ABTS

Primeramente se realizó la preparación del radical ABTS mediante la reacción de volúmenes equivalentes (1:1) con una solución de ABTS (7 mM) y persulfato de potasio (2.45 mM). Esta solución se dejó reaccionar de 12 a 16 horas a temperatura ambiente (~23°C) en oscuridad. Para el análisis se diluyeron 8 mL de la solución ABTS con una solución de EtOH/H<sub>2</sub>O (25:75, v/v) en un matraz aforado de 100 mL hasta obtener una absorbancia de 734 nm.

Posteriormente se colocó en una micropipeta 10  $\mu$ L del extracto y 190  $\mu$ L reactivo ABTS y se precalentaron a 25°C durante 20 min. Después de 3 min de agitación, la mezcla se incubó nuevamente a la misma temperatura durante un periodo de 30 min y luego se midió la disminución de absorbancia a la misma longitud de onda. Para la cuantificación se utilizó una curva de la calibración con Trolox en un rango de concentración de 0 a 0.8 mM utilizando EtOH/H<sub>2</sub>O (25:75, v/v) como disolvente.

#### 4.1.4.2. Método FRAP

Primeramente, se preparó el radical FRAP mezclando una solución de TPTZ a 0.01 M en HCl a 0.04 M, una solución acuosa de FeCl<sub>3</sub>·6H<sub>2</sub>O y una solución buffer de acetato (pH 3.6, 3.1 g de acetato de sodio y 16 mL de ácido acético por litro de solución buffer) en una proporción 1:1:10. Todos los reactivos se prepararon el mismo día en el que se llevaron a cabo los análisis, excepto la solución buffer y la del ácido clorhídrico. Para la medida de la actividad antioxidante por FRAP se siguieron las mismas condiciones experimentales que las mencionadas anteriormente por el método ABTS. Finalmente, las muestras fueron leídas a un pico de absorbancia de 593 nm. Todos los análisis se realizaron por triplicado y los resultados se expresaron en mg de Trolox/ 100 g m. s.

## 4.2. Métodos teóricos

A continuación se describen cada uno de los pasos a seguir para el desarrollo de los modelos matemáticos (cinético y difusivo) que aporta este trabajo.

### 4.2.1. Modelación

#### 4.2.1.1. Modelo cinético

El modelado matemático es de gran importancia ya que proporciona una comprensión más profunda del mecanismo de un proceso de extracción. El uso de modelos empíricos de tipo cinético permite obtener parámetros de manera rápida con sus respectivos coeficientes. Estos resultados se pueden utilizar para determinar las variables independientes más importantes así como también para facilitar el diseño, la optimización y el control del proceso de extracción.

En el presente trabajo se implementaron dos tipos de modelos matemáticos (primer y segundo orden) para analizar la cinética de extracción de CFs en residuos de uva Syrah. Los parámetros cinéticos de cada uno de los modelos se determinaron a partir de los datos experimentales obtenidos por González-Centeno et al. (2015) para cada variable.

La expresión general linealizada del modelo cinético de primer orden se expresa en la Ecuación (4.1),

$$C_t = C_e(1 - e^{-kt}) \quad (4.1)$$

Mientras que la de segundo orden se muestra en la Ecuación (4.12),

$$\frac{t}{C_t} = \frac{t}{C_e} + \frac{1}{k_2 C_e^2} \quad (4.2)$$

En donde  $C_t$  representa la concentración de CFs total,  $C_e$  la concentración en equilibrio,  $k$  y  $k_2$  las constantes cinéticas de primer y segundo orden y  $t$  el tiempo.

Para la solución de ambos modelos matemáticos, se consideró a la concentración en equilibrio ( $C_e$ ) como el último valor de la curva obtenido en cada experimento.

Finalmente, la solución de cada uno de los parámetros del modelo se determinó mediante el uso de las Ecuaciones (4.1 y 4.2) en conjunto con los valores de la pendiente y la intersección de la gráfica de  $\log(C_e - C_t)$  vs  $t$  para el modelo de primer orden, y de  $t/C_t$  vs  $t$  para el de segundo orden.

**4.2.1.2. Modelo difusivo**

**Fase sólida** Partiendo de un balance general de masa en una partícula porosa se tiene que,

$$\{Entrada\} - \{Salida\} \pm \{Generación\} = \{Acumulación\} \tag{4.3}$$

Donde el término de *Entrada* contempla a los fenómenos difusivos y el movimiento convectivo aunque, durante el proceso de extracción de CFs dentro de la partícula, el fenómeno que predomina mayoritariamente es el difusivo. Si aplicamos el balance presentado en la Ecuación (4.3) sobre una envoltura esférica de espesor  $\Delta r$  (Figura 4.2) en el interior de una partícula porosa se transforma en,

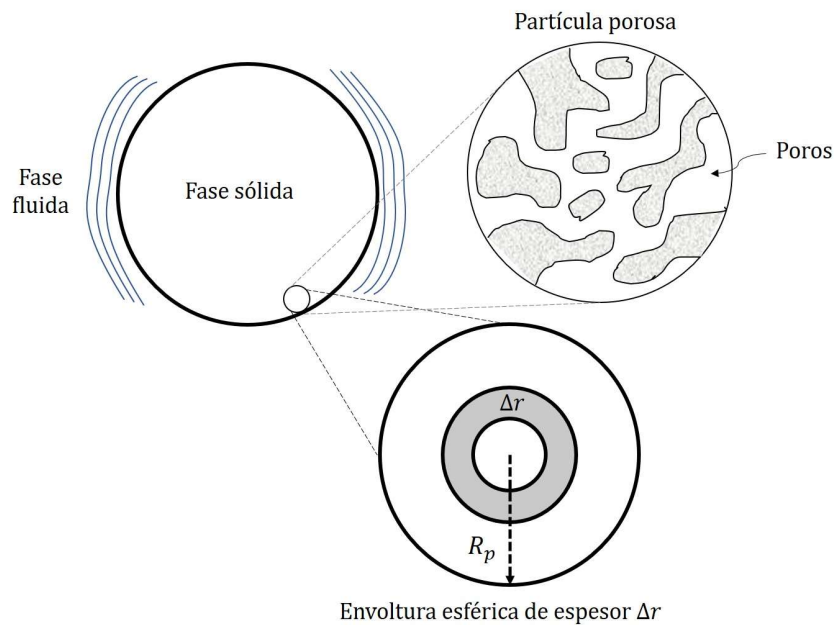


Figura 4.1. Partícula esférica porosa.

$$J_{ns} \cdot 4\pi r^2|_r - J_{ns} \cdot 4\pi r^2|_{r+\Delta r} + 4\pi r^2 \Delta r = \frac{\partial C_{ns}}{\partial t} 4\pi r^2 \Delta r \quad (4.4)$$

El término  $J_{ns}$  hace referencia al flux ( $\frac{masa}{t \cdot L^2}$ ). Dividiendo la Ecuación (4.4) entre  $4\pi r^2 \Delta r$  se obtiene,

$$-\frac{1}{r^2} \frac{J_{ns} r^2|_{r+\Delta r} - J_{ns} r^2|_r}{\Delta r} = \frac{\partial C_{ns}}{\partial t} \quad (4.5)$$

Aplicando la definición de límite a la Ecuación (4.5),

$$\lim_{\Delta r \rightarrow 0} \left( -\frac{1}{r^2} \frac{J_{ns} r^2|_{r+\Delta r} - J_{ns} r^2|_r}{\Delta r} \right) = \frac{\partial C_{ns}}{\partial t} \quad (4.6)$$

Es decir,

$$-\frac{1}{r^2} \frac{\partial}{\partial r} (r^2 J_{ns}) = \frac{\partial C_{ns}}{\partial t} \quad (4.7)$$

Y considerando la Ley de Fick donde,

$$J_{ns} = -D_{eff} \frac{\partial C_{ns}}{\partial r} \quad (4.8)$$

La Ecuación (4.7) se transforma en,

$$\frac{1}{r^2} \frac{\partial}{\partial r} \left( r^2 \varepsilon_p D_{eff} \frac{\partial C_{ns}}{\partial r} \right) = \frac{\partial C_{ns}}{\partial t} \quad (4.9)$$

