



**Benemérita
Universidad Autónoma de Puebla**

FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA

**Cinética de extracción asistida con ultrasonido
de potencia de compuestos fenólicos a partir
de uva Syrah (*Vitis vinífera* L.)**

Tesis presentada para obtener el grado:

Licenciatura en Ingeniería Química

Presenta:

GRECIA GARCIA SANTIAGO

Director de Tesis:

DR. GAMALIEL CHE GALICIA

Asesora de Tesis:

DRA. EDITH CORONA JIMÉNEZ

Septiembre de 2020

QUÍMICA



BUAP.

Oficio No. FIQ/AC/113/2020
Asunto: Registro de Tema de Tesis

**C. GRECIA GARCIA SANTIAGO
PASANTE DE LA LICENCIATURA
EN INGENIERÍA QUÍMICA
P R E S E N T E:**

Por medio del presente me permito informarle, de la aprobación del Registro de Tema de Tesis de la Licenciatura en Ingeniería Química cuyo título es el siguiente:

**"CINÉTICA DE EXTRACCIÓN ASISTIDA CON ULTRASONIDO DE POTENCIA DE
COMPUESTOS FENÓLICOS A PARTIR DE UVA SYRAH (VITIS VINÍFERA L)"**

Con el siguiente contenido:

INTRODUCCIÓN

CAPÍTULO 1	ANTECEDENTES
CAPÍTULO 2	METODOLOGÍA
CAPÍTULO 3	RESULTADOS Y DISCUSIÓN

**CONCLUSIONES
BIBLIOGRAFÍA**

Director de Tesis: Dr. Gamaliel Che Galicia
Co-Directora de Tesis: Dra. Edith Corona Jiménez

Lo cual me permito comunicarle para su conocimiento y fines consiguientes aclarando que la vigencia de este tema será **ÚNICAMENTE POR UN AÑO**

ATENTAMENTE
"Pensar Bien, Para Vivir Mejor"
H. Puebla de Z., 31 de Enero de 2020


M.I.C. MA. GPE. TITA YÁÑEZ DE LOS MONTEROS
SECRETARIA ACADÉMICA



C.c.p. Director de Tesis: Dr. Gamaliel Che Galicia
C.c.p. Co-Directora de Tesis: Dra. Edith Corona Jiménez
C.c.p. Archivo.

Facultad
de Ingeniería
Química

Av. San Claudio s/n, Col. San
Manuel, Ciudad Universitaria,
Puebla, Pue. C.P. 72590
01 (222) 229 55 00
Exts. 7250 y 7251

CTAI01



**Benemérita Universidad
Autónoma de Puebla**
FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA



CIUDAD UNIVERSITARIA

**M.I.C María Guadalupe Tita
Vázquez Espinoza de los Monteros
Secretaria Académica de la
Facultad de Ing. Química BUAP
Presente**

ASUNTO:
**AUTORIZACIÓN
IMPRESIÓN DE TESIS**

Por este conducto me permito presentar a Ud. al C. pasante de la carrera de Ingeniería Química

GRECIA GARCIA SANTIAGO

Quién presenta como tema de tesis:

Cinética de extracción asistida con ultrasonido de potencia de compuestos fenólicos a partir de uva Syrah (*Vitis vinífera* L.)

La cual ha sido debidamente revisada y se autoriza para su impresión correspondiente.

Sin otro particular y para los fines que se estimen conducentes reitero mi distinción.

ATENTAMENTE

“Pensar Bien, para Vivir Mejor”

H. Puebla de Z., a 09 de septiembre de 2020

Director de Tesis
Dr. Gamaliel Che Galicia

AGRADECIMIENTOS

Me cuesta mucho decidir por dónde empezar a dar las gracias a todas las personas quienes directa o indirectamente han colaboraron en mi formación académica y vida personal. Es por eso, que me permito expresar mis más sinceros agradecimientos a través de las siguientes líneas:

A la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, en especial a la Facultad de Ingeniería Química y su cuerpo académico, los cuales me brindaron las herramientas, conocimientos y experiencias necesarias para tener una buena perspectiva a la ingeniería química y el gran impacto que tiene en la vida cotidiana.

Al Dr. Gamaliel Che Galicia por la confianza depositada en mi al haberme aceptado a realizar este trabajo, por toda su guía, entrega, esfuerzo, compromiso, dedicación y sin lugar a dudas, pasión que dedico a este trabajo, al compartir en todo momento su admirable conocimiento durante el desarrollo de este proyecto.

A la Dra. Edith Corona Jiménez, quien me acepto agradablemente en su equipo de trabajo, compartiendo en todo momento su admirable conocimiento y experiencia, los cuales fueron parte fundamental para poder realizar y culminar este proyecto de manera exitosa, para ella mi sincera gratitud.

A los miembros del jurado, la Dra. Georgette Rebollar Pérez y la M.A. Tania Meza Gaspar, por tomarse el tiempo necesario para revisar y realizar sus valiosas contribuciones para mejorar mi trabajo de tesis, a pesar de las tantas actividades que poseen.

A todo el equipo de trabajo de la Dra. Edith, ya que fue un gusto poder trabajar con todas ustedes, además de su gran ayuda en la parte experimental.

A mis amigos, quienes me han apoyado en todo momento, con ellos crecí durante esta etapa de mi vida, dándome consejos y experiencias de manera académica y personal, su presencia marco un impacto importante en mi vida, ya que sin ustedes este camino que recorrimos no hubiera sido igual de agradable, así que gracias por todo.

A mi hermano, Alejandro, ese amigo que siempre ha estado a mi lado, compartiendo sus consejos, apoyo y paciencia en todo momento.

Finalmente quisiera agradecer a aquellas personas que han sido el pilar de mi vida, mis padres, Pedro y Bety, quienes día a día me han cuidado y apoyado en todas las decisiones que he tomado, siempre han estado a mi lado aconsejándome para que construyera un mejor futuro, por toda su confianza y amor que depositan en mí, sepan que son el motivo e inspiración para lograr todo lo bueno que hago, así que hoy y siempre estaré eternamente agradecida con ustedes, muchas gracias por todo.

INDICE

RESUMEN	1
INTRODUCCIÓN.....	2
OBJETIVOS.....	5
General:.....	5
Específicos:	5
CAPITULO 1. ANTECEDENTES.....	6
1.1 Generalidades de la uva.....	6
1.1.1 Morfología de la uva	6
1.1.2 Características	9
1.1.3 Composición química de la uva.....	9
1.2 Antioxidantes	11
1.2.1 Actividad antioxidante.....	12
1.3 Métodos para evaluar la actividad antioxidante	13
1.3.1 Método ABTS.....	13
1.3.2 Método FRAP.....	14
1.4 Compuestos fenólicos	14
1.4.1 Compuestos fenólicos y su actividad antioxidante	15
1.4.2 Clasificación de los compuestos fenólicos	16
1.4.3 Ácidos fenólicos	16
1.4.4 Ácidos hidroxibenzóicos.....	16
1.4.5 Ácidos hidroxicinámicos.....	16
1.4.6 Flavonoides	17
1.4.7 Flavonas y flavonoles	17
1.4.8 Taninos	18
1.4.9 Lignanós y ligninas	18
1.4.10 Antocianos.....	19
1.5 Determinación de compuestos fenólicos	19
1.5.1 Método de Folin-Ciocalteu	20
1.6 Extracción de compuestos fenólicos.....	20
1.6.1 Extracción sólido-líquido	20
1.6.2 Variables de extracción	21
1.6.2.1 Efecto de preparación del sólido y tamaño de partícula.....	21
1.6.2.2 Efecto de la temperatura y del tiempo de extracción	22
1.6.2.3 Efecto del disolvente	22
1.7 Generalidades del ultrasonido	22
1.7.1 Fundamento del ultrasonido	23
1.7.2 Parámetros del ultrasonido	24
1.7.3 Efectos del ultrasonido	25
1.8 Extracción asistida por ultrasonido	26

1.9 Transferencia de masa.....	26
CAPITULO 2. METODOLOGÍA	29
2.1 Preparación de la materia prima	29
2.2 Reactivos	29
2.3 Procesos de extracción	29
2.3.1 Método de extracción convencional.....	30
2.3.2 Método de extracción asistida por ultrasonido.....	30
2.4 Cuantificación de compuestos fenólicos totales (CFT).....	30
2.5 Determinación de la actividad antioxidante (AA)	31
2.5.1 Método ABTS.....	31
2.5.2 Método FRAP.....	32
2.6 Modelación.	32
CAPITULO 3. RESULTADOS Y DISCUSIONES	34
3.1 Contenido fenólico total.....	34
3.2 Capacidad antioxidante	36
3.3 Modelo cinético.....	38
CONCLUSIONES.....	42
BIBLIOGRAFÍA.....	43
ANEXO.....	48

RESUMEN

El proceso de extracción sólido-líquido, es un proceso de gran interés en la obtención de los compuestos fenólicos a partir de materias orgánicas como son frutas y vegetales. Los métodos de extracción convencionales están siendo reemplazados por nuevas tecnologías emergentes como los ultrasonidos de potencia, los cuales intensifican el proceso de extracción de compuestos fenólicos. Por lo tanto, el objetivo del presente trabajo fue desarrollar un modelo matemático que permitiera analizar la cinética de extracción en un proceso convencional y un asistido con ultrasonido de alta intensidad.

Se realizó la extracción de compuestos fenólicos a partir del orujo de la uva Syrah (*Vitis vinífera* L.) obtenida de la industria vinícola San Juanito SPR de RL, ubicada en el estado de Querétaro, con el fin de aprovechar un residuo que aun cuenta con gran contenido fenólico. Para la obtención de estos compuestos se establecieron dos metodologías: una convencional y otra mediante una sonda ultrasónica.

La cuantificación de los compuestos fenólicos totales se realizó a través del método Folin-Ciocalteu y la capacidad antioxidante mediante el empleo de los ensayos FRAP y ABTS. Se empleó como disolvente una mezcla de etanol-agua a 50%(v/v), con la cual se obtuvo un contenido fenólico total de 4494.6 mg de ácido gálico/ 100 g m.s. para el método convencional y de 5145.8 6 mg de ácido gálico/ 100 g m.s para el método con ultrasonido. La capacidad antioxidante cuantificada por el método FRAP y ABTS fue de 6553.0 mg TROLOX/100 g m.s. y 207.3 mg TROLOX/100 g m.s. para el método convencional, por otra parte, los valores obtenidos para el ultrasonido fueron de 7138.0 mg TROLOX/100 g m.s. y 209.4 mg TROLOX/100 g m.s. respectivamente.

Finalmente, se desarrolló un modelo cinético de segundo orden que permite una descripción adecuada a los resultados obtenidos en el proceso de extracción convencional y con ultrasonido.

INTRODUCCIÓN

Actualmente, el ser humano ha promovido hábitos inadecuados al momento de alimentarse, consumiendo alimentos con baja calidad nutricional y que impactan de manera negativa en su salud. En contraste, diversos estudios han demostrado que el consumo de alimentos ricos en biocompuestos, como los antioxidantes, ayuda a la reducción de contraer enfermedades crónico-degenerativas como la diabetes, cáncer, problemas cardiovasculares, arteriosclerosis, envejecimiento prematuro o problemas en el sistema nervioso. Este tipo de enfermedades se producen a partir del fenómeno conocido como estrés oxidativo, el cual es generado en nuestro propio cuerpo, afectando la calidad de vida de las personas. Por esta razón, este tipo de compuestos han llamado la atención de la industria alimenticia, cosmética y farmacéutica, trayendo consigo un incremento en la demanda de su consumo.

Los antioxidantes naturales obtenidos a partir de semillas, frutos y vegetales se posicionan como los favoritos del mercado, debido a que la mayoría de ellos son ricos en biocompuestos como compuestos fenólicos, vitaminas, fibra, minerales entre otros compuestos nutritivos.

Por otra parte, el proceso de vinificación de la uva, produce residuos sólidos, los cuales se conocen como orujo de uva, generado a partir de la extracción del jugo para la elaboración de vino. Se estima que la cantidad de orujo desechado en este proceso es alrededor de 9 millones de toneladas anuales, lo cual genera un impacto negativo en el medio ambiente ya que este desecho no se aprovecha para un nuevo producto o proceso. Actualmente existe una gran cantidad de investigaciones que demuestran que la uva posee una gran actividad antioxidante (Brijesh, 2015; Athanasia, 2013). Por lo tanto, se obtienen resultados positivos al emplear el orujo de la uva cuando aún posee una gran cantidad de biocomponentes valiosos, debido a que se puede recuperar y utilizarse dichos compuestos para dar un valor agregado a un nuevo producto, haciéndolo más rico en antioxidantes.

