

**UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN
NICOLÁS DE HIDALGO
FACULTAD DE QUÍMICO FARMACOBIOLOGÍA**



**“PROCESAMIENTO ULTRASÓNICO PARA EXTRACCIÓN
DE COMPUESTOS FENÓLICOS”.**

**TESINA PROFESIONAL PARA OBTENER EL TÍTULO DE QUÍMICO
FARMACOBIOLOGO**

P R E S E N T A

YESSICA ESPINO CALDERÓN

ASESOR: D.C. HÉCTOR EDUARDO MARTÍNEZ FLORES

MORELIA MICH; OCTUBRE 2021

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN.....	1
-------------------	---

OBJETIVO GENERAL.....	2
-----------------------	---

CAPÍTULO I

1.1 Ultrasonido.....	3
----------------------	---

1.2 Cavitación.....	3
---------------------	---

1.3 Fundamento del ultrasonido.....	6
-------------------------------------	---

1.4 Equipos de ultrasonido.....	7
---------------------------------	---

1.5 Mecanismo de acción del ultrasonido.....	9
--	---

1.6 Aplicaciones del ultrasonido en el campo de los alimentos.....	11
--	----

1.7 Métodos de extracción de los compuestos fenólicos.....	12
--	----

1.8 Extracción con ultrasonido.....	14
-------------------------------------	----

1.8.1 Principios del ultrasonido de alta frecuencia (baja energía).....	18
---	----

1.8.2 Principios del ultrasonido de baja frecuencia (alta energía).....	19
---	----

1.9 Ventajas y desventajas del ultrasonido.....	22
---	----

CAPÍTULO II

2.1 Compuestos fenólicos.....	24
-------------------------------	----

2.2 Clasificación de compuestos fenólicos presentes en alimentos.....	25
---	----

2.2.1 Fenoles simples.....	25
----------------------------	----

2.2.2 Fenoles ácidos.....	26
---------------------------	----

2.2.2.1 Ácidos hidroxibenzoicos.....	26
--------------------------------------	----

2.2.2.2 Ácidos hidroxicinámicos.....	27
--------------------------------------	----

2.2.3 Cumarinas.....	28
----------------------	----

2.2.4 Xantonas, estilbenos y benzofenonas.....	28
--	----

2.2.5 Quinonas.....	29
---------------------	----

2.2.6	Betacianinas.....	30
2.2.7	Lignanós y ligninas.....	30
2.3	Clasificación de flavonoides presentes en alimentos.....	33
2.3.1	Chalconas.....	33
2.3.2	Auronas.....	34
2.3.3	Flavononas y flavanóloes.....	35
2.3.4	Flavonas y flavonóloes.....	36
2.3.5	Isoflavonas y neoflavonoides.....	37
2.3.6	Flavan-3-oles.....	38
2.3.7	Catequinas.....	38
2.3.8	Leucoantocianinas.....	39
2.3.9	Antocianidinas.....	40
2.3.10	Deoxiantocianidinas.....	41
2.3.11	Antocianinas.....	42
2.4	Taninos presentes en los alimentos.....	43
2.4.1	Taninos condensados.....	43
2.4.2	Taninos hidrolizables.....	44
2.4.2.1	Elagitaninos.....	44
2.4.2.2	Galotaninos.....	45
2.4.3	Taninos complejos.....	46
2.4.4	Flobafenos.....	47
2.5	Biosíntesis de los compuestos fenólicos.....	48
2.6	Radicales libres.....	48
2.6.1	Función de los radicales libres como mediadores fisiológicos.....	49
2.6.2	Daño a biomoléculas por radicales libres.....	50
2.7	Actividad antioxidante de los compuestos fenólicos.....	51

CAPÍTULO III

3.1	Extracción asistida por ultrasonido de compuestos fenólicos de semillas de chía (<i>Salvia hispánica</i> L.) y su actividad antioxidante.....	55
3.2	Extracción asistida por ultrasonido de compuestos fenólicos de la cáscara de sanky (<i>Corryocactus brevistylus</i>).....	56
3.3	Fenólicos a partir de residuos de café: optimización del proceso de extracción.....	57
3.4	Extracción asistida con ultrasonido de compuestos fenólicos de dos variedades de papas (<i>Solanum phureja</i>) nativas andinas y evaluación de su actividad antioxidante.....	58
3.5	Optimización del proceso de extracción asistida por ultrasonido de compuestos fenólicos en guayusa (<i>Ilex guayusa</i> L.) y determinación de actividad antioxidante y contenido de cafeína.....	60
3.6	Contenido de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante de extractos de mora (<i>Rubus glaucus</i> benth) obtenidos bajo diferentes condiciones.....	61
3.7	Extracción de antioxidantes del residuo de betabel (<i>Beta vulgaris</i>) por ultrasonido: comparación con métodos convencionales.....	62
3.8	Cinética de extracción asistida con ultrasonido de potencia de compuestos fenólicos a partir de uva syrah (<i>Vitis vinífera</i> L.).....	63
3.9	Optimización de las condiciones de extracción asistida por ultrasonido de flavonoides en cáscaras de naranja (<i>Citrus sinensis</i>) para su aplicación agroindustrial....	64
3.10	Extracción y cuantificación de polifenoles de piel de kinnow (<i>Citrus reticulata</i> L.) mediante técnicas de ultrasonido y maceración.....	65
3.11	Efecto de la extracción asistida por ultrasonido de hojas de <i>Moringa stenopetala</i> sobre los compuestos bioactivos y su actividad antioxidante.....	66
3.12	Optimización de la extracción asistida por ultrasonido de compuestos fenólicos de <i>Annona muricata</i> subproductos y pulpa.....	67

3.13	Optimización de la extracción asistida por ultrasonido de compuestos fenólicos de <i>Brosimum alicastrum</i> y evaluación de su actividad captadora de radicales.....	69
3.14	Evaluación de la extracción asistida por ultrasonido como método alternativo para la extracción de antocianinas y compuestos fenólicos totales de bayas de maqui (<i>Aristotelia chilensis</i> (Mol.) Stuntz).....	70
3.15	Optimización de la extracción asistida por ultrasonido de compuestos fenólicos del rizoma <i>Sparganii</i> con metodología de superficie de respuesta.....	71
3.16	Optimización de la extracción asistida por ultrasonido de compuestos fenólicos de rizoma <i>Cimicifugae</i> con metodología de superficie de respuesta.....	72
3.17	Recuperación de compuestos fenólicos de salvados de trigo mediante un proceso de extracción enzimática y ultrasonificación.....	73
	CONCLUSIÓN	70
	BIBLIOGRAFÍA	81

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Comportamiento de las burbujas durante la cavitación.....	5
Figura 2 Estructura química del fenol.....	25
Figura 3 Estructuras químicas de compuestos fenólicos simples.....	26
Figura 4 Ácidos hidroxibenzoicos.....	27
Figura 5 Ácidos hidroxicinámicos.....	27
Figura 6 Umbeliferona.....	28
Figura 7 Xantonas, estilbenos y benzofenonas.....	29
Figura 8 Quinonas.....	29
Figura 9 Betanidin.....	30
Figura 10 Lignanós.....	31
Figura 11 Ligninas.....	32
Figura 12 Estructura básica de un flavonoide.....	33
Figura 13 Chalconas.....	34
Figura 14 Estructura de una aurona común.....	34
Figura 15 Flavononas y flavanonoles.....	35
Figura 16 Flavonas y flavonoles.....	36
Figura 17 Estructuras de isoflavonas y neoflavonoides.....	37
Figura 18 Catequinas.....	39
Figura 19 Estructuras de leucoantocianinas.....	40
Figura 20 Antocianidinas.....	41
Figura 21 Estructuras de deoxiantocianidinas.....	42
Figura 22 Antocianina 3-o-glucósido.....	43
Figura 23 Procianidina B ₂	44
Figura 24 Elagitaninos.....	45
Figura 25 Ejemplos de galotaninos.....	46

Figura 26 Acutissimina A.....	47
Figura 27 Flobafenos.....	47

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Mecanismos de acción del ultrasonido.....	10
Tabla 2 Características principales, ventajas y desventajas de las tecnologías de extracción novedosas y convencionales.....	12
Tabla 3 Aplicaciones del ultrasonido en la extracción de compuestos.....	16
Tabla 4 Efectos beneficiosos atribuidos a los compuestos fenólicos en la prevención de las enfermedades cardiovasculares.....	53
Tabla 5 Efectos beneficiosos atribuidos a los compuestos fenólicos en la prevención de cáncer.....	54
Tabla 6 Uso del ultrasonido como método de extracción de compuestos fenólicos.....	76

Resumen.

El empleo de ultrasonido (US) en el procesamiento de alimentos está basado en la ventaja que representa sobre los procesos tradicionales, al reducir tiempos de proceso y mejorar atributos de calidad. Fundamentalmente está establecido que el efecto de cavitación gaseosa es el que produce el efecto conservador del US, ya que de esta manera se promueve la implosión de microburbujas las cuales generan la liberación de energía. Esto permite aumentos de temperatura que producen los diferentes cambios físicos, químicos y bioquímicos en el microentorno de las células de los diferentes productos procesados. Los US se aplican en diferentes modalidades de alta y baja intensidad, así como alta y baja frecuencia. De esta manera, variando su longitud de onda, frecuencia e intensidad es que se promueven mejores tiempos y formas de mezclado, al igual que transferencia de energía y masa, para reducir tiempos de extracción e incrementar la producción y elaboración de los alimentos. Los compuestos fenólicos constituyen uno de los grupos de micronutrientes presentes en el reino vegetal, siendo parte importante de la dieta tanto humana como animal. Actualmente se ha despertado un reciente interés por estos compuestos debido a sus propiedades antioxidantes y sus posibles implicaciones beneficiosas en la salud humana, tales como el tratamiento y prevención del cáncer, enfermedad cardiovascular y otras patologías de carácter inflamatorio. En esta revisión se presenta una visión actual del uso de US en la extracción de compuestos fenólicos comparado con métodos convencionales.

Palabras clave: Polifenoles, actividad antioxidante, extracción, ultrasonido, tecnología.

Abstract.

The use of ultrasound (US) in food processing is based on the advantage it represents over traditional processes, by reducing process times and improving quality attributes.

Fundamentally, it is established that the gaseous cavitation effect is the one that produces the conservative effect of US, since in this way the implosion of microbubbles is promoted, which generate the release of energy. This allows increases in temperature that produce the different physical, chemical and biochemical changes in the microenvironment of the cells of the different processed products. The US is applied in different modalities of high and low intensity, as well as high and low frequency. In this way, by varying its wavelength, frequency and intensity, better mixing times and forms are promoted, as well as energy and mass transfer, to reduce extraction times and increase food production and processing. Phenolic compounds constitute one of the groups of micronutrients present in the plant kingdom, being an important part of both human and animal diets. Currently, there has been a recent interest in these compounds due to their antioxidant properties and their possible beneficial implications in human health, such as the treatment and prevention of cancer, cardiovascular disease and other inflammatory diseases. This review presents a current view of the use of US in the extraction of phenolic compounds compared to conventional methods.

Key words: Polyphenols, antioxidant activity, extraction, ultrasound, technology.

Introducción

La importancia biológica de los compuestos fenólicos ha dado lugar a un gran número de estudios enfocados a su extracción a partir de diversas fuentes vegetales. En los últimos años, estas tecnologías de extracción se han innovado con el objetivo de ofrecer altos rendimientos en el proceso, minimizando tiempos, costos, y sobre todo, que sean sustentables con el medio ambiente (Medina, 2017).

Los compuestos fenólicos o polifenoles constituyen un amplio grupo de sustancias químicas considerados metabolitos secundarios de las plantas, con diferentes estructuras químicas y actividad, englobando más de 8,000 compuestos distintos (Venanzi, 2014). Las propiedades antioxidantes de los compuestos fenólicos se atribuyen a su capacidad para eliminar los radicales libres y para quelar iones de metales que intervienen en su producción. Así, la actividad antioxidante de los ácidos fenólicos se debe a su capacidad para donar un anión de hidrógeno, *i.e.*, un electrón no apareado, y reubicarlo dentro de la estructura aromática. Los antioxidantes son compuestos que retardan el proceso de oxidación mediante la inhibición de la iniciación o propagación de reacciones de oxidación en cadena, así se evitan oxidaciones mayores, que son condiciones relacionadas con el estrés, enfermedades cardiovasculares, diabetes aterosclerosis, accidentes cerebrovasculares, cáncer y enfermedades neurodegenerativas. Para aislar estos componentes bioactivos se usan técnicas de extracción convencionales por maceración y basadas en disolventes (Corona, Martínez, Ruiz, & Carranza, 2016). Sin embargo, estos métodos tienen limitaciones como el consumo elevado de disolvente y tiempos largos de extracción. Entonces, se necesitan formas alternativas para mejorar el proceso de extracción, aumentando, el rendimiento y la calidad de los extractos. Los métodos propuestos son el uso de fluidos supercríticos, microondas y ultrasonido de alta potencia (Rojas, Martínez, & Stashenko, 2014).

La extracción de componentes bioactivos por ultrasonido es un método limpio, sencillo, rápido y verde en comparación con los métodos convencionales. Además de su alta reproducibilidad en corto tiempo, de fácil manipulación y disminución en el uso de solventes frente a otros métodos. Las ondas de ultrasonido causan la ruptura mecánica de la pared celular liberando los componentes bioactivos, a su vez el calentamiento local del solvente aumenta la difusión del extracto, mejorando así la transferencia de masa a través de la interfase sólido-líquido. Los efectos mecánicos de la sonicación inducen a una mayor disolución del solvente en las paredes y membranas celulares, facilitando la liberación del contenido de las células y mejorando la transferencia de masa (Rojas, Fuentes, & Gómez, 2019).

Además de las propiedades biológicas de los compuestos fenólicos, se les han atribuido a los mismos, actividades farmacológicas y médicas relacionadas con la prevención y/o mejora del estado de salud. Entre éstas destacan sus efectos vasodilatadores, anticarcinogénicos, antiinflamatorios, bactericidas, estimuladores de la respuesta inmune, antialérgicos, antivirales, efectos estrogénicos e inhibidores de la fosfolipasa A2, de la ciclooxigenasa, lipoxigenasa, glutatión reductasa y xantina oxidasa (Martínez, Periago, & Ros, 2000).

Objetivo general

El objetivo general de esta tesina es realizar una revisión del estado del arte del proceso de extracción de compuestos fenólicos asistida por ultrasonido.

Capítulo I

1.1 Ultrasonido

Ultrasonido es el nombre que reciben las ondas de sonido con frecuencias mayores a aquellas que pueden ser detectadas por el oído humano. El ultrasonido maneja ondas con frecuencias entre 16 KHz y 20 MHz, las cuales al ser aplicadas pueden llegar hasta 5 MHz en gases o hasta 500 MHz en líquidos y sólidos (Delgado, 2012).

El ultrasonido está basado en la propagación de ondas mecánicas conformada por un conjunto de ciclos, definidos como la combinación de altas y bajas presiones, denominadas compresiones y rarefacciones, respectivamente. Las principales características de la onda de ultrasonidos son:

- Longitud: distancia entre dos puntos de compresión o rarefacción.
- Amplitud: altura máxima de una onda.
- Frecuencia (Hz): número de ciclos por unidad de tiempo.
- Velocidad (m/s): producto de la frecuencia por la longitud de onda.
- Potencia (W): cociente entre la energía transportada y el tiempo considerado.
- Intensidad (W/cm^2): cociente de una unidad de potencia a través de una unidad de área (Medina, 2017).

1.2 Cavitación

El fenómeno de la cavitación fue observado por primera vez hace unos cien años por Sir John Isaac Thornycroft cuando comenzaron a desarrollarse los primeros buques torpederos potentes. Debido al giro a gran velocidad de los propulsores de los torpedos se formaban unas grandes burbujas o cavidades, cuyo colapso posterior venía acompañado de enormes

turbulencias, calor y presión, que eran transmitidos a la superficie de los propulsores de los torpedos ocasionando su rápida erosión. La cavitación es la formación y actividad de burbujas en un líquido. Las burbujas formadas pueden ser de gas o vapor de cualquier tipo de líquido bajo diversas condiciones (Pérez, 2019).

El efecto conservador de los ultrasonidos está asociado a los fenómenos complejos de cavitación gaseosa, que 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 amplitud 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 (se expanden) en la alternancia de los ciclos de presión (Robles & Ochoa, 2012). Las microburbujas que alcanzan un tamaño crítico implosionan o colapsan violentamente para volver al tamaño original. La implosión supone la liberación de toda la energía acumulada, ocasionando incrementos de temperatura instantáneos y focales, que se disipan sin que supongan una elevación sustancial de la temperatura del líquido tratado (Pérez, 2019). La energía liberada, así como el choque mecánico asociadas al fenómeno de implosión, afectan la estructura de las células situadas en el microentorno. No obstante, el efecto de los ultrasonidos sobre los agentes alterantes de los alimentos es limitado y dependiente de múltiples factores, por ello, su aplicación se ha encaminado hacia la combinación, simultánea o alterna, con otras técnicas de conservación. La aplicación de ultrasonidos y tratamientos térmicos suaves ($<100\text{ }^{\circ}\text{C}$, habitualmente entre $50\text{-}60\text{ }^{\circ}\text{C}$) ha dado lugar al procedimiento denominado termoultrasonificación. La combinación con incrementos de presión ($<600\text{ MPa}$) se denomina manosonicación, mientras que las tres estrategias de forma conjunta se conocen como manotermosonicación (Robles & Ochoa, 2012).

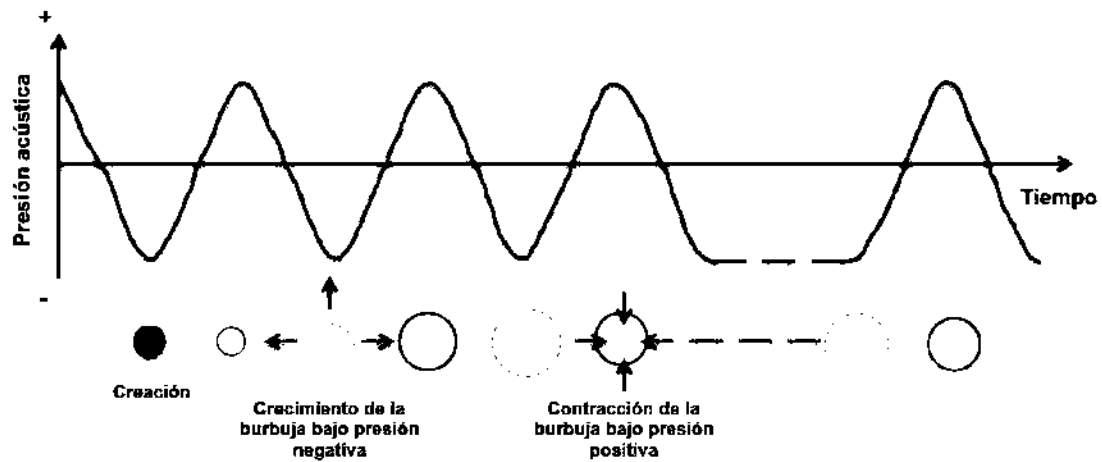


Figura 1. Comportamiento de las burbujas durante la cavitación (Ulloa, Rosas, & Ramírez, 2013).

De acuerdo con cómo es producida la cavitación existen 4 tipos:

- Cavitación hidrodinámica; producida por las variaciones de presión en el flujo del líquido debidas a la geometría del sistema (Perdomo, 2017).
- Cavitación acústica; debida a la propagación de longitudes de onda producidas por las variaciones de presión en un líquido (Perdomo, 2017).
- Cavitación óptica; producida por fotones de luz de alta intensidad que atraviesan a un líquido (Perdomo, 2017).
- Cavitación de partícula; producida por cualquier tipo de partícula finas y ultrafinas en suspensiones (Pérez, 2019).

Solamente las cavitaciones acústicas e hidrodinámicas son capaces de generar las intensidades requeridas para inducir cambios físicos y químicos en diferentes sistemas alimenticios (lípidos, carbohidratos, proteínas, etc.) (Ulloa, Rosas, & Ramírez, 2013).

1.3 Fundamento del ultrasonido

Los equipos de ultrasonidos utilizados, de funcionamiento discontinuo (los más habituales) o continuo, poseen una cámara de tratamiento donde se sitúa la fuente de ultrasonidos (generalmente una sonda de sonicación). Toda la tecnología actual ultrasónica proviene del aprovechamiento de dos propiedades que poseen ciertos materiales: la piezoelectricidad y la magnetoestricción. Un generador de ultrasonidos piezoeléctrico se basa en la generación de oscilaciones eléctricas, de una frecuencia determinada, que un material con propiedades piezoeléctricas transforma en oscilaciones mecánicas (transductor). Otro método para producir vibraciones ultrasónicas es con el uso de transductores magnetostrictivos. La operación de estos dispositivos se basa en las deformaciones mecánicas que presentan ciertos materiales al someterlos a un intenso campo magnético (Romero de Ávila, 2006).