El término  $D_{eff}$  es el coeficiente de difusividad molecular y  $\varepsilon_p$  es la porosidad de la partícula, la cual fue añadida para tener consistencia entre las unidades. Ambos términos son constantes por lo que la Ecuación (4.9) se puede escribir como,

$$\frac{\varepsilon_p D_{eff}}{r^2} \frac{\partial}{\partial r} \left( r^2 \varepsilon_p D_{eff} \frac{\partial C_{ns}}{\partial t} \right) = \frac{\partial C_{ns}}{\partial t} \quad (4.10)$$

Considerando las reglas de derivación se tiene que,

$$\varepsilon_p D_{eff} \left[ \frac{\partial^2 C_{ns}}{\partial r^2} + \frac{2}{r} \frac{\partial C_{ns}}{\partial r} \right] = \frac{\partial C_{ns}}{\partial t} \quad (4.11)$$

Reordenando la Ecuación (4.11),

$$\varepsilon_p \frac{\partial C_{ns}}{\partial t} = \varepsilon_p D_{eff} \left( \frac{\partial^2 C_{ns}}{\partial r^2} + \frac{2}{r} \frac{\partial C_{ns}}{\partial r} \right) \quad (4.12)$$

La Ecuación (4.12) representa el modelo para la fase sólida y en donde  $C_{ns}$  representa la concentración de CFs en la partícula.

**Fase fluida** Para la fase fluida se tiene que,

$$\frac{\partial C_n}{\partial t} = \frac{1 - \varepsilon}{\varepsilon} k_L a_v (C_{ns} - C_n) \quad (4.13)$$

La Ecuación (4.13) representa el mecanismo de transferencia de masa convectivo interfacial en donde el fenómeno difusivo fue minimizado debido a los efectos de agitación en el método convencional y a la cavitación en el US. El término  $C_n$  es la concentración de CFs en la fase fluida,  $\varepsilon$  es la porosidad de la fase fluida o la fracción vacía del extractor batch,  $k_L$  es el coeficiente de transferencia de masa en la interfase y  $a_v$  el área de la interfase. Finalmente, para este modelo se utilizaron las siguientes condiciones iniciales y de frontera:

$$C_n = 0 \text{ a } t = 0 \quad (4.14)$$

$$C_{ns} = C_{ns,0} \text{ a } t = 0, \text{ en } 0 < r < R \quad (4.15)$$

$$\frac{\partial C_{ns}}{\partial r} = 0 \text{ en } r = 0 \quad (4.16)$$

$$-D_{eff} \frac{\partial C_{ns}}{\partial r} = k_L(C_{ns} - C_n) \text{ en } r = R \quad (4.17)$$

Donde  $t$  es el tiempo (s) y  $C_{ns,0}$  es la concentración inicial de CFs en la partícula. El coeficiente de difusión fue estimado mediante la minimización de la función objetivo (Ecuación 4.18) la cual incluye las sumas residuales de cuadrados de la concentración,

$$RSS(\beta) = \sum_{i=1}^{n_{obs}} (C_n - \widehat{C}_n)^2 \beta_1, \beta_2, \dots, \beta_n \min \quad (4.18)$$

Donde  $\beta$  es el vector de parámetros óptimos,  $n_{obs}$  es el numero de observaciones o datos experimentales,  $C_n$  es la concentración de CFs experimental y  $\widehat{C}_n$  es la concentración de CFs obtenida por el modelo de difusión. La función objetivo se minimizó por el método de Levenberg-Marquardt mientras que la integración numérica de las ecuaciones (4.12) y (4.13) se realizó utilizando 30 puntos de colocación en la coordenada radial y empleando polinomios de Legendre desplazados. El conjunto final de ecuaciones diferenciales ordinarias fue resuelto por el método de Runge-Kutta.

Finalmente, se realizó un análisis estadístico de  $D_{eff}$  utilizando el análisis y cálculo de la matriz varianza-covarianza, la desviación estándar, el coeficiente de correlación binaria, el valor-t y los límites de confianza para el nivel de probabilidad individual de 95 %.

## V. Resultados y discusión

Se tomaron datos experimentales previamente reportados por González-Centeno et al. (2015) para el desarrollo del modelo. A continuación se presentan los resultados del análisis de estos datos experimentales en lo que respecta a extracción de CFs y actividad antioxidante, así como también de la aplicación de estos datos para el desarrollo del modelo matemático que describe la cinética y difusión.

### 5.1. Extracción de CFs

Las cinéticas de extracción del contenido fenólico total a diferentes temperaturas (20, 35 y 50°C) mediante ambas técnicas de extracción se muestran en la Figura 5.1. Se encontró que el rendimiento aumentó con la temperatura de 20 a 50°C en ambas técnicas, demostrando que la temperatura tiene un efecto positivo en el rendimiento de la extracción de CFs. Resultados similares fueron reportados por Bucić-Kojić et al. (2013) en semillas de uva a temperaturas 25 a 80°C.

Generalmente el aumento de temperatura induce y acelera el ablandamiento e hinchazón de las partículas, aumenta la solubilidad de los compuestos extraídos y disminuye la viscosidad del solvente. Como resultado, la transferencia de masa mejora cuando la temperatura se incrementa gradualmente (Tao et al., 2014). Por otra parte, el aumento significativo de la temperatura también puede ocasionar la degradación de CFs (Pingret et al., 2013a). A pesar de que se observa que una temperatura elevada en un rango apropiado facilita la extracción de CFs asistida por ultrasonido, es importante no descuidar el efecto negativo de la misma en la calidad de los CFs (Tao et al., 2014).

En la Figura 5.1 también se puede observar que el mínimo rendimiento (247 mg GAE/100 g m.s.) fue obtenido por el método convencional a 20°C y 1 hora de extracción. Mientras tanto el máximo rendimiento de CFT (775 mg GAE/100 g m.s.) se obtuvo a 50°C durante 1 hora con la asistencia de ultrasonido. Es importante mencionar que este rendimiento fue 3.1 más alto que el obtenido por la ECV a 20°C; demostrando que, independientemente del tiempo de extracción, la EAU permite obtener mayores rendimientos de extracción que la extracción ECV. Resultados si-

milares fueron reportados por Corrales et al. (2008) en donde el rendimiento fue 1.6 veces más alto con la aplicación de ultrasonido que con agitación mecánica a partir de subproductos de uva. En todos los experimentos se observó un efecto positivo del ultrasonido en el rendimiento de extracción. De acuerdo a dâAlessandro et al. (2012) las partículas sometidas a ondas ultrasónicas absorben un volumen extra de solvente. El proceso de cavitación ocasiona hinchazón de las células, mayor absorción de solvente y agrandamiento de los poros en las paredes celulares lo que permite una mejor transferencia de masa. Estos altos rendimientos también podrían atribuirse al hecho de que la sonicación provoca una ruptura de las paredes celulares lo que permite un eficaz lavado de los compuestos extraíbles.

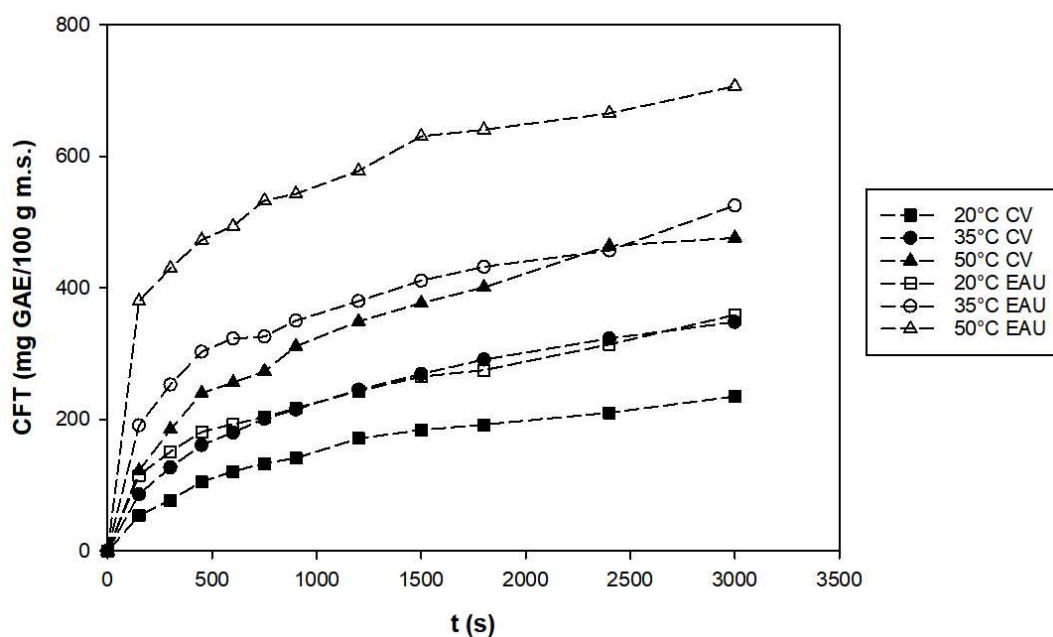


Figura 5.1. Cinéticas de extracción para CV y EAU a diferentes temperaturas (González-Centeno et al., 2015).