La obtención de compuestos fenólicos o antioxidantes a partir de fuentes naturales como es la fruta, habitualmente se lleva a cabo a través de procesos de extracción sólido-líquido. Lamentablemente, uno de los principales problemas de este proceso es el uso de grandes cantidades de solventes como metanol, etanol, hexano, acetato de etilo, entre otros, lo cual hace que este tipo de proceso no sea amigable con el medio ambiente. Otra desventaja del proceso, es el largo tiempo de extracción, lo cual ocasiona la pérdida de ingredientes activos, obteniendo así, un bajo rendimiento para la obtención de los compuestos.

En este sentido, los ingenieros químicos han buscado transformar los procesos industriales con la finalidad de minimizar los riesgos de la contaminación y reducir el impacto ambiental a un nivel sustentable, es decir, convertir el proceso industrial amigable con el medio ambiente. La extracción asistida por ultrasonido de alta potencia presenta diversas ventajas en comparación con los métodos convencionales. Esto gracias a que existe una ruptura y dispersión de partículas que son generadas por el efecto mecánico de la cavitación, además de que el área de superficie entre la fase líquida y sólida es significativamente mayor, lo que la hace más rápida la transferencia de los compuestos (desde el interior de la célula hacia el disolvente de extracción) sin alterar significativamente las propiedades del extracto. Como resultado, se logra la separación de los compuestos de interés y se obtiene un mayor rendimiento final en el proceso de extracción, por otro lado, a pesar que el ultrasonido resulta ser un proceso viable para la extracción de los compuestos, su efectividad es influenciada por las variables del proceso como tipo de disolvente, tiempo de extracción, potencia, entre otras.

Finalmente, este tipo de extracción es un proceso sólido-líquido, que involucra diversos fenómenos de equilibrio y transferencia de masa. El estudio de la cinética en el proceso de extracción es indispensable para analizar el efecto del ultrasonido durante la extracción, es decir, su estudio da una idea del comportamiento del proceso, describiendo el fenómeno de transferencia de masa

que se está llevando a cabo. Este estudio nos permite obtener coeficientes que describen el fenómeno para poder fabricar un modelo matemático que se ajuste al proceso, estos modelos facilitan la optimización, simulación, diseño y control del mismo. Dicho análisis, puede realizarse mediante la modelación de datos a experimentales con el empleo de modelos semiempíricos.

Por lo tanto, en el presente trabajo se busca entender como interviene el empleo del ultrasonido de alta intensidad en el proceso de extracción de compuestos fenólicos en la uva Syrah (*Vitis vinífera L.*).

OBJETIVOS

General:

- Desarrollar un modelo cinético para la extracción sólido-líquido de contenido fenólico y su capacidad antioxidante a partir del orujo de uva Syrah (*Vitis vinífera* L.).

Específicos:

- Obtener la cinética de extracción de compuestos fenólicos a partir del orujo de uva Syrah (*Vitis vinífera* L.) mediante la extracción convencional y asistida con ultrasonido de potencia.
- Evaluar la capacidad antioxidante de los compuestos fenólicos extraídos por ambas técnicas de extracción.
- Proponer un modelo cinético de extracción que describa adecuadamente los resultados experimentales de extracción convencional y asistida con ultrasonido de potencia.

CAPITULO 1. ANTECEDENTES

1.1 Generalidades de la uva

La uva (*Vitis vinífera* L.) es un fruto que crece formando racimos de la vid común o vid europea. Pertenece al género *Vitis* de la familia de las *Vitáceas*, que incluye unas 600 especies de arbustos. Es una planta semileñosa y/o trepadora que puede alcanzar más de 30 metros y es originaria del suroeste de Asia y del centro y suroeste de Europa. La uva puede crecer en un clima cálido tropical y sub tropical, alrededor de los 11 y 24 °C. Dentro del género *Vitis* se incluyen unas 20 especies cultivadas por sus frutos y algunas por sus hojas que se consumen como cualquier fruta además, las semillas presentan diferentes propiedades medicinales y el fruto de la vid, es comestible y sirve como materia prima para la fabricación de vino (Hidalgo Filipovich, et al., 2016). México es uno de los productores y exportadores más importante de uva para consumo en fresco. Los cultivares más comúnmente comercializados son: Perlette, Flame, Sugra One y Red Globe entre otros (Molina Quijada, et al., 2010). En el país, seis mil cuatrocientas setenta y cuatro hectáreas de superficie se destinan a la siembra de uva que se convertirá en materia prima para la producción de vinos mexicanos, de las cuales se generarán aproximadamente nueve millones de toneladas de residuos de uva a partir de las actividades vitivinícolas. El doctor Daniel González Mendoza, profesor investigador del ICA (Instituto de Ciencias Agrícolas) menciona que la efectividad de los extractos de vid es variante, pero se estima por arriba del 50%, esto dependerá si es uva que fue destinada para el vino tinto o el rosado.

1.1.1 Morfología de la uva

La uva (*Vitis vinífera* L) se puede clasificar morfológicamente en dos partes, la primera parte está conformada por el sistema radicular, con raíces de mayor y

menor grosor y menor y mayor edad, siendo las extremidades más finas y jóvenes, las que constituye la caballera radicular. La segunda parte es la aérea o vuelo, en donde se puede distinguir los siguientes órganos: tronco, brazos, sarmientos, cepas, pámpanos, hojas, frutos y zarcillos, los cuales son descrito a continuación (Togores, 2006).

- Sistema radical: las funciones que desempeña este sistema para la vida de la planta son el anclaje de la planta al suelo, es decir darle el sostén necesario para fijarse en el terreno donde se encuentra plantado, la segunda función importante es la absorción de agua y elementos minerales, la cual está relacionada con la respiración de la planta, con este proceso se absorbe el oxígeno del aire o del agua que circula en el suelo para transformarlo en dióxido de carbono, proporcionando energía a la planta y su última función es la acumulación de sustancias de reserva (Togores, 2006).
- Tronco y brazos: forman parte de la madera vieja de la planta, su función principal es la de soportar los sarmientos, los pámpanos con sus yemas, hojas, zarcillos y racimos, así como servir, con su sistema de vasos conductores, para transportar la savia bruta hacia los órganos verdes por los vasos leñosos, y una vez transformada en ellos en savia elaborada, trasportarla y nutrir a toda la planta, a través de los vasos liberianos. La forma y longitud del troco y brazos, dependerá del tipo de conducción que se adopte, siendo bajos y cortos en las formas libres, y altos y largos en las apoyadas (Togores, 2006).
- Pámpanos y sarmientos: forma parte de la madera joven de la planta, En la vid, los brotes del año se llaman pámpanos, engrosando en la zona denominada nudo que es donde se insertan las yemas, hojas, zarcillos o racimos, y que, con el paso del tiempo, los tejidos adquieren consistencia

y dureza transformándose entonces en sarmientos hacia el final del ciclo vegetativo anual, la estructura de estos elementos se diferencia poco de las raíces, ya que poseen corteza, endodermo, periciclo, vasos criboso, entre otras (Togores, 2006).

- Sistema foliar: Las hojas están formadas por un rabillo o pecíolo, con unas pequeñas estipulas caedizas situadas en su base, y un ensanchamiento en forma de lámina, denominado limbo, estando surcado por nervaduras de diferentes órdenes, siendo la parte más importante de la hoja por las funciones que realiza, siendo su aspecto generalmente pentalobulado, con cinco nervios principales, cinco senos y cinco lóbulos de bordes dentados (Togores, 2006).
- Zarcillos y Yemas: Los zarcillos son considerados inflorescencias estériles, es decir, sin flores y por lo tanto también sin bayas, los zarcillos ocupan la misma posición que los racimos de flores, al principio son verdes y tiernos, después y por un crecimiento desigual se enroscan sobre un sostén y luego se lignifican. Su única función es de sostén. Las yemas están formadas externamente por varias escamas, de color pardo más o menos acentuado, estando recubiertas interiormente por abundante borra o lanosidad blanquecina, que protege eficazmente vegetativos con su meristemo terminal que asegura el crecimiento del pámpano (Togores, 2006).
- Bayas o granos de uva: El grano de uva procede del desarrollo, generalmente inducido por la fecundación, del pistilo u ovario que tiene la flor. Presenta en todos los casos una estructura formada por una película exterior llamada hollejo, una masa que rellena interiormente la baya conocida como pulpa, y en el centro del mismo un número variable de semillas o pepitas (Togores, 2006).

- Raspón o escobajo: Es el elemento del racimo de uva que sirve de soporte de las bayas, así como también de alimentación con los vasos conductores que se encuentran situados en el interior del mismo (Togores, 2006).

1.1.2 Características

El fruto de la *Vitis* es una baya redonda o elipsoidal con el epicarpio de color verde, rosado o violáceo, tan oscuro que parece negro, presenta de una a cuatro semillas piriformes u ovoides con dos cotiledones. Su tamaño varía desde los 12 mm hasta unos 24 mm, cada fruto es diferente y nunca presenta el mismo tamaño, ni siquiera si forman parte del mismo racimo de uvas y su peso aproximado se encuentra entre 200 y 350 gramos (Uranga, 1996).

1.1.3 Composición química de la uva

La composición de la uva (Tabla 1.1.3) varía según se trate de uvas blancas o negras. En ambas destacan dos tipos de nutrientes, siendo el primero de ellos los azúcares (principalmente glucosa y fructosa) los cuales son más abundantes en las uvas blancas, y, en segundo lugar, las vitaminas, como el ácido fólico y la vitamina B6, ésta última en una cantidad que solo se ve superada por las frutas desecadas y las frutas tropicales como el aguacate, el plátano, la chirimoya, la guayaba y el mango. Su riqueza en azúcares, les convierte en una de las frutas más calóricas. Las uvas cultivadas en regiones frías suelen tener menos azúcares que las cultivadas en terrenos cálidos y secos. Entre los minerales, el potasio es el más abundante y se encuentra en mayor cantidad en la uva negra; mientras que el magnesio y el calcio están en cantidades moderadas y son más abundantes en la uva blanca (USDA, 2018).

Tabla 1.1.3 Composición principal de uva.

<i>Composición por 100 gramos de porción comestible</i>	<i>Cantidad</i>
<i>Energía</i>	63 kcal
<i>Carbohidratos</i>	15.69 g
• <i>Fibra alimentaria</i>	0.9 g
<i>Grasas</i>	0.16 g
<i>Proteínas</i>	0.73 g
<i>Tiamina (vit. B1)</i>	0.069 mg (5%)
<i>Riboflavina (vit. B2)</i>	0.07 mg (5%)
<i>Niacina (vit. B3)</i>	0.188 mg (1%)
<i>Ácido pantoténico (vit. B5)</i>	0.05 mg (1%)
<i>Vitamina B6</i>	0.086 mg (7%)
<i>Ácido fólico (vit. B9)</i>	2 µg (1%)
<i>Vitamina B12</i>	0 µg (0%)
<i>Vitamina C</i>	10.8 mg (18%)
<i>Vitamina K</i>	22 µg (21%)
<i>Calcio</i>	10 mg (1%)
<i>Hierro</i>	0.36 mg (3%)
<i>Magnesio</i>	7 mg (2%)
<i>Manganeso</i>	0.071 mg (4%)
<i>Fósforo</i>	20 mg (3%)
<i>Potasio</i>	191 mg (4%)
<i>Sodio</i>	3.02 mg (0%)
<i>Zinc</i>	0.07 mg (1%)

% de la cantidad diaria recomendada para adultos. (USDA, 2018)

En las uvas abundan diversas sustancias con propiedades benéficas para la salud, tales como los antocianos, flavonoides y taninos, estos compuestos fenólicos representan aproximadamente 50 mg por cada 100 g de uva, los cuales

son responsables del color, aroma y textura característicos de estas frutas, y de los que dependen diversas propiedades que se le atribuyen a las uvas (EROSKI, 2017).

Los compuestos fenólicos se encuentran distribuidos en la morfología de la uva, por ejemplo, en la piel la cantidad de compuestos fenólicos en variante, debido a que depende principalmente de la variedad de la uva, pero se estima una variación entre 12% y 61% del contenido total de polifenoles de la fruta, entre 14% y 50% de los taninos, de 17% a 47% de procianidinas y la mayoría de las antocianinas. El raspo es potencialmente rico en compuestos fenólicos, específicamente en la uva roja, pero presenta un sabor amargo, reduciendo 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 compuestos fenolicos, 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 & Peinado, 2012).

1.2 Antioxidantes

Los radicales libres son átomos o grupos de átomos que tienen un electrón desapareado o libre, por lo que son muy reactivos ya que tienden a captar un electrón de moléculas estables con el fin de alcanzar su estabilidad electroquímica. Una vez que el radical libre ha conseguido sustraer el electrón que necesita, la molécula estable que se lo cede se convierte a su vez en un radical libre por quedar con un electrón desapareado, iniciándose así una verdadera reacción en cadena que destruye nuestras células (Finkel & Holbrook, 2000).