La generación de ultrasonido se fundamenta en la deformación elástica de materiales ferroeléctricos dentro de un campo eléctrico de alta frecuencia y es causada por la mutua atracción de moléculas polarizadas en el campo. Para la polarización de las moléculas se debe transmitir 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 finalmente transmitirse al medio (Robles & Ochoa, 2012). El ultrasonido es generado por una corriente eléctrica que es transformada a energía de sonido por medio de diferentes transductores. Existen tres tipos de transductores ultrasónicos principales:

- Transductores conducidos por líquido. Son aquellos en los que un líquido es forzado a atravesar por una lámina muy delgada causando que la lámina vibre. Para cada momento de vibración la cara principal de la lámina produce una presión de onda mientras que la cara posterior genera cavitación en el líquido. Esta generación

continua de presión y cavitación del líquido produce una fuente de energía suficiente para generar ondas de sonido (Perdomo, 2017).

- Transductores de magneto rígido. Son dispositivos electromecánicos que utilizan materiales ferromagnéticos, es decir, materiales que cambian de tamaño como respuesta a la presencia de un campo magnético. Sin embargo, tienen dos grandes desventajas: que el intervalo de frecuencia está restringido para debajo de 100 kHz y que los sistemas son el 60% eficientes eléctricamente (Perdomo, 2017).
- Transductores piezoeléctricos. Son los transductores más utilizados para la generación de ultrasonido, utilizan cerámicas que contienen materiales piezoeléctricos como el titanato de bario o metaniobato de plomo. Los transductores cerámicos son muy quebradizos, por lo que se sujetan entre bloques metálicos. Esto sirve para proteger el delicado material cristalino, así como para prevenir que se sobrecaliente (Pérez, 2019). Estos últimos transductores son los más empleados para la generación de sonido y tienen cerca del 95% de eficiencia y pueden operar en todo el intervalo ultrasónico (Robles & Ochoa, 2012).

1.4 Equipos de ultrasonido

En la actualidad, existen tres tipos de equipos diseñados para la aplicación de tratamientos por ultrasonido en el laboratorio: el baño de ultrasonido, el “cup-horn” sonicador y el de inmersión directa de la sonda de ultrasonido.

1) Baños de ultrasonidos

Los baños de ultrasonidos posiblemente sean la aplicación más popular de los ultrasonidos de potencia, además de su uso en la limpieza de material de laboratorio, se han utilizado para acelerar los procesos de transferencia de materia en medios líquidos (Delgado, 2012).

Usan transductores colocados en la base de un recipiente de acero inoxidable y con un sistema de generación que controla la potencia que suministra al medio, variación del campo acústico dentro del baño y control de la temperatura. Para que la tecnología de ultrasonido se aplique en procesos alimentarios, se considera que el criterio de mayor importancia es la cantidad de energía del campo generador de sonido. El ultrasonido de potencia o de baja frecuencia provoca el fenómeno de cavitación, el cual puede alterar las propiedades físicas y químicas de los alimentos, en la cristalización de grasas y azúcares, inhibición de enzimas, alteraciones de reacciones químicas, oxidaciones, congelación y ablandamiento de carne entre otros. Otro efecto importante es que causa daños en la pared celular de microorganismos, logrando inhibirlos o destruirlos (Pérez, 2019).

2) Sistemas tipo sonda

En este tipo de equipos, se utiliza una sonda metálica para aplicar al medio líquido la vibración generada en el transductor. La potencia aplicada dependerá de la amplitud de vibración en la punta de la sonda que se controlará variando la potencia eléctrica suministrada por el equipo generador/amplificador. Tanto el diseño como la forma de la sonda tienen mucha importancia. La longitud de la misma debe de ser de media longitud de onda o múltiplo de dicha longitud. Las sondas cilíndricas se limitan a transmitir la energía acústica al medio por tratar. Sin embargo, si a lo largo de la sonda hay reducción del diámetro, entonces se produce una ganancia en la amplitud de vibración. Muchos sistemas se diseñan para operar con sondas intercambiables de diferentes diámetros de superficie emisora. El material utilizado para la fabricación de las sondas debe tener una alta resistencia a la fatiga y a la erosión que producen la cavitación en la punta de la sonda y las bajas pérdidas acústicas (Delgado, 2012).

3) Equipos diseñados para la aplicación de ultrasonido de potencia

Actualmente, se han diseñado equipos para realizar el efecto del ultrasonido en diversos alimentos. Es así, como secadores de convección directa con transductores ultrasónicos se usan para el secado de frutas y verduras. El secador consta de un plato vibrante donde se ubican las láminas del alimento; el aire caliente se empuja para realizar el secado y el transductor produce vibraciones a la estructura, mejorando la extracción de agua en el producto (Delgado, 2012).

Otra propuesta de diseño es ubicar transductores en un túnel con doble camisa A, B y C; D sería un cilindro giratorio por donde pasa el fluido. Los dispositivos tipo túnel se combinan con métodos térmicos ya que no se han diseñado equipos para tratar volúmenes industriales; a los equipos de pasteurización se le han acoplado sondas para aplicar a la leche el tratamiento o se ubican los equipos tipo túnel al final del pasteurizador. Estos pasteurizadores tienen como ventaja que la temperatura del tratamiento térmico disminuye y se complementa con una onda ultrasónica de 20 KHz de potencia, intensidad adecuada para el rompimiento celular de microorganismos patógenos. En zumos de frutas, la pasteurización es similar; variables como el pH y la acidez se ven afectadas por el proceso. Para evitar modificaciones en las mismas, se recomienda disminuir el tiempo y la temperatura del tratamiento, porque reduce la calidad del producto. Entonces, la ventaja de aplicar una radiación ultrasónica para reducir la microbiota, radica en que el pH y la acidez no varían y, por el contrario, se mejora la viscosidad en productos concentrados como la mermelada (Delgado, 2012).

1.5 Mecanismo de acción del ultrasonido

Los mecanismos de acción del ultrasonido se clasifican principalmente en térmicos (generación de energía calórica o mecánica), y no térmicos (cavitación, rarefacción,

formación de radicales libres, choques micro-mecánicos y fuerza de radiación) (Tabla 1) (Delgado, 2012).

Tabla 1. Mecanismos de acción del ultrasonido (Delgado, 2011).

TEORIA	MECANISMO	APLICACIONES
Cavitación	Remoción mecánica por irrupción o atrapamiento de la bacteria, a través de burbujas localizadas con altas temperaturas (5500 °C) y presiones (500 MPa)	Procesos de desinfección, lisis celular e inactivación enzimática
Formación de Radicales Libres	Sonólisis del agua puede producir iones (OH^-) y (H^+) y peróxido de hidrógeno	Inactivación microbiana y enzimática
Choques micro-mecánicos intracelulares	Disrupción de las células y disminución del grosor de paredes celulares	Lisis celular, inactivación enzimática y efecto antimicrobiano
Generación de energía calórica y mecánica	Propagación de la onda; decrece con la distancia al ser aplicado en material atenuante. Esta porción que es absorbida se traduce en calor	Inactivación microbiana
Fuerza de radiación	Movimiento o vibración local de un tejido por fuerza de radiación acústica	Análisis clínicos
Compresión y rarefacción	Microcorriente acústica	Inactivación microbiana y enzimática

1.6 Aplicaciones del ultrasonido en el campo de los alimentos

La energía de ultrasonido aplicada en el área de alimentos puede resumirse en dos grandes áreas: a) análisis y control de calidad, y b) procesamiento, conservación e inocuidad. Las aplicaciones del ultrasonido en alimentos dependen del rango de frecuencia, que a su vez genera ultrasonido de alta o baja potencia.

El ultrasonido de baja energía (baja potencia, baja intensidad) tiene frecuencias superiores a 100 kHz a intensidades por debajo de 1 W.cm^2 , y puede usarse para análisis no invasivos y monitoreo de varios materiales alimenticios durante su procesamiento y almacenamiento, para garantizar alta calidad e inocuidad. Por ejemplo, el ultrasonido de baja potencia se usa como una herramienta no destructiva en programas de mejoramiento genético para ganado y para evaluar productos cárnicos crudos y fermentados, pescado y aves. También se ha usado para el control de calidad de vegetales y frutas antes y después de la cosecha, así como durante el procesamiento de quesos, aceites de cocina, pan y productos de cereales, alimentos derivados de la emulsificación de grasa, geles alimenticios, alimentos aireados y congelados. Otras de las aplicaciones del ultrasonido de baja potencia son la detección de adulteración de miel y la evaluación del estado de agregación, tamaño y tipo de proteína (Ulloa, Rosas, & Ramírez, 2013).

El ultrasonido de alta energía (alta potencia, alta intensidad) utiliza intensidades superiores a 1 W.cm^2 a frecuencias entre 20 y 500 kHz, las cuales son perjudiciales e inducen efectos en las propiedades físicas, mecánicas o químicas-bioquímicas de los alimentos. Esos efectos son promisorios en el procesamiento, conservación e inocuidad de alimentos. Esta tecnología emergente se ha usado como una alternativa a las operaciones convencionales de procesamiento de alimentos para controlar la microestructura y modificar las características texturales de productos grasos (sonocristalización), emulsificación, eliminación de espumas, modificación de las propiedades funcionales de las proteínas,

inactivación o aceleración de actividad enzimática para mejorar la vida de anaquel y calidad de productos alimenticios, inactivación microbiana, congelación, descongelación, liofilización y concentración, secado y mejoramiento de la extracción de componentes bioactivos de los alimentos (Ulloa, Rosas, & Ramírez, 2013).

1.7 Métodos de extracción de los compuestos fenólicos

La gran importancia de los polifenoles ha dado lugar a un gran número de estudios enfocados a su extracción a partir de diversas fuentes vegetales. Entre las técnicas convencionales de extracción se encuentran la maceración, que está asociada a un alto consumo de disolventes orgánicos, cuyos remanentes limitan la aplicación de los extractos por la toxicidad del solvente, además de requerir largos tiempos de extracción, implicando un alto consumo energético (Medina, 2017). Las desventajas de las tecnologías convencionales de extracción radican principalmente en el consumo elevado de energía (más del 70% del total del proceso requiere de energía), altas generaciones de CO₂, la degradación de los compuestos de interés debido a altas temperatura y largos tiempos de extracción y consumo de altas cantidades de químicos peligrosos (Sánchez, 2019).

Lo anterior, ha impulsado la implementación de tecnologías novedosas de extracción asistidas por diversos mecanismos como el ultrasonido, la energía de microondas, fluidos supercríticos y mediante la extracción acelerada por disolventes. El principal objetivo de estas tecnologías es la reducción del consumo de energía y tiempo, que es reflejado en la disminución del costo, por lo que han sido denominadas como sustentables, debido a que protegen tanto al medio ambiente como a la salud de los consumidores, potenciando la competitividad económica e innovadora de las industrias. A continuación, se presenta en la tabla 2 las características principales de las tecnologías de extracción convencionales y novedosas mencionadas anteriormente (Medina, 2017).

Tabla 2. Características principales, ventajas y desventajas de las tecnologías de extracción novedosas y convencionales (Medina, 2017).

Característica	Tecnología de extracción				Método convencional	
	Asistida por ultrasonido	Asistida por microondas	Por fluidos supercríticos	Acelerada por disolventes	Agitación magnética	Soxhlet
Fuerza impulsora	Cavitación acústica	Energía de microondas	Presión en conjunto con el fluido supercrítico	Calor en conjunto con el disolvente bajo presión	Contacto con el solvente	Calor
Tiempo de extracción	10-60 min	3-30 min	10-60 min	10-20 min	1-4 h	6-24 h
Tamaño de la muestra	1-30 g	1-10 g	1-5 g	1-30 g	1-30 g	1-30 g
Disolvente	50-200 mL	10-40 mL	30-60 mL	15-60 mL	<50 mL	150-500 mL
Inversión de energía	Moderada	Alta	Moderada	Moderada	Alta	Alta
Ventajas	Fácil manejo, segura, uso moderado de solvente	Rápido, fácil manejo, uso moderado de solvente	Rápido, seguro, no es necesario filtrar, alta selectividad	Rápido, seguro, no es necesario filtrar	No es necesario el uso de equipos sofisticados	No es necesario el uso de equipos sofisticados
Desventajas	Paso de filtración requerido,	Riesgo de explosión (el solvente	Muchos parámetros	Posible degradación de los	Riesgo de derrames y exposición	Riesgo de exposición a vapores

posible	puede	para	analitos	a vapores	orgánicos.
degradación	absorber la	optimizar	termolábiles	orgánicos.	Degradación
de los	energía de			Posible	de analitos
analitos a	microondas),			degradación	termolábiles
altas	costosa,			de los	
frecuencias	filtración			analitos	
	requerida			termolábiles	

1.8 Extracción con ultrasonido

Actualmente en la búsqueda de tecnologías no contaminantes y consideradas “verdes”, se ha encontrado que la extracción asistida con ultrasonido llena estos requisitos ya que emplea menos solventes y energía. Esta metodología es considerada como emergente y 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 mejora el transporte de masa debido al rompimiento de la pared celular. El uso de ultrasonido como tecnología asistente se ha reportado como más ventajosa que el emplear procesos como extracción con fluidos supercríticos, microondas y extracción acelerada con solventes. (Robles & Ochoa, 2012).

La extracción asistida por ultrasonido es un proceso corto (minutos) con alta reproducibilidad, reduciendo el consumo de disolvente, lo que simplifica la manipulación y el trabajo en marcha, dar una mayor pureza del producto final, la eliminación de después del tratamiento de las aguas residuales y el consumo de sólo una fracción de la energía fósil necesaria normalmente para una extracción convencional (Campo, Gélvez, & Ayala, 2018).

La extracción asistida por ultrasonido (EAU) puede beneficiar a la industria química

en múltiples formas (Campo, Gélvez, & Ayala, 2018):

- Mejorar los rendimientos de la extracción.
- Mejorar los procesos de extracción acuosa sin utilizar disolventes.
- Mejorar la extracción de componentes sensibles al calor en condiciones que de otro modo tendría baja o rendimientos inaceptables.

Los efectos físicos de propagación que causa el ultrasonido en un medio se basan en la cavitación que produce altas fuerzas de cizallamiento y micro-chorros de superficie que genera varios efectos como son la degradación y desgaste en la superficie de las partículas. Además, la cavitación causa ciclos de expansión y contracción en el material expuesto, lo que causa una implosión en las paredes celulares de la matriz sólida que favorece la penetración de la transferencia de disolvente y la masa, aumentando la tasa de extracción. Los efectos químicos del ultrasonido generan radicales altamente reactivos en la matriz, como por ejemplo en el agua, se generan radicales por la disociación del agua ($\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{OH}^- + \text{H}^+$); que elevan la cantidad de radicales hidroxilos y puede dañar cualquier célula que entra en contacto (Campo, Gélvez, & Ayala, 2018).

La eficiencia de la extracción asistida por ultrasonido puede ser afectada por varias variables, tales como la composición del disolvente, temperatura, amplitud, ciclo, pH disolvente y la relación de disolvente/sólido (Robles & Ochoa, 2012).

La aplicación del US para la extracción de diferentes tipos de compuestos en alimentos se ha corroborado en diferentes estudios (Tabla 3).

Las frutas y verduras son frecuentemente utilizadas para la extracción de varias moléculas de interés (metabolitos secundarios), como antioxidantes, pigmentos, lípidos, fitoquímicos y aromas, destinados a aplicaciones directas o indirectas en los alimentos, industrias farmacéuticas y cosméticas. Las hierbas y especias son comúnmente utilizados

como fuentes de diversos compuestos de interés como antioxidantes, aromas, sabores, fragancias o compuestos volátiles que se pueden extraer de diferentes matrices como pimienta, romero o semillas de alcaravea, por ejemplo.

Las semillas de plantas oleaginosas son un recurso renovable disponible en todo el mundo, como soya, girasol, linaza, o de frutas (nueces, almendras, semillas de papaya, frutas sin cáscara). A partir de todas las fuentes de lípidos (semillas oleaginosas) es posible obtener glicerinas, ácidos grasos libres, pigmentos, esteroides, antioxidantes, alcaloides. Bacterias, levaduras, hongos y microalgas son capaces de producir metabolitos interesantes primarios y secundarios como pigmentos, antioxidantes, polisacáridos, ácidos, lípidos, empleadas para aplicaciones cosméticas, alimentarias, farmacéuticas y de biocombustibles (Campo, Gélvez, & Ayala, 2018).

Tabla 3. Aplicaciones del ultrasonido en la extracción de compuestos (Campo, Gélvez, & Ayala, 2018).

Matriz	Extracto	Tipo de Proceso	Condiciones de proceso
Frutas y verduras			
Orujo de uva	Compuestos fenólicos	US sonda (20 kHz, 130 W, 13 mm)	T=60-85 °C/ t=10-60 min/ V=200 mL/ Solvente: etanol, agua, etanol al 50%, etanol al 70%, y metanol al 70%
Morera (<i>Morus nigra</i>) de pulpa	Compuestos fenólicos- Antocianinas	US baño (200 W, 24 kHz)	T=48°C/ t=10 min/ V=600 mL Solvente: 76% metanol en agua
Patata	Polifenoles Antocianinas Proteínas	US baño (45 kHz, 178 W)	T=80 °C/ t=40 min/ Solvente: etanol 58%

Patata	Antocianinas Compuestos fenólicos	US baño (20 kHz, 150 W)	T=68°C/ t=52 min/ Disolvente: agua
Alfalfa	Flavonoides	US baño (40 kHz, 110 W)	T=60 °C/ t=50 min/ Solvente: etanol 52,14%
Arándanos	Antocianinas	US sonda (50 kHz, 1500 W)	T=25 °C/ t=40 min/ Solvente: etanol 70%
Mora	Antocianinas	US sonda (24 kHz, 400 W, 14 mm)	T=50 °C/ t=60 min/ Solución de etanol al 30%
Hierbas, especias			
Flores de <i>Limonium sinuatum</i>	Antioxidantes	US baño (40 kHz, 400 W)	T=40 °C/ t=9.8 min/ Solvente: etanol 60%
Flores de <i>Hemerocallis citrina</i>	Flavonoides	US baño (40 kHz, 500 W)	T=55 °C/ t=20 min/ Solvente: etanol 70%
Microorganismo			
<i>Cichorium intybus</i> L. var. <i>sativum</i>	Polifenoles	US baño (30.8 kHz, 0- 100 W)	T=20.60 °C / t=120 min/ V=600 mL/ Solvente: etanol 0 60%
Residuos agroindustriales			
Residuo de café molido	Compuestos fenólicos- Flavonoides	US sonda (20 kHz, 244 W, 12.5 mm)	T=40 °C/ t=34 min/ SL=1.17g/ml

Cáscaras de naranja, limón y mandarina	Flavonoides	US baño (45 kHz, 130 W)	T=60°C/ t=60 min/ Solvente: etanol 96%
Filamentos de maíz	Polifenoles	US sonda (25 kHz, 520 W)	t=15 min/ Solvente: etanol 61.08%
Cáscara de la fruta jaca	Pectina	US sonda (2 cm)	T=60°C/ t=24 min/ Solvente: etanol 95%
Cáscara de maracuyá	Pectina	US baño (40 kHz, 110 W)	T=45°C/ t=20 min/ Solvente: etanol al 96%

1.8.1 Principios del ultrasonido de alta frecuencia (baja energía)

El sonido se propaga a través de los materiales alimenticios como ondas mecánicas que causan compresiones y descompresiones alternantes. Esas ondas ultrasónicas tienen longitudes de onda, velocidad, frecuencia, presión y periodos característicos. La interacción de las ondas del sonido con la materia altera la velocidad y atenuación de las ondas del sonido, vía mecanismos de absorción o dispersión (Ulloa, Rosas, & Ramírez, 2013). La velocidad del sonido es el producto de la frecuencia y longitud de onda, por lo tanto, el sonido de alta frecuencia tiene longitudes de onda corta, mientras que las ondas de baja frecuencia tienen longitud de onda larga. La velocidad del ultrasonido (v) está determinada por la densidad (ρ) y la elasticidad (E) del medio de acuerdo con la ecuación de Newton-Laplace (Pérez, 2019):

$$v = \sqrt{\frac{E}{\rho}}$$

Esta ecuación implica que la velocidad del ultrasonido de un material sólido es más grande que el de su forma líquida (por ejemplo, chocolate sólido y fundido). Para el análisis de materiales alimenticios, la velocidad del sonido es muy sensitiva a la organización molecular e interacciones intramoleculares, lo cual hace a las mediciones de la velocidad del ultrasonido idóneas para determinar la composición, estructura, estado físico, así como en diversos procesos moleculares (como transición de fase y cinéticas de cristalización en grasas a granel, emulsiones y nanopartículas lipídicas sólidas) y para la detección de cuerpos extraños en alimentos procesados y envasados (Pérez, 2019).