Los rendimientos de extracción en todos los experimentos incrementaron notablemente durante los primeros minutos y luego aumentaron lentamente hasta alcanzar el equilibrio. El rápido aumento de los rendimientos de extracción en la etapa

inicial del proceso se atribuye principalmente al simple lavado de los compuestos extraíbles ubicados en la superficie externa de las partículas, así como de aquellas con paredes rotas. Mientras que los incrementos de extracción más lentos son controlados principalmente por el fenómeno de difusión del soluto que se encuentra disuelto dentro de las partículas intactas (Tao et al., 2014).

## 5.2. Capacidad antioxidante

Recientemente se ha recomendado evaluar la CA por diferentes métodos *in vitro* debido a las diferencias entre los diversos sistemas de análisis de eliminación de radicales libres (Rockenbach et al., 2011). Es por eso que para la evaluación de la capacidad antioxidante se presentan las cinéticas de extracción en ambas técnicas por el ensayo ABTS y FRAP. La Figura 5.2 (a) y (b) muestran la curva de extracción por el método ABTS y FRAP. De igual manera, el aumento gradual de temperatura tuvo un efecto positivo en la capacidad antioxidante en ambos ensayos.

Los rendimientos más bajos se obtuvieron en el proceso de ECV a 20°C y 1 hora que corresponden a 280 y 184 mg TROLOX/100 g m.s. en ABTS y FRAP, respectivamente. Por el contrario, el rendimiento máximo se obtuvo después de 1 hora de EAU a 50°C. Es importante mencionar que el rendimiento en cuanto a la capacidad antioxidante por ABTS fue de 2.5 (716 mg TROLOX/100 g m.s.) y de 3.8 en FRAP (717 mg TROLOX/100 g m.s.) respecto al método convencional a 20°C y una hora de extracción. Esto concuerda con lo reportado por Khan et al. (2010) en donde se encontró un incremento de 35 al 40 % en la actividad antioxidante de muestras de cáscara de naranja obtenidas de la EAU respecto a la ECV. También se puede observar en la Figura 5.2 que el ultrasonido aumentó ligeramente la CA a comparación del convencional lo que coincide con lo reportado por Mazza et al. (2019) en donde se realizó la extracción de CFs con EAU a partir de piel de uva Syrah concluyendo que la EAU aumenta la capacidad antioxidante confirmando las importantes ventajas de este método como es la reducción del tiempo de procesamiento, alto rendimiento y calidad de CFs.

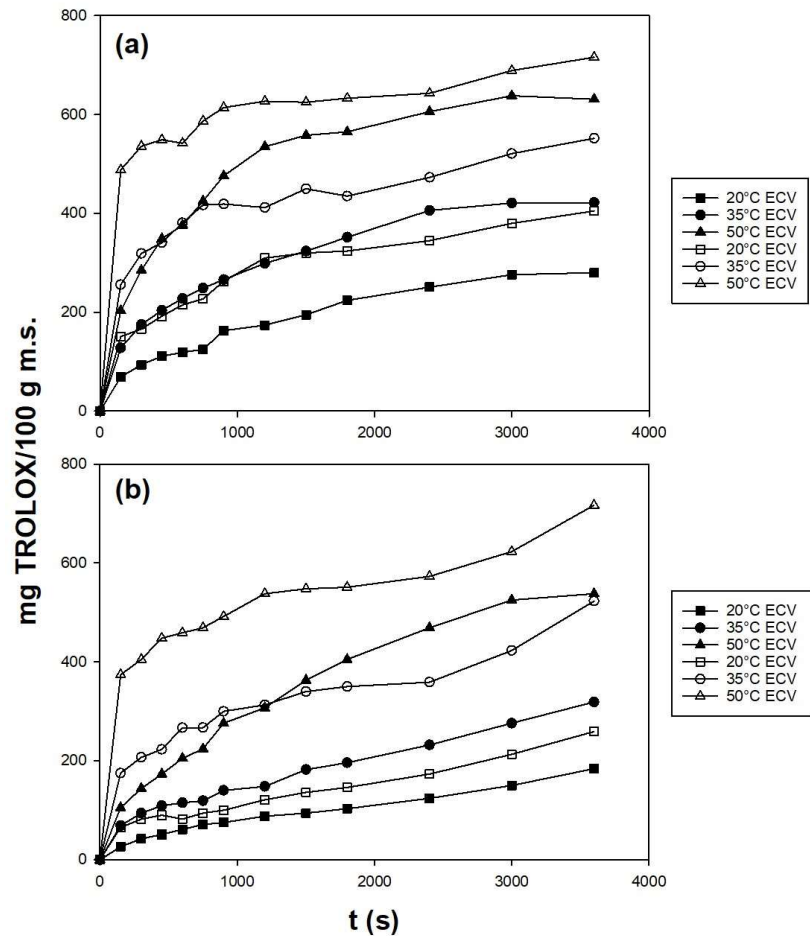


Figura 5.2. Capacidad antioxidante por el método (a) ABTS y (b) FRAP (González-Centeno et al., 2015).

Como se mencionó anteriormente, un tiempo prolongado de US puede ocasionar la formación de nuevos compuestos o la degradación de los mismos, con esto se puede explicar el aumento de la CA en los tiempos más largos de extracción; así como también, es importante mencionar que el método FRAP no es una reacción específica ya que se basa en la capacidad de reducir  $Fe^{3+}$  a  $Fe^{2+}$ , este último ion se caracteriza por ser un «pro-oxidante» ya que puede reaccionar con  $H_2O_2$  para producir radicales hidroxilo (OH), considerados los radicales libres más dañinos encontrados en diversos experimentos *in vivo*. La habilidad de los compuestos para producir  $Fe^{3+}$  a  $Fe^{2+}$  se considera como capacidad antioxidante en el ensayo

FRAP por lo que cualquier otro compuesto que pueda realizar esta reducción puede ser leído como antioxidante (Karadag et al., 2009). Ejemplos de estos compuestos pueden ser algunos ácidos como ascórbico o úrico lo cuales tienen la habilidad de inducir esta reducción del hierro; pero es muy importante mencionar que no todos los reductores de  $Fe^{2+}$  son antioxidantes (Prior and Cao, 1999). Por ende, el aumento anteriormente mencionado puede darse como resultado de las interacciones que tienen los antioxidantes con otros compuestos de la matriz vegetal (Benzie and Strain, 1996).

### 5.3. Modelado matemático

El presente trabajo tiene como objetivo principal el desarrollo de un modelo matemático que permita estudiar la cinética de extracción y el mecanismo de difusión. A continuación se presentan los resultados obtenidos para cada uno de los diferentes modelos.

#### 5.3.1. Modelado cinético

De acuerdo con Kaderides et al. (2019), el modelado matemático puede ayudar en el diseño, optimización y control de los procesos de extracción así como proveer valiosa información para el escalamiento del equipo. Los modelos típicos utilizados para estudiar la extracción de CFs en matrices vegetales incluyen modelos de tipo difusión inestable, basados en la Ley de Fick, la teoría de la capa límite y empíricos; este último tipo de modelo se utilizó para estudiar la cinética de extracción de CFs en uva mediante ambas técnicas de extracción y los resultados se muestran en la Tabla 5.1.