Los Antioxidantes son compuestos que pueden retardar la oxidación de otras moléculas inhibiendo la iniciación y/o propagación de las reacciones en cadena de los radicales libres. Los antioxidantes se dividen en dos categorías

principalmente: sintéticos y naturales. En general, los antioxidantes sintéticos son compuestos de estructuras fenólicas con varios grados de sustitución alquímica, mientras que los antioxidantes naturales pueden ser compuestos fenólicos (tocoferoles, flavonoides y ácidos fenólicos), compuestos nitrogenados (alcaloides, derivados de la clorofila, aminoácidos y aminas) o carotenoides, así como el ácido ascórbico (Soto, 2007), entre otros.

Las reacciones químicas de los radicales libres se dan constantemente en las células de nuestro cuerpo y son necesarias para la salud, pero el proceso debe ser controlado con una protección antioxidante adecuada. Entre los antioxidantes que se ingieren por la dieta destacan las vitaminas y los compuestos fenólicos que por diversos mecanismos neutralizan especies radicalarias. Estas especies pueden encontrarse en el plasma sanguíneo, el que puede estabilizar especies reactivas del oxígeno, previniendo reacciones que pueden generar especies aún más nocivas. Es de especial importancia su consumo moderado a través de la dieta y evitar los factores de riesgo que inducen reacciones oxidativas en nuestro organismo (Avello & Suwalsky, 2006).

1.2.1 Actividad antioxidante

La actividad antioxidante es la capacidad de una sustancia para inhibir la degradación oxidativa, de tal manera que un antioxidante actúa, principalmente, gracias a su capacidad para reaccionar con radicales libres (Londoño Londoño, 2012). La actividad antioxidante de los fenoles es el origen de funciones biológicas tales como la antimutagénica, anticancerígena y antienvjecimiento (Velioglu, et al., 1998).

Existen diversos métodos para evaluar la actividad antioxidante (Paladino, 2007), dentro de los más destacados se encuentra el método de Miller, el cual se basa en la capacidad de diferentes sustancias para capturar el catión radical $ABTS^{\bullet+}$ (2,2' -azinobis- 3-etil benzotiazolina-6- ácido sulfónico, sal diamonio),

comparado con un antioxidante conocido (Trolox). En 2001 Jayaprakasha et al, determinaron la actividad antioxidante por medio de un sistema modelo de β caroteno-linoleato, el blanqueo del β caroteno indica la actividad antioxidante. Posteriormente en 2003, Jayaprakasha et al., evaluaron la capacidad antioxidante de dos formas, por el método del fosfomolibdeno y por la medida de la capacidad de capturar radicales por el DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidracilo). Finalmente, Yilmaz y Toledo, en sus trabajos publicados en 2004 y 2006 midieron la actividad antioxidante por el método que determina capacidad de absorber radicales de oxígeno (ORAC).

Los métodos presentan una excelente estabilidad bajo ciertas condiciones, como la concentración del solvente, concentración del reactivo, el tiempo a reaccionar, entre otras, pero también presentan diferencias importantes en su respuesta a los antioxidantes y su manipulación (Arnao, 2000). Por lo cual, no es recomendable usar solo un método para determinar la actividad antioxidante de una muestra.

1.3 Métodos para evaluar la actividad antioxidante

Los métodos más aplicados para la evaluación de la actividad antioxidante de la uva *Syrah* son los métodos ABTS y FRAP, ambos métodos presentan una excelente estabilidad en ciertas condiciones, debido a que son utilizados para determinar la capacidad de los compuestos fenólicos que contienen los frutos para captar los radicales libres generados, operando así en contra los efectos perjudiciales de los procesos de oxidación, que implican a especies reactivas de oxígeno (Kuskoski, et al., 2005).

1.3.1 Método ABTS.

El fundamento del método ABTS se basa en la cuantificación de la decoloración del radical ABTS^{•+}, debido a la interacción con especies donantes de hidrógeno

o de electrones. El radical catiónico ABTS^{•+} es un cromóforo que absorbe a una longitud de onda de 734 nm y se genera por una reacción de oxidación del ABTS (2,2'-azino-bis-(3-etil benzotiazolin -6- sulfonato de amonio) con persulfato de potasio (García, 2004). La extensión de la decoloración del ABTS está determinada por el porcentaje de inhibición del catión radical ABTS^{•+} como función de la concentración y tiempo después de considerar como estándar y de medir la reactividad relativa del Trolox (Nenadis, et al., 2004).

1.3.2 Método FRAP.

El método FRAP se basa en la capacidad de los polifenoles para reducir el hierro férrico (Fe⁺³) presente en un complejo con la 2,4,6-tri(2-piridil)-s-triazina (TPTZ) hasta la forma ferrosa (Fe⁺²), formando un complejo azul leído a una absorción alta a una longitud de onda de 595 nm (Sánchez Guerrero, et al., 2008).

1.4 Compuestos fenólicos

Los denominados “compuestos fenólicos” engloban a todas aquellas sustancias que poseen varias funciones fenol, nombre popular del hidroxibenceno, unidas a estructuras aromáticas o alifáticas. Únicamente, algunos compuestos fenólicos de la familia de los ácidos fenoles no son polifenoles, sino monofenoles (Gimeno Creus, 2004). Los fenoles son metabolitos secundarios ampliamente distribuidos en el reino vegetal, los cuales se localizan en todas las partes de las plantas y su concentración es variable a lo largo del ciclo vegetativo. Estos compuestos participan en diversas funciones, tales como la asimilación de nutrientes, la síntesis proteica, la actividad enzimática, la fotosíntesis, la formación de componentes estructurales, la alelopatía y la defensa ante los factores adversos del ambiente (Robbins, 2003).

Los fenoles están asociados al color, las características sensoriales (sabor, astringencia, dureza), las características nutritivas y las propiedades

antioxidantes de los alimentos de origen vegetal. La característica antioxidante de los fenoles se debe a la reactividad del grupo fenol (Kähkönen, et al., 2001). En Tabla 1.4 se describen algunas propiedades de los compuestos fenólicos.

Tabla 1.4 Propiedades sensoriales atribuidas a los compuestos fenólicos (Gimeno Creus, 2004)

Propiedad	Compuesto fenólico
Color	Como las antocianidinas, responsables de los tonos rojos, azules y violáceos de muchas frutas, hortalizas y derivados, tales como las fresas, ciruelas, uvas, berenjena, col lombarda, rábano, vino tinto, etc.
Sabor amargo	Como las flavanonas de los cítricos (naringina del pomelo, neohesperidina de la naranja) o la oleuropeína en las aceitunas
Astringencia	Como las proantocianidinas (taninos condensados) y los taninos hidrolizables, por ejemplo, en el vino
Aroma	Fenoles simples como el eugenol en los plátanos

1.4.1 Compuestos fenólicos y su actividad antioxidante

La actividad antioxidante está relacionada con la presencia de compuestos fenólicos, la cual, se da principalmente por sus propiedades redox (Kähkönen, et al., 1999). Éstos permiten actuar como agentes reductores, donadores de hidrógeno y como desactivadores de hidrógeno (Paz, et al., 2015). Por otra parte, la actividad antioxidante depende de la estructura química de los compuestos fenólicos, y está determinada por la presencia de grupos hidroxil y su ubicación mutua (Gülçin, 2012).

1.4.2 Clasificación de los compuestos fenólicos

Para comprender los compuestos fenólicos es necesario saber la estructura química del fenol. El fenol se compone de un anillo aromático (fenil) unido a un grupo hidroxilo (OH). El anillo aromático juega un papel importante en las propiedades antioxidantes.

Los compuestos fenólicos que se pueden encontrar en la uva se pueden simplificar en dos grupos generales: los compuestos no flavonoides o ácidos fenoles y los flavoloides.

1.4.3 Ácidos fenólicos

Los ácidos fenólicos son un tipo de compuesto orgánico. Se divide en dos grupos: los ácidos hidroxibenzoicos y los ácidos hidroxicinámicos. Es importante recalcar que la presencia de más de un grupo hidroxilo y una mayor separación del grupo carbonilo al anillo aromático aumentan la capacidad antioxidante de estos compuestos. Por ejemplo, los ácidos hidroxicinámicos contiene mayor actividad antioxidante que los ácidos hidroxibenzoicos (Dziedzic & Hudson, 1984).

1.4.4 Ácidos hidroxibenzoicos

Los ácidos hidroxibenzoicos son compuestos que presentan un grupo carboxílico (grupo ácido) y grupos hidroxilo (uno o más) en un anillo aromático. Están presentes en alimentos tales como frutas, verduras y cereales (Lui, et al., 2002).

1.4.5 Ácidos hidroxicinámicos

Se caracterizan por la presencia del grupo $\text{CH}=\text{CH}-\text{COOH}$ reemplazando el grupo COOH presente en los ácidos hidroxibenzoicos (Clifford & Scalbert, 2000). El doble enlace carbono ($\text{C}=\text{C}$) de la cadena aumenta la resonancia química, que puede ser descrita como una deslocalización de los electrones en los enlaces π

estabilizando los radicales libres y por lo tanto incrementa la capacidad antioxidante de la molécula (Peñarrieta, et al., 2008). Algunos ejemplos de ácido hidroxicinámicos en los alimentos son las uvas, manzanas, arándanos, espinacas, brócoli, col rizada, el café y los cereales (Tejeda, et al., 2014). Además de su capacidad antioxidante, los ácidos hidroxicinámicos han mostrado actividad antígenotóxicos (Ferguson, et al., 2005) y antiproliferativa en las células (Janicke, et al., 2005).

1.4.6 Flavonoides

Los flavonoides son un tipo particular de los polifenoles presentes en plantas, y son los compuestos responsables del color de las flores y frutas. El término deriva del latín "flavus", que significa amarillo, debido a que muchos flavonoides purificados son de color amarillo. Su estructura química típica consta de tres anillos: benzopirano 2-fenil, un anillo dihidroxilados fenólicos en las posiciones 5 y 7, un segundo anillo fenólico generalmente mono-hidroxilado, orto-dihidroxilados o vic-trihidroxilados, que también pueden contener grupos metoxi (O-CH₃) como sustituyentes y su ultimo anillo, que puede ser un anillo heterocíclicos con oxígeno pirano, pirylium o de forma pirona (Vermerris & Nicholson, 2008).

1.4.7 Flavonas y flavonoles

Estos grupos tienen estructuras similares a flavononas y flavanonoles, su diferencia se encuentra en el segundo anillo debido a que este presenta un enlace insaturado en las posiciones 2 y 3. Las flavonas y flavonoles suelen estar presentes en alimentos vegetales en forma de compuestos O-glucósidos y como C-glucósidos. Los flavonoides sin uniones azúcar (flavonoides libres) son llamados agliconas y no están presentes en los alimentos vegetales frescos. Sin

embargo, pueden resultar como subproductos de la elaboración y proceso de alimentos (Hollman & Arts, 2000).

1.4.8 Taninos

Son compuestos hidrosolubles de alto peso molecular, los cuales, contienen un número importante de grupos hidroxilo entre otros grupos funcionales, siendo capaz de unirse a proteínas y otras macromoléculas. Los taninos están presentes en hojas, frutos y cortezas. Estos compuestos complejos son parte de la protección de las plantas contra las infecciones y los herbívoros (Vermerris & Nicholson, 2008). Los taninos se clasifican en dos grupos según su estructura química: hidrolizados y condensados. Los taninos hidrolizados son los derivados del ácido gálico y los taninos condensados tienen como núcleo central un alcohol polihídrico como la glucosa y grupos hidroxilo que se encuentran esterificados parcial o completamente ya sea con el ácido gálico o el ácido hexahidroxidifénico.

1.4.9 Lignanós y ligninas

Los lignanos son compuestos fenólicos dímeros, y derivan de fenilalanina y alcoholes cinámicos presentes en varios alimentos, como granos, hortalizas y uvas (Milder, et al., 2005). Los lignanos han demostrado tener una capacidad antioxidante significativa (Sadeghi, et al., 2009).

Las Ligninas son polímeros fenólicos complejos considerados como la segunda más abundante en biopolímeros del reino vegetal después de la celulosa. La función biológica de este tipo de moléculas es proporcionar apoyo estructural en las plantas (Vermerris & Nicholson, 2008). Sus estructuras químicas son muy heterogéneas ya que están compuestas de polímeros complejos, que constituyen parte de la fibra dietética en los alimentos. Las ligninas están presentes en varios alimentos, especialmente en los cereales de

grano entero, y han demostrado una considerable capacidad antioxidante en pruebas sobre las células rojas de la sangre (Vinardell, et al., 2007).