Otros de los parámetros del ultrasonido que correlaciona con muchas propiedades fisicoquímicas de los materiales son el coeficiente de atenuación y la impedancia acústica.

La atenuación se provoca por la pérdida de energía en la compresión y descompresión de las ondas del ultrasonido, debido a las contribuciones de la absorción y dispersión. La contribución de la absorción de la atenuación está asociada con materiales homogéneos, mientras que la dispersión sólo se presenta en materiales heterogéneos. La atenuación se ve afectada por la viscosidad, compresibilidad, material de la pared y los efectos de dispersión y adsorción, lo cual proporciona información acerca de las propiedades fisicoquímicas de los materiales alimenticios, tales como relajación molecular, microestructura, composición de la fase, viscosidad gruesa y reología, cinéticas de reacciones químicas rápidas, así como tamaño de gotitas y estabilidad en emulsiones. Además, el coeficiente de atenuación para un material dado es altamente dependiente de la forma en la cual el material se manufacturó, lo cual puede ser útil en aseguramiento del control de calidad de algunos productos (Ulloa, Rosas, & Ramírez, 2013).

La impedancia acústica es el producto de la densidad y la velocidad del sonido que pasa a través de las fronteras de los diferentes materiales, lo cual afecta el coeficiente de reflexión. Los materiales con diferentes densidades tendrán diferentes impedancias

acústicas, lo cual provoca reflexiones de las fronteras o límites entre dos materiales con diferente impedancia acústica (Ulloa, Rosas, & Ramírez, 2013).

1.8.2 Principios del ultrasonido de baja frecuencia (alta energía)

La propagación del ultrasonido a través de materiales biológicos induce compresiones y descompresiones (rarefacciones) de las partículas del medio, lo cual genera una gran cantidad de energía. El ultrasonido de alta energía tiene efectos mecánicos, químicos y/o bioquímicos, mismos que se utilizan para modificar las propiedades fisicoquímicas y mejorar la calidad de varios sistemas alimenticios durante su procesamiento. Algunos de los efectos mecánicos del ultrasonido de alta frecuencia son la extracción de sabores, desgasificación, destrucción de espumas, mejoramiento de la cristalización y modificación del polimorfismo. Por otra parte, los efectos químicos y bioquímicos son herramientas efectivas para la esterilización de equipos, prevención de contaminación de superficies de procesamiento de alimentos por microorganismos patógenos o biopelículas bacterianas (Pérez, 2019).

En general, la energía, presión, velocidad y temperatura son los principales parámetros que afectan el ultrasonido de alta frecuencia. El ultrasonido de alta energía puede describirse con base en la siguiente ecuación:

$$Pa = P_{amax} . \text{sen}(2\pi ft)$$

Donde Pa es la presión acústica, la cual es dependiente del tiempo (t), frecuencia (f) y la amplitud de presión máxima de la onda. P_{amax} está relacionada con la potencia de entrada o intensidad (I) del transductor:

$$I = P_{amax}/2\rho v$$

Donde p es la densidad de medio y v es la velocidad del sonido en el medio.

A bajas intensidades (o altas frecuencias), las corrientes acústicas son el principal mecanismo. La corriente acústica es el movimiento y mezclado del fluido sin formación de burbujas. Las intensidades altas (bajas frecuencias) inducen la cavitación acústica debido a la generación, crecimiento y colapso de burbujas grandes, lo que provoca la liberación de grandes cantidades de energía (Ulloa, Rosas, & Ramírez, 2013).

Las diferentes maneras en las que la cavitación puede utilizarse benéficamente en el procesamiento de alimentos son: la reducción de tiempo de reacción, el aumento en el rendimiento de la reacción, así como en el uso de condiciones menos drásticas (temperatura y presión), en comparación con los procedimientos tradicionales. Los efectos químicos de ultrasonido no ocurren de una interacción directa con las especies moleculares, sino de un fenómeno de cavitación acústica, la formación, crecimiento y colapso implosivo de cavidades (burbujas de gas) en líquidos, que liberan grandes cantidades de energía de forma muy localizada.

El colapso de las burbujas de cavitación cercanas a las superficies de sólidos forma micro-corrientes asimétricas, que limpian las superficies de contaminantes. Además, las micro-corrientes generadas cerca de la interface entre dos líquidos inmiscibles (por ejemplo, agua y aceite) facilitan la emulsificación. Con la cavitación, las moléculas de agua pueden romperse para formar radicales libres, los cuales intensifican reacciones químicas, inducen el entrecruzamiento de moléculas de proteínas en sistemas acuosos y mejoran la velocidad de reacciones de transporte de masa debido a la generación de turbulencias locales y microcirculación líquida (corrientes acústicas). Los radicales hidroxilos ($\text{OH}\cdot$) y átomos de hidrógeno se generan por disociación de las moléculas de agua en soluciones acuosas, como resultado de la temperatura alta y presión del colapso de las burbujas de gas asociadas con la cavitación (sonólisis) (Ulloa, Rosas, & Ramírez, 2013).

La formación de radicales libres por el ultrasonido puede ser o no benéfica. Existen preocupaciones respecto al daño oxidativo potencial asociado con los radicales libres, lo cual se considera una desventaja para la conservación de fenoles, pero pueden mejorar la eficiencia antioxidante de los flavonoides. La oxidación causada por radicales libres puede ser benéfica para algunos tipos de chocolates, pero perjudicar el de otros. Por lo tanto, es importante aceptar que el ultrasonido de alta energía no es una tecnología estandarizada, y que la relación entre la duración, intensidad y frecuencia de las ondas de ultrasonido y sus efectos sobre las propiedades funcionales y tecnológicas de los alimentos deberá evaluarse considerablemente para cada aplicación (Ulloa, Rosas, & Ramírez, 2013).

1.9 Ventajas y desventajas de la técnica del ultrasonido

1) En la salud humana

- El ultrasonido, por ser una técnica no destructiva de tejidos, no produce ninguna reacción secundaria comprobada al ser humano; los alimentos tratados no producen modificaciones genéticas.
- Mejora la digestibilidad de proteínas debido a la cavitación y al rompimiento de cadenas de aminoácidos no digeribles por algunas personas. Las propiedades nutricionales de los alimentos se mantienen estables, y su margen de calidad, alta.
- No se debe confundir los tratamientos de ultrasonidos de potencia con ultrasonidos de señal. Los ultrasonidos de potencia utilizados en alimentos tienen rangos de frecuencia entre 20kHz y 100KHz; si se somete a alimentos, con frecuencias más altas, se estaría tratando entonces con frecuencias de señal que sí pueden producir radicales libres en aceites y la destrucción de células tanto benéficas como no benéficas para el organismo (Delgado, 2012).

2) Procesamiento de alimentos

La desventaja al aplicar el ultrasonido en grandes volúmenes de producción es que no es totalmente eficiente y se requiere la combinación de tratamientos de calor, presión o ambos (Delgado, 2012). Puede haber eficiencia reducida en levaduras y mohos (Rojas S. , 2019).

- Ultrasonidos de potencia de 20-100 kHz tienen una aplicación potencial en la descontaminación de productos frescos.
- Técnica no destructiva rápida y fiable (Rojas S. , 2019).
- Su efecto en esporas es muy efectivo, pero se requiere de mucho tiempo.
- La técnica es óptima para mejorar cualidades como emulsificación, viscosidad, desairado en líquidos, inactivación de enzimas y vida útil (Delgado, 2012).

Capítulo II

2.1 Compuestos fenólicos

Las plantas sintetizan una gran cantidad de metabolitos primarios y secundarios. Los metabolitos primarios son moléculas que están directamente relacionadas con funciones vitales de la planta, mientras que los secundarios son moléculas orgánicas que, a diferencia de los primarios, no parecen tener una función directa en procesos fotosintéticos, respiratorios, asimilación de nutrientes, transporte de solutos o síntesis de proteínas, carbohidratos o lípidos, y provienen todos de sustancias sintetizadas en el metabolismo primario, con algunas reacciones posteriores se forman las sustancias pertenecientes al metabolismo secundario (Martin, 2018).

Los compuestos fenólicos están ampliamente distribuidos en el reino vegetal. Su función principal en las plantas es brindar protección contra la luz UV, regular el transporte de hormonas y atraer a polinizadores y dispersores de semillas, además de proporcionar protección al ataque de patógenos o herbívoros. Así, los colores amarillos, naranjas, rojos y azules de algunas flores y frutos se deben a estos compuestos, que también contribuyen a otras características organolépticas de los productos vegetales, como sabores (normalmente amargos y astringentes), y olores debido a la presencia de aceites esenciales (Coyago, Corell, & Meléndez, 2017).

Además de plantas (frutas, semillas y flores), los compuestos fenólicos se pueden encontrar en productos como vino, cerveza, té verde, té negro y soya, los cuales se consumen directamente de forma habitual dentro de la dieta y algunos también como componentes de suplementos nutricionales (Coyago, Corell, & Meléndez, 2017).

2.2 Clasificación de compuestos fenólicos presentes en alimentos

Para comprender la estructura química de los compuestos fenólicos es importante comenzar con su molécula básica, el fenol (Figura 2), el cual se compone de un anillo aromático (fenil) unido a un grupo hidroxilo (OH). El anillo aromático juega un papel importante en las propiedades antioxidantes (Peñarrieta, Tejeda, Mollinedo, Vila, & Bravo, 2014).

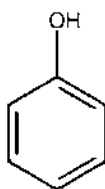


Figura 2. Estructura química del fenol.

2.2.1 Fenoles simples

Los fenoles simples son compuestos que tienen dos grupos hidroxilo (en las posiciones 1,2; 1,3 o 1,4) o tres (en las posiciones 1,3,5 o 1,2,3) en el anillo aromático (Figura 3). En cuanto a su presencia en los alimentos, los derivados de resorcinol, que son compuestos en su mayoría anfifílicos, están presentes en muchos cereales. Además de sus propiedades antioxidantes, estos compuestos fenólicos tienen también una actividad biológica importante, como los antibióticos, antiparasitarios y citotóxicos (Peñarrieta, Tejeda, Mollinedo, Vila, & Bravo, 2014).

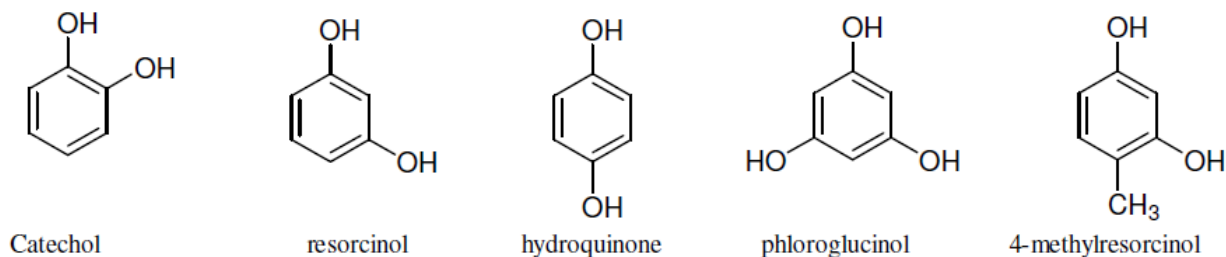


Figura 3. Estructuras químicas de compuestos fenólicos simples.

2.2.2 Fenoles ácidos

Los ácidos fenólicos consisten en dos grupos: los ácidos hidroxibenzoicos y los ácidos hidroxicinámicos (Venanzi, 2014). 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. Los ácidos hidroxicinámicos son más efectivos en su actividad antioxidante que los ácidos hidroxibenzoicos (Peñarrieta, Tejeda, Mollinedo, Vila, & Bravo, 2014).

2.2.2.1 Ácidos hidroxibenzoicos

Los ácidos hidroxibenzoicos son compuestos que presentan un grupo carboxílico (grupo ácido) y grupos hidroxilo (uno o más) en un anillo aromático, como se ilustra en la Figura 4. Están presentes en alimentos como frutas, verduras y cereales. Muchos estudios han informado de la actividad biológica de los ácidos hidroxibenzoicos, por ejemplo, el ácido protocatéquico presentó un efecto protector frente a lesiones de hígado en modelos animales (Peñarrieta, Tejeda, Mollinedo, Vila, & Bravo, 2014).

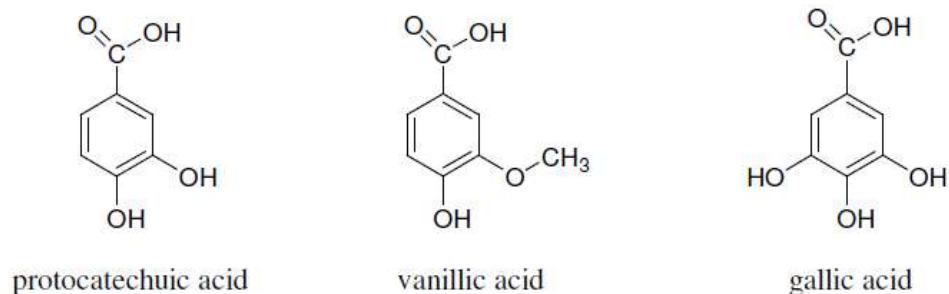


Figura 4. Ácidos hidroxibenzoicos.

2.2.2.2 Ácidos hidroxicinámicos

Esta clase de ácidos fenólicos se caracteriza por la presencia del grupo $\text{CH} = \text{CH}-\text{COOH}$ en remplazo del grupo COOH presente en los ácidos hidroxibenzoicos. 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 (Figura 5). Ejemplos de fuentes de ácido hidroxicinámicos en los alimentos son las uvas, manzanas, arándanos, espinacas, brócoli, col rizada, el café y los cereales. Aparte de su capacidad antioxidante, los ácidos hidroxicinámicos han mostrado actividad antígenotóxicos y antiproliferativa en células (Peñarrieta, Tejeda, Mollinedo, Vila, & Bravo, 2014).

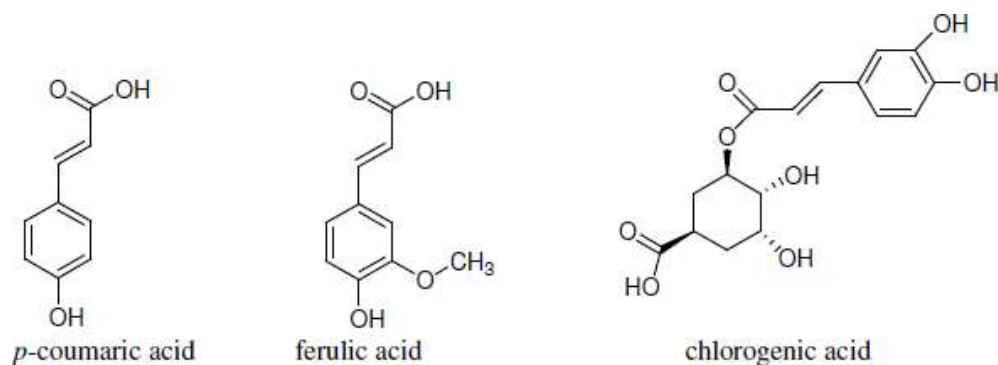


Figura 5. Ácidos hidroxicinámicos.

2.2.3 Cumarinas

Las cumarinas poseen un anillo aromático unido a un heterociclo oxígeno. Son compuestos fenólicos, en particular, cuando un grupo hidroxilo está unido a un esqueleto de estructura cumarina. Un ejemplo de esto es la umbeliferona (Figura 6), en el que hay un grupo hidroxilo en la posición 7 en el anillo aromático (Peñarrieta, Tejeda, Mollinedo, Vila, & Bravo, 2014).

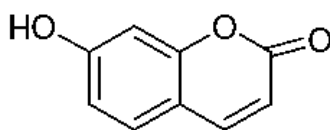


Figura 6. Umbeliferona.

Las cumarinas están ampliamente distribuidas en frutas y hortalizas, y, por ejemplo, umbeliferona se ha encontrado que tiene actividad antioxidante considerable, así como propiedades antibacterianas (Peñarrieta, Tejeda, Mollinedo, Vila, & Bravo, 2014).

2.2.4 Xantonas, estilbenos y benzofenonas

Estos tres tipos de compuestos se encuentran de forma natural en varias plantas. Por ejemplo, xantonas y benzofenonas se reportaron en las raíces y frutas exóticas, mientras que estilbenos en diferentes tipos de frutas y alimentos, en particular, en las uvas. Sus estructuras se relacionan, ya que tienen dos anillos aromáticos unidos por cetona, heterocíclicas o grupos vinilo (Peñarrieta, Tejeda, Mollinedo, Vila, & Bravo, 2014).

En cuanto a su actividad biológica, el resveratrol, un estilbeno (Figura 7) muestra actividad frente a diversas enfermedades crónicas, como inflamación, artritis, enfermedades cardiovasculares, y retrasa el envejecimiento (Medina, 2017). Mientras que

las xantonas mostraron actividad antiprotozoarios incluyendo la actividad contra la *Leishmania* (Peñarrieta, Tejeda, Mollinedo, Vila, & Bravo, 2014).

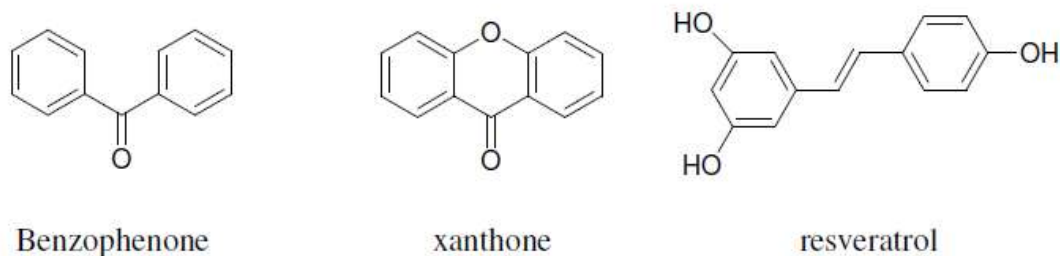


Figura 7. Xantonas, estilbenos y benzofenonas.

2.2.5 Quinonas

Otro grupo importante de compuestos fenólicos es el de las quinonas, que se caracteriza por un anillo dieno completamente conjugado. Pueden ser clasificadas como ubiquinonas, con la coenzima Q_{10} como un ejemplo típico, antraquinonas cuando tienen dos anillos fenólicos en la estructura de quinona, como la emodin (Figura 8) y naftoquinonas (poco frecuentes) que tienen un solo anillo aromático ligado al anillo conjugado por un grupo cetona doble. Se ha visto que las quinonas poseen propiedades redox y la coenzima Q_{10} es considerada un potente antioxidante (Peñarrieta, Tejeda, Mollinedo, Vila, & Bravo, 2014).

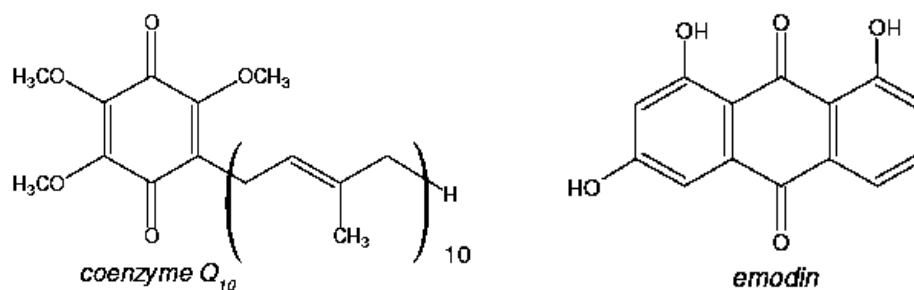


Figura 8. Quinonas.

2.2.6 Betacianinas

Estos compuestos son pigmentos presentes en los alimentos como la remolacha (Paladino, 2008). La betanidin (Figura 9) y la isobetanidin se han identificado como responsables del color rojo de remolacha. Las betacianinas también han sido encontradas en las tunas (*Opuntia ficus-indica*), frutas populares en América del Sur y en el ulluco (*Ullucus tuberosus*) una raíz andina. La betanidina extraída de remolacha ha demostrado tener una alta capacidad antioxidante *in vitro* (Peñarrieta, Tejeda, Mollinedo, Vila, & Bravo, 2014).

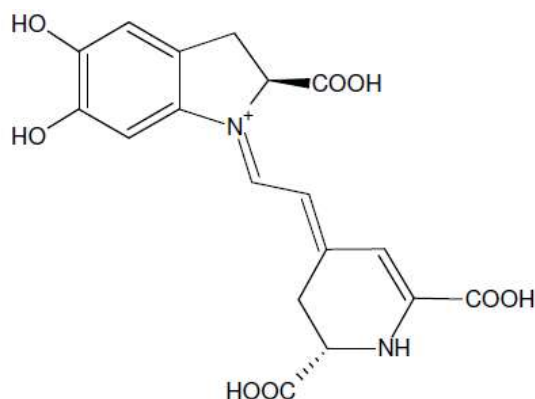


Figura 9. Betanidin.