T(°C)	20		35		50	
	ECV	EAU	ECV	EAU	ECV	EAU
$k (Lg^{-1}min^{-1})$	0.0743	0.0681	0.0764	0.0718	0.0939	0.0730
$R^2$	0.8708	0.6523	0.8263	0.6802	0.9424	0.7068

Tabla 5.1. Contante cinética de extracción y ajuste del modelo de primer en convencional y EAU.

El modelo cinético de primer orden describe el proceso de extracción controlado por la transferencia de masa externa (Karacabey et al., 2013). Sin embargo, de acuerdo al estudio realizado por Karacabey and Mazza (2008), la extracción sólido-líquido de muestras de uva indica que el proceso de extracción en realidad está controlado por la velocidad de la difusión interna de los CFs. Debido a esto, se observó en la Tabla 5.1 que este modelo de primer orden no presenta un buen ajuste a los datos experimentales.

T(°C)	20		35		50	
	ECV	EAU	ECV	EAU	ECV	EAU
$k \times 10^{-4} (Lg^{-1}min^{-1})$	2.34	1.55	1.65	1.58	1.40	2.31
$R^2$	0.9914	0.9643	0.9890	0.9666	0.9930	0.9891

Tabla 5.2. Contante cinética de extracción y ajuste del modelo de segundo orden en convencional y EAU.

Por el contrario, en la Tabla 5.2 se muestra el ajuste de los datos obtenidos por experimentales y los predichos por el modelo de pseudo-segundo orden para ambas técnicas de extracción en donde se puede observar un mejor ajuste de los datos con coeficientes cercanos a 1 ( $R^2 \sim 1$ ) en todas las condiciones experimentales. También es importante mencionar que la constante cinética ( $k$ ) fue disminuyendo conforme aumentaba la temperatura en ambas técnicas de extracción; lo que nos indica que la temperatura tiene un efecto importante en la velocidad de extracción. Generalmente, el incremento de la temperatura acelera el ablandamiento e hinchamiento de las partículas, aumenta la solubilidad de los compuestos extraídos y disminuye la viscosidad del solvente. Como resultado, la transferencia de masa de CFs mejora cuando la temperatura se incrementa gradualmente (Tao et al., 2014). Sin embargo, es importante señalar que la temperatura solo tiene un efecto positivo cuando no es demasiado alta, ya que la mayoría de los compuestos bioactivos son susceptibles a degradarse a muy altas temperaturas reduciendo la tasa de extracción y el rendimiento (González-Centeno et al., 2015).

Da Porto and Natolino (2018) reportan constantes cinéticas similares en la extracción de residuos florales de azafrán por método convencional ( $0.000219 Lg^{-1}min^{-1}$ ) y EAU ( $0.000201 Lg^{-1}min^{-1}$ ), y llegaron a la conclusión de que una correcta propor-

ción sólido-líquido permite un mezclado homogéneo, lo que resulta en una adecuada hidratación e hinchazón de la partícula permitiendo la penetración del solvente en las partes interiores más profundas de ésta. Como consecuencia, el gradiente de concentración entre las células interiores de la partícula y el solvente eran mayores, lo que resultó en una mejor difusión de CFT del sólido al solvente. El modelo cinético de segundo orden se utiliza para estudiar los procesos de EAU bajo diferentes condiciones y parámetros de operación como el tamaño de partícula, la temperatura, la relación solvente-sólido, el nivel de amplitud del ultrasonido y el tiempo (Lazar et al., 2016). Por otra parte, SantâAnna et al. (2012) reportó valores mayores de la constante cinética ( $0.040 \text{ Lg}^{-1}\text{min}^{-1}$ ) en orujo de uva del tipo *Vitis labrusca*, esto debido a que utilizaron un tiempo de 120 min para la extracción; mucho mayor al que se utilizó en este trabajo.

La Figura 5.3 muestra la cinética de extracción de ambas técnicas ajustada a un modelo de pseudo-segundo orden y a diferentes temperaturas. Sayyar et al. (2009) reportaron los mismos comportamientos en sus cinéticas de extracción de aceite en semillas de *Jatropha* por método convencional, en donde observaron que la velocidad de extracción fue rápida al inicio de extracción, seguido de una velocidad más lenta hasta finalizar la extracción. En este estudio también se llegó a la conclusión de que es muy importante considerar el tamaño de partícula, ya que partículas muy grandes ( $>0.75 \text{ mm}$ ) tienen una menor área de contacto por lo que se vuelven más resistentes a la entrada del solvente y a la difusión. Por otro lado, partículas muy pequeñas ( $<0.05 \text{ mm}$ ), permiten un porcentaje menor de extracción a pesar de tener un área mayor de contacto que las partículas grandes, y esto se debe a que con un tamaño muy pequeño de partícula puede existir aglomeración lo que reduce el área efectiva de contacto disponible para el flujo del solvente al sólido.

Tao et al. (2014) reportaron que el rápido aumento del CFT en la etapa inicial se atribuye principalmente a un simple lavado de los componentes extraíbles ubicados en la superficie externa de la matriz y de aquellos que se encuentran dentro de las partículas con paredes rotas; mientras que el aumento lento de la extracción está controlado por el fenómeno de difusión del soluto que se encuentra disuelto dentro de las partículas intactas. Otros autores (Veggi et al., 2013) reportan que este proceso se lleva a cabo en tres etapas diferentes: primero una fase de equilibrio en donde existe el fenómeno de solubilización y partición en donde el sustrato se elimina de la superficie externa de la partícula en una velocidad aproximadamente constante.

Luego, le sigue una fase de transición intermedia a la difusión en la que prevalece la transferencia de masa por convección y difusión. Finalmente, la velocidad de extracción es baja y el soluto debe superar las interacciones que lo unen a la matriz para difundirse en el disolvente de extracción.

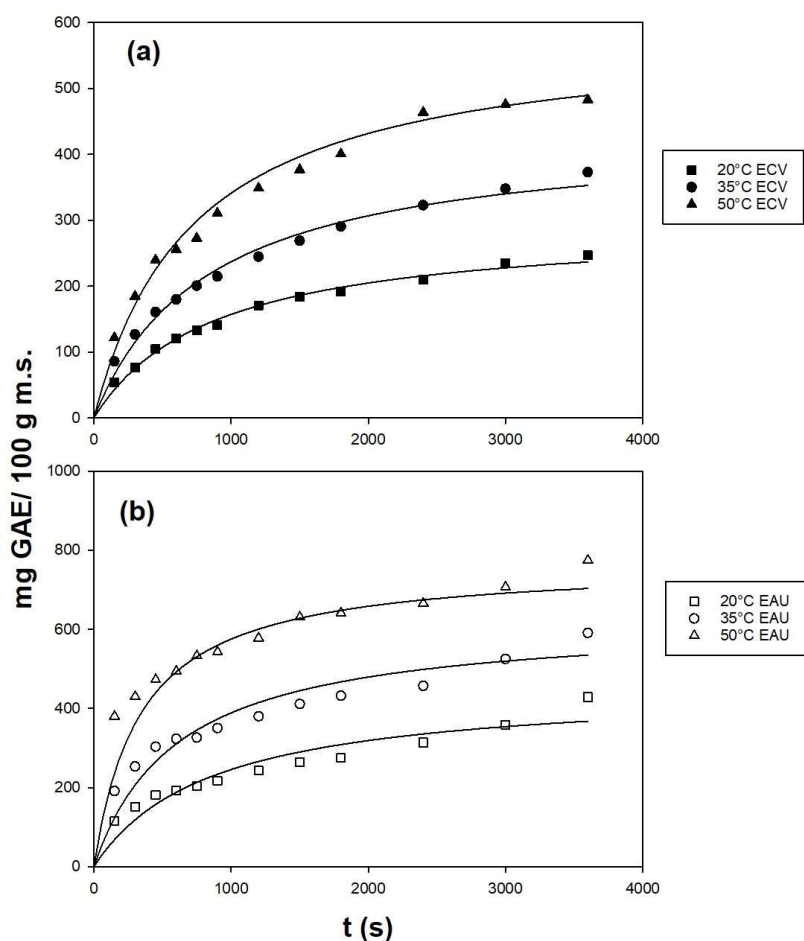


Figura 5.3. Comparación entre las cinéticas de extracción experimental (símbolos) y simulada por modelado cinético de segundo orden (curvas) de CFT durante (a) Convencional y (b) EAU a distintas temperaturas.