1.4.10 Antocianos

Su estructura se caracteriza por un esqueleto básico de quince átomos de carbono ($C_6-C_3-C_6$) de tipo 2-fenil benzopirona. Son sales de flavilio (de núcleo favilio polihidroxiado y/o metoxilado) y glucósidos (están unidos por enlace glucosídico a una molécula de azúcar). Los antocianos se llaman también antocianinas y sus derivados privados del azúcar se denominan antocianidinas (o antocianidoles) (Romero Cascales, 2008).

1.5 Determinación de compuestos fenólicos

Existen diversas metodologías que se han empleado durante diferentes años para medir la concentración fenólica (Paladino, 2007), dentro de los autores más destacados se mencionan a Fuleki y Ricardo da Silva, 1997, determinaron 11 flavan-3-oles (catequina, epicatequina y 9 procianidinas diferentes) por medio de cromatografía líquida de alta presión (HPLC). En 1998, De Freitas et al, midieron estructuras derivadas de los flavan-3-oles por medio de espectrometría líquida secundaria iónica de masa (LSIMS) y cromatografía líquida de alta presión HPLC. Y finalmente en 2004, Zaporozhets et al, determinaron flavonoides totales empleando el método espectrofotométrico basado en la formación de complejos con Aluminio III. Aunque existen otros métodos para la determinación de los compuestos fenólicos, en la actualidad el más empleado es el método de Folin-Ciocalteu debido a su confiabilidad y reproductividad de resultados.

1.5.1 Método de Folin-Ciocalteu

Tiene como base la capacidad de los fenoles para reaccionar con agentes oxidantes, utilizando el reactivo de Folin-Ciocalteu, el cual contiene molibdato y tungstato sódico, que reaccionan con cualquier tipo de fenol, formando complejos fosfomolibdico-fosfotúngstico (Peterson, 1979). La transferencia de electrones a pH básico reduce los complejos fosfomolibdico-fosfotúngstico en óxidos, cromógenos de color azul intenso, de tungsteno y molibdeno, siendo proporcional este color al número de grupos hidroxilo de la molécula (Gutiérrez Avella, et al., 2008). El compuesto formado absorbe luz con una longitud de onda máxima de 765nm. Una desventaja de este método es que es inespecífico y puede verse afectado por otras moléculas reductoras no fenólicas. Algunas de estas pueden ser aminas aromáticas, dióxido de azufre, ácido ascórbico, entre otras (Rover & Brown, 2013).

1.6 Extracción de compuestos fenólicos

La extracción de los compuestos fenólicos es una operación unitaria que tiene como objetivo la separación de algún compuesto de interés a partir de un sólido o un líquido por medio de un solvente líquido. Existen dos tipos de extracción, sólido-líquido (lixiviación) y líquido-líquido.

1.6.1 Extracción sólido-líquido

La extracción sólido-líquido es una transferencia de masa que produce el desplazamiento del soluto deseado (o eliminar un soluto indeseable) de la fase sólida, ésta se pone en contacto con un disolvente líquido, ambas fases entran en contacto íntimo y el soluto o los solutos se difunden desde el sólido a la fase líquida, lo cual produce una separación de los componentes originales del sólido

(Ignat, et al., 2011). Este proceso es altamente utilizado en diferentes industrias como la metalúrgica, química, farmacéutica, alimentaria, entre otras.

El proceso de extracción se puede llevar a cabo mediante diferentes técnicas, como la agitación, soxhlet, maceración, microondas y mediante fluidos supercríticos, sin embargo, estos métodos tienen algunas desventajas como el uso de sustancias tóxicas, grandes cantidades de solventes, tiempo y algunos métodos necesitan el empleo de equipos costosos. Debido a estos factores, algunos científicos han demostrado interés por otras alternativas de métodos como es la extracción asistida por ultrasonido.

1.6.2 Variables de extracción

La eficiencia del proceso de extracción está en función de las condiciones del proceso, las cuales son la preparación del sólido, el tamaño de la partícula, la temperatura de operación, el tipo de disolvente, el tiempo de extracción, la velocidad de agitación (si es aplicable), entre otras.

1.6.2.1 Efecto de preparación del sólido y tamaño de partícula

Para un proceso de lixiviación es de suma importancia el tratamiento previo al que es sometida la muestra, debido a que siempre se debe cuidar la no degradación del compuesto de interés.

Los compuestos fenólicos que pueden ser extraídos de muestras frutales/vegetales por lo general siguen un tratamiento que consiste en el lavado y secado del sólido, para su posterior reducción de tamaño (Dai & Mumper, 2010). La trituración o molienda de las muestras sólidas permiten acelerar el proceso de extracción debido a que aumenta el área de contacto (Geankoplis, 1999).

1.6.2.2 Efecto de la temperatura y del tiempo de extracción

Unas de las condiciones de operación que afecta significativamente el proceso de extracción es el control de la temperatura, si existiera un aumento en la temperatura esta produciría un aumento en la velocidad de extracción debido a que la solubilidad sería mayor, por otro lado, la viscosidad y tensión superficial del disolvente también son parámetros en función de la temperatura (Geankoplis, 1999).

Los tiempos largos de extracción y altas temperaturas pueden provocar la oxidación de los compuestos fenólicos, lo cual disminuye el rendimiento del proceso. Es por eso que, la temperatura máxima para cada proceso está limitada por el punto de ebullición del solvente y por el punto de degradación del producto.

1.6.2.3 Efecto del disolvente

La solubilidad de los compuestos fenólicos se rige por la naturaleza química de la muestra, así como la polaridad de los disolventes utilizados.

Los materiales vegetales pueden contener compuestos fenólicos simples como son los ácidos fenólicos, hasta sustancias altamente polimerizadas como los taninos, en diferentes cantidades. Por lo tanto, las polaridades de los compuestos fenólicos varían significativamente y es difícil desarrollar un método único para la extracción óptima de todos los compuestos fenólicos.

1.7 Generalidades del ultrasonido

El ultrasonido representa una tecnología novedosa, con respecto a la extracción por método convencional, la cual ha creado interés debido los efectos obtenidos en las áreas de procesamiento y conservación de alimentos (Knorr, et al., 2004). La diferencia fundamental entre el sonido y el ultrasonido es la frecuencia de

onda, por lo que las ondas de sonido se dividen en tres categorías que abarcan diferentes rangos de frecuencias (Brijesh, 2015):

- Las ondas audibles se encuentran dentro del rango de sensibilidad del oído humano (10 Hz – 20 kHz).
- Las ondas infrasónicas tienen frecuencias por debajo del rango audible (<16 Hz).
- Las ondas ultrasónicas tienen frecuencias por encima del rango audible (>20 Hz) y por debajo de las frecuencias de microonda (hasta 10 MHz).

El ultrasonido se puede clasificar en dos grupos: baja (<1 W/cm²) y alta (10-100 W/ cm²) intensidad. Las aplicaciones de baja intensidad son aquellas que obtienen información acerca del medio de propagación sin producir ninguna modificación en su estado, mientras que en la de alta intensidad (o de potencia) la energía ultrasónica se utiliza para producir cambios permanentes en el medio de trabajo. Por ello, los ultrasonidos de potencia trabajan en aplicaciones de alta intensidad.

1.7.1 Fundamento del ultrasonido

Su fundamento está en la deformación elástica de materiales ferroeléctricos, dentro de un campo eléctrico de alta frecuencia y es causada por la atracción de las moléculas polarizadas en el campo (Raichel, 2006). La polarización de las moléculas se debe transmitir por una frecuencia alternante mediante dos electrodos hasta el material ferroeléctrico, después se obtiene la conversión a oscilación mecánica y el sonido puede ser transmitido a un amplificador para transmitirse al medio. El ultrasonido es generado por una corriente eléctrica que se transforma mediante transductores (Mason, 1998).

1.7.2 Parámetros del ultrasonido

A continuación se define brevemente los parámetros que intervienen en el ultrasonido (Ors Martínez, 1986).

- Velocidad de propagación (V), es la velocidad de propagación de la onda, es una constante determinado material en determinadas condiciones y en general solo depende de sus propiedades físicas (módulo de elasticidad y densidad), aunque puede verse afectada por variables ambientales como la temperatura y presión. Por lo cual, los materiales más densos, tienen una velocidad de propagación más rápida.
- Longitud de onda (λ), es la distancia entre dos planos en los cuales las partículas se encuentran en el mismo estado de vibración. Se determina a partir de la frecuencia y la velocidad de propagación.
- Frecuencia (f), es el número de veces que se completa un ciclo de oscilación y se mide en hercios (Hz). Un hercio equivale a un ciclo por segundo. El inverso de la frecuencia es el periodo (P), el cual determina el tiempo necesario para completar un ciclo de onda, estos parámetros son determinados por la fuente ultrasónica.
- Intensidad (I), se define como la cantidad de energía que se propaga por unidad de tiempo a través de una unidad de superficie colocada perpendicularmente a la dirección de propagación de la onda. También se puede definir como la potencia por unidad de superficie.
- Amplitud(A), representa la altura de una onda y comúnmente es medida en pascals (Pa). La amplitud tiene un efecto sobre la formación e implosión de las burbujas de cavitación.

- Atenuación, es la reducción de nivel de una señal, cuando pasa a través de un elemento de un circuito, o la reducción en nivel de la energía de vibración, cuando pasa a través de una estructura. La atenuación se mide en Decibelios (dB), pero también se puede medir en porcentajes. Por lo general, la atenuación depende de la frecuencia, eso es la cantidad de atenuación varía en función de la frecuencia. El principal mecanismo de la atenuación de la onda es la absorción, que retiene y convierte en calor a la energía.

1.7.3 Efectos del ultrasonido

Su efecto está asociado a los fenómenos complejos de cavitación gaseosa, los cuales explican la generación y evolución de microburbujas en un medio líquido. La cavitación se produce en aquellas regiones de un líquido que se encuentran sometidas a presiones de alta intensidad que alternan rápidamente. Durante la mitad negativa del ciclo de presión, el líquido se encuentra sometido a un esfuerzo tensional y durante la mitad positiva del ciclo experimenta una compresión. El resultado es la formación ininterrumpida de microburbujas cuyo tamaño aumenta miles de veces en la alternancia de los ciclos de presión. Las microburbujas que alcanza un tamaño crítico implosionan o colapsan violentamente para volver a su tamaño original. La implosión supone la liberación de toda la energía acumulada, ocasionando incrementos de temperatura instantáneos, que se disipan sin que supongan una elevación sustancial de la temperatura del líquido tratado. Sin embargo, la energía liberada, así como el choque mecánico asociadas al fenómeno de implosión, afectan la estructura de las células situadas en el microentorno. Dependiendo de la frecuencia y longitud de onda empleadas, se pueden generar diferentes cambios físicos, químicos y biológicos (Herrero & Romero de Avila, 2006).

1.8 Extracción asistida por ultrasonido

Se ha investigado que este método emplea menos solventes y energía, por lo cual está considerado como un método “verde” (amigable con el medio ambiente). Se fundamenta en la aceleración de la transferencia de masa y calor, de manera que interaccionan con el material alterando sus propiedades físicas y químicas y el efecto de cavitación favorece la liberación de los compuestos a extraer y mejorar el transporte de masa debido al rompimiento de la pared celular. Sin embargo, el uso del ultrasonido como tecnología asistente se ha reportado como más ventajosa que el empleo de procesos como la extracción con fluidos supercríticos, microondas y extracción acelerada con solventes (Robles Ozuna & Ochoa Martínez, 2012).

1.9 Transferencia de masa

En el proceso de extracción se presentan diversos fenómenos, como es la transferencia de masa. McCabe (2007) define como transferencia de masa como la transferencia de materia desde una fase homogénea a otra. Contrariamente a las separaciones puramente mecánicas, esta utiliza las diferencias en la presión de vapor, solubilidad, o difusividad y no en el tamaño o la densidad de las partículas. La fuerza impulsora para la transferencia es una diferencia de concentración o una diferencia en actividad, de la misma forma que una diferencia de temperatura o un gradiente de temperatura constituye la fuerza impulsora para la transferencia de calor. La velocidad de transferencia de masa se puede describir a través de diferentes leyes y mecanismos, así como mediante una gran variedad de modelos. Uno de los modelos más empleados es el modelo empírico y aparente descrito en la Ec. 1.

$$\frac{dC_{ct}}{dt} = k(C_{eq} - C_{ct})^n$$

Ec. 1

donde C_{ct} es la concentración total, t es tiempo, k es la constante de velocidad de extracción, n es el orden de la extracción y C_{eq} es la concentración en el equilibrio. Con un enfoque de ingeniería es de suma importancia el empleo de herramientas matemáticas para la modelación de un proceso de extracción, debido a que este aporta información importante, permitiendo el diseño, la optimización y el control del proceso.