2.2.7 Lignanos y ligninas

Los lignanos son compuestos fenólicos dímeros, y son derivados de fenilalanina y alcoholes cinámicos presentes en varios alimentos, como granos, hortalizas y uvas. La figura 10 muestra algunos ejemplos de estructuras aisladas de plantas y granos. Los lignanos han demostrado una capacidad antioxidante significativa, y se consideran como fuentes de fitoestrógenos en la dieta, en particular el sesamol, un derivado de la estructura de la sesamina (Figura 10) (Peñarrieta, Tejeda, Mollinedo, Vila, & Bravo, 2014).

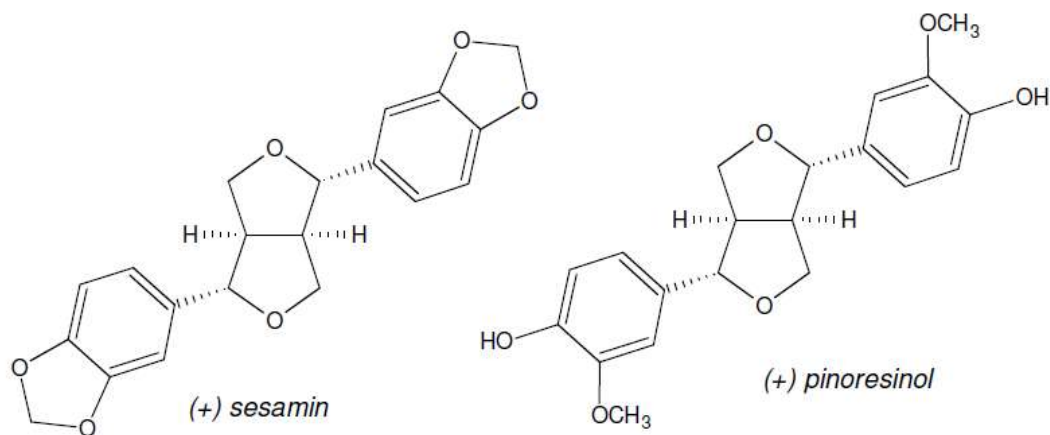
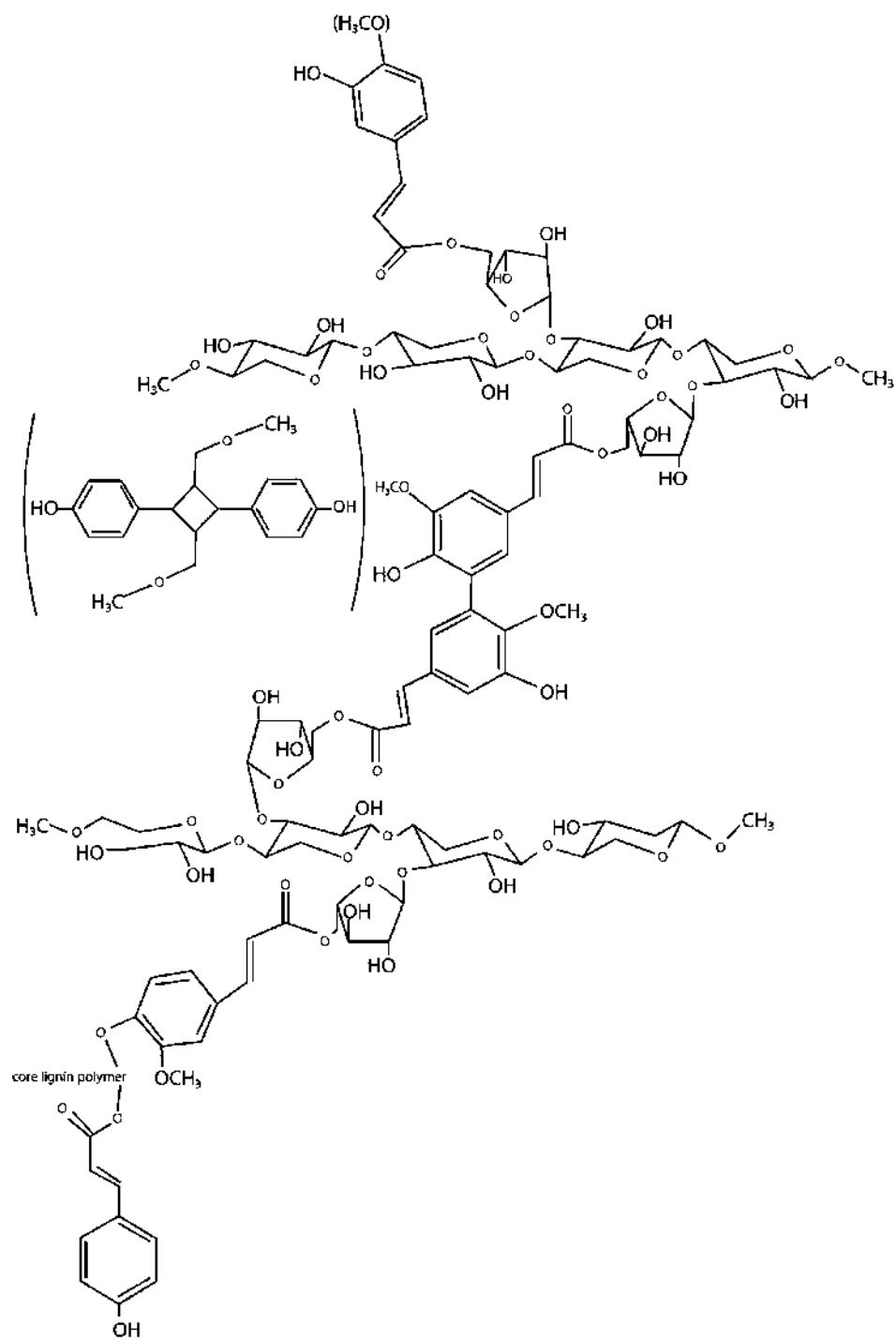


Figura 10. Lignanos.

Las ligninas son polímeros fenólicos complejos consideradas como los segundos más abundantes biopolímeros en el reino vegetal después de la celulosa. La función biológica de este tipo de moléculas es proporcionar apoyo estructural en las plantas, por ejemplo, para el transporte del agua a través del tejido de la planta.

Sus estructuras químicas son muy heterogéneas ya que están compuestas de polímeros complejos, y que constituyen parte de la fibra dietética en los alimentos. Están formados por compuestos fenólicos polimerizados con los azúcares. Por ejemplo, en la Figura 11, se puede observar la presencia de ácido dentro la estructura de la lignina, y un puente de los ácidos p-cumáricos en las cadenas a través de ésteres de ácidos truxílico (entre paréntesis). 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 (Peñarrieta, Tejeda, Mollinedo, Vila, & Bravo, 2014).



Model lignin- ferulic acid-polysaccharide.

Figura 11. Ligninas.

2.3 Clasificación de flavonoides presentes en alimentos

Los flavonoides son un tipo particular de los polifenoles presentes en plantas, y son los responsables del color de flores y frutas. El término flavonoide viene del latín "flavus", que significa amarillo, ya que muchos flavonoides purificados son de color amarillo (Paladino, 2008). La estructura química típica de flavonoides (Figura 12) consta de tres anillos: benzopirano 2-fenil, un anillo dihidroxilados fenólicos en las posiciones 5 y 7, (denotado A), un segundo anillo fenólico generalmente mono-hidroxilado, orto-dihidroxilados o vic-trihidroxilados (que se denota B), que también pueden contener grupos metoxi (O-CH_3) como sustituyentes y el anillo C, que puede ser un anillo heterocíclico con oxígeno pirano, pirylium o de forma pirona (Peñarrieta, Tejeda, Mollinedo, Vila, & Bravo, 2014).

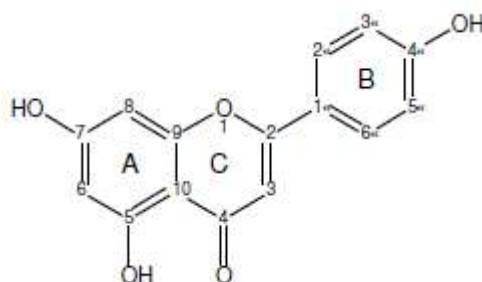


Figura 12. Estructura básica de un flavonoide.

2.3.1 Chalconas

Las chalconas son flavonoides que difieren en su estructura química de los flavonoides de base, ya que tienen una cadena lineal para conectar los anillos A y B en lugar del anillo heterocíclico C. Las chalconas son pigmentos amarillos responsables en parte del color de flores y frutas. Por ejemplo, butein (Figura 13) es una chalcona aislada de flores. Otros tipos de chalconas de interés biológico se encuentran en la cerveza, por ejemplo, el xanthohumol,

que está presente en el lúpulo y tiene propiedades antibacterianas y antioxidantes. Se han comprobado diversos tipos de actividad biológica en las chalconas, por ejemplo, citotóxicos, antiparasitarios y antifúngicos (Peñarrieta, Tejeda, Mollinedo, Vila, & Bravo, 2014).

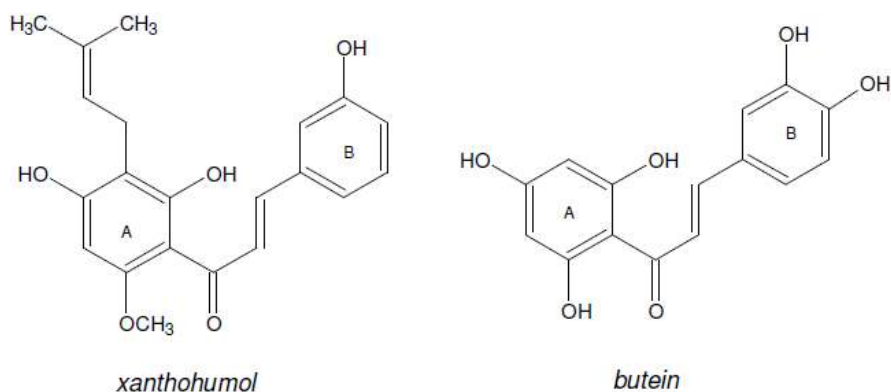


Figura 13. Chalconas.

2.3.2 Auronas

La estructura química de las auronas es similar a la de chalconas, con la diferencia de que la cadena lineal está sustituida por un anillo heterocíclico de cinco miembros relacionados con los anillos A y B (Figura 14). Así como las chalconas, las auronas también son pigmentos amarillos, por ejemplo, aureusidin, está presente en las flores (Peñarrieta, Tejeda, Mollinedo, Vila, & Bravo, 2014).

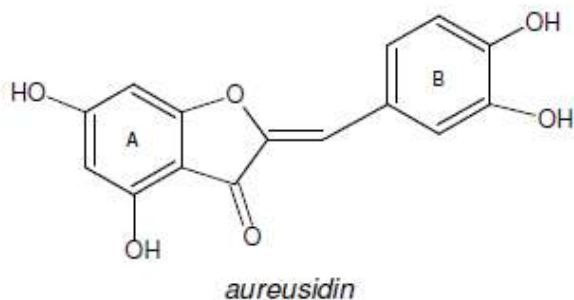


Figura 14. Estructura de una aurona común.

2.3.3 Flavononas y flavanonoles

La diferencia estructural entre estos tipos de flavonoides se encuentra en el anillo C (Figura 15). En comparación con las auronas y chalconas, el anillo C en flavononas es un anillo heterocíclico saturado de oxígeno de seis miembros, con un grupo cetona en la posición 4 en el anillo heterocíclico de oxígeno (como naringenina), mientras que en flavanonoles existe un grupo hidroxilo que se añade al anillo en la posición 5, cerca del grupo cetona (como en taxifolina). Estos tipos de flavonoides están presentes en nuestra dieta principalmente en las frutas. Por ejemplo, la naringenina es uno de los compuestos responsables de la amargura de los cítricos, mientras que taxifolina se ha encontrado en los frutos como el açai (*Euterpe sp.*), que son frutas amazónicas (Peñarrieta, Tejeda, Mollinedo, Vila, & Bravo, 2014).

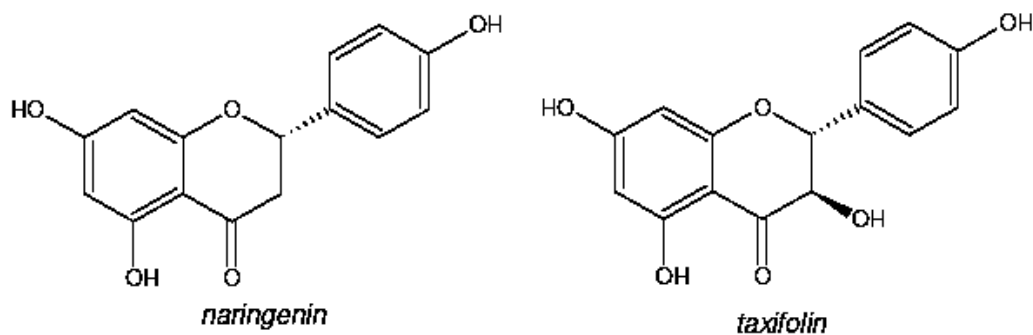


Figura 15. Flavononas y flavanonoles.

En cuanto a su actividad biológica, se ha encontrado que la taxifolina inhibió la síntesis y secreción de una serie de lípidos en células humanas de carcinoma hepático hepatocelular (HepG2), mientras que flavononas incluyendo naringenina mostraron propiedades anti-inflamatorias (Peñarrieta, Tejeda, Mollinedo, Vila, & Bravo, 2014).

2.3.4 Flavonas y flavonoles

Estos grupos tienen estructuras similares a flavononas y flavanones con la salvedad de que en el anillo C presentan un enlace insaturado en las posiciones 2 y 3 (Figura 16). 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 procesamiento de alimentos (Peñarrieta, Tejeda, Mollinedo, Vila, & Bravo, 2014).

Una de las flavonas más comunes es apigenina, que se encuentra en las plantas alimentarias como la oca (*Oxalis tuberosa*). En el caso particular de flavonoles, la quercetina y el kaempferol son los compuestos más comunes que se encuentran en alimentos como glucósidos, así como fueron identificados y cuantificados en cereales andinos como canihua (Peñarrieta, Tejeda, Mollinedo, Vila, & Bravo, 2014). En cuanto a sus propiedades en los alimentos, los flavonoles y flavonas presentan varios tipos de actividad biológica. Por ejemplo, antioxidante, anti-inflamatorio, la actividad antígenotóxica y antihiper glucemiante (Medina, 2017).

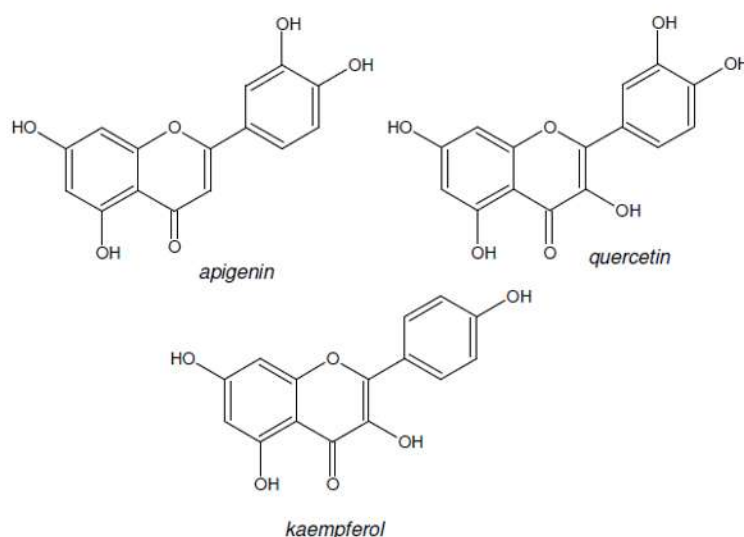


Figura 16. Flavonas y flavonoles.

2.3.5 Isoflavonas y neoflavonoides

Las isoflavonas y neoflavonoides se caracterizan por una diferencia en la posición del anillo B en comparación con la estructura básica de los flavonoides (Figura 17). En las isoflavonas (3-fenilbenzopirano) el anillo B está en la posición 3 en el heterociclo C, mientras que en neoflavonoides (4-fenilbenzopirano) el anillo B está en la posición 4 y el grupo de cetona en la posición 2. En alimentos, las isoflavonas están presentes, por ejemplo, en la soya y el lupinus andino, mientras que neoflavonoides son compuestos poco frecuentes en *Dalbergia* *sp.*, planta medicinal usada en China (Peñarrieta, Tejeda, Mollinedo, Vila, & Bravo, 2014).

Las isoflavonas son clasificadas como fito-estrógenos por sus efectos estrogénicos, su consumo en la dieta se asocia con protección contra el cáncer de seno en las mujeres y de próstata en los varones, enfermedades cardiovasculares, cánceres relacionados con procesos hormonales y los síntomas de la menopausia, así como, actividad antioxidante con efectos antiinflamatorios y vasodilatadores (Medina, 2017).

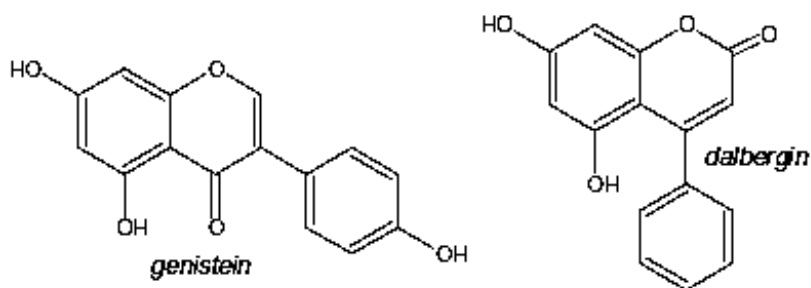


Figura 17. Estructuras de isoflavonas y neoflavonoides.

2.3.6 Flavan-3-oles

Los flavan-3-oles, o flavanes, tienen una estructura química basada en un anillo C que no muestra la saturación, y un grupo hidroxilo en la posición 3 del heterocíclico 2-fenilbenzopirano. En este grupo de flavonoides están las catequinas, taninos condensados y leucoantocianinas. En comparación con otros flavonoides, las catequinas se encuentran en la naturaleza como agliconas (Peñarrieta, Tejeda, Mollinedo, Vila, & Bravo, 2014).

2.3.7 Catequinas

Las catequinas son el tipo más común de compuestos flavan-3-ol. Catequina, término que deriva del árbol de la mimosa (*Cassia catechu*) del que se aisló por primera vez el catecol. Las catequinas presentan al heterociclo 2-fenilbenzopirano como su estructura química básica y un grupo hidroxilo o galato en la posición 3. El grupo fenilo en la posición 2 puede tener uno o más grupos hidroxilo (Figura 18).

Las catequinas están presentes en muchas plantas alimenticias, los más populares son: el cacao en grano, té, arándanos y el vino. El efecto astringente en la boca después de comer productos de chocolate o beber té verde o vino se debe en parte a su presencia (Paladino, 2008). El consumo de catequina a través de los alimentos se asocia con la inhibición de la trombosis arterial, actividad anti-inflamatoria, reducción del colesterol total y lipoproteína de baja densidad en vivo como parte de su capacidad antioxidante (Peñarrieta, Tejeda, Mollinedo, Vila, & Bravo, 2014).

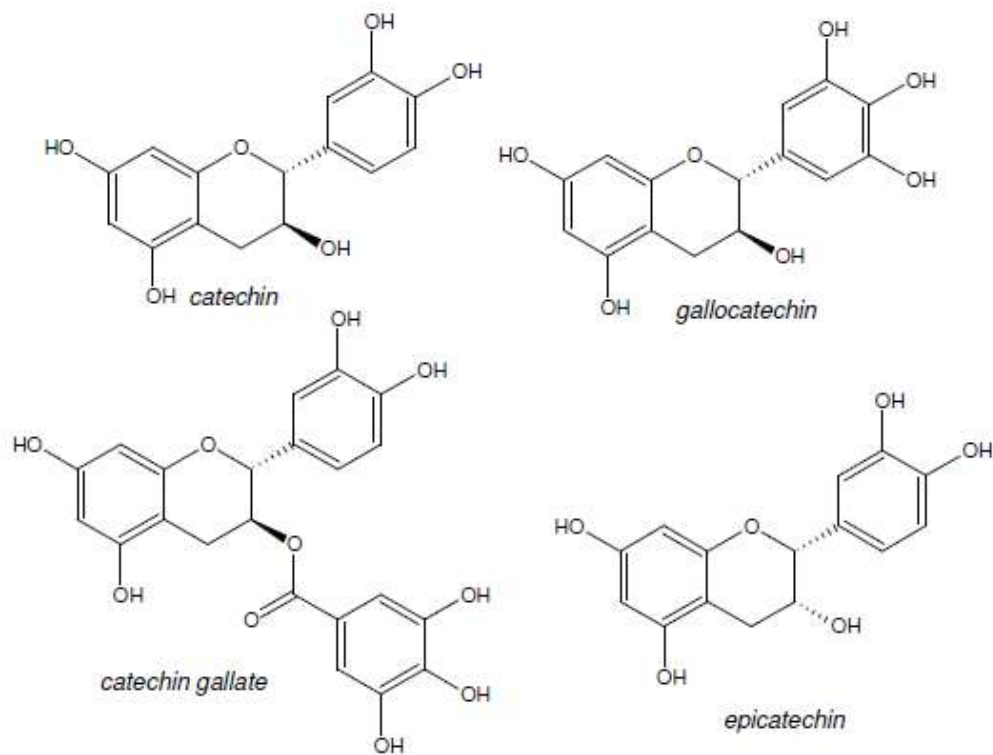


Figura 18. Catequinas.