Un modelo matemático permite describir la relación entre las variables operativas y su respuesta, por lo que a la hora de decidir si desarrollar un modelo empírico o mecanístico es importante determinar el objetivo final para su uso. Los modelos mecanísticos proporcionan una comprensión básica de un sistema dado y una repre-

sentación de una función de respuesta que es más precisa que la obtenida empíricamente (Goula and Adamopoulos, 2012). Actualmente en la industria alimentaria se utiliza más frecuentemente el modelado empírico debido a que es económicamente más factible, por lo que el estudio cinético desempeña un papel muy importante para la evaluación del proceso de extracción, ya que permite estimar la rentabilidad del proceso para el ahorro de tiempo, dinero y energía. La información que resulta de este estudio permite tomar decisiones a la hora de elegir el método de extracción adecuado, incluida su ampliación a nivel industrial (Da Porto and Natolino, 2018).

### 5.3.2. Modelado difusivo

Los coeficientes de difusión obtenidos a partir de la Ecuación (4.13) a diferentes temperaturas en ambas técnicas de extracción se muestran en la Tabla 5.3. Se puede observar que este coeficiente de difusión fue aumentando con la temperatura de  $5.52 \times 10^{-9}$  a  $1.02 \times 10^{-8}$  para la ECV y de  $8.17 \times 10^{-9}$  a  $6.76 \times 10^{-8}$  para la EAU, lo que demuestra que la temperatura tiene un efecto positivo en el fenómeno de difusión durante el proceso de extracción. Tendencias similares de incremento del coeficiente con respecto a la temperatura fueron reportadas por Katsampa et al. (2015) en la extracción de polifenoles en residuos de cebolla. También Tao et al. (2014) reportaron un incremento del coeficiente de difusión ( $2.44 \times 10^{11}$  a  $4.51 \times 10^{11}$ ) en residuos de uva con la aplicación del ultrasonido, lo que demuestra un efecto sinérgico entre la aplicación del ultrasonido y la temperatura durante la extracción de CFs. Como se mencionó anteriormente, la temperatura contribuye a la eficiencia de la extracción sobretodo en la EAU, algunos autores informan que este efecto se justifica por aumento en el número de burbujas de cavitación y una mayor área de contacto soluto-solvente, el aumento de la difusividad del solvente con la consecuente mejora de la solubilidad de los compuestos de interés (Chemat et al., 2017).

T(°C)	20°C		35°C		50°C	
	ECV	EAU	ECV	EAU	ECV	EAU
$D_{eff}(cm^2/min)$	5.52 $\times 10^{-9}$	8.17 $\times 10^{-9}$	7.77 $\times 10^{-9}$	1.34 $\times 10^{-8}$	1.02 $\times 10^{-8}$	6.76 $\times 10^{-8}$

Tabla 5.3. Coeficientes de difusión efectiva a diferentes temperaturas para ECV y EAU.

Los valores de  $D_{eff}$  (Tabla 5.3) son similares a los reportados por otros autores. Segovia et al. (2016) reportaron valores del coeficiente en el mismo orden a distintas temperaturas ( $1.17 - 1.43 \times 10^{-8}$  de 20 a 60°C con la aplicación del ultrasonido) en semilla de aguacate. Guerrero et al. (2008) reportaron coeficientes de difusión en el orden de  $10^{-9}$  con el incremento de temperatura de 40 a 50°C en residuos de destilado blanco de uva *Vitis vinífera* var. "Albariño".

Las curvas cinéticas de los datos experimentales ajustados de acuerdo al modelo de la Ecuación (4.13) basado en la Ley de Fick se muestra en la Figura (a) para ECV y (b) para EAU. Como se puede observar, en ambas gráficas la extracción ocurre rápidamente al inicio de la extracción seguida por una tasa de extracción mucho mas lenta y se acerca asintóticamente a la concentración de equilibrio en donde el solvente ya no es capaz de remover todos los CFs presentes en la partícula de uva. Por otra parte, es importante mencionar que de acuerdo a las cinéticas mostradas en la Figura 5.4 para la ECV se requiere de al menos 16 min aproximadamente para alcanzar los rendimientos de equilibrios en contenido fenólico total; mientras que para la EAU se requieren 5 min aproximadamente lo que conlleva a que el uso del ultrasonido durante la extracción de CFs en residuos de uva reduce los tiempos en el proceso de extracción a diferencia del método convencional. Estos resultados coinciden con lo reportado por Da Porto and Natolino (2018) en la extracción de subproductos de flores de azafrán.

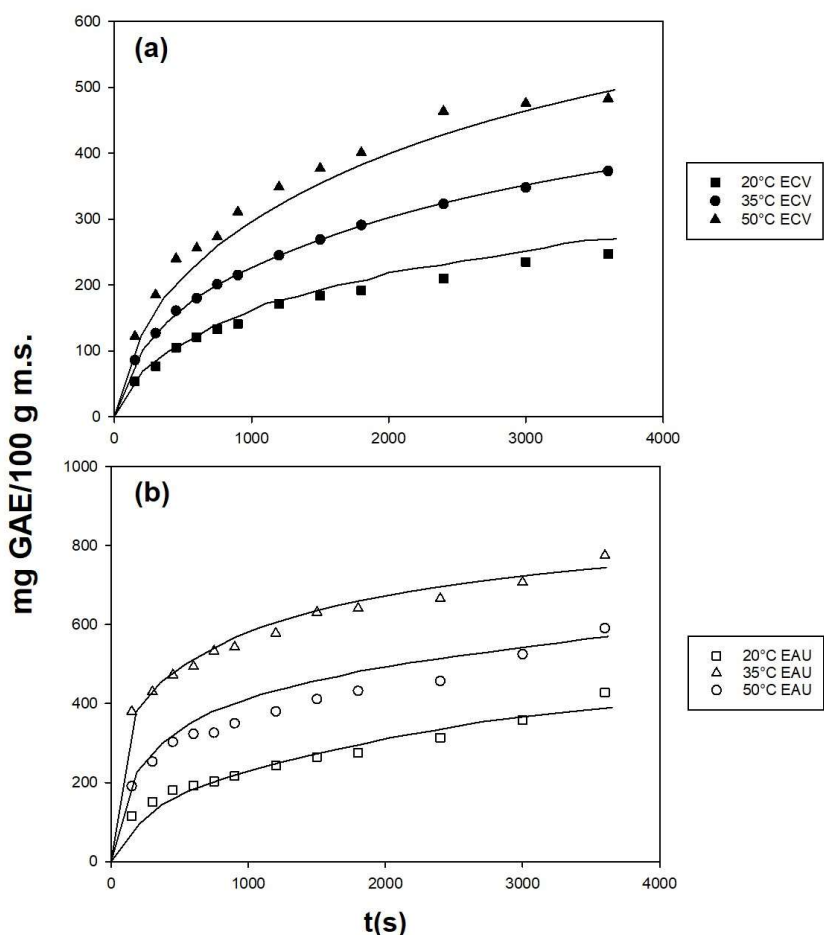


Figura 5.4. Comparación entre las cinéticas de extracción experimental (símbolos) y simulada por modelado difusivo (curvas) de CFT durante (a) Convencional y (b) EAU a distintas temperaturas.

Los modelos basados en la ley de Fick han sido comúnmente empleados para determinar los coeficientes de difusión durante la extracción de compuestos bioactivos (Gujar et al., 2010; Pinelo et al., 2006; Rakotondramasy-Rabesiaka et al., 2010). De acuerdo a Goula (2013), los modelos mecanísticos proporcionan mucha más información a partir de una comprensión básica de un sistema dado y una representación de una función de respuesta que es más precisa que una obtenida empíricamente. Los parámetros obtenidos mediante este tipo de modelos permiten tener información para tomar decisiones de control y optimización de procesos.