La extracción sólido-líquido es una transferencia de masa, en donde el soluto es extraíble por dos fases de contacto (Rodríguez-Jimenes, et al., 2012):

- Refinado: Medio sólido homogéneo, conocido como matriz extraíble.
- Extracto: medio líquido homogéneo, donde se encuentra el solvente con el material extraído.

La transferencia de masa durante el proceso de extracción, involucra varias fases, como se puede observar en la figura 1.9.

- El solvente se transfiere desde la fase líquida a la superficie del sólido.
- El solvente penetra o se difunde en el sólido.
- El soluto se disuelve desde el sólido al solvente (cinética de extracción).
- El soluto se difunde a través de la mezcla a la superficie del sólido.
- El soluto se transfiere de la superficie del sólido a la solución líquida.

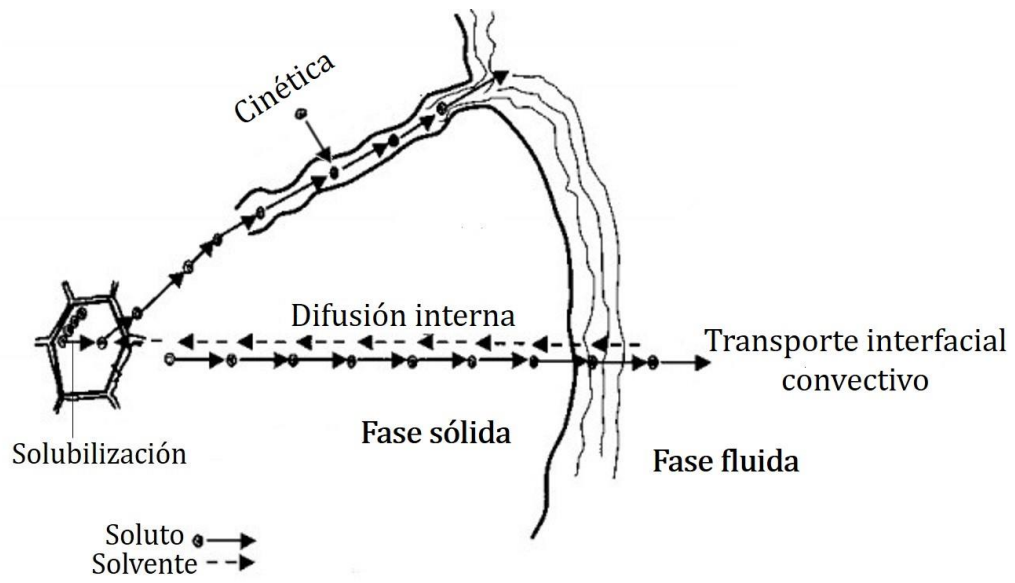


Figura1.9. Esquema del proceso de extracción sólido-líquido (Tzia & Liadakis, 2003).

CAPITULO 2. METODOLOGÍA

2.1 Preparación de la materia prima

El orujo de la uva (*Vitis vinífera* L.) fue obtenida de un residuo del proceso de vinificación. La muestra se secó a $30\pm 1^{\circ}\text{C}$ (con el fin de evitar la degradación y pérdida de los compuestos de interés), el secado se realizó por 24 horas hasta eliminar el agua contenida en la muestra, alcanzando su peso constante. Posteriormente, la muestra fue pulverizada con ayuda de un molino de cuchillas y molida en un mortero, homogenizando el tamaño de partícula con un tamiz de $250\ \mu\text{m}$, finalmente la muestra se almacena en oscuridad en frascos color ámbar y a temperatura ambiente hasta su respectivo uso en los procesos de extracción.

2.2 Reactivos

Para los métodos de cuantificación de ambos métodos de extracción se utilizó como disolvente el etanol ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$), reactivo Folin–Ciocalteu, ácido gálico, carbonato de sodio (Na_2CO_3), persulfato de potasio ($\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$), ABTS (2,2-azinobis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfonato), Trolox (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-ácido carboxílico) y FRAP (ácido acético glacial), FeCl_3 (cloruro férrico), $\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2$, TPTZ (2,4,6-tri(2-pyridyl)-5-triazina, HCL).

2.3 Procesos de extracción

La extracción de compuestos fenólicos se realizó mediante dos metodologías distintas, convencional por agitación (propela con tres aspas) y asistida con ultrasonido de alta frecuencia, para las cuales se emplearon los mismos tiempos de extracción (2, 4, 6, 8, 10, 20 y 40 minutos). La disolución que se empleó fue de 50% de etanol y 50% de agua (v/v), para cada extracción y se pesaron 5 g de la muestra y se colocaron en 100 mL de disolución.

2.3.1 Método de extracción convencional

Se preparó la mezcla para introducirla en vaso de precipitado de 500 ml, el cual fue envuelto en papel aluminio para llevar el proceso en oscuridad, se sometió al proceso de extracción convencional por agitación (Agitador compacto BDC2010, Caframo, Canadá) con ayuda de un baño de agua, para poder controlar su temperatura ($25\pm 1^{\circ}\text{C}$). Posteriormente se llevó a cabo el proceso de centrifugación (Centrífuga UNIVERSAL 320R, HettichLab, Alemania) a 4000 rpm en un tiempo de 15 minutos a una temperatura de $4\pm 1^{\circ}\text{C}$. Finalmente el extracto fue almacenado en refrigeración y oscuridad hasta su respectivo análisis.

2.3.2 Método de extracción asistida por ultrasonido

Para el proceso con ultrasonido, se utilizó el equipo de ultrasonido (ultrasonic processor GEX500, Sonics, Estados Unidos) con ayuda de una sonda de 37 kHz de frecuencia (modelo CV334), trabajando con su máxima potencia de 100%. Para este método se empleó un baño de recirculación con ayuda del etilenglicol ($\text{C}_2\text{H}_6\text{O}_2$) como refrigerante, el cual mantuvo su temperatura constante ($25\pm 1^{\circ}\text{C}$) durante todo el proceso de extracción. Para el proceso de centrifugación se emplearon las mismas condiciones mencionadas en el proceso de extracción convencional y posteriormente el extracto fue almacenado en refrigeración y oscuridad hasta su respectivo análisis.

2.4 Cuantificación de compuestos fenólicos totales (CFT)

La cuantificación de compuestos fenólicos se realizó por el método colorimétrico Folin-Ciocalteu descrito por bibliografía (Gao, et al., 2009).

En un tubo de ensaye forrado con papel aluminio se mezclaron 100 μL de extracto con 200 μL de reactivo Folin y 2 mL de agua destilada. Esta mezcla se incubo en un tubo de ensayo durante 3 minutos a temperatura ambiente,

posteriormente se agregó 1 mL de carbonato de sodio al 20%, se dejó encubar por una hora a temperatura ambiente, finalmente la absorbancia fue leída con ayuda de un espectrofotómetro (6405 UV/Vis, Jenway, Inglaterra) con un pico de absorbancia de 765 nm. La cuantificación de compuestos fenólicos totales se realizó utilizando una curva de concentración de ácido gálico (AG) y los resultados finales fueron expresados como mg de ácido gálico/mg de muestra seca (m.s.). Todos los análisis fueron analizados por triplicado.

2.5 Determinación de la actividad antioxidante (AA)

Para la AA se utilizaron 2 métodos: el método ABTS y el método FRAP descritos en las secciones 2.5.1 y 2.5.2, respectivamente.

2.5.1 Método ABTS

Este método está descrito por varios autores (Butkhup et al, 2013; Fu et al, 2011; Villa Rodríguez et al, 2011). Como primer paso, se preparó ABTS (7 mM) diluyéndolo en agua destilada para poder formar el radical ABTS mezclándolo con persulfato de potasio (2.45 mM), una vez preparado el radical, se incubó durante 24 horas a temperatura ambiente y en oscuridad para que pudiera reaccionar químicamente. Para su uso, el radical ABTS fue diluido hasta obtener una absorbancia de 0.7 ± 0.005 en un pico de lectura de 734 nm. Finalmente, las muestras fueron leídas en el mismo rango de lectura, añadiendo 100 μ L de extracto y 900 μ L del radical ABTS. Todos los análisis se realizaron por triplicado y sus resultados fueron expresados en mg de Trolox/100 g m.s. con ayuda de su curva de calibración.

2.5.2 Método FRAP

La metodología que se siguió para determinar la actividad antioxidante por el método FRAP ha sido descrita por Thaipong et al (2006). Inicialmente se preparó el radical FRAP, el cual consiste en elaborar tres reactivos, el primero fue acetato de sodio anhidro (0.3 M), para el cual se pesó 0.310 g de acetato de sodio en 80 mL de agua destilada, a esta mezcla se le ajustó el pH entre 3.6 y 3.7 con la ayuda del ácido acético y se enrazó a 100 mL. El segundo reactivo elaborado fue el TPTZ, se preparó una solución de HCl (40 mM), tomando 332.9 μL de HCl al 37% aforando con agua destilada en un matraz aforado de 100 mL, esta solución fue mezclada con 0.312 g de TPTZ en un matraz de 100 mL. Por último, se preparó el reactivo FeCl_3 (cloruro férrico), para ello, se pesaron 0.5433 g de FeCl_3 y se aforo con agua destilada en un matraz aforado de 100 mL.

Cuando los tres reactivos fueron preparados, se mezclaron en la misma proporción y en el orden mencionado con anterioridad. Después de obtener el radical, en un tubo de ensaye se añadieron 30 μL de agua destilada, 30 μL de extracto de la muestra y 900 μL del reactivo FRAP. El tubo con la mezcla de los tres reactivos fue sometido a un baño maría con agua a $37 \pm 1^\circ\text{C}$ durante 30 minutos. Finalmente, las muestras fueron leídas a un pico de absorbancia de 595 nm. De la misma forma que los otros métodos, su análisis se realizó por triplicado, los resultados fueron expresados en mg de Trolox/ 100 g m.s.

2.6 Modelación.

Para el modelo matemático se empleó la ley de velocidad utilizando un orden de extracción de primer y segundo orden.

Cuando el orden de extracción es de primer orden, es decir $n = 1$ se utiliza la Ec.

2

$$\frac{dC_{ct}}{dt} = k(C_{eq} - C_{ct})$$

Ec.2

Por otra parte, cuando su orden de extracción es $n = 2$, la ecuación a utilizar es la siguiente:

$$\frac{dC_{Ct}}{dt} = k(C_{eq} - C_{Ct})^2 \quad \text{Ec. 3}$$

donde C_{Ct} es la concentración total, t es tiempo, k es la constante de velocidad de extracción y C_{eq} es la concentración en el equilibrio. Para poder graficar los datos obtenidos experimentalmente con el uso de la Ec. 2 y Ec. 3 es necesario la linealización de las ecuaciones, quedando:

Primer orden: $\ln(C_{eq} - C_{Ct}) = k * t + \ln(C_{eq})$ Ec. 4

Segundo orden: $\frac{t}{C_{Ct}} = \frac{t}{C_{eq}} + \frac{1}{C_{eq}^2 * k}$ Ec. 5

Posteriormente con los gráficos obtenidos con las Ec. 4 y Ec. 5, se determinó el coeficiente de correlación el cual ayudo a determinar qué modelo matemático se ajustó más a los datos obtenidos.

CAPITULO 3. RESULTADOS Y DISCUSIONES

3.1 Contenido fenólico total

La Figura 3.1 muestra los resultados obtenidos para el proceso de extracción de los compuestos fenólicos totales aplicado en las dos técnicas de extracción, la cual fue detallada con anterioridad en la sección de metodología, para los diferentes tiempos (2, 4, 6, 8, 10, 20 y 40 minutos), utilizando etanol al 50% (v/v) como disolvente.