2.3.8 Leucoantocianinas

Se trata de compuestos flavan y pueden ser referidos como flavan-3, 4-cis-dioles debido a la presencia de un grupo hidroxilo extra en la posición 4 del heterociclo C (Figura 19), en comparación con las catequinas. Las leucoantocianinas están presentes en las plantas y son precursores de las antocianinas, catequinas y taninos. Por ejemplo, el compuesto leucocianidina resultó ser precursor en la biosíntesis de flavonoides en las fresas (Peñarrieta, Tejeda, Mollinedo, Vila, & Bravo, 2014).

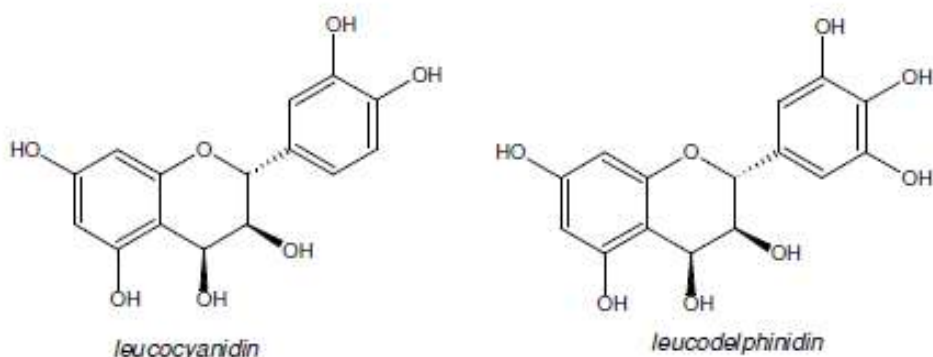


Figura 19. Estructuras de leucoantocianinas.

2.3.9 Antocianidinas

La principal característica de las antocianidinas en cuanto a su estructura química es la presencia de un catión en el anillo C y un grupo hidroxilo en la posición 3 del mismo anillo, en comparación con otros flavonoides (Figura 20). Son agliconas de las antocianinas y están ampliamente distribuidas (Peñarrieta, Tejeda, Mollinedo, Vila, & Bravo, 2014), las antocianidinas principales son: la cianidina, pelargonidina, peonidina, delphinidina, petunidina y malvidina (Medina, 2017). Son responsables del color rojo, naranja, violeta, azul y morado en las frutas, flores y demás partes de plantas. Su color depende del pH, los iones metálicos presentes y la combinación de las diferentes antocianidinas. La cianidina es la antocianidina más común en alimentos vegetales (Peñarrieta, Tejeda, Mollinedo, Vila, & Bravo, 2014).

Los compuestos antocianidinas fueron identificados y cuantificados en frutillas silvestres colectadas entre 2,650 y 3,200 metros sobre el nivel del mar en Bolivia, donde se mostró el contenido de cianidina en frutillas silvestres, que decrece en función a la altura.

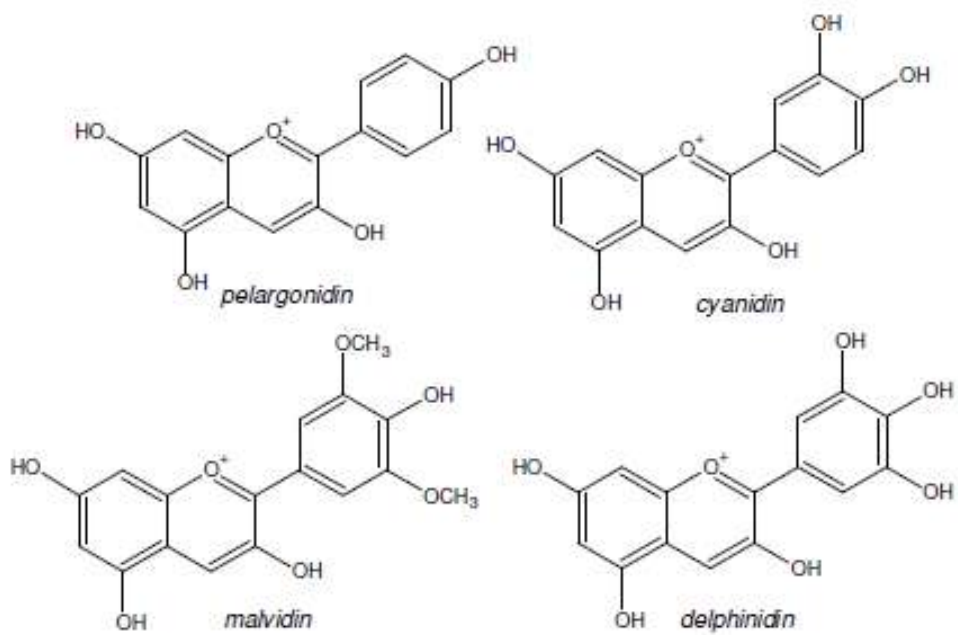


Figura 20. Antocianidinas.

2.3.10 Deoxiantocianidinas

Estos compuestos tienen estructuras químicas similares a las antocianidinas, excepto que no tienen el grupo OH en la posición 3 en el anillo C, que es la razón por la cual se les llama deoxiantocianidinas (Figura 21). Las deoxiantocianidinas también son compuestos similares en color a las antocianidinas. Deoxiantocianidinas se han encontrado en los alimentos, en particular cereales como el sorgo (Peñarrieta, Tejeda, Mollinedo, Vila, & Bravo, 2014).

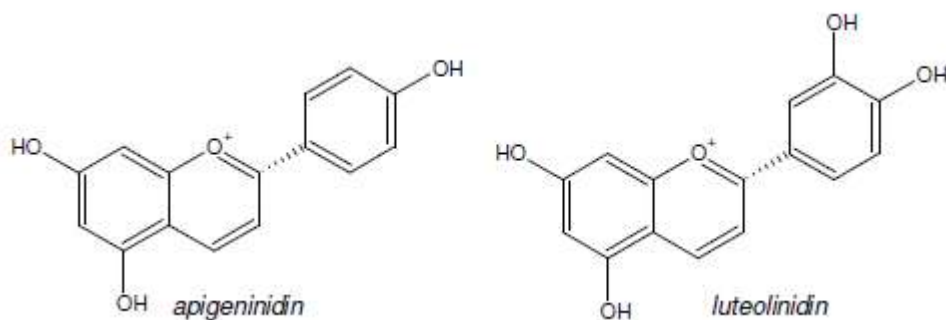


Figura 21. Estructuras de deoxiantocianidinas.

2.3.11 Antocianinas

Las antocianinas son glucósidos de antocianidinas. El glucósido es casi siempre la glucosa presente en la molécula en la posición 3-hidroxilo del anillo C, y cuando la antocianina tiene más de un glucósido la segunda posición del enlace es la posición 5 (Figura 22). Las antocianinas se encuentran ampliamente en alimentos de origen vegetal y, como las antocianidinas, son responsables de la coloración de los frutos y flores. Junto con los taninos, y antocianos son responsables del color rojo de los vinos añejos (Peñarrieta, Tejeda, Mollinedo, Vila, & Bravo, 2014).

Las antocianinas son utilizadas en la industria de alimentos como colorantes naturales, y se enumeran en el Codex Alimentarius bajo el código E169. Debido a su capacidad antioxidante, las antocianinas y antocianidinas se asocian como compuestos beneficiosos para la salud. Su consumo se ha asociado con la prevención de enfermedades relacionadas con el estrés oxidativo, como la enfermedad cardíaca coronaria y el cáncer (Peñarrieta, Tejeda, Mollinedo, Vila, & Bravo, 2014).

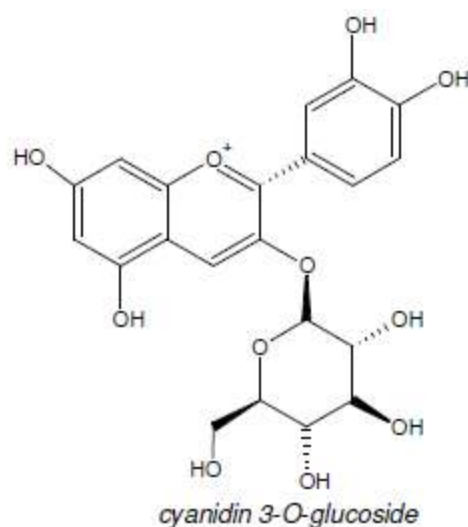


Figura 22. Antocianina 3-O-glucósido.

2.4 Taninos presentes en los alimentos

Los taninos son diversos compuestos fenólicos con la particularidad de que se unen a las proteínas y precipitan (Martínez, Periago, & Ros, 2000). El nombre taninos se refiere al proceso de curtido en el que se convierte la piel de los animales en cuero. Originalmente, los taninos extraídos de las plantas fueron utilizados para dicho proceso hasta que fueron remplazados por minerales durante el siglo pasado. Los taninos están presentes en hojas, frutos y cortezas. Se encuentran en el roble (*Quercus sp.*), castaño (*Castanea sp.*), entre otros. Estos compuestos complejos son parte de la protección de las plantas contra las infecciones y los herbívoros. Los taninos se clasifican en tres grupos según su estructura química: condensados, hidrolizables y complejos (Peñarrieta, Tejeda, Mollinedo, Vila, & Bravo, 2014).

2.4.1 Taninos condensados

Los taninos condensados son derivados de flavan-3-ol (Venanzi, 2014). Se encuentran

como monómeros, así como unidades estructurales en las cadenas que van desde proantocianidina, catequina y/o dímeros derivados de catequina a polímeros de mayor tamaño (Figura 23) (Peñarrieta, Tejeda, Mollinedo, Vila, & Bravo, 2014).

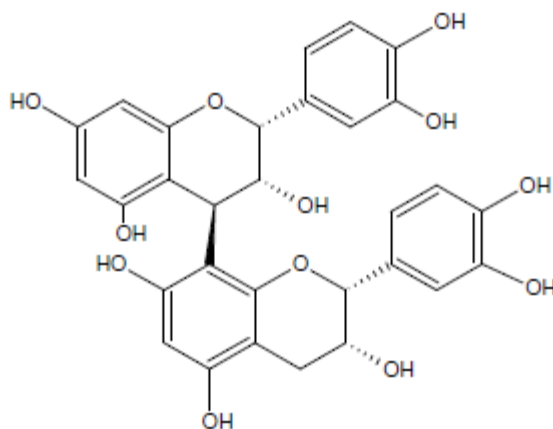


Figura 23. Procianidina B₂.

2.4.2 Taninos hidrolizables

Los taninos hidrolizables consisten principalmente en elagitaninos no conjugados, galotaninos y ácido elágico o formas conjugadas del ácido gálico. Estos se encuentran en las fresas y otras plantas (Peñarrieta, Tejeda, Mollinedo, Vila, & Bravo, 2014).

2.4.2.1 Elagitaninos.

Los elagitaninos se componen de un núcleo poliol (glucosa o el ácido quínico) y ésteres del ácido hexahidroxidifenico. En la presencia de bases o ácidos, el ácido hexahidroxidifenico espontáneamente se reordena para formar la unidad de ácido elágico, razón por la cual se les llama elagitaninos a estos compuestos. La Figura 24 muestra un elagitanino llamado α punicalin con una unidad de ácido elágico (Peñarrieta, Tejeda, Mollinedo, Vila, & Bravo, 2014).

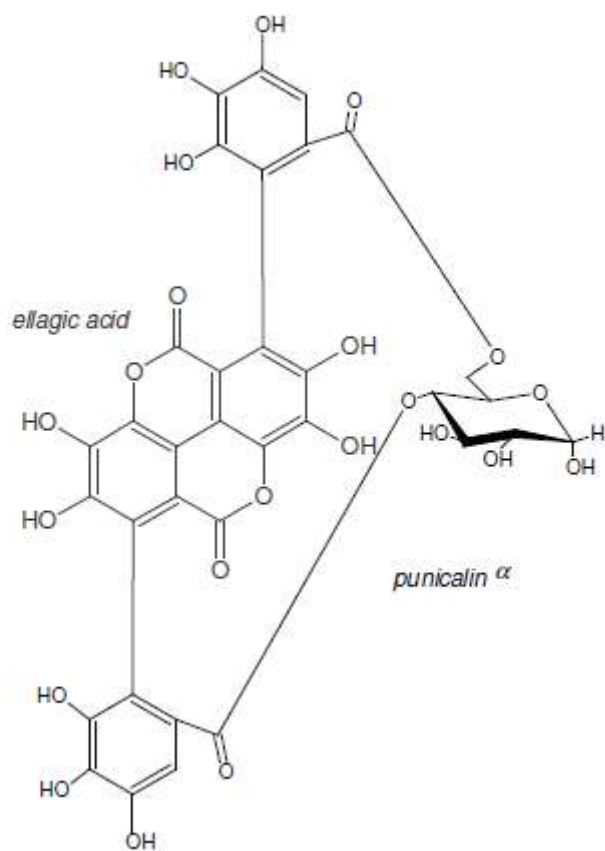


Figura 24. Elagitaninos.

Los elagitaninos se encuentran principalmente en frutas como el mango y las bayas. Además de su actividad antioxidante *in vitro*, el ácido elágico ha demostrado actividad antibacteriana. Sin embargo, así como los efectos beneficiosos, se ha asociado hepatotoxicidad con el consumo de elagitaninos en roedores y rumiantes (Peñarrieta, Tejeda, Mollinedo, Vila, & Bravo, 2014).

2.4.2.2 Galotaninos

Compuestos que poseen un núcleo de glucosa o azúcar en otro núcleo, esterificados con ácido gálico y sus derivados, lo que les hace hidrosolubles. Una estructura galotanino

básica se observa en la Figura 25. Están en frutas como uvas, fresas y frambuesas. Los galotaninos tienen actividad antioxidante y antibacteriana, y son prometedores como aditivos naturales al elaborar alimentos (Peñarrieta, Tejeda, Mollinedo, Vila, & Bravo, 2014).

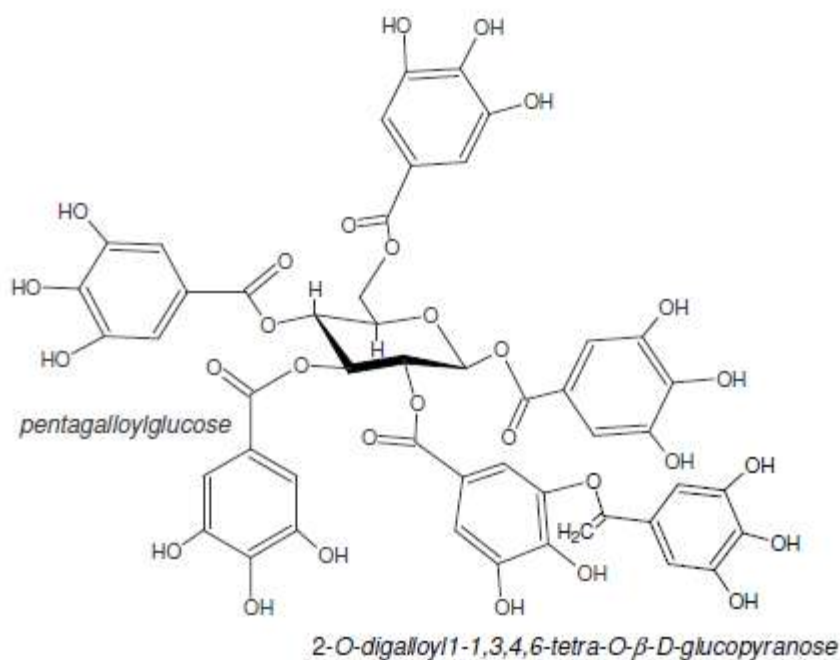


Figura 25. Ejemplos de galotaninos.

2.4.3 Taninos complejos

Los taninos complejos contienen unidades de catequina vinculados a galotaninos o elagitaninos, y se ha comprobado que los productos del añejamiento en el vino tinto se deben a la reacción entre catequinas de las uvas y galotaninos en los barriles de roble formando estos taninos complejos. La acutissimina A es un ejemplo de un tanino complejo que se encuentran en el vino tinto (Figura 26). Este compuesto ha demostrado inhibir el crecimiento de células cancerígenas, y es considerado un posible precursor para el desarrollo de nuevos medicamentos (Peñarrieta, Tejeda, Mollinedo, Vila, & Bravo, 2014).

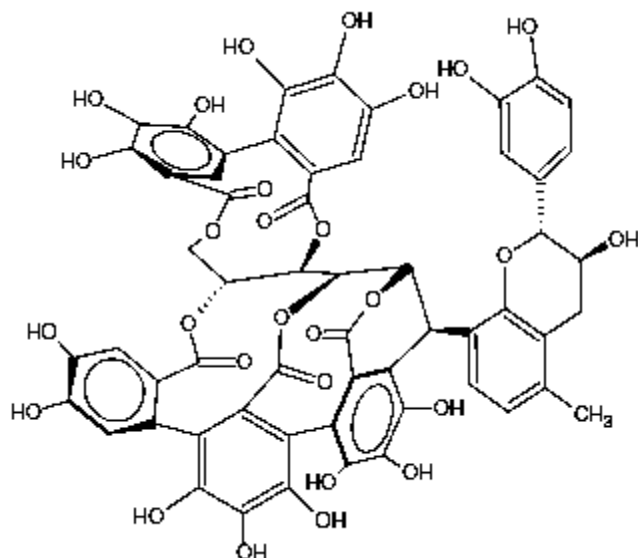


Figura 26. Acutissimina A

2.4.4 Flobafenos

La estructura química de flobafenos es poco conocida. Se les describe como polímeros de flavan-4-oles. Como ejemplo se pueden tomar las estructuras monómero básicas que corresponden a apiferol y luteoferol (Figura 27). Estos compuestos están presentes en maíz (*Zea mays*) y sorgo (*Sorghum bicolor*) y pueden ser parcialmente responsables del color rojo de algunas de sus variedades (Peñarrieta, Tejeda, Mollinedo, Vila, & Bravo, 2014).

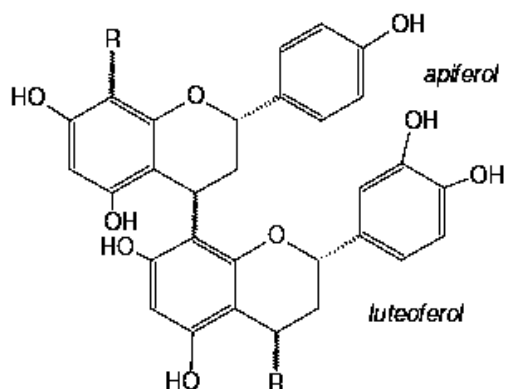


Figura 27. Flobafenos.

2.5 Biosíntesis de los compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos se forman en las plantas por la vía del ácido shikímico (Martin, 2018). El proceso enzimático en la planta comienza con la producción de fenilalanina y tirosina. La fenilalanina es el sustrato de la fenilalanina amonio-liasa (PAL), una enzima clave que conduce a la formación de los compuestos fenólicos. Otros compuestos fenólicos como el ácido gálico y sus derivados se forman a partir de la 3-dehidroshikimato vía dehidroshikimato deshidrogenasa. El metabolismo central de la vía fenilpropanoide comienza cuando la fenilalanina amonio-liasa convierte la fenilalanina en ácido cinámico y es hidroxilado por el ácido cinámico 4-hidroxilasa. Por último, el ácido 4-cumárico es esterificado por la coenzima A por el ácido 4-cumárico: ligasa CoA. La biosíntesis de flavonoides continúa por la vía de los fenilpropanoides, comenzando con la formación de chalconas mediante una reacción catalizada por chalcona sintetasa con ácido 4-cumárico: CoA y malonil-CoA como sustrato (Peñarrieta, Tejeda, Mollinedo, Vila, & Bravo, 2014).