## VI. Conclusiones

A continuación se describen las conclusiones finales del presente trabajo:

- Los datos predichos por el modelo cinético de pseudo-segundo orden presentaron un buen ajuste ( $R^2 > 0.99$ ) a los datos experimentales a diferencia del modelo cinético de primer orden, permitiendo obtener las constantes cinéticas de extracción a diferentes temperaturas.
- El modelo de difusión permitió obtener valores de los coeficientes de difusión en ambas técnicas de extracción a diferentes temperaturas demostrando que el fenómeno de difusión se ve acelerado por el incremento de la temperatura.
- El proceso de extracción de CFs a partir de subproductos de uva Syrah se encuentra altamente controlado por los mecanismos difusivos a diferencia de los cinéticos, lo cual es un punto importante para el control, diseño y optimización de procesos.
- A partir del desarrollo y aplicación de ambos modelos matemáticos (cinético y difusivo), se confirmó que la EAU de CFs a partir de subproductos de uva Syrah fue mas eficiente a diferencia de la ECV, lo que la hace una técnica muy interesante para la extracción de compuestos bioactivos en matrices vegetales, así como también para la obtención de compuestos de mayor calidad.

# Bibliografia

- Aehle, E., Müller, U., Eklund, P. C., Willför, S. M., Sippl, W., and Dräger, B. (2011). Lignans as food constituents with estrogen and antiestrogen activity. *Phytochemistry*, 72(18):2396–2405.
- Al-Dhabi, N. A., Ponmurugan, K., and Jeganathan, P. M. (2017). Development and validation of ultrasound-assisted solid-liquid extraction of phenolic compounds from waste spent coffee grounds. *Ultrasonics sonochemistry*, 34:206–213.
- Anekonda, T. S. (2006). Resveratrol—a boon for treating alzheimer’s disease? *Brain research reviews*, 52(2):316–326.
- Arvanitoyannis, I. S., Ladas, D., and Mavromatis, A. (2006). Potential uses and applications of treated wine waste: a review. *International Journal of Food Science & Technology*, 41(5):475–487.
- Ashokkumar, M. (2011). The characterization of acoustic cavitation bubbles—an overview. *Ultrasonics sonochemistry*, 18(4):864–872.
- Atanacković, M., Petrović, A., Jović, S., Gojković-Bukarica, L., Bursać, M., and Cvejić, J. (2012). Influence of winemaking techniques on the resveratrol content, total phenolic content and antioxidant potential of red wines. *Food Chemistry*, 131(2):513–518.
- Awad, T., Moharram, H., Shaltout, O., Asker, D., and Youssef, M. (2012). Applications of ultrasound in analysis, processing and quality control of food: A review. *Food research international*, 48(2):410–427.
- Barba, F. J., Zhu, Z., Koubaa, M., Sant’Ana, A. S., and Orlie, V. (2016). Green alternative methods for the extraction of antioxidant bioactive compounds from winery wastes and by-products: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 49:96–109.
- Barreiros, A., David, J. M., and David, J. P. (2006). Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. *Química nova*, 29(1):113.
- Benzie, I. F. and Strain, J. J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (frap) as a measure of antioxidant power: the frap assay. *Analytical biochemistry*, 239(1):70–76.
- Bettiga, L. J. (2003). *Wine grape varieties in California*, volume 3419. UCANR Publica-

- tions.
- Birt, D. F. and Jeffery, E. (2013). Flavonoids. *Advances in Nutrition*, 4(5):576–577.
- Blasco, M., García-Pérez, J., Bon, J., Carreres, J., and Mulet, A. (2006). Effect of blanching and air flow rate on turmeric drying. *Food Science and Technology International*, 12(4):315–323.
- Bonfigli, M., Godoy, E., Reinheimer, M. A., and Scenna, N. J. (2017). Comparison between conventional and ultrasound-assisted techniques for extraction of anthocyanins from grape pomace. experimental results and mathematical modeling. *Journal of food engineering*, 207:56–72.
- Bucić-Kojić, A., Planinić, M., Tomas, S., Bilić, M., and Velić, D. (2007). Study of solid–liquid extraction kinetics of total polyphenols from grape seeds. *Journal of Food Engineering*, 81(1):236–242.
- Bucić-Kojić, A., Sovová, H., Planinić, M., and Tomas, S. (2013). Temperature-dependent kinetics of grape seed phenolic compounds extraction: experiment and model. *Food chemistry*, 136(3-4):1136–1140.
- Caldas, T. W., Mazza, K. E., Teles, A. S., Mattos, G. N., Brígida, A. I. S., Conte-Junior, C. A., Borguini, R. G., Godoy, R. L., Cabral, L. M., and Tonon, R. V. (2018). Phenolic compounds recovery from grape skin using conventional and non-conventional extraction methods. *Industrial crops and products*, 111:86–91.
- Carranza, E. J. M. (2008). *Geochemical anomaly and mineral prospectivity mapping in GIS*, volume 11. Elsevier.
- Castillo-Araiza, C. O., Che-Galicia, G., Dutta, A., Guzmán-González, G., Martínez-Vera, C., and Ruíz-Martínez, R. S. (2015). Effect of diffusion on the conceptual design of a fixed-bed adsorber. *Fuel*, 149:100–108.
- Chan, C.-H., Yusoff, R., and Ngoh, G.-C. (2014). Modeling and kinetics study of conventional and assisted batch solvent extraction. *Chemical engineering research and design*, 92(6):1169–1186.
- Chemat, F., Fabiano-Tixier, A. S., Vian, M. A., Allaf, T., and Vorobiev, E. (2015). Solvent-free extraction of food and natural products. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 71:157–168.
- Chemat, F., Rombaut, N., Sicaire, A.-G., Meullemiestre, A., Fabiano-Tixier, A.-S., and Abert-Vian, M. (2017). Ultrasound assisted extraction of food and natural products. mechanisms, techniques, combinations, protocols and applications. a review. *Ultrasonics sonochemistry*, 34:540–560.

- Chikezie, P. C., Ibegbulem, C. O., and Mbagwu, F. N. (2015). Bioactive principles from medicinal plants. *Research Journal of Phytochemistry*, 9(3):88–115.
- Corrales, M., Toepfl, S., Butz, P., Knorr, D., and Tauscher, B. (2008). Extraction of anthocyanins from grape by-products assisted by ultrasonics, high hydrostatic pressure or pulsed electric fields: A comparison. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 9(1):85–91.
- Da Porto, C. and Natolino, A. (2018). Extraction kinetic modelling of total polyphenols and total anthocyanins from saffron floral bio-residues: comparison of extraction methods. *Food chemistry*, 258:137–143.
- dâAlessandro, L. G., Kriaa, K., Nikov, I., and Dimitrov, K. (2012). Ultrasound assisted extraction of polyphenols from black chokeberry. *Separation and Purification Technology*, 93:42–47.
- Das, A. K. and Dewanjee, S. (2018). Optimization of extraction using mathematical models and computation. In *Computational Phytochemistry*, pages 75–106. Elsevier.
- Das, M. and Das, D. K. (2010). Resveratrol and cardiovascular health. *Molecular aspects of medicine*, 31(6):503–512.
- Davin, L. B. and Lewis, N. G. (2003). An historical perspective on lignan biosynthesis: monolignol, allylphenol and hydroxycinnamic acid coupling and downstream metabolism. *Phytochemistry Reviews*, 2(3):257.
- Delmas, D., Lançon, A., Colin, D., Jannin, B., and Latruffe, N. (2006). Resveratrol as a chemopreventive agent: a promising molecule for fighting cancer. *Current drug targets*, 7(4):423–442.
- Drosou, C., Kyriakopoulou, K., Bimpilas, A., Tsimogiannis, D., and Krokida, M. (2015). A comparative study on different extraction techniques to recover red grape pomace polyphenols from vinification byproducts. *Industrial Crops and Products*, 75:141–149.
- Espada-Bellido, E., Ferreiro-González, M., Carrera, C., Palma, M., Barroso, C. G., and Barbero, G. F. (2017). Optimization of the ultrasound-assisted extraction of anthocyanins and total phenolic compounds in mulberry (*morus nigra*) pulp. *Food chemistry*, 219:23–32.
- Faggio, C., Sureda, A., Morabito, S., Sanches-Silva, A., Mocan, A., Nabavi, S. F., and Nabavi, S. M. (2017). Flavonoids and platelet aggregation: a brief review. *European journal of pharmacology*, 807:91–101.