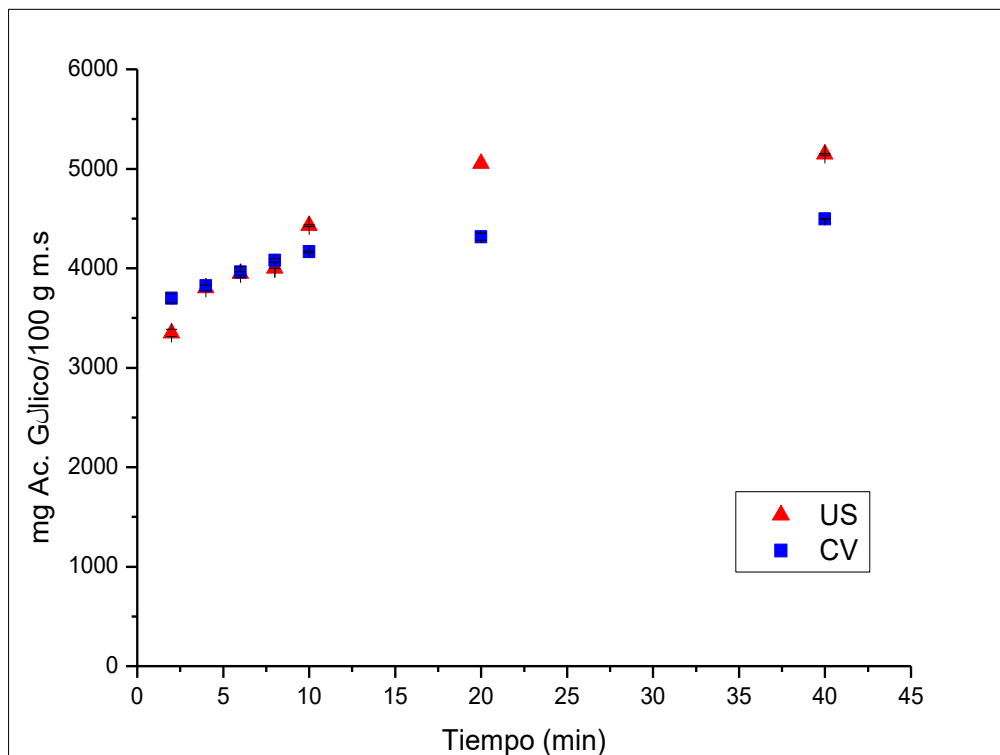


Figura 3.1. Cuantificación de compuestos fenólicos obtenidos con el método de Folin.

Se puede observar que el contenido fenólico total fue aumentando a lo largo del proceso, para el método convencional se obtuvieron valores de 3698.5 mg de Ac. Gálico/100 g m.s hasta 4494.6 mg de Ac. Gálico/100 g m.s en el tiempo de 40 minutos, por otra parte, para el método asistido con ultrasonido con una potencia

del 100% se obtuvieron valores de 3349.9 mg de Ac. Gálico/100 g m.s para el tiempo en 2 minutos hasta 5145.8 mg de Ac. Gálico/100 g m.s en 40 minutos. Analizando el grafico también se puede observar que el método que emplea el ultrasonido permite extraer mayor cantidad de compuestos fenólicos en comparación al método convencional en los mismos tiempos, debido a que la extracción asistida con ultrasonido se obtienen rendimientos más altos en pequeños periodos de tiempo.

Lo anterior se debe al efecto de la cavitación que se generó con el uso del ultrasonido de potencia, acelerando la transferencia de masa, es decir, con el rompimiento de la pared celular y el agrandamiento de los poros se favoreció la entrada del solvente dando como resultado una acelerada liberación de los compuestos a extraer (Shirsath, et al., 2012).

Si se comparan los valores obtenidos de los compuestos fenólicos con estudios previamente publicados, se puede analizar que los comportamientos en los procesos son similares, por ejemplo, Da Porto, et al. (2013), reportaron que el uso del ultrasonido tenía efectos significativos y favorables sobre el rendimiento de extracción en el aceite de la uva.

De igual manera, Khan, et al. (2010) estudiaron el efecto del ultrasonido en comparación al método convencional en la extracción de los compuestos fenólicos en la cascara de naranja (*Citrus sinensis* L.), en donde se obtuvo una mayor eficiencia en el tiempo de 15 minutos, en comparación al obtenido en el minuto 60, esto se debe a que en algunos procesos al extender los tiempos de operación se llega a la degradación y destrucción estructural del compuesto de interés, provocando la reducción del rendimiento del proceso de extracción (Al-Dhabi, et al., 2017).

3.2 Capacidad antioxidante

En la actualidad se ha recomendado la evaluación de la capacidad antioxidante de los extractos a partir de 2 o más métodos *in vitro*, aunque todos los métodos presentan una excelente estabilidad en condiciones adecuadas de operación, estos interactúan de manera diferente con la eliminación de los radicales libres (Gülçin, 2012), esto significa que no es viable utilizar solo un método que cuantifique la capacidad antioxidante de la sustancia.

La Figura 3.2.A muestra los resultados obtenidos para la cuantificación de la capacidad antioxidante mediante el método FRAP, para los diferentes tiempos de extracción (2, 4, 6, 8, 10, 20 y 40 minutos), utilizando etanol al 50% (v/v) como disolvente.

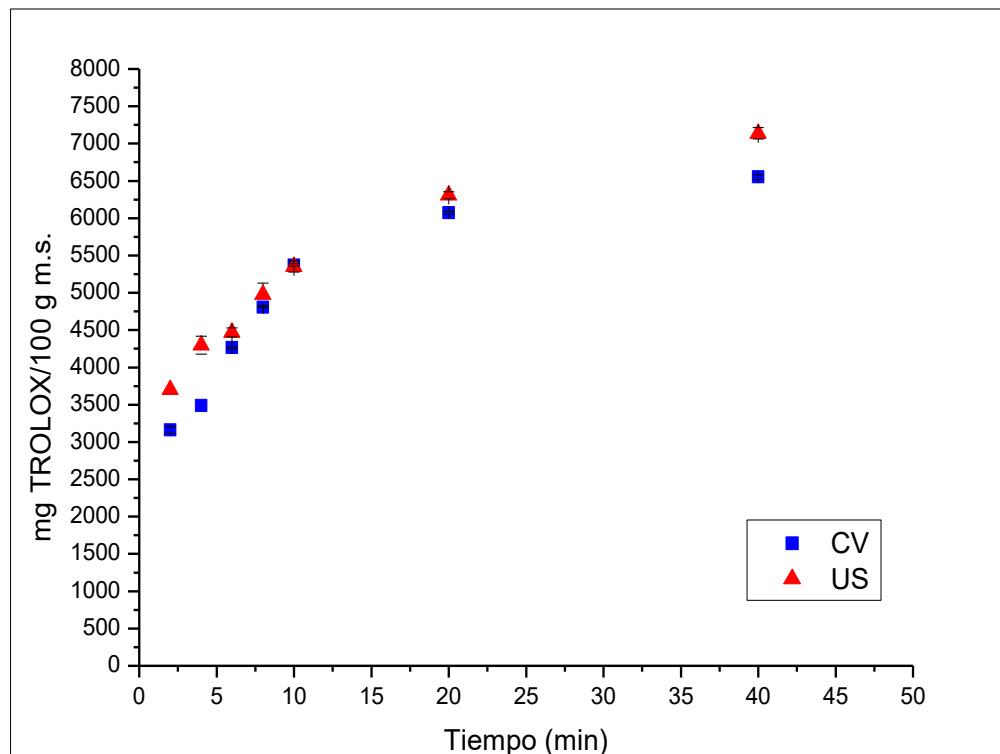


Figura 3.2.A Cuantificación de la capacidad antioxidante mediante el método FRAP

Observando la Figura 3.2.A se puede determinar que la cantidad de antioxidantes incrementa con respecto al tiempo. Para el método convencional se obtuvo el valor mínimo en el tiempo de 2 minutos el cual fue de 3159.4 mg TROLOX/100 g m.s. mientras que el método asistido con ultrasonido se obtuvo un valor de 3702.0 mg TROLOX/100 g m.s, los valores máximos en ambos métodos se encontró en el minuto 40, para convencional fue de 6553.0 mg TROLOX/100 g m.s y con ultrasonido fue de 7138.0 mg TROLOX/100 g m.s.

Por otra parte, como se muestra en la Figura 3.2.B se obtuvieron la cantidad de antioxidante con el método ABTS, al igual que en el método FRAP, los valores mínimos se obtienen en el tiempo de 2 minutos, mientras que los máximos se encontraron en el minuto 40, para el método convencional su intervalo de datos fue de 40.9 mg TROLOX/100 g m.s hasta 207.3 mg TROLOX/100 g m.s., y en el método de ultrasonido de 51.3 mg TROLOX/100 g m.s. hasta 209.4 mg TROLOX/100 g m.s.

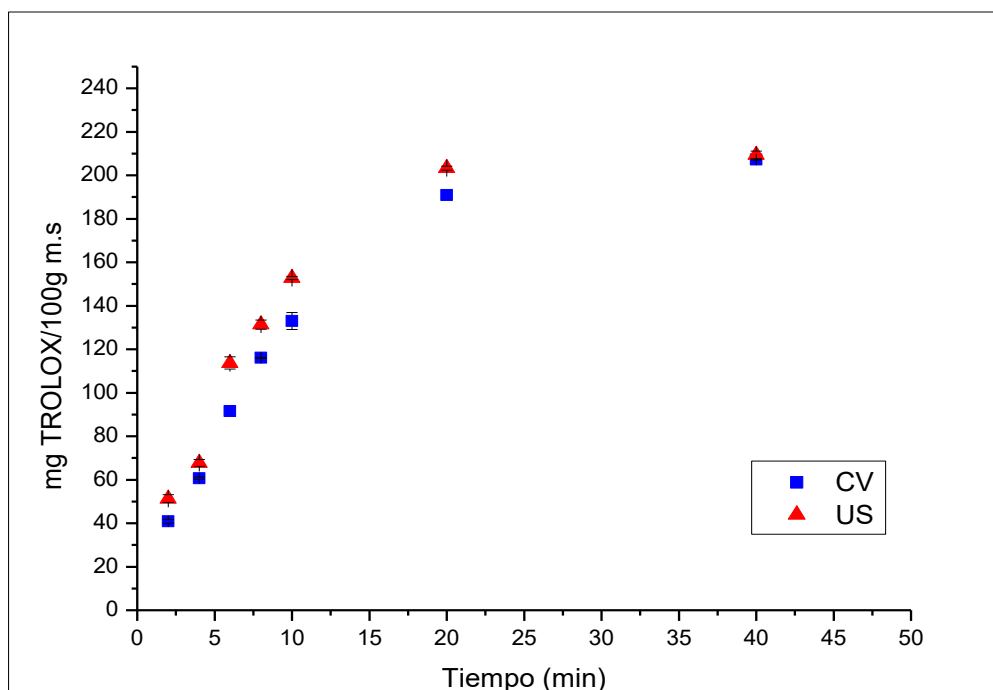


Figura 3.2.B Cuantificación de la capacidad antioxidante mediante el método ABTS

Comparando los dos métodos de cuantificación, se puede observar que el rango entre ambas técnicas es diferente, esto se debe a que el método ABTS se adapta fácilmente para la medición de antioxidantes selectivamente hidrófilos y lipófilos (Prior, et al., 2005). Este método también muestra una dependencia con la concentración de compuestos bioactivos y del tiempo en que se realiza la reacción (Miller, et al., 1993), otro factor que interviene, es el mecanismo de reacción, el cual puede cambiar con el pH, facilitando la transferencia en pH ácidos (Lemanska, et al., 2001). Por otra parte, el método FRAP, posee poca relación en la reducción de hierro con los procesos de enfriamiento radical (transferencia de H), los cuales son mediados por la mayoría de los antioxidantes (Ou, et al., 2002), ya que en realidad FRAP mide la capacidad reductora basada en el ion férrico, el cual no es relevante para la actividad antioxidante de forma mecánica y fisiológica, a menudo, los valores de FRAP tienen una mala relación con los otros métodos para cuantificar los antioxidantes (Prior, et al., 2005).

González-Centeno, et al. (2015), presento resultados por ambas técnicas de cuantificación (FRAP y ABTS), en los cuales se puede observar que la extracción asistida con ultrasonido en el orujo de la uva obtuvo una mayor cantidad de antioxidantes en comparación con el método convencional, lo que confirma las ventajas del uso del ultrasonido para mayor transferencia de masa en periodo de tiempo pequeños. En las figuras 3.2.A y 3.2.B se puede observar comportamientos similares reportados por Mazza, et al. (2019), en la extracción asistida con ultrasonido en la piel de la uva.

3.3 Modelo cinético

El estudio de la cinética de extracción sólido-líquido, brinda una idea del comportamiento del proceso, el cual puede ser modelado a través de modelos matemáticos que se ajustan al proceso, ayudando al diseño, optimización y control en el proceso de extracción, ya que ofrece un panorama de las variables que afectan directamente el proceso (Spigno, et al., 2007).

La Tabla 3.3 reporta los parámetros cinéticos obtenidos y su coeficiente de correlación (R^2) para las técnicas de extracción convencional y asistida por ultrasonido, ajustándolas a un modelo cinético de primer y segundo orden.

	Primer orden		Segundo orden		
	Convencional	EAU	Convencional	EAU	
k (min^{-1})	0.0667	0.0799	k ($Lg^{-1} min^{-1}$)	0.0002285	0.0004949
R^2	0.9521	0.9906	R^2	0.9983	0.9997

Tabla 3.3 Constante cinética de extracción y coeficiente de correlación de Pearson para el modelo cinético de primer y segundo orden en convencional y EAU.

Al observar la Tabla 3.3, se muestra un adecuado ajuste de los datos obtenidos experimentalmente cuando el modelo cinético es de segundo orden, debido a que en ambos métodos el coeficiente de correlación es mayor a 0.99.