2.6 Radicales libres

Los radicales libres son átomos o grupos de átomos que tienen un electrón desapareado, por lo que son muy reactivos, ya que tienden a captar un electrón de otros átomos con el fin de alcanzar su estabilidad electroquímica. El término “radical libre” enfatiza una reactividad más alta comparada con moléculas cuyos átomos están ligados a otros por covalencia (enlace por compartición de electrones). Una vez que el radical libre ha conseguido sustraer el electrón (reducción) que necesita, la molécula estable que lo pierde (oxidación) se convierte a su vez en un radical libre por quedar con un electrón desapareado, iniciándose una reacción en cadena. Debido a que estas especies reactivas no poseen receptores específicos, tienen una capacidad de agresión indiscriminada sobre células y tejidos vivos (Maldonado, Jiménez, & Guapillo, 2010).

Como producto de nuestro metabolismo se generan distintos tipos de radicales libres, como: Especies Reactivas de Oxígeno (ERO: el anión superóxido, el anión peróxido, el radical perhidroxilo, el radical hidroxilo) y Especies Reactivas de Nitrógeno (ERN: óxido nítrico, radical peroxinitrito), entre otros, cuya principal fuente son las mitocondrias, los lisosomas, los peroxisomas, así como la membrana nuclear, citoplásmica y del retículo endoplásmico (Maldonado, Jiménez, & Guapillo, 2010). Los radicales libres también son generados por factores como: la contaminación ambiental, exposición a radiaciones ionizantes, tabaco, medicamentos, aditivos químicos en alimentos procesados y algunos xenobióticos como pesticidas, herbicidas y fungicidas (Avello & Suwalsky, 2006). En condiciones fisiológicas normales, el organismo neutraliza las ERO a través de varios mecanismos antioxidantes que involucran la producción de enzimas antioxidantes como la superóxido dismutasa, catalasa, glutatión peroxidasa y otras, para prevenir el daño oxidante. Cuando la capacidad de control de las sustancias oxidantes es superada, se establece una situación conocida como estrés oxidante, la cual es una condición que se manifiesta en el organismo cuando la producción de sustancias altamente reactivas supera los mecanismos antioxidantes y está relacionada con numerosas enfermedades como procesos reumáticos, patologías de tipo gastroentéricas, renales, neurológicas, endócrinas, broncopulmonares, cáncer, diabetes y alteraciones cardiovasculares (Maldonado, Jiménez, & Guapillo, 2010).

2.6.1 Función de los radicales libres como mediadores fisiológicos

El papel de los radicales libres no ha de ser abordado sólo desde una perspectiva negativa o patológica. Estos compuestos cumplen también una función fisiológica al participar, en condiciones normales, en la defensa frente a infecciones, metabolismo normal, fagocitosis e inflamación (Avello & Suwalsky, 2006). La acción de los radicales libres o sus derivados como mediadores fisiológicos incluye: regulación del tono vascular, percepción de la

presión de oxígeno, regulación de funciones que son controladas por concentración de oxígeno, así como potenciar la transducción de señales intracelulares de varios receptores de la membrana, incluyendo el receptor de antígeno de linfocitos y respuestas de estrés oxidante que aseguran el mantenimiento del sistema redox (reacciones de oxidación-reducción). El radical óxido nítrico (-NO) es una molécula única, con las características propias de un neurotransmisor; tiene actividad vasodilatadora, es estimulante de la síntesis de músculo liso vascular y antiagregante plaquetario (Maldonado, Jiménez, & Guapillo, 2010).

En el sistema inmune los radicales libres funcionan como mediadores fisiológicos en contra de infecciones bacterianas. La presencia de oxígeno es un requisito vital para la destrucción y digestión de los agentes patógenos por los fagocitos. La fracción más abundante de las células de la sangre que pueden fagocitar son los leucocitos polimorfonucleares y macrófagos. El O_2 es el mediador del inicio del proceso fagocítico; los fagocitos captan el oxígeno en forma acelerada, aproximadamente cien veces más rápido que en su estado no activado, por lo que a este fenómeno se le conoce como estallido respiratorio, que es empleado para eliminar patógenos, y al mismo tiempo se producen algunos radicales libres, con enorme poder destructor, debido a su poder oxidante, tales como O_2^- , H_2O_2 , -OH y el ácido hipocloroso (ClOH). Otra de las funciones de los radicales libres es ser mediadores en la síntesis de prostaglandinas, colesterol y hormonas esteroideas. La hidroxilación de los aminoácidos lisina y prolina a hidroxilisina e hidroxiprolina, necesarios para la biosíntesis del colágeno, requiere de la participación del radical libre -OH (Maldonado, Jiménez, & Guapillo, 2010).

2.6.2 Daño a biomoléculas por radicales libres

Si bien es cierto que los radicales libres son elementos fundamentales en el metabolismo, también constituyen un riesgo, especialmente para las células y las biomoléculas, como los

ácidos nucleicos, las proteínas, polisacáridos y lípidos. El oxígeno es capaz de adicionarse a las bases nitrogenadas o a las pentosas que constituyen el ADN, formándose el radical peroxilo, lo que resulta en daños estructurales y diversas mutaciones. A su vez, todos los aminoácidos presentes en las proteínas tienen residuos susceptibles de ser atacados por los radicales libres, sobre todo por el radical hidroxilo. Dentro de los aminoácidos fisiológicos, la tirosina, la fenilalanina, el triptófano, la histidina, la metionina y la cisteína son los más propensos a sufrir procesos oxidantes. Esta oxidación puede generar un cambio conformacional de la proteína y como consecuencia la pérdida o modificación de su función biológica. El daño oxidante suele ser irreversible y puede conducir a la desnaturalización de la proteína. En las enzimas, puede impedir su actividad catalizadora y en los polisacáridos, cuya función es estructural, ocasiona su despolimerización, lo que da lugar a procesos degenerativos. Un caso especial es el ácido hialurónico cuya función es mantener la viscosidad del fluido sinovial. La exposición a agentes oxidantes, sobre todo al radical superóxido, provoca su fragmentación, lo que conduce a la desestabilización del tejido conectivo y a la pérdida de viscosidad del fluido sinovial, alteración que ocurre en la artritis reumatoide. Los lípidos, especialmente aquellos que contienen ácidos grasos poliinsaturados son susceptibles a presentar procesos de oxidación no controlados, peroxidación lipídica (Maldonado, Jiménez, & Guapillo, 2010).

2.7 Actividad antioxidante de los compuestos fenólicos

Cuando se menciona a los compuestos fenólicos, se asocia al caso de la «paradoja francesa»: los franceses, a pesar de ser grandes consumidores de grasas saturadas (mantequilla, crema de leche), tienen una menor incidencia de enfermedades cardiovasculares que otros países desarrollados como Finlandia, Alemania, Reino Unido o Estados Unidos. La clave de esta aparente contradicción se debe supuestamente a la

costumbre de beber vino de forma regular. Se ha demostrado que el consumo de unos 200 ml de vino tinto al día ayuda a reducir el riesgo de presentar un infarto de miocardio. Y esto se atribuye, en parte, a la presencia de antioxidantes fenólicos, como el resveratrol (Venanzi, 2014). Otro caso es el de las isoflavonas de la soya que están adicionadas a algunos alimentos funcionales o aparecen en complementos de la dieta, e incluso, en especialidades farmacéuticas publicitarias. Numerosos estudios han demostrado que, la dieta oriental, muy rica en soya, hace que las mujeres asiáticas presenten menos trastornos durante la menopausia. Así, problemas tan habituales como los cambios de humor, sofocos, osteoporosis y colesterol plasmático elevado son menos frecuentes en estas mujeres. Las isoflavonas son un grupo de compuestos fenólicos con estructura similar a los estrógenos, por lo que se pueden unir al receptor estrogénico y mimetizar la acción de la hormona natural. Se ha calculado que la ración diaria de isoflavonas en oriente es de unos 40 mg, por ello es frecuente ver suplementos o fármacos con esta cantidad (Gimeno, 2004).

De todos los compuestos fenólicos, el grupo de los flavonoides es el más extendido en la naturaleza y dentro de ellos, los flavonoles son los que poseen una mayor actividad antioxidante. Estudios epidemiológicos han demostrado que una ingestión rica en flavonoides se correlaciona con un menor riesgo de enfermedad cardiovascular y se ha observado que actúan a diferentes niveles (tabla 4). Por un lado, disminuyen las tasas de colesterol y de LDL oxidado debido a sus propiedades antioxidantes como fuertes quelantes de metales y como donadores de hidrógeno (a través de los grupos hidroxilo). Así, en general, el grado de actividad antioxidante se correlaciona con el número de grupos hidroxilo. Por otro lado, pueden inhibir la ciclooxigenasa y la lipoxigenasa, lo que se traduce en una disminución en la formación de tromboxano y leucotrienos. Con todo ello, los fenoles pueden controlar, en parte, la reacción inflamatoria de la placa de ateroma. Además, algunos fenoles como el hidroxitirosol también inhiben la agregación plaquetaria y estabilizan las fibras de colágeno de la pared arterial. Por último, cabe destacar que 2

subclases de compuestos fenólicos, las isoflavonas y los lignanos, tienen una estructura muy similar a los estrógenos, por lo que se engloban dentro del grupo de los fitoestrógenos, estos compuestos son metabolizados por las bacterias intestinales y dan lugar a sustancias, como la enterolactona, que tienen la propiedad de unirse a los receptores estrogénicos y mimetizar su acción. Así, se ha observado que los fitoestrógenos pueden disminuir el riesgo de enfermedad cardiovascular y algunos cánceres por vías hormonadependientes (Gimeno, 2004).

Tabla 4. Efectos beneficiosos atribuidos a los compuestos fenólicos en la prevención de las enfermedades cardiovasculares (Gimeno, 2004).

Disminución de la oxidación de las lipoproteínas de baja densidad (LDL)
Disminución del proceso inflamatorio en la placa de ateroma
Inhibición de la agregación plaquetaria
Estimulación de la síntesis de óxido nítrico
Estabilización de las fibras de colágeno de la pared arterial
Actuación como fitoestrógenos (isoflavonas y lignanos)

Los polifenoles pueden interferir distintas etapas que conducen al desarrollo de tumores malignos al proteger al ADN del daño oxidativo, inactivando de este modo los carcinógenos, inhibiendo la expresión de los genes mutágenos y de la actividad de las enzimas encargadas de la activación de procarcinógenos, y activando los sistemas enzimáticos responsables de la detoxificación de xenobióticos. Estudios *in vivo* con animales han permitido establecer los efectos anticarcinogénicos de los polifenoles, mediante aplicaciones típicas, o bien tras la administración de dietas enriquecidas con polifenoles y/o con alto contenido en estos compuestos (tabla 5) (Gimeno, 2004).

Consumos elevados de frutas y hortalizas están relacionados con una baja incidencia de distintos tipos de cáncer, como los de estómago, pulmón, cavidad oral, faringe, endometrio, páncreas y colon. Sin embargo, en estos estudios es muy difícil discernir si el efecto es debido a un compuesto en concreto o si, lo más probable, es debido a un efecto sinérgico de distintos fitoquímicos presentes en estos alimentos como son, además de los polifenoles, las vitaminas C y E, los carotenos, el ácido fólico, y la fibra, entre otros (Gimeno, 2004).

Tabla 5. Efectos beneficiosos atribuidos a los compuestos fenólicos en la prevención de cáncer (Gimeno, 2004).

Actividad estrogénica/antiestrogénica

Inhibición de la proliferación celular: inhibición del ciclo celular o inducción de apoptosis en células tumorales

Inhibición del daño oxidativo del ADN

Activación de las enzimas de detoxificación de carcinógenos

Capítulo III

3.1 Extracción asistida por ultrasonido de compuestos fenólicos de semillas de chía (*Salvia hispanica* L.) y su actividad antioxidante

(Corona *et al.*, 2016)

La extracción de compuestos fenólicos se realizó en semillas de chía (*Salvia hispanica* L.) con dos disolventes (metanol y n-hexano) con o sin ultrasonido de alta intensidad. Se utilizó un dispositivo de ultrasonidos de sonda (UP400S, Hielscher, Teltow, Alemania) que trabajó en condiciones de temperatura controlada (25 °C), a 24 kHz, con potencia máxima de 400 W y un emisor de superficie de 3.8 cm². La sonda ultrasónica se sumergió 1.5 cm en la solución y el recipiente se mantuvo en oscuridad para evitar posibles daños inducidos por la luz en el extracto. La extracción se realizó en forma convencional sólido-líquido y con ultrasonido a 50, 75 y 100% de potencia máxima (400 W) con las semillas de chía mezcladas con disolvente (1:10 p/v), en tres tiempos de extracción (5, 10 y 15 min).

Los mejores parámetros de extracción de contenido de fenoles totales (TPC) y actividad antioxidante (AC) se obtuvieron con 100% de energía ultrasónica por 15 min y metanol (194.06±11.11 mg de GAE 100 g⁻¹ y 9.90±0.05 mg de Trolox 100 g⁻¹ de chía). Por método convencional extractos metanólicos mostraron AC promedio de 8.27±0.15 mg de Trolox 100 g⁻¹ de chía y TPC de 162 mg de GAE 100 g⁻¹.

La concentración mayor fenólica y la mejor capacidad antioxidante se obtuvieron con metanol como disolvente de extracción con ambos métodos. El proceso asistido por ultrasonido mostró mayor capacidad de extracción que los métodos convencionales; es decir, el rendimiento de extracción de compuestos fenólicos con semillas de chía aumentó. La extracción con metanol asistida por ultrasonido se podría utilizar como una alternativa

eficiente para obtener compuestos fenólicos, con capacidad antioxidante alta, de semillas de chía. El efecto del ultrasonido dependió de la potencia ultrasónica aplicada al medio y el tiempo de extracción.

3.2 Extracción asistida por ultrasonido de compuestos fenólicos de la cáscara de sanky (*Corryocactus brevistylus*)

(Rojas *et al.*, 2019)

El sanky (*Corryocactus brevistylus*) es una cactácea nativa de los Andes peruanos de tallo carnoso, sus frutos son unas bayas de forma redondas de color verde-amarillo con espinas. El objetivo de la investigación fue aplicar la extracción asistida por ultrasonido para recuperar los componentes fenólicos de la cáscara de sanky. El equipo que se utilizó fue el modelo NO VC 505 de marca Sonics & Materials, INC., U.S.A. que trabajó a 20 KHz y 130 W, con tiempos de sonicación de 45 s con intervalos de descanso de 60 s.

Durante la extracción se evaluó la influencia de las variables independientes: concentración de etanol (40, 50 y 60% v/v), tiempo (20, 30 y 40 min) y temperatura (25, 35 y 45 °C). Cada variable independiente (factor) fue evaluada a tres niveles. Se utilizó el diseño de Box Behnken (DBB), el cual reportó un total de 15 ensayos experimentales, de los cuales, el extracto con 50% v/v de etanol, 40 min de tiempo de extracción y 25 °C, presentó el mayor rendimiento de extracción reflejada en la mayor cantidad de polifenoles totales, reportándose 43.9 mg ácido gálico/g de cáscara seca, mostrando un amplio margen muy superior al resto de tratamientos.

Los extractos con 50% etanol, 40 min y 25 °C y 50% etanol, 20 min y 25 °C fueron los de mayor contenido de fenoles totales 43.9 y 32.6 mg GAL/g de materia seca, respectivamente. Este último sería el más recomendable para extraer los polifenoles a un menor tiempo (20 min) y menor temperatura (25 °C). En esta metodología, se dedujo que

el tiempo de extracción fue la variable independiente de mayor influencia seguido de la concentración del solvente (etanol).

3.3 Fenólicos a partir de residuos de café: optimización del proceso de extracción

(Marcelo, y otros, 2017)

La industria cafetera se encuentra en constante expansión, en consecuencia, se generan grandes cantidades de residuos sólidos de café – *Spent Coffe Grounds* (SCG), que son obtenidos después del proceso de lixiviación del café molido. Este residuo puede ser reutilizado debido a sus compuestos fenólicos, ya que representa una fuente alternativa para obtener antioxidantes naturales, considerándose completamente seguros en comparación con los sintéticos. El objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto del tiempo de extracción (30-90 min) asistido por ultrasonido (baño ultrasónico modelo GT SONIC VGT-1620, potencia de 45 kHz y 50 W, China), relación líquido-sólido (10-40 ml/g) y concentración de etanol (20-93.8%) en el contenido de compuestos fenólicos totales (CFT). Se utilizó la metodología de superficie de respuesta (MSR), como una técnica eficiente que minimiza el número de experimentos, a través del diseño rotacional central compuesto (DCCR) para determinar el efecto de estos 3 factores y para optimizar las condiciones del proceso de extracción. El modelo presentó un total de 20 experimentos. Se determinó el efecto de las variables independientes sobre el contenido de compuestos fenólicos de los depósitos de café gastado (SCG), siendo la relación líquido-sólido y el tiempo de extracción las variables más influyentes. El contenido máximo de compuestos fenólicos (1429.09 mg AG/g SCG) pudo ser extraído utilizando una relación líquido-sólido de 11.65 ml/g, con solución de etanol al 21.03%, mediante un proceso de extracción asistido por ultrasonido durante 32.42 min. Los resultados de este estudio indicaron que los SCG

son una fuente potencial de compuestos fenólicos que pueden recuperarse fácilmente. Se demostró que el etanol fue un disolvente adecuado para la extracción de compuestos fenólicos debido a su alta polaridad, además se determinó que el uso de ultrasonido mejoró la extracción de compuestos fenólicos, obteniéndose un mayor rendimiento comparado con métodos convencionales descritos en la literatura, según Mussatto et al., (2011) la extracción de compuestos antioxidantes fenólicos de SCG con 60% de metanol en una relación solvente/sólido de 40 ml/g SCG, durante 90 min fue la condición más adecuada para producir un extracto con un alto contenido de compuestos fenólicos (16 mg AG/g SCG) por el método convencional sólido-líquido. Estos resultados son inferiores a los obtenidos en el presente estudio, debido a la influencia del tipo de disolvente, así como de las condiciones utilizadas.

3.4 Extracción asistida con ultrasonido de compuestos fenólicos de dos variedades de papas (*Solanum phureja*) nativas andinas y evaluación de su actividad antioxidante

(Benavides et al., 2020)

El objetivo de este estudio fue evaluar el contenido de fenoles totales (FT) y actividad antioxidante de dos variedades de papas (*Solanum phureja*) nativas, ratona morada (RM) y curiyinga (CQ), cultivadas al sur de Colombia.

Se realizaron dos diseños experimentales, el primero para determinar el mejor solvente para extraer los FT y el segundo para evaluar el efecto del uso de ultrasonido en la extracción de FT. La actividad antioxidante fue evaluada por el método de ABTS⁺. Se realizó la extracción de compuestos fenólicos de la cáscara y la pulpa (por separado) de ambas variedades de papa usando un baño ultrasónico (Fisherbrand FB11205, Thermo

Fisher Scientific). Se seleccionaron como solventes metanol al 70% (v/v) (metanol-agua) y acetona al 70% (v/v) (acetona-agua). Se utilizó un diseño factorial completamente aleatorizado para evaluar el efecto del tiempo de extracción (10, 30 y 50 min), la temperatura del baño (30 y 50 °C) y la frecuencia de ultrasonido (37 y 80 kHz) sobre el contenido de FT en los extractos. La potencia del equipo se fijó en 154 W.

Los contenidos más altos de FT tanto en cáscara como en pulpa, se obtuvieron a 50 min, 50 °C y 37 kHz. El mejor solvente fue acetona al 70% (v/v). A continuación se mencionan los materiales y entre paréntesis el contenido de CF extraídos, cáscara ratona morada (1770.25 ± 27.13 mg AGE/100 g bs^{-1}), pulpa ratona morada (865.3 ± 60.46 mg AGE/100 g bs^{-1}); cáscara curiquinga (1910.42 ± 20.72 mg AGE/100 g bs^{-1}), pulpa curiquinga (1324.11 ± 23.50 mg AGE/100 g bs^{-1}), el contenido de FT en ambas variedades de papas fue mayor en la piel que en la pulpa.

El contenido de FT de los extractos optimizados mostró actividad antioxidante en cáscara ratona morada y cáscara curiquinga de 0.410 ± 0.002 mmol Trolox/g bs^{-1} y 0.412 ± 0.002 mmol Trolox/g bs^{-1} , respectivamente. En pulpa ratona morada la actividad antioxidante fue de 0.303 ± 0.005 mmol Trolox/g bs^{-1} y para pulpa curiquinga de 0.324 ± 0.007 mmol Trolox/g bs^{-1} .

La utilización de ultrasonidos permitió incrementar la eficiencia de extracción de compuestos FT en muestras secas de cáscara y pulpa de papas nativas en comparación con el método de extracción convencional. El tipo de solvente y las condiciones del método de extracción ejercieron efectos significativos sobre la cantidad de FT que pudieron ser extraídos de una matriz vegetal y, por consiguiente, sobre los resultados de la evaluación de su actividad antioxidante.