- Ferrer, J.-L., Austin, M., Stewart Jr, C., and Noel, J. (2008). Structure and function of enzymes involved in the biosynthesis of phenylpropanoids. *Plant Physiology and Biochemistry*, 46(3):356–370.
- Flint, E. B. and Suslick, K. S. (1991). The temperature of cavitation. *Science*, 253(5026):1397–1399.
- Galanakis, C. M. (2012). Recovery of high added-value components from food wastes: conventional, emerging technologies and commercialized applications. *Trends in Food Science & Technology*, 26(2):68–87.
- Galanakis, C. M. (2013). Emerging technologies for the production of nutraceuticals from agricultural by-products: a viewpoint of opportunities and challenges. *Food and Bioproducts Processing*, 91(4):575–579.
- Galanakis, C. M., Barba, F. J., and Prasad, K. N. (2015). Cost and safety issues of emerging technologies against conventional techniques. In *Food waste recovery*, pages 321–336. Elsevier.
- Ghafoor, K., Choi, Y. H., Jeon, J. Y., and Jo, I. H. (2009). Optimization of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds, antioxidants, and anthocyanins from grape (*vitis vinifera*) seeds. *Journal of agricultural and food chemistry*, 57(11):4988–4994.
- González-Centeno, M., Comas-Serra, F., Femenia, A., Rosselló, C., and Simal, S. (2015). Effect of power ultrasound application on aqueous extraction of phenolic compounds and antioxidant capacity from grape pomace (*vitis vinifera* l.): experimental kinetics and modeling. *Ultrasonics sonochemistry*, 22:506–514.
- González-Centeno, M. R., Jourdes, M., Femenia, A., Simal, S., Rossello, C., and Teissedre, P.-L. (2012). Proanthocyanidin composition and antioxidant potential of the stem winemaking byproducts from 10 different grape varieties (*vitis vinifera* l.). *Journal of agricultural and food chemistry*, 60(48):11850–11858.
- Goula, A. and Adamopoulos, K. (2012). A method for pomegranate seed application in food industries: seed oil encapsulation. *Food and Bioproducts Processing*, 90(4):639–652.
- Goula, A. M. (2013). Ultrasound-assisted extraction of pomegranate seed oil—kinetic modeling. *Journal of Food Engineering*, 117(4):492–498.
- Goyal, S., Lambert, C., Cluzet, S., Merillon, J., and Ramawat, K. G. (2012). Secondary metabolites and plant defence. In *Plant defence: Biological control*, pages 109–138. Springer.

- Guerrero, M. S., Torres, J. S., and Nuñez, M. J. (2008). Extraction of polyphenols from white distilled grape pomace: Optimization and modelling. *Bioresource technology*, 99(5):1311–1318.
- Gujar, J., Wagh, S., and Gaikar, V. (2010). Experimental and modeling studies on microwave-assisted extraction of thymol from seeds of *trachyspermum ammi* (ta). *Separation and Purification Technology*, 70(3):257–264.
- Gupta, V. (2010). *Comprehensive Bioactive Natural Products, 3: Efficacy, Safety & Clinical Evaluation II*. Studium Press.
- Halliwell, B. and Gutteridge, J. M. (2015). *Free radicals in biology and medicine*. Oxford University Press, USA.
- Hang, Y. (1988). Recovery of food ingredients from grape pomace. *Process biochemistry*.
- Heleno, S. A., Martins, A., Queiroz, M. J. R., and Ferreira, I. C. (2015). Bioactivity of phenolic acids: Metabolites versus parent compounds: A review. *Food chemistry*, 173:501–513.
- Hogervorst, J. C., Miljić, U., and Puškaš, V. (2017). Extraction of bioactive compounds from grape processing by-products. In *Handbook of Grape Processing By-Products*, pages 105–135. Elsevier.
- Ignat, I., Volf, I., and Popa, V. I. (2011). A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. *Food chemistry*, 126(4):1821–1835.
- J Mason, T., Chemat, F., and Vinatoru, M. (2011). The extraction of natural products using ultrasound or microwaves. *Current Organic Chemistry*, 15(2):237–247.
- Jang, I.-C., Jo, E.-K., Bae, M.-S., Lee, H.-J., Jeon, G.-I., Park, E., Yuk, H.-G., Ahn, G.-H., and Lee, S.-C. (2010). Antioxidant and antigenotoxic activities of different parts of persimmon (*diospyros kaki* cv. fuyu) fruit. *Journal of Medicinal Plants Research*, 4(2):155–160.
- Kaderides, K., Papaoikonomou, L., Serafim, M., and Goula, A. M. (2019). Microwave-assisted extraction of phenolics from pomegranate peels: Optimization, kinetics, and comparison with ultrasounds extraction. *Chemical Engineering and Processing-Process Intensification*, 137:1–11.
- Karabegović, I., Nikolova, M., Veličković, D., Stojičević, S., Veljković, V., and Lazić, M. (2011). Comparison of antioxidant and antimicrobial activities of methanolic extracts of the *artemisia* sp. recovered by different extraction techniques.

- Chinese Journal of Chemical Engineering*, 19(3):504–511.
- Karacabey, E., Bayindirli, L., Artik, N., and Mazza, G. (2013). Modeling solid–liquid extraction kinetics of trans-resveratrol and trans- $\epsilon$ -viniferin from grape cane. *Journal of Food Process Engineering*, 36(1):103–112.
- Karacabey, E. and Mazza, G. (2008). Optimization of solid- liquid extraction of resveratrol and other phenolic compounds from milled grape canes (*vitis vinifera*). *Journal of agricultural and food chemistry*, 56(15):6318–6325.
- Karadag, A., Ozcelik, B., and Saner, S. (2009). Review of methods to determine antioxidant capacities. *Food analytical methods*, 2(1):41–60.
- Katsampa, P., Valsamedou, E., Grigorakis, S., and Makris, D. P. (2015). A green ultrasound-assisted extraction process for the recovery of antioxidant polyphenols and pigments from onion solid wastes using box–behnken experimental design and kinetics. *Industrial Crops and Products*, 77:535–543.
- Kentish, S. and Ashokkumar, M. (2011). The physical and chemical effects of ultrasound. In *Ultrasound technologies for food and bioprocessing*, pages 1–12. Springer.
- Khan, M. K., Abert-Vian, M., Fabiano-Tixier, A.-S., Dangles, O., and Chemat, F. (2010). Ultrasound-assisted extraction of polyphenols (flavanone glycosides) from orange (*citrus sinensis* l.) peel. *Food Chemistry*, 119(2):851–858.
- Krishnaiah, D., Sarbatly, R., and Nithyanandam, R. (2011). A review of the antioxidant potential of medicinal plant species. *Food and bioproducts processing*, 89(3):217–233.
- Lafay, S. and Gil-Izquierdo, A. (2008). Bioavailability of phenolic acids. *Phytochemistry Reviews*, 7(2):301.
- Lazar, L., Talmaciu, A. I., Volf, I., and Popa, V. I. (2016). Kinetic modeling of the ultrasound-assisted extraction of polyphenols from picea abies bark. *Ultrasonics sonochemistry*, 32:191–197.
- Leong, T., Ashokkumar, M., and Kentish, S. (2011). The fundamentals of power ultrasound-a review.
- Magder, S. (2006). Reactive oxygen species: toxic molecules or spark of life? *Critical care*, 10(1):208.
- Makris, D. P., Boskou, G., and Andrikopoulos, N. K. (2007). Polyphenolic content and in vitro antioxidant characteristics of wine industry and other agri-food solid waste extracts. *Journal of Food Composition and Analysis*, 20(2):125–132.