Las constantes cinéticas obtenidas en este trabajo para el modelo cinético de segundo orden son de $0.0002285 Lg^{-1}min^{-1}$ para el método convencional y $0.0004949 Lg^{-1}min^{-1}$ para la extracción asistida por ultrasonido, estos valores son similares a los reportados por Da Porto and Natolino (2018), los cuales van de los $0.000218 Lg^{-1}min^{-1}$ hasta $0.0002392 Lg^{-1}min^{-1}$ para el método convencional y de $0.000189 Lg^{-1}min^{-1}$ hasta $0.000241 Lg^{-1}min^{-1}$, en su trabajo existe estos dos rangos de valores debido a que ellos varían la relación de concentración de los residuos florales de azafrán, otro trabajo que demuestra valores similares en las constantes cinéticas es el de Sepidar et al. (2009), ellos trabajaron con el aceite de semilla de *Jatropha*, los valores que obtuvieron fueron de $0.00042 Lg^{-1}min^{-1}$ para el método convencional y de $0.00051 Lg^{-1}min^{-1}$ con ultrasonido.

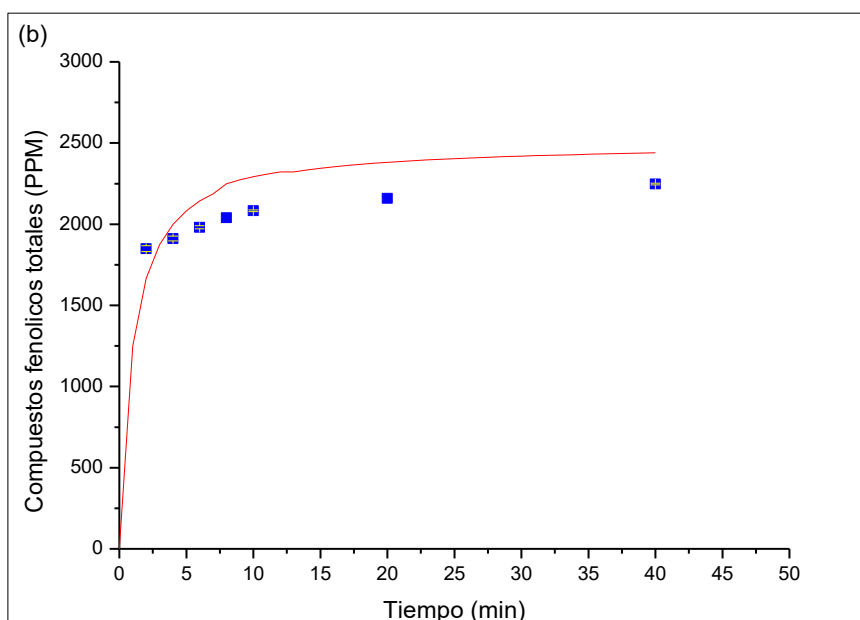
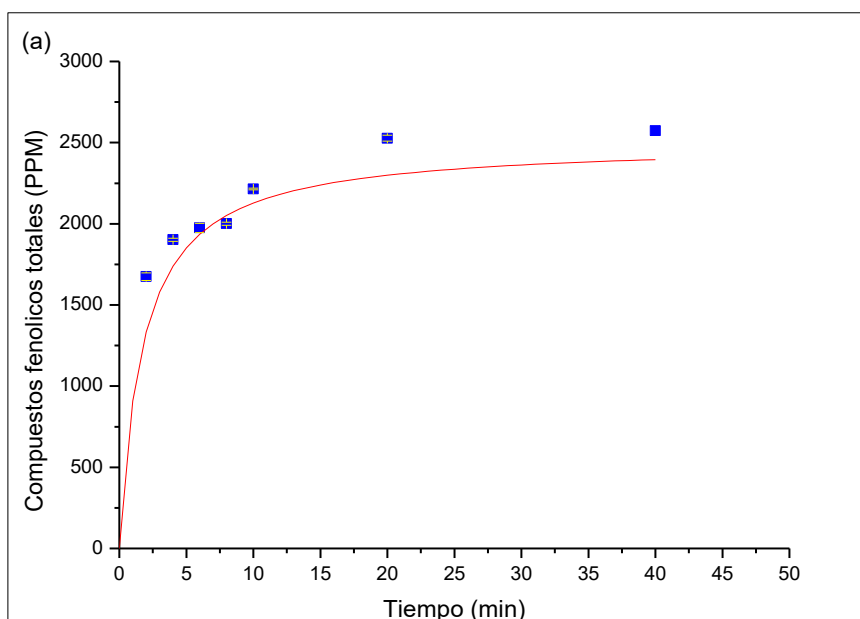


Figura 3.3 Cinética de extracción experimental (símbolo) y modelada (línea) de compuestos fenólicos totales para el método asistido con ultrasonido (a) y convencional (b)

La Figura 3.3 muestra la cinética de extracción de ambas técnicas ajustadas al modelo pseudo-segundo orden, en donde se puede observar un mayor

rendimiento de extracción en el método con ultrasonido al convencional, esto es debido el ultrasonido provoca cambios en la estructura celular, generando una acelerada penetración del solvente a la matriz de la muestra, mejorando la eficiencia de extracción (Brijesh, 2015).

Un modelo matemático que permite describir el comportamiento del proceso, es modelo cinético de segundo orden, el cual se utiliza para estudiar los procesos de extracción asistida con ultrasonido de alta intensidad bajo diferentes condiciones y parámetros de operación del proceso, como el tamaño de la partícula, la temperatura, el tiempo, la relación del disolvente y la amplitud de onda del ultrasonido (Lazar, et al., 2016).

El presente trabajo brinda la comparación entre el método convencional y asistido por ultrasonido, demostrando que el uso del ultrasonido de alta intensidad podría ser empleado exitosamente en el sector industrial para la extracción de compuestos fenólicos a partir de la uva Syrah (*Vitis Vinifera L.*).

CONCLUSIONES

Con base en los resultados obtenidos en el presente trabajo de investigación, se puede concluir lo siguiente:

- La extracción de compuestos fenólicos asistido con ultrasonido de alta intensidad demostró ser el método más efectivo, debido a que se pudo observar mejores rendimientos en comparación del método convencional.
- En la cuantificación de los compuestos fenólicos se puede analizar que a partir del minuto 10 el método con ultrasonido mostro mejor extracción, esto se debe que a partir de ese tiempo el proceso de cavitación sonificación agilizo la transferencia de masa.
- La capacidad antioxidante de los compuestos fenólicos extraídos mediante dos métodos diferentes (FRAP y ABTS), permitieron identificar que, aunque ambas técnicas cuantifican de manera diferente su capacidad, el método con ultrasonido obtuvo valores más altos, es decir, el ultrasonido permite obtener compuestos fenólicos con mayor calidad.
- Con respecto a la validación del modelo cinético de extracción de segundo orden, se puede concluir que el modelo resulto confiable y adecuado al proceso, ya que el ajuste obtenido con los datos experimentales fue de 0.9983 para el método convencional y 0.9997 con ultrasonido, a diferencia del modelo cinético de primer orden.
- La extracción de compuestos fenólicos asistida con ultrasonido de alta frecuencia a partir de uva Syrah (*Vitis vinífera L.*) demostró ser un proceso factible, el cual puede ser llevado a nivel industrial, permitiendo una mayor rentabilidad para el ahorro de tiempo, dinero, energía y amabilidad con el medio ambiente.

BIBLIOGRAFÍA

- Al-Dhabi, N. A., Ponmurugan, K. & Jeganathan, P. M., 2017. Development and validation of ultrasound-assisted solid-liquid extraction of phenolic compounds from waste spent coffee grounds. *Ultrasonics sonochemistry*, Volume 34, pp. 206-213.
- Anderson, W. R., 1982. An Integrated System of Classification of flowering Plants. *Brittonia*, 34(2), pp. 268-270.
- Aplicaps, 2015. *La importancia de los antioxidantes para la salud*. Madrid(Arganda del Rey): s.n.
- Arnao, M. B., 2000. Some methodological problems in the determination of antioxidant activity using chromogen radicals: a practical case.. *Food Science and Technology*, Volume 11, pp. 419-421.
- Athanasia, M. G., 2013. Ultrasound assisted extraction of pomegranate seed oil Kinetic modeling. *Food Engineering*, 117(4), pp. 492-498.
- Avello, M. & Suwalsky, M., 2006. Radicales libres, antioxidantes naturales y mecanismos de protección. *Antenea*, 2(494), pp. 161-172.
- Babaoglu, M., Davey, M., Power, J. & Wink, M., 2004. Transformed roots of *Lupinus mutabilis*: Induction, culture and isoflavone biosynthesis. *Tissue and Organ Culture*, Volume 78, pp. 29-36.
- Brijesh, K. T., 2015. Ultrasound: A clean, green extraction technology. *Trends in Analytical Chemistry*, Volume 71, pp. 100-109.
- Butkhup, L., Samappito, W. & Samappito, S., 2013. Phenolic composition and antioxidant activity of white mulberry (*Morus alba* L.) fruits.. *International Journal of Food Science & Technology*, 48(5), pp. 934-940.
- Cantú-González, R. N. et al., 2012. Naftoquinonas: de simples pigmentos a moléculas terapéuticas.. *Biológicas*, 14(2), pp. 48-56.
- Clifford, M. & Scalbert, A., 2000. Ellagitannins - nature, occurrence and dietary burden. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, Volume 80, pp. 1118-1125.
- Da Porto, C., Porretto, E. & Decorti, D., 2013. Comparison of ultrasound-assisted extraction with conventional extraction methods of oil and polyphenols from grape (*Vitis vinifera* L.) seeds.. *Ultrasonics sonochemistry*, 20(4), pp. 1076-1080.
- Dai, J. & Mumper, R. J., 2010. Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules*, 15(10), pp. 7313-7352.
- Dua, V., Verma, G. & Dash, A. P., 2009. In vitro antiprotozoal activity of some xanthenes isolated from the roots of *Andrographis paniculata*. *Phytotherapy Research*, Volume 23, pp. 126-128.
- Dziedzic, S. & Hudson, B., 1984. Phenolic acids and related compounds as antioxidants for edible oils. *Food Chemistry*, Volume 14, pp. 45-51.
- EROSKI, C., 2017. Uva. *Guía práctica de frutas*.

- Ferguson, L., S., Z. & Harris, P., 2005. Antioxidant and antigenotoxic effects of plant cell wall hydroxycinnamic acids in cultured HT-29 cell.. *Molecular Nutrition and Food Research*., Volume 49, pp. 585-693.
- Finkel, T. & Holbrook, N., 2000. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. *Nature*, Issue 408, pp. 239-247.
- Fu, L. et al., 2011. Antioxidant capacities and total phenolic contents of 62 fruits. *Food Chemistry*, 129(2), pp. 345-350.
- Gao, Y. et al., 2009. Super critical CO2 extraction of lutein esters from marigold (*Tagetes erecta* L.) enhanced by ultrasound. *The Journal of Super critical Fluids*, 49(3), pp. 345-350.
- García, A. J., 2004. Evaluación nutricional y estado oxidante de un grupo de ancianos institucionalizados de Murcia. *Arch. Latinoam. Nutr*, 54(2), pp. 180-188.
- Geankoplis, C. J., 1999. *Procesos de transporte y operaciones unitarias*. s.l.:Cecsa.
- Gimeno Creus, E., 2004. Compuestos fenólicos: Un análisis de sus beneficios para la salud. *OFFARM*, 23(6), pp. 80-84.
- González-Centeno, M. R. et al., 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*, Volume 22, pp. 506-514.
- Gülçin, I., 2012. Antioxidant activity of food constituents: an overview. *Archives of Toxicology*, Volume 86, pp. 345-391.
- Gutiérrez Avella, D. M., Ortiz García, C. A. & Mendoza Cisneros, A., 2008. Medición de Fenoles y Actividad Antioxidante en Malezas Usadas para. *Simposio de Metrología*.
- Herrero, A. M. & Romero de Avila, M. D., 2006. Innovaciones en el proceso de alimentos: Tecnologías no térmicas. *Revista de medicina*, 50(4), pp. 71-74.
- Hidalgo Filipovich, D. R. et al., 2016. Propiedades medicinales de la semilla de uva. *Revista de Investigación e Información en Salud*, 11(26), pp. 53-57.
- Hollman, P. & Arts, C., 2000. Flavonols, flavones and flavanols—nature, occurrence and dietary burden. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, Volume 80, pp. 1081-1093.
- Hoult, J. & Payá, M., 1996. Pharmacological and biochemical actions of simple coumarins: natural products with therapeutic potential. *General Pharmacology*, Volume 27, pp. 73-722.
- Ignat, I., Volf, I. & Popa, V. I., 2011. A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. *Food Chemistry*, 126(4), pp. 1821-1835.
- Janicke, B., Önning, G. & Oredsson, S., 2005. Differential effects of ferulic acid and p-coumaric acid on S phase distribution and length of S phase in the human colonic cell line Caco-2.. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Volume 55, pp. 6658-6665.