3.5 Optimización del proceso de extracción asistida por ultrasonido de compuestos fenólicos en Guayusa (*Ilex guayusa* Loes) y determinación de actividad antioxidante y contenido de cafeína

(Chumbia & Kuamar, 2019)

La especie *Ilex guayusa* normalmente conocida como “guayusa”, es una planta de la región amazónica. Desde tiempos ancestrales hasta hoy la guayusa ha sido empleada por comunidades indígenas y urbanas como una infusión de hierbas, para el tratamiento de la diabetes, la infertilidad o las enfermedades venéreas.

Se investigó el efecto combinado de cuatro variables de extracción (temperatura, tiempo de extracción, relación etanol-agua y relación sólido-líquido) para predecir la combinación óptima que permitiera maximizar la extracción de compuestos fenólicos totales (CFT) de las hojas de *I. guayusa*. Los extractos se obtuvieron mediante la extracción asistida por ultrasonido con el uso de un instrumento modelo Branson Ultrasonic, Serie CPXH. Se emplearon como disolvente diferentes soluciones de etanol-agua (70/30, 80/20 y 90/10 v/v) a diferentes temperaturas (30, 45 y 60 °C) y aplicando la extracción asistida por ultrasonido a diferentes rangos de tiempo (10, 20 y 30 min) y relación sólido-líquido (25, 62.5 y 100 m/v).

Se demostró mediante el diseño factorial 2^4 con un total de 37 experimentos, que los factores significativos para la extracción de CFT, en base seca de hojas de *I. guayusa*, fueron relación etanol-agua, temperatura y tiempo de extracción, mientras que la relación sólido-líquido resultó no significativo.

Las condiciones óptimas propuestas, por el modelo de superficie de respuesta, fueron la temperatura de extracción 60 °C, tiempo 26.6 min y una relación etanol-agua de 75.1-24.9. El extracto optimizado de hojas de *I. guayusa* mostró un contenido de CFT de

3.46 g eq. ácido gálico/100 g ms. El extracto optimizado de hojas de *I. guayusa* presentó una capacidad antioxidante considerable determinada por dos métodos analíticos, ABTS (0.08 mmol/100 g) y FRAP (40.71 mmol/ g). El extracto obtenido bajo las condiciones óptimas también mostró una cantidad de cafeína de 2.35 ± 0.03 mg/g.

3.6 Contenido de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante de extractos de mora (*Rubus glaucus* Benth) obtenidos bajo diferentes condiciones

(Rojas, Martínez, & Stashenko, 2014)

La mora andina, o mora de Castilla (*Rubus glaucus* Benth), es nativa de las zonas tropicales de América, principalmente, Colombia y Ecuador, y se distingue por su color rojo oscuro y sabor. La mora de Castilla posee capacidad antioxidante, atribuida a su contenido de compuestos fenólicos.

Los objetivos de esta investigación fueron determinar las condiciones de tipo y concentración de solvente en agua y de tiempo de extracción asistida con ultrasonido, bajo las cuales se obtuviera el mayor contenido de compuestos fenólicos (CF) y el valor de capacidad antioxidante más alto en extractos de mora de Castilla. El contenido total de CF se determinó utilizando el reactivo de Folin-Ciocalteu y la capacidad antioxidante mediante el ensayo ORAC (capacidad de absorción de radicales de oxígeno).

Con el propósito de evaluar, simultáneamente, el efecto del porcentaje de solvente en agua y del tiempo de extracción asistida con ultrasonido, se hicieron diseños de experimentos (factoriales, 3^2) con soluciones acuosas de acetona, etanol y metanol. En el caso de la acetona, los niveles para el porcentaje de solvente en agua fueron 10, 25 y 40% (v/v). En los casos del etanol y metanol, los niveles fueron 25, 50 y 75% (v/v). Los niveles

para el tiempo de extracción fueron 30, 60 y 90 min, con los tres solventes. Se utilizó un baño de ultrasonido (*Elmasonic S15H*, Singen, Alemania), de 37 kHz de frecuencia y 35 W de potencia.

El mayor contenido de CF, 30 ± 1 mg ácido gálico/g mora seca, y el mayor valor de capacidad antioxidante, 273 ± 6 mmol Trolox/g mora seca, se obtuvieron con soluciones acuosas de acetona al 31% (v/v), realizando la extracción asistida con ultrasonido, durante 100 min.

3.7 Extracción de antioxidantes del residuo de betabel (*Beta vulgaris*) por ultrasonido: comparación con métodos convencionales

(Hernández, y otros, 2019)

El betabel (*Beta vulgaris*) es un alimento de bajo consumo, sin embargo, es uno de los tubérculos con mayor capacidad antioxidante. El objetivo de este estudio fue extraer los antioxidantes del residuo de betabel utilizando tecnología convencional y emergente. Se obtuvo un extracto acuoso, etanólico, macerado y por ultrasonido.

Se aplicó ultrasonido (VCX -1500, Sonics & Materials, Inc. Newtown, CT, EE.UU.) con una potencia de 1500 W y una frecuencia constante de 20 kHz con una amplitud de onda de 77.5% y con un tiempo de 9 min a una temperatura controlada (2 ± 1 °C).

Los resultados mostraron que en compuestos fenólicos totales (CFT), la extracción por US obtuvo mayor cantidad de estos compuestos (534.65 ± 3.64 mg EAG/100 g bs) con respecto a todas las muestras. La muestra con ultrasonido obtuvo mayor contenido de betaninas y betaxantinas (804.50 ± 2.21 y 602.41 ± 1.55 mg EB/100 g bs) que el control. Sin embargo, la extracción acuosa, fue el método con mayor diferencia significativa, obteniendo

valores de 1009.01 ± 8.86 y 764.18 ± 2.11 mg EB/100 g bs, respectivamente, atribuyéndose a que las betalaínas son cromocalcoides nitrogenados solubles en agua.

El extracto obtenido por ultrasonido presentó mayores valores de compuestos fenólicos en comparación a todas las muestras, y aunque para betalaínas, la muestra extraída con agua obtuvo los mayores resultados, la muestra ultrasonificada obtuvo mejor eficacia que el control.

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

(García, 2020)

Se realizó la extracción de compuestos fenólicos totales (CFT) 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.

La extracción de CFT 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 min).

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 ($C_2H_6O_2$) como refrigerante, el cual mantuvo su temperatura constante ($25 \pm 1^\circ C$) durante todo el proceso de extracción. La cuantificación de los CFT 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) para cada extracción, con la cual se obtuvo un contenido de CFT de 4494.6 mg de ácido gálico/100 g m.s. para el método convencional y de 5145.8 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.

El método que emplea el ultrasonido permite extraer mayor cantidad de CFT 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.

La capacidad antioxidante de los CFT 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.

3.9 Optimización de las condiciones de extracción asistida por ultrasonido de flavonoides en cáscaras de naranja (*Citrus sinensis*) para su aplicación agroindustrial

(Gonzabay, 2020)

El objetivo de este estudio fue optimizar condiciones de extracción asistida por ultrasonido del contenido total de flavonoides (CFT) en cáscaras de naranja (*Citrus sinensis*). Del contenido de flavonoides totales del extracto optimizado se determinaron la actividad

antioxidante a través de los métodos FRAP, ABTS y el factor de protección solar (FPS) *in vitro* a diferentes concentraciones.

En el diseño factorial 2^4 empleado se estudiaron los efectos de las variables: temperatura (30, 45 y 60 °C), tiempo de sonicación (10, 20 y 30 min), relación sólido-líquido (20, 40 y 60 m/v) y porcentaje de etanol:agua (50, 70 y 90 v/v), sobre la extracción de FT. Los extractos se obtuvieron mediante extracción asistida por ultrasonido con el uso de un instrumento modelo Branson Ultrasonic Bath, Serie CPXH. Se utilizaron disoluciones de etanol-agua diluido como disolvente de extracción.

Las condiciones óptimas propuestas por el modelo de superficie-respuesta fueron: una temperatura de extracción de 60 °C, un tiempo de sonicación de 10 min, relación de etanol/agua de 90/10 (v/v) y una relación de sólido/líquido de 1/60 (m/v). El CFT en el extracto optimizado fue 13.33 ± 0.86 g equivalentes de quercetina/100g m.s. La actividad antioxidante determinada a través de los métodos FRAP y ABTS, fue de 1.41 ± 0.07 g equivalentes de Trolox/100g m.s. y 0.12 ± 0.002 g/100g, respectivamente. Además, se determinó el factor de protección solar (FPS) *in vitro* a las concentraciones de 20%, 15%, 10% y 5%, que resultó entre 38.08 ± 0.13 y 20.28 ± 0.78 .

Debido a los hallazgos actuales, los extractos de cáscaras de *Citrus sinensis* se pueden proponer como un componente prometedor para alimentos funcionales, formulación cosmética y farmacéutica. Los flavonoides con FPS son considerados fotoprotectores atribuido por sus propiedades antioxidantes y protección solar que ejerce en la piel, su aplicación es recomendada para industrias farmacéuticas y/o cosmetológica.

3.10 Extracción y cuantificación de polifenoles de piel de Kinnow (*Citrus reticulata* L.) mediante técnicas de ultrasonido y maceración

(Safdar, y otros, 2017)

El objetivo de esta investigación fue extraer polifenoles totales (PT) de la cáscara de mandarina Kinnow (*C. reticulata* L.) mediante técnicas de maceración y extracción asistida por ultrasonido (EAU). La cuantificación de los polifenoles totales se realizó a través del método Folin-Ciocalteu. El potencial antioxidante de estos polifenoles se evaluó utilizando el poder antioxidante reductor férrico (FRAP), 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) y ensayos de eliminación de radicales superóxido. Se utilizó un sonicador (Transsonic 700; Elma, Wetzikon, Suiza) a una frecuencia de 35 kHz.

Durante la extracción se evaluó la influencia de las variables independientes: muestra/disolvente (1:10, 1:15, 1:20 m/v), temperatura de extracción (35, 45 y 55 °C) y tiempo de extracción (40, 50, 60 y 70 min). Utilizando como disolventes etanol y metanol a niveles de concentración de 50%, 80% y 100%.

La máxima cantidad de polifenoles totales (PT) se extrajo con metanol al 80%, relación muestra/disolvente 1:20, 45 °C y 60 min de extracción (32.48±0.33 mg de GAE/100 g m.s.) mediante EAU. El extracto optimizado de cáscara de Kinnow presentó una actividad antioxidante de (27.67±1.11 mmol/100 g m.s.) para FRAP. Una capacidad de eliminación de radicales libres de 72.83±0.65% para DPPH y 64.80±0.91% para el poder de eliminación de radicales aniónicos superóxido.

Las cáscaras de mandarina Kinnow son una rica fuente de compuestos fenólicos con una fuerte actividad antioxidante.

3.11 Efecto de la extracción asistida por ultrasonido de hojas de *Moringa stenopetala* sobre los compuestos bioactivos y su actividad antioxidante

(Worku, Admassu, Debell, & Bang, 2019)

Moringa stenopetala, a menudo referido como el árbol de la moringa africana, es una planta multiusos con altos valores nutricionales y medicinales. El objetivo de este estudio fue

evaluar el efecto del tiempo y la temperatura sobre la extracción asistida por ultrasonido de compuestos bioactivos y la actividad antioxidante en hojas de *Moringa stenopetala*.

La extracción asistida por ultrasonido se llevó a cabo a 30, 40 y 50 °C durante 10, 20 y 30 min. Se realizó mediante baño ultrasónico (SONOREX TM SUPER RK 510 H; Bandelin electronic GmbH & Co. KG; Berlín, Alemania) con una frecuencia fija de 35 kHz e intensidad de potencia de 160 W. Se utilizó etanol al 70% en una proporción de 1:40 (g/ml).

El contenido fenólico total (CFT) más alto fue de 46.6 mg EAG/g m.s. y el contenido total de flavonoides (CTF) de 20.4 mg eq. catequina/g m.s a 40 °C durante 20 min. En las mismas condiciones se obtuvieron las actividades antioxidantes más altas evaluadas por DPPH, ABTS y FRAP fueron de 336.5, 581.8 y 133.3 mg eq. Trolox/g m.s respectivamente, y la actividad quelante de 28,4 mg eq. EDTA/g m.s.

El análisis morfológico de los residuos obtenidos tras la extracción mediante microscopio electrónico de barrido indicó que hubo una mayor destrucción ultrasónica de los componentes estructurales de la muestra a mayor tiempo de extracción. Por lo tanto, la extracción asistida por ultrasonido a una temperatura de 40 °C durante 20 min es la mejor combinación de tiempo-temperatura para extraer compuestos bioactivos.

La extracción asistida por ultrasonidos dio un mayor rendimiento de compuestos bioactivos en un corto tiempo de extracción y requirió un menor consumo de energía que la maceración. Según este estudio, la mejor combinación de tiempo y temperatura es 20 min a 40 °C para obtener el mayor CFT y CTF con alta actividad antioxidante.

3.12 Optimización de la extracción asistida por ultrasonido de compuestos fenólicos de *Annona muricata* subproductos y pulpa

(Aguilar, y otros, 2019)

El objetivo de esta investigación fue determinar las condiciones óptimas, tiempo de extracción (5, 10 y 15 min), ciclo de pulso (0.4, 0.7 y 1 s) y amplitud de sonicación (40, 70 y 100%) para extraer el mayor contenido de compuestos fenólicos de la pulpa, cáscara, semilla y columela de la guanábana (*Annona muricata* L.). Se utilizó un sistema ultrasónico (UP400S Hielscher, Teltow, Alemania) con el que se trabajó en condiciones de temperatura controlada (25 ± 2 °C), a 24 kHz, con una potencia máxima de 400 W. La sonda ultrasónica se sumergió 2 cm en la solución de extracción, metanol al 50% (v/v).

El mayor contenido de compuestos fenólicos (CF) en la cáscara de guanábana fue de 157.40 mg/g de materia seca en la muestra tratada durante 5 min a un ciclo de pulso (XPC) de 0.7 s y una amplitud de sonicación (XSA) de 100%. En las mismas condiciones experimentales (XET = 5 minutos, XPC = 0.7 s, XSA = 100%) se obtuvo el mayor contenido de CF en semillas (28.38 mg/g m.s). A diferencia de la cáscara y las semillas, los valores más altos de CF para columela (143.35 mg/g m.s) y pulpa (23.62 mg/g m.s) se observaron cuando se aplicaron las siguientes condiciones experimentales (XET = 10 min, XPC = 0.4 s, XSA = 40% y XET = 5 min, XPC = 0.7 s, XSA = 40%, respectivamente).

El contenido de ácido gálico (0.36-15.86 g/g m.s), ácido cumárico (0.07-1.37 g/g m.s) y ácido clorogénico (9.18-32.67 g/g m.s) en las diferentes partes del fruto fueron mayores en los extractos obtenidos por EAU en comparación con un método de extracción convencional (0.08–0.61, 0.05–0.08, 3.15–13.08 g/g m.s, respectivamente).

Los resultados de este estudio confirmaron que los tiempos de extracción cortos usando ultrasonido fueron suficientes para lograr la hinchazón de las células, lo que da una mayor permeabilidad en las paredes celulares vegetales, permitiendo extraer más CF de guanábana en orden decreciente de cáscara seguida de columela, semillas y pulpa. El perfil polifenólico de los extractos mostró la presencia de nueve compuestos fenólicos; ácido gálico, cumárico, cinámico, cafeico, clorogénico, ácido protocatéquico, ácido 4-

hidroxibenzoico, siríngico y neoclorogénico. El contenido de ácidos fenólicos fue más alto para la extracción asistida con ultrasonido que para la extracción convencional.

El presente estudio destaca que los subproductos (cáscara y columela) de las frutas de guanábana podría ser una fuente potencial de CF y que EAU es una tecnología eficiente para extraer estos compuestos bioactivos.

3.13 Optimización de la extracción asistida por ultrasonido de compuestos fenólicos de *Brosimum alicastrum* y evaluación de su actividad captadora de radicales

(Gullian & Terrats, 2017)

El objetivo de este estudio fue analizar las condiciones óptimas para maximizar el rendimiento del contenido fenólico total (TPC) y antocianina monomérica total (TMA) de la hoja de *Brosimum alicastrum* y la actividad captadora de radicales libres. Se utilizó un diseño Box-Behnken (BBD) de tres niveles y tres factores para determinar los puntos óptimos en la extracción asistida por ultrasonido (EAU) con un total de quince experimentos.

En este estudio se analizó el tiempo de extracción (10, 20, y 30 min), temperatura (28, 30 y 32 °C) y potencia de sonicación de la sonda (las amplitudes se fijaron en 40%, 60% y 80%, que corresponden a una potencia de sonicación de 28 W/cm², 51 W/cm², 74 W/cm², respectivamente).

Las extracciones se llevaron a cabo en un procesador ultrasónico utilizando un método de sonicación directa (VCX 130PB, Sonics, Milford, CT, EE. UU.), se utilizó una sonda de ultrasonido de 130 W funcionando a 20 kHz, la sonda de ultrasonido se sumergió a una profundidad de 30 mm en las muestras. Se seleccionó como solvente metanol al 80%.

El análisis de varianza (ANOVA) indicó que el poder de sonicación juega un papel importante en la extracción de compuestos fenólicos. Sin embargo, un aumento en el tiempo y la temperatura disminuyó significativamente el rendimiento de compuestos fenólicos, en particular, del grupo TMA. Los niveles óptimos del contenido fenólico total y antocianina monomérica total (45.18 mg GAE/g y 15.16 mg CyE/100 g) se obtuvieron a 28 °C, 80% y 20-10 min. DPPH obtuvo un valor máximo de 67.27 µmol TE/g en las mismas condiciones de optimización. La RSM confirmó que TPC y TMA mejoraron la actividad antioxidante cuando se sometieron a baja temperatura (28 °C), tiempo de extracción inferior a 20 min y mayor potencia de sonicación (74 W/cm²), y por tanto logrando la mejor actividad de eliminación de DPPH. Los CF han demostrado tener una actividad antioxidante significativa, que es directamente correlacionado con la eliminación de radicales libres en el ensayo DPPH.

3.14 Evaluación de la extracción asistida por ultrasonido como método alternativo para la extracción de antocianinas y compuestos fenólicos totales de bayas de maqui (*Aristotelia chilensis* (Mol.) Stuntz)

(Vázquez, y otros, 2019)

El interés de la investigación sobre el maqui (*Aristotelia chilensis*) ha aumentado en los últimos años debido a sus posibles beneficios para la salud como una de las bayas más ricas en antioxidantes. La extracción asistida por ultrasonido (EAU) es una técnica avanzada de extracción verde, rápida y ecológica para la producción de extractos de alta calidad de productos naturales, por lo que se propuso en esta investigación como una técnica ideal de extracción para la obtención de extractos de alta bioactividad a partir de bayas de maqui.

Con el fin de determinar las condiciones óptimas, las variables de extracción; porcentaje de metanol (25, 50 y 75%), pH (2, 4.5 y 7), temperatura (10, 40 y 70 °C), relación masa de muestra/volumen de disolvente (0.5:10, 0.5:15 y 0.5:20 g/mL), amplitud (30, 50 y 70%) y ciclo (0.2, 0.45 y 0.7 s), fueron analizadas por un diseño de Box-Behnken, junto con el método de superficie de respuesta. La extracción se realizó mediante irradiación ultrasónica utilizando una sonda UP200S (Ultraschallprozessor Dr. Hielscher, GmbH, Berlín, Alemania), que permite el control y modificación del ciclo y la amplitud.

El análisis estadístico reveló que la temperatura y el porcentaje de metanol fueron las variables más influyentes en la extracción de compuestos fenólicos totales y antocianinas totales, respectivamente. Las variables óptimas de extracción se determinaron a los 15 minutos para los compuestos fenólicos totales (71.07 mg GAE/g m.s); porcentaje de metanol (50%), pH (2), relación masa de muestra/volumen de disolvente (0.5:20 g/mL), temperatura (70 °C), amplitud (35%) y ciclo (0.7 s).

El mayor contenido de antocianinas totales se obtuvo a los 5 min (38.77 mg eq. cloruro de cianidina/g m.s); porcentaje de metanol (61.5%), pH (2.1), relación masa de muestra/volumen de disolvente (0.5:20 g/mL), temperatura (69.4 °C), amplitud (46%) y ciclo (0.7 s).

La extracción asistida por ultrasonido demostró ser una técnica bastante efectiva y rápida en la extracción de una amplia gama de polifenoles de las bayas de maqui.

3.15 Optimización de la extracción asistida por ultrasonido de compuestos fenólicos del rizoma *Sparganii* con metodología de superficie de respuesta

(Wang, y otros, 2013)

El objetivo de la presente investigación fue evaluar las condiciones óptimas sobre la extracción de compuestos fenólicos del rizoma de *sparganii*. Se utilizó un diseño de Box-

Behnken Design (BBD) con un total de 17 experimentos para investigar el efecto de las variables del proceso en la extracción asistida por ultrasonido (EAU).