- Martínez Sánchez, G., Delgado Hernández, R., Garrido Garrido, G., Guevara García, M., García Rivera, D., Paéz Betancourt, E., and Núñez Sellés, A. (2003). Mitos y realidades de la terapia antioxidante. vimang: Nuevo producto natural antioxidante. *Centro de Química Farmacéutica, Ministerio de Salud Pública de Cuba*.
- Mason, T. J. and Lorimer, J. P. (2002). Applied sonochemistry: the uses of power ultrasound in chemistry and processing. *Synthesis*, 61(3).
- Mazza, K. E., Santiago, M. C., do Nascimento, L. S., Godoy, R. L., Souza, E. F., Brígida, A. I. S., Borguini, R. G., and Tonon, R. V. (2019). Syrah grape skin valorisation using ultrasound-assisted extraction: Phenolic compounds recovery, antioxidant capacity and phenolic profile. *International Journal of Food Science & Technology*, 54(3):641–650.
- Meagher, L. P. and Beecher, G. R. (2000). Assessment of data on the lignan content of foods. *Journal of food composition and analysis*, 13(6):935–947.
- Miller, N. J., Rice-Evans, C., Davies, M. J., Gopinathan, V., and Milner, A. (1993). A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. *Clinical science*, 84(4):407–412.
- Moharram, H. and Youssef, M. (2014). Methods for determining the antioxidant activity: a review. *Alexandria Journal of Food Science and Technology*, 11(1):31–42.
- Moreno, J. and Peinado, R. (2012). *Enological chemistry*. Academic Press.
- Nenadis, N., Wang, L.-F., Tsimidou, M., and Zhang, H.-Y. (2004). Estimation of scavenging activity of phenolic compounds using the abts<sup>•+</sup> assay. *Journal of agricultural and food chemistry*, 52(15):4669–4674.
- Pan, Z., Qu, W., Ma, H., Atungulu, G. G., and McHugh, T. H. (2012). Continuous and pulsed ultrasound-assisted extractions of antioxidants from pomegranate peel. *Ultrasonics sonochemistry*, 19(2):365–372.
- Pan, Z., Zhang, R., and Zicari, S. (2019). *Integrated Processing Technologies for Food and Agricultural By-Products*. Academic Press.
- Pinelo, M., Sineiro, J., and Núñez, M. J. (2006). Mass transfer during continuous solid–liquid extraction of antioxidants from grape byproducts. *Journal of Food Engineering*, 77(1):57–63.
- Pingret, D., Fabiano-Tixier, A.-S., and Chemat, F. (2013a). Degradation during application of ultrasound in food processing: A review. *Food control*, 31(2):593–606.

- Pingret, D., Fabiano-Tixier, A.-S., and Chemat, F. (2013b). Ultrasound-assisted extraction. *Natural product extraction: principles and applications*, 21:89.
- Prior, R. L. and Cao, G. (1999). In vivo total antioxidant capacity: comparison of different analytical methods1. *Free Radical Biology and Medicine*, 27(11-12):1173–1181.
- Prokopov, T., Goranova, Z., Baeva, M., Slavov, A., and Galanakis, C. M. (2015). Effects of powder from white cabbage outer leaves on sponge cake quality. *International agrophysics*, 29(4):493–500.
- Púrez, C., Cicchinelli, C., Areche, M., and González, R. (2003). La vitivinicultura hace escuela. mendoza: la cultura de la vid y el vino. Technical report, Fondo Vitivinícola de Mendoza, Mendoza (Argentina) Dirección General de âŠ.
- Rakotondramasy-Rabesiaka, L., Havet, J.-L., Porte, C., and Fauduet, H. (2010). Estimation of effective diffusion and transfer rate during the protopine extraction process from *fumaria officinalis* l. *Separation and Purification Technology*, 76(2):126–131.
- Ramírez, M., Haller, V., Hugconsejer, V., Macías López, A., González, B., Deliaseso, A., Espinosa Victoria, D., Silva, C., Pascual, A., et al. (2007). El proceso de análisis jerárquico con base en funciones de producción para planear la siembra de maíz de temporal. Technical report, Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, Edafología.
- Rockenbach, I. I., Gonzaga, L. V., Rizelio, V. M., Gonçalves, A. E. d. S. S., Genovese, M. I., and Fett, R. (2011). Phenolic compounds and antioxidant activity of seed and skin extracts of red grape (*vitis vinifera* and *vitis labrusca*) pomace from brazilian winemaking. *Food Research International*, 44(4):897–901.
- Rodríguez-Jimenes, G. C., Vargas-García, A., Espinoza-Pérez, D. J., Salgado-Cervantes, M. A., Robles-Olvera, V. J., and García-Alvarado, M. A. (2013). Mass transfer during vanilla pods solid liquid extraction: Effect of extraction method. *Food and bioprocess technology*, 6(10):2640–2650.
- Rover, M. R. and Brown, R. C. (2013). Quantification of total phenols in bio-oil using the folin–ciocalteu method. *Journal of analytical and applied pyrolysis*, 104:366–371.
- Saiko, P., Szakmary, A., Jaeger, W., and Szekeres, T. (2008). Resveratrol and its analogs: defense against cancer, coronary disease and neurodegenerative maladies or just a fad? *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, 658(1-

- 2):68–94.
- SantâAnna, V., Brandelli, A., Marczak, L. D. F., and Tessaro, I. C. (2012). Kinetic modeling of total polyphenol extraction from grape marc and characterization of the extracts. *Separation and purification technology*, 100:82–87.
- Sayyar, S., Abidin, Z. Z., Yunus, R., and Muhammad, A. (2009). Extraction of oil from jatropha seeds-optimization and kinetics. *American Journal of Applied Sciences*, 6(7):1390.
- Segovia, F. J., Corral-Pérez, J. J., and Almajano, M. P. (2016). Avocado seed: Modeling extraction of bioactive compounds. *Industrial Crops and Products*, 85:213–220.
- Sivarajan, M., Babuskin, S., Archana, G., Babu, P. A. S., Sukumar, M., et al. (2013). Kinetic modeling of spice extraction from s. aromaticum and c. cassia. *Journal of food engineering*, 117(3):326–332.
- Smith, R. M. (2003). Before the injection—modern methods of sample preparation for separation techniques. *Journal of chromatography A*, 1000(1-2):3–27.
- Suslick, K. S. (1989). The chemical effects of ultrasound. *Scientific American*, 260(2):80–86.
- Tao, Y., Zhang, Z., and Sun, D.-W. (2014). Kinetic modeling of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from grape marc: influence of acoustic energy density and temperature. *Ultrasonics Sonochemistry*, 21(4):1461–1469.
- Teixeira, A., Baenas, N., Dominguez-Perles, R., Barros, A., Rosa, E., Moreno, D. A., and Garcia-Viguera, C. (2014). Natural bioactive compounds from winery by-products as health promoters: a review. *International journal of molecular sciences*, 15(9):15638–15678.
- Togores, J. H. (2006). *La calidad del vino desde el viñedo*. Mundi-Prensa Libros.
- Toledo, R. T., Singh, R. K., and Kong, F. (1991). *Fundamentals of food process engineering*. Number 664 T65 1980. Springer.
- Tsao, R. (2010). Chemistry and biochemistry of dietary polyphenols. *Nutrients*, 2(12):1231–1246.
- Tsibranska, I., Tylkowski, B., Kochanov, R., and Alipieva, K. (2011). Extraction of biologically active compounds from sideritis ssp. l. *Food and Bioproducts Processing*, 89(4):273–280.
- Tušek, A. J., Benković, M., Cvitanović, A. B., Valinger, D., Jurina, T., and Kljusurić, J. G. (2016). Kinetics and thermodynamics of the solid-liquid extraction process of total polyphenols, antioxidants and extraction yield from asteraceae

- plants. *Industrial crops and products*, 91:205–214.
- Tzia, C. and Liadakis, G. (2003). *Extraction optimization in food engineering*. CRC Press.
- Veggi, P. C., Martinez, J., and Meireles, M. A. A. (2013). Microwave-assisted extraction for bioactive compounds: theory and practice. *Food Engineering, Series*, 4.
- Velioglu, Y., Mazza, G., Gao, L., and Oomah, B. (1998). Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products. *Journal of agricultural and food chemistry*, 46(10):4113–4117.
- Vilkhu, K., Mawson, R., Simons, L., and Bates, D. (2008). Applications and opportunities for ultrasound assisted extraction in the food industry—a review. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 9(2):161–169.
- Wang, Y., Zhang, X., Ma, X., Zhang, K., Li, S., Wang, X., Liu, X., Liu, J., Fan, W., Li, Y., et al. (2019). Study on the kinetic model, thermodynamic and physicochemical properties of glycyrrhiza polysaccharide by ultrasonic assisted extraction. *Ultrasonics sonochemistry*, 51:249–257.
- Waterhouse, A. L. (2002). Determination of total phenolics. *Current protocols in food analytical chemistry*, 6(1):I1–1.
- Xia, E.-Q., Deng, G.-F., Guo, Y.-J., and Li, H.-B. (2010). Biological activities of polyphenols from grapes. *International journal of molecular sciences*, 11(2):622–646.