- Kähkönen, M., Anu, I. C. & Marina, H., 2001. Berry phenolics and their Antioxidant activity. *J. Agric. Food Chem*, Volume 49, pp. 4076-4082.
- Kahkonen, M. P. et al., 1999. Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds.. *Food Chemistry*, Volume 47, pp. 3954-3962.
- Khan, M. K. et al., 2010. Ultrasound-assisted extraction of polyphenols (flavanone glycosides) from orange (*Citrus sinensis* L.) peel. *Food Chemistry*, 119(2), pp. 851-858.
- Knorr, D., Zenker, M., Heinz, V. & Lee, D., 2004. Applications and potential of ultrasonic in food processing. *Food Science & Technol*, Volume 15, pp. 261-266.
- Kuskoski, E. M. et al., 2005. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. *Food Science and Technology*, 25(4), pp. 726-732.
- Lazar, L., Talmaciu, A., Volf, I. & Popa, V., 2016. Kinetic modeling of the ultrasound-assisted extractio of polyphenols from picea abies bark. *Ultrasonics sonochemistry*, Volume 32, pp. 191-197.
- Lemanska, K. et al., 2001. The influence of pH on the antioxidant properties and the mechanisms of antioxidant action of hydroxyflavones. *Free Radical Biol.*, Volume 31, pp. 869-881.
- Li, S. R. et al., 2007. New syntheses of dalbergichromene and dalbergin from vanillin via neoflavene intermediate. *Tetrahedron Letters*, Volume 48, pp. 2139-2141.
- Londoño Londoño, J., 2012. Antioxidants: biological relevance and methods to measure their activity. *GRIAL*, pp. 129-162.
- Lui, C. L. et al., 2002. In vivo protective effect of protocatechuic acid on tertbutylhydroperoxide-induced rat hepatotoxicity. *Food Chemistry and Toxicology*, Volume 40, pp. 63-641.
- Mason, T., 1998. *Power ultrasound in food processing*. Londres: Blackie Academic & Professional.
- Mazza, K. E. et al., 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), pp. 641-650.
- Milder, I. et al., 2005. Lignan contents of Dutch plant foods: a database including lariciresinol, pinoresinol, secoisolariciresinol and matairesinol. *British Journal of Nutrition*, Volume 93, pp. 393-402.
- Miller, N. et al., 1993. A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. *Clinical science*, 84(4), pp. 407-412.
- Molina Quijada, D. M. et al., 2010. Phenolic compounds and antioxidant activity of table grape (*Vitis vinifera* L.) skin from northwest Mexico. *CyTA-Journal of food*, 8(1), pp. 57-63.
- Moreno, J. & Peinado, R., 2012. *Enological chemistry*. s.l.:Academic Press.

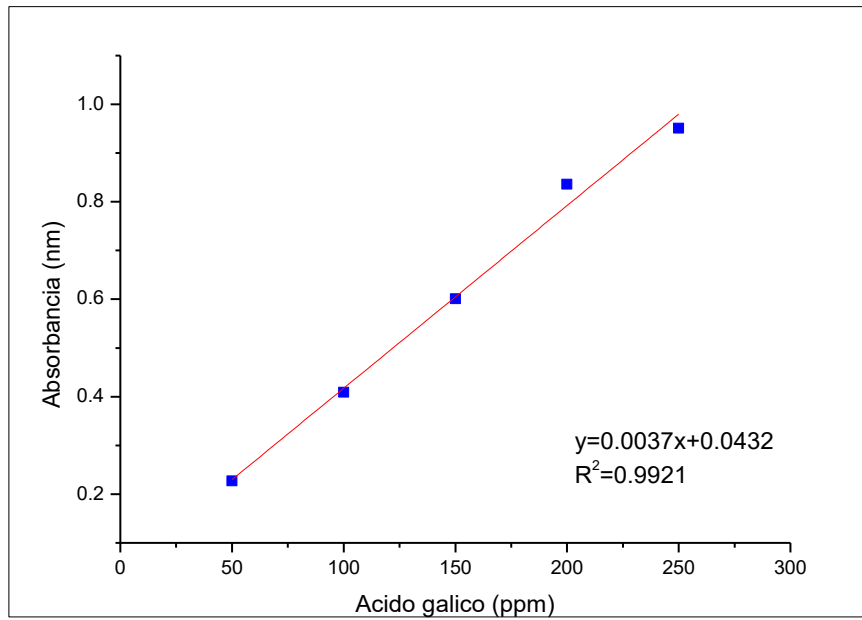
- Nenadis, N., Wang, L. F. & Tsimidou, M. Z. H. Y., 2004. Estimation of scavenging activity of phenolic compounds using the abts+ assay.. *Journal of agricultural and food chemistry*, 52(15), pp. 4669-4674.
- Ors Martínez, J., 1986. *Aplicación de métodos por ultrasonidos en los ensayos de materiales metálicos*. s.l.:CENIM.
- Ou, B. et al., 2002. Analysis of antioxidant activities of common vegetables employing oxygen radical absorbance capacity (ORAC) and ferric reducing antioxidant power (FRAP) assays: a comparative study. *J. Agric. Food Chem*, Volume 50, pp. 3122-3128.
- Pacheco Palencia, L., Ducan, C. & Talcott, S., 2009. Phytochemical composition and thermal stability of two commercial acai species. *Food Chemistry*, Volume 115, pp. 1199-1205.
- Paladino, S. C., 2007. *ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE LOS COMPUESTOS*, Mendoza: Universidades Nacionales de Cuyo.
- Paz, M. et al., 2015. Brazilian fruit pulps as functional foods and additives: Evaluation of bioactive compounds.. *Food Chemistry*, Volume 172, pp. 462-468.
- Peñarrieta, J. M., Alvarado, J. A., Åkesson, B. & Bergenstahl, B., 2008. Total antioxidant capacity and content of flavonoids and other phenolic compounds in canihua (*Chenopodium pallidicaule*): An Andean pseudocereal. *Molecular Nutrition and Food Research*., Volume 52, pp. 708-717.
- Peterson, G. L., 1979. Review of the Folin protein quantitation method of Lowry, Rosebrough, Farr and Radall. *Analytical biochemistry*, 100(2), pp. 2001-220.
- Prior, R., Wu, X. & Schaich, L., 2005. Standardized Methods for the Determination of Antioxidant Capacity and Phenolics in Foods and Dietary Supplements. *Agricultural and food chemistry*, Volume 53, pp. 4290-4302.
- Raichel, D., 2006. *The science and applications of acoustics*. New York: Springer Science+Business Media.
- Ramesh, B. & K.V., P., 2006. Antioxidant role of umbelliferone in STZ-diabetic rats. *Life Sciences*, Volume 79, pp. 306-310.
- Robbins, R., 2003. Phenolic acids in foods: an overview of analytical methodology.. *J. Agric. Food Chem*, Volume 51, pp. 2866-2887.
- Robles Ozuna, L. E. & Ochoa Martínez, L. A., 2012. ULTRASONIDO Y SUS APLICACIONES EN EL PROCESAMIENTO DE ALIMENTOS. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, 13(2), pp. 109-122.
- Rodríguez-Jimenes, G. et al., 2012. Mass transfer during vanilla pods solid liquid extraction: Effect of extraction method. *Food Bioprocess Technol*, Volume 6, pp. 240-2650.
- Romero Cascales, I., 2008. Murcia: Universidad de Murcia.
- Rover, M. R. & Brown, R. C., 2013. Quantification of total phenols in bio-oil using the Folin–Ciocalteu method. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, Volume 104, pp. 366-371.

- Sadeghi, N. et al., 2009. The contents of sesamol in Iranian sesame seeds. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, Volume 8, pp. 101-105.
- Sánchez Guerrero, M., Sineiro Torres, J. & José Nuñez, M., 2008. Extraction of polyphenols from white distilled grape pomace: Optimization and modelling. *Bioresource Technology*, 99(5), pp. 1311-1318.
- Shirsath, S. R., Sonawane, S. H. & Gogate, P. R., 2012. Intensification of extraction of natural products using ultrasonic irradiations a review of current status. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*, Volume 53, pp. 10-23.
- Soto, H., 2007. "Actividad antioxidante de flavonoides del tallo de orégano mexicano (*Lippia graveolens* hbk var. *Berlandieri* Schafer). *Fitotecnica Mexicana*, 30(1), pp. 43-49.
- Spigno, G., Tramelli, L. & De Faveri, D. M., 2007. Effects of extraction time, temperature and solvent on concentration and antioxidant activity of grape marc phenolics. *Food Engineering*, Volume 81, pp. 200-208.
- Tejeda, L. et al., 2014. Relating genes in the biosynthesis of the polyphenol composition of Andean colored potato collection. *Food Science and Nutrition*, Volume 2, pp. 46-57.
- Thaipong, K. et al., 2006. Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19(6), pp. 669-675.
- Togores, J., 2006. *La calidad del vino desde el viñedo*. s.l.:Mundi-Presa Libros.
- Tzia, C. & Liadakis, G., 2003. *Extraction optimization in food engineering*. s.l.:CRC Press.
- Uranga, J. L. S. d. I., 1996. *la medicina está en nuestras manos*. Cornell University: Proyecto Salud Tiraque.
- USDA, 2018. *Full Report (All Nutrients)*, Washington, D.C.: s.n.
- Velioglu, Y. S., Mazza, G., Gao, L. & Oomah, B. D., 1998. Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables and grain products. *J. Agric. Food Chem*, Volume 45, pp. 4113-4117.
- Vermerris, W. & Nicholson, R., 2008. *Phenolic compound biochemistry*. Berlin: Springer Science+Business Media B.V.
- Vermerris, W. & Nicholson, R., 2008. *Phenolic compound biochemistry*. Berlin: Springer Science+Business Media B.V..
- Versari, A. et al., 2001. Stilbene compounds and stilbene synthase expression during ripening, wilting, and UV treatment in Grape cv. Corvina. *Journal of Agricultural of Food Chemistry*, Volume 49, pp. 5531-5536.
- Villa Rodríguez, J. A. et al., 2011. Effect of maturity stage on the content of fatty acid and antioxidant activity of Hass avocado. *Food Research International*, 44(5), pp. 1231-1237.
- Vinardell, M., Ugartondo, V. & Mitjans, M., 2007. Potential applications of antioxidant lignins from different sources. *Industrial Crops and Products*, Volume 27, pp. 220-223.

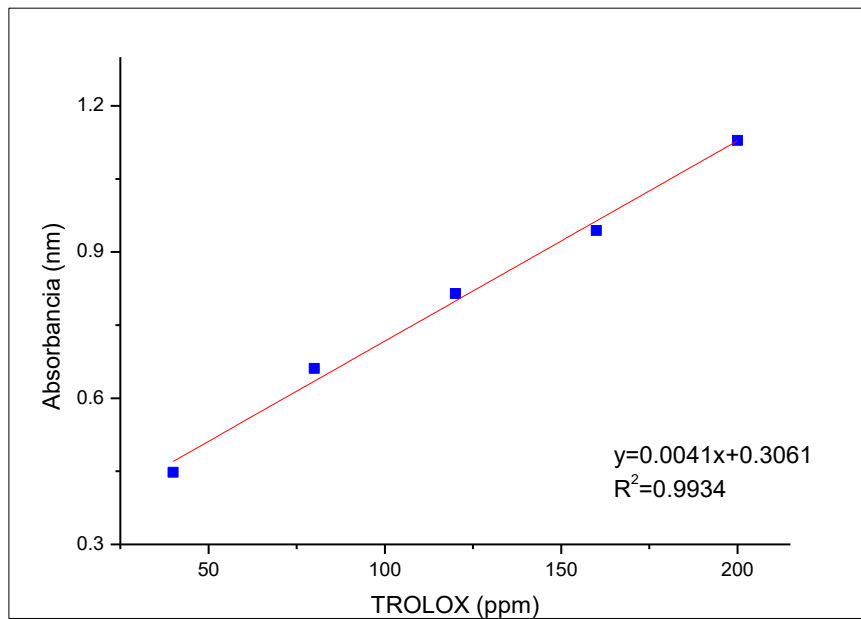
ANEXO

Curvas de calibración de los métodos Folin-Ciocalteu, FRAP y ABTS.

Curva de calibración del estándar ácido gálico para el contenido total de compuestos fenólicos (Método Folin-Ciocalteu)



Curva de calibración del estándar TROLOX para la actividad antioxidante
(Método FRAP)



Curva de calibración del estándar TROLOX para la actividad antioxidante
(Método ABTS)