Se estudiaron tres variables independientes, concentración de etanol (40, 60 y 80%), tiempo de extracción (20, 30 y 40 min) y relación disolvente-material (10, 20 y 30 mL/g). El proceso de extracción se realizó con un dispositivo ultrasónico (KH300SP, 25 kHz, 300 W, Kunshan Ultrasonic Instrument Co. Jiangsu, China) equipado con un temporizador digital y un controlador de temperatura.

Los resultados mostraron que las condiciones óptimas de EAU se obtuvieron con una concentración de etanol de 75.30%, un tiempo de extracción de 40 min y una relación solvente-material de 19.21 mL/g para fenoles totales (888.03 µg GAE/g de muestra), y una concentración de etanol de 80%, un tiempo de extracción de 33.5 min y relación de disolvente-material de 22.74 mL/g para la extracción de *p*-hidroxibenzaldehído, ácido *p*-cumárico, ácido vainílico, ácido ferúlico y kaempferol.

La extracción de compuestos fenólicos depende en gran medida de la polaridad de los disolventes y compuestos, un solo disolvente podría no ser eficaz para la extracción de un compuesto bioactivo. Por tanto, una combinación de alcohol con agua es más eficaz para extraer compuestos fenólicos que el alcohol solo. En este estudio, el rendimiento total de fenoles disminuyó cuando la concentración de etanol fue superior al 75.30%. El rendimiento total de fenoles aumentó con el tiempo de extracción prolongado de 20 a 40 min. El tiempo de extracción prolongado favorece la extracción de compuestos fenólicos.

3.16 Optimización de la extracción asistida por ultrasonido de compuestos fenólicos de *rizoma Cimicifugae* con metodología de superficie de respuesta

(Liu, y otros, 2015)

El objetivo del presente estudio fue establecer los parámetros óptimos para la extracción de compuestos fenólicos de *rizoma Cimicifugae* mediante (EAU). Se utilizó la metodología de superficie de respuesta para investigar la influencia de tres variables independientes sobre el contenido de compuestos fenólicos totales (TPC) y diferentes compuestos fenólicos (DPC), como ácido cafeico (CA), ácido isoferúlico (IA) y ácido ferúlico (FA).

El proceso de extracción se realizó con el dispositivo ultrasónico (KQ5200DE, 25 KHz, Kunshan Ultrasonic Instrument Co., Jiangsu, China) equipado con un temporizador digital y un controlador de temperatura. El disolvente utilizado en la extracción fue una solución de etanol. Las variables independientes se codificaron en tres niveles, y el diseño completo consistió en 17 puntos experimentales. En detalle, se investigó la potencia ultrasónica (200, 300 y 400 W), la temperatura de extracción (50, 60 y 70 °C) y la concentración de etanol (40, 60 y 80%).

El uso de la optimización multivariante fue de suma importancia para seleccionar las condiciones óptimas de operación de las variables interrelacionadas, evitar o minimizar la degradación y lograr los mejores rendimientos en el proceso de extracción. Los resultados mostraron que la potencia ultrasónica de 377.35 W, temperatura de extracción de 70 °C, concentración de etanol de 58.37% dieron como resultado el rendimiento máximo de TPC (889.28 µg GAE/g de muestra), y potencia ultrasónica de 318.28 W, temperatura de extracción de 59.65 °C, concentración de etanol de 64.43% para DPC.

3.17 Recuperación de compuestos fenólicos de salvados de trigo mediante un proceso de extracción enzimática y ultrasonificación

(Ortiz, 2019)

El objetivo principal del presente trabajo de investigación fue estudiar la extracción de compuestos fenólicos (CF) de distintos tipos de salvado de trigo (ST) utilizando un proceso combinado de extracción enzimática y ultrasonificación. En este estudio se utilizó salvado de trigo de tres tipos de granulometría (hoja, cuarta y tercerilla), además de una serie de enzimas: celulasa (Cellulase from *Aspergillus niger*, Sigma), xilanasa (Xylanase from *Trichoderma longibrachiatum*, Biocom) y proteasa (Protease from *Bacillus Subtilis* P, Biocom). El disolvente utilizado en los distintos experimentos fue: agua, tampón acetato a pH 5.0 ± 0.1 (preparado a partir de ácido acético glacial y acetato sódico anhidro), una disolución ácido clorhídrico a pH 5.0 ± 0.1 y distintas disoluciones de celulasa, proteasa y xilanasa, así como de sus mezclas, en agua o tampón acetato. La granulometría es uno de los factores que puede influir sobre la cinética de extracción y repercutir en la actividad antioxidante del extracto final. Por lo general, se suele necesitar una reducción de tamaño para conseguir mejorar la extracción de PF, en este trabajo no se modificó el tamaño de partícula de ninguno de los ST utilizados.

Para los experimentos de extracción asistida por ultrasonidos se empleó un homogeneizador de ultrasonidos (Vibra-Cell VCX 500, Sonics & Materials Inc, USA) equipado con una sonda de 13 mm de diámetro, operando al 100% de amplitud. El procedimiento experimental consistió en la ultrasonificación de las muestras preparadas (ST + disolvente) durante un tiempo máximo de 20-90 min, con ciclos de funcionamiento alterno de 5 s (ciclos de 5 s ON y 5 s OFF) para evitar el calentamiento de la muestra. Se realizaron 15 ensayos de extracción de acuerdo con un diseño de experimentos Box-Behnken (BB), a través de la combinación de tres niveles de cada factor independiente.

Para estudiar el proceso de extracción enzimática de CF de distintos tipos de ST se examinó el efecto de una serie de variables que influyen directamente sobre él. Estas variables fueron: la aplicación de ultrasonificación, la temperatura (entre 40 y 60 °C), la

adición de distintos tipos de enzimas como biocatalizadores y el uso de agua o tampón acetato a pH 5 como disolvente.

La extracción fue más rápida al utilizar ST de hoja y significativamente mucho más lenta con el ST de tercerilla. Además, los extractos a las 28 h mostraron un valor de PF de 5.88, 6.67 y 7.48 mg PF/g ST para el ST de tercerilla, cuarta y hoja, respectivamente. Esta diferencia en CF modifica de manera significativa la capacidad antioxidante, con un efecto muy marcado en la capacidad reductora (FRAP) de los extractos, 59.27, 53.29 y 72.22 mM/g ST de tercerilla, cuarta y hoja, respectivamente.

El ácido ferúlico se considera el componente principal en el ST siendo mayoritario en presencia de una granulometría intermedia (cuarta). Como constituyentes menores presentes en todos los tipos de ST se han identificado el ácido gálico y el ácido vanilínico. El de hoja y el de tercerilla, además, destacan por presentar el ácido protocatéquico y el ácido p-hidroxibenzoico. Y el aldehído siríngico se encuentra presente en la ST de cuarta y con un valor muy inferior en el ST de tercerilla. Con lo expuesto, se justifica la influencia del tamaño de granulometría sobre la composición del extracto final.

La velocidad de extracción de CF del ST fue más rápida, obteniéndose una mayor cantidad de PF al aumentar la temperatura, en la extracción ácida (pH 5), bajo el efecto de la ultrasonificación y utilizando enzimas como biocatalizadores.

La tecnología de ultrasonificación supone una mejora del perfil de los CF dando lugar a extractos con un mayor contenido y variedad de CF. Esta metodología supone una reducción del tiempo de operación para alcanzar el estado estacionario frente a la extracción en baños agitados.

Tabla 6. Uso del ultrasonido como método de extracción de compuestos fenólicos, elaboración propia.

Fruto o vegetal	Proceso	Variables medidas	Autores
Semillas de chía	Ultrasonido 24 kHz, 400 W Metanol, n-hexano	Contenido de fenoles totales Actividad antioxidante (ABTS)	(Corona, Martínez, Ruiz, & Carranza, 2016)
Cáscara de Sanky	Ultrasonido 20 kHz, 130 W Etanol	Contenido de fenoles totales	(Rojas, Fuentes, & Gómez, Extracción asistida por ultrasonido de compuestos fenólicos de la cáscara de Sanky (<i>Corryocactus brevistylus</i>), 2019)
Residuos de café	Baño ultrasónico 45 kHz, 50 W Etanol	Contenido de fenoles totales	(Marcelo, y otros, 2017)
Cáscara y pulpa de dos variedades de papa	Baño ultrasónico 37 y 80 kHz, 154 W Metanol, acetona	Contenido de fenoles totales Actividad antioxidante (ABTS y DPPH)	(Benavides, Revelo, Arango, & Osorio, 2020)
Hoja de <i>I. guayusa</i>	Baño ultrasónico Etanol-agua	Contenido de fenoles totales Actividad antioxidante (ABTS y FRAP)	(Chumbia & Kuamar, 2019)

Cafeína				
Mora	Baño ultrasónico	37 kHz, 35 W	Contenido de fenoles totales	(Rojas, Martínez, & Stashenko, 2014)
	Acetona, metanol, etanol		Capacidad antioxidante (ORAC)	
Residuo de betabel	Ultrasonido	20 kHz, 1500 W	Contenido de fenoles totales	(Hernández, y otros, 2019)
	Etanol		Betaninas, betaxantinas	
Orojo de uva	Ultrasonido	37 kHz, potencia 100%	Contenido de fenoles totales	(García, 2020)
	Etanol-agua		Capacidad antioxidante (FRAP y ABTS)	
Cáscara de naranja	Baño ultrasónico		Contenido de fenoles totales	(Gonzabay, 2020)
	Etanol-agua		Actividad antioxidante (FRAP y ABTS)	
			Factor de protección solar (FPS)	
Cáscara de mandarina	Ultrasonido	35 kHz	Polifenoles totales	(Safdar, y otros, 2017)
	Etanol, metanol		Actividad antioxidante (FRAP, DPPH)	
			Eliminación de radicales superóxido	

Hojas de moringa	Baño ultrasónico 35 kHz, 160 W Etanol	Contenido de fenoles totales Contenido total de flavonoides Actividad antioxidante (DPPH, ABTS, FRAP) Actividad quelante	(Worku, Admassu, Debella, & Bang, 2019)
Cáscara, pulpa, semillas y columela de guanábana	Ultrasonido 24 kHz, 400 W Metanol	Polifenoles totales	(Aguilar, y otros, 2019)
Hojas de <i>Brosimum alicastrum</i>	Ultrasonido 20 kHz, 130 W Metanol	Contenido de fenoles totales Antocianina monomérica total Actividad antioxidante (DPPH, ABTS)	(Gullian & Terrats, 2017)
Bayas de maqui	Ultrasonido de sonda Metanol	Contenido de fenoles totales Antocianinas	(Vázquez, y otros, 2019)
Rizoma <i>Sparganii</i>	Ultrasonido 25 kHz, 300 W Etanol	Polifenoles totales	(Wang, y otros, 2013)
Rizoma <i>Cimicifugae</i>	Ultrasonido 25 kHz, 300 W Etanol	Compuestos fenólicos totales	(Liu, y otros, 2015)

Salvado de trigo	Ultrasonido	potencia	Compuestos	fenólicos	(Ortiz, 2019)
	100%		totales		
	Agua, tampón acetato				
	a pH 5				

Conclusión

Actualmente el interés por los compuestos fenólicos es cada vez mayor por sus múltiples beneficios en nuestra salud. Los compuestos fenólicos tienen importantes aplicaciones en la prevención y en el tratamiento de enfermedades tales como el cáncer, la enfermedad cardiovascular, procesos patológicos de carácter inflamatorio, fragilidad vascular, infecciones y enfermedades neurodegenerativas. El US es una tecnología versátil, innovadora y verde al ser no tóxica y respetuosa del medio ambiente, ya que ahorra energía y maximiza la producción. La extracción por ultrasonido nos permite obtener compuestos fenólicos con un mayor grado de pureza e incrementar la eficiencia de extracción en comparación con otros métodos de extracción convencional.

El tipo de solvente y las condiciones del método de extracción ejercen efectos significativos sobre la cantidad de fenoles totales que pueden ser extraídos de una matriz vegetal y, por consiguiente, sobre los resultados de la evaluación de su actividad antioxidante. En varias investigaciones se demostró que el etanol es un disolvente adecuado para la extracción de compuestos fenólicos debido a su alta polaridad, además se determinó que el uso de ultrasonido mejora la extracción de compuestos fenólicos, obteniéndose un mayor rendimiento.

Bibliografía

- Aguilar, G., García, M., Vivar, M., Sáyo, S., Sánchez, J., Morales, J., . . . Montalvo, E. (2019). Optimization of Ultrasound-Assisted Extraction of phenolic compounds from *Annona muricata* by-products and pulp. *Molecules*, 24, 1-15.
- Avello, M., & Suwalsky, M. (2006). Radicales libres, antioxidantes naturales y mecanismos de protección. *Atenea* 494, 2, 161-172.
- Benavides, R., Revelo, Y., Arango, O., & Osorio, O. (2020). Extracción asistida con ultrasonido de compuestos fenólicos de dos variedades de papas (*Solanum phureja*) nativas andinas y evaluación de su actividad antioxidante. *Información Tecnológica*, 31(5), 43-50.
- Campo, Y., Gélvez, V., & Ayala, A. (2018). Ultrasonido en el procesamiento (homogenización, extracción y secado) de alimentos. *Bioteología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 16(1), 102-113.
- Chumbia, G., & Kuamar, A. (2019). *Optimización del proceso de extracción asistida por ultrasonido de compuestos fenólicos en Guayusa (Ilex guayusa Loes) y determinación de actividad antioxidante y contenido de cafeína*. Puyo, Ecuador : Universidad Estatal Amazónica.
- Corona, E., Martínez, N., Ruiz, H., & Carranza, J. (2016). Ultrasound-assisted extraction of phenolics compounds from chia (*Salvia hispanica* L.) seeds and their antioxidant activity. *Agrociencia*, 50(4), 403-412.
- Coyago-Cruz, E., Corell, M., & Meléndez, A. (2017). *Estudio sobre el contenido en carotenoides y compuestos fenólicos de tomates y flores en el contexto de la alimentación funcional*. Sevilla, España: Universidad de Sevilla.
- Delgado, J. (2012). Aplicación del ultrasonido en la industria de los alimentos. *Revista Especializada en Ingeniería de Procesos en Alimentos y Biomateriales*, 6, 141-152.
- García, G. (2020). *Cinética de extracción asistida con ultrasonido de potencia de compuestos fenólicos a partir de uva Syrah (Vitis vinífera L.)*. Puebla, México: Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.
- Gimeno, E. (2004). Compuestos fenólicos. Un análisis de sus beneficios para la salud. *OFFARM*, 23(6), 80-84.
- Gonzabay, M. (2020). *Optimización de las condiciones de extracción asistida por ultrasonido de flavonoides en cáscara de naranja (Citrus sinensis) para su aplicación agroindustrial*. Puyo, Ecuador : Universidad Estatal Amazónica.
- Gullian, M., & Terrats, M. (2017). Optimization of the Ultrasound-Assisted Extraction of phenolic compounds from *Brosimum alicastrum* Leaves and the evaluation of their radical-scavenging activity. *Molecules*, 22, 1-13.
- Hernández, J., Ramírez, L., Cruz, N., Delgado, L., Ramírez, E., Ariza, J., & Alanis, E. (2019). Extracción de antioxidantes del residuo de betabel (*Beta vulgaris*) por ultrasonido: comparación con

- métodos convencionales. *Educación y Salud Boletín Científico de Ciencias de la Salud del ICSa*, 14, 70-73.
- Liu, L., Shen, B.-J., Xie, D.-H., Cai, B.-C., Qin, K.-M., & Cai, H. (2015). Optimization of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from *Cimicifugae rhizoma* with response surface methodology. *Pharmacognosy*, 11(44), 1-17.
- Maldonado, O., Jiménez, E., Guapillo, M., Ceballos, G., & Méndez, E. (2010). Radicales libres y su papel en las enfermedades crónico-degenerativas. *Revista Médica de la Universidad Veracruzana*, 32-38.
- Marcelo, R., Luján, V., Ramirez, L., Olano, M., Vargas, A., Rojas, M., & Linares, G. (2017). Fenólicos a partir de residuos de café: optimización del proceso de extracción. *Revista de Investigaciones Altoandinas*, 19(4), 405-410.
- Martin, D. (2018). Los compuestos fenólicos: un acercamiento a su biosíntesis, síntesis y actividad biológica. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, 9(1), 81-99.
- Martínez-Valverde, I., Periago, M., & Ros, G. (2000). Significado nutricional de los compuestos fenólicos de la dieta. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 50(1), 5-14.
- Medina, N. (2017). *Efecto del ultrasonido en la extracción y nanoencapsulación de polifenoles de limón Persa (Citrus latifolia)*. Mérida: Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, A.C.
- Ortiz, M. (2019). *Recuperación de compuestos fenólicos de salvados de trigo mediante un proceso de extracción enzimática y ultrasonificación*. Burgos, España : Universidad de Burgos.
- Paladino, S. (2008). *Actividad antioxidante de los compuestos fenólicos contenidos en las semillas de la Vid (Vitis vinifera L.)*. Mendoza, Argentina: Universidad Nacional de Cuyo.
- Peñarrieta, M., Tejeda, L., Mollinedo, P., Vila, J., & Bravo, J. (2014). Phenolic compounds in food. *Bolivian Journal of Chemistry*, 31(2), 68-81.
- Perdomo, V. (2017). *Efecto de tiempo de exposición al ultrasonido (40 kHz) en las características fisicoquímicas, recuento de bacterias aerobias mesófilas y aceptabilidad general de la pulpa de mango (Mangifera indica L.) variedad Edward*. Trujillo, Perú: Universidad Privada Antenor Orrego.
- Pérez, C. (2019). *Efecto del tiempo de exposición al ultrasonido y la temperatura en las propiedades fisicoquímicas, contenido de vitamina C y microbiológicas de la pulpa de zarzamora (Rubus floribundus Kunth)*. Trujillo, Perú: Universidad Privada Antenor Orrego.
- Robles, L., & Ochoa, L. (2012). Ultrasonido y sus aplicaciones en el procesamiento de alimentos. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, 13(2), 109-122.
- Rojas, J., Martínez, J., & Stashenko, E. (2014). Contenido de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante de extractos de mora (*Rubus glaucus* Benth) obtenidos bajo diferentes condiciones. *Vitae, Revista de la Facultad de Química Farmacéutica*, 21(3), 218-227.

- Rojas, S. (2019). *Evaluación del uso de ultrasonidos como operación preliminar y sus efectos sobre la calidad nutricional del brócoli*. Barcelona, España: Universitat Politècnica de Catalunya Barcelona Tech.
- Rojas, T., Fuentes, M., & Contreras, E. (2019). Extracción asistida por ultrasonido de compuestos fenólicos de la cáscara de sanky (*Corryocactus brevistylus*). *Revista de la Sociedad Química del Perú*, 85(2), 258-267.
- Romero de Ávila, D. (2006). Innovaciones en el procesamiento de alimentos: tecnologías no térmicas. *Revista de Medicina de la Universidad de Navarra*, 50(4), 71-74.
- Safdar, M., Kausar, T., Jabbar, S., Mumtaz, A., Ahad, K., & Saddozai, A. (2017). Extraction and quantification of polyphenols from kinnow (*Citrus reticulata* L.) peel using ultrasound and maceration techniques. *Journal of Food and Drug Analysis*, 25, 488-500.
- Sánchez, M. (2019). *Extracción y caracterización de fructanos a partir de plantas de sotol (Dasylirion spp.) y agave (Agave tequilana Weber var. azul) mediante métodos enzimáticos asistidos con tecnologías de ultrasonido y su aplicación en alimentos*. Nuevo León, México: Universidad Autónoma de Nuevo León.
- Ulloa, J., Rosas, P., & Ramírez, J. (2013). Ultrasonido: aplicaciones en el campo de los alimentos. *nueva época*, 4(14), 1-12.
- Vázquez, M., González, A., Ferreiro, M., Carrera, C., Palma, M., Barbero, G., & Espada, E. (2019). Assessment of Ultrasound Assisted Extraction as an alternative method for the extraction of anthocyanins and total phenolic compounds from maqui berries (*Aristotelia chilensis* (Mol.) Stuntz). *Agronomy*, 9, 1-17.
- Venanzi, L. (2014). *Estudio de métodos de extracción de compuestos fenólicos de orujos provenientes de vinificación de uvas cv Malbec*. Mendoza, Argentina: Universidad Nacional de Cuyo.
- Wang, X., Wu, Y., Chen, G., Yue, W., Liang, Q., & Wu, Q. (2013). Optimization of ultrasound assisted extraction of phenolic compounds from *Sparganii* rhizoma with response surface methodology. *ELSEVIER*, 20, 846-854.
- Worku, D., Admassu, S., Debelli, A., & Bang, J. (2019). Effect of Ultrasound-Assisted Extraction of *Moringa stenopetala* Leaves on bioactive compounds and their antioxidant activity. *Food Technology & Biotechnology*, 57(1), 77-86.