

Los ULTRASONIDOS de potencia como medio para incrementar las propiedades antioxidantes de procianidinas de semilla de uva

Los ultrasonidos tienen efecto en una gran variedad de procesos en la industria alimentaria, reduciendo los tiempos e incrementando los rendimientos

Ana Muñoz-Labrador, Marín Prodanov y Mar Villamiel*

Instituto de Investigación en Ciencias de la Alimentación (CIAL) (CSIC-UAM) CEI (CSIC+UAM). Nicolás Cabrera, 9. Campus de la Universidad Autónoma de Madrid, 28049-Madrid (Spain).

*Autor para la correspondencia, m.villamiel@csic.es

El interés de los consumidores por los alimentos saludables está aumentando de forma notable debido al incremento de patologías asociadas a una incorrecta alimentación. Por ello, se requiere que los alimentos no sólo sean nutritivos y sensorialmente aceptables, sino también con propiedades bioactivas.

Procianidinas de semilla de uva

Los compuestos fenólicos son uno de los grupos más numerosos y ampliamente distribuidos en el reino vegetal (más de 8.000 estructuras conocidas). Proceden del metabolismo secundario de las plantas y constan de uno o varios anillos bencénicos sustituidos por, al menos, un grupo hidroxilo o metoxilo. Entre ellos, merecen ser destacados los taninos condensados, que son polímeros de flavan-3-oles conocidos como proantocianidinas por hidrolizarse en antocianidinas en medios ácidos y a temperaturas elevadas. En los vegetales, las proantocianidinas existen además de sus formas exclusivamente flavánicas, unidas a otros compuestos como proteínas y polisacáridos, por lo que forman estructuras muy complejas y poco conocidas (1).

Los taninos condensados se encuentran básicamente en las cortezas, tallos, semillas, cáscaras de frutos, raíces y hojas de las plantas

y sirven como defensa química frente a los ataques por insectos o animales (2). Además de su habitual uso para curtir, se utilizan también en enología, farmacia, en la formulación de adhesivos para madera libres de formaldehído y espumas (3).

“ Los extractos de semillas de uva tienen una elevada actividad antioxidante ”

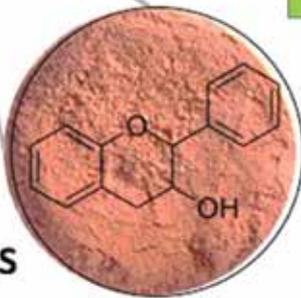
En cuanto a su efecto fisiológico, las proantocianidinas son unos de los antioxidantes más potentes encontrados en el mundo vegetal



Aspecto físico de la muestra de PCs obtenida.



Procianidinas



(4). Los extractos de semillas de uva (*Vitis vinifera* L.), por ejemplo, tienen una actividad antioxidante veinte veces superior a la de la vitamina E y cincuenta veces a la de la vitamina C (5). Ingeridos con los alimentos, contribuyen en el mantenimiento del equilibrio redox en el ser humano, considerado como un punto clave en la prevención de algunas enfermedades cardiovasculares, inflamatorias, litiasis, etcétera (6).

“ Los ultrasonidos tienen aplicaciones de procesado, conservación y extracción ”

Ultrasonidos de potencia

Existe un renovado interés por el desarrollo de tecnologías emergentes que mantengan en lo posible la calidad y bioactividad de los alimentos. En este contexto se sitúan los ultrasonidos (US) de potencia. Los US tienen un efecto importante en una gran variedad de procesos en la industria alimentaria debido a su capacidad para intensificar los procesos, reduciendo los tiempos e incrementando los rendimientos.

US baño



- 45 kHz
- Modo continuo e intermitente
- 20-40 °C

US sonda



- 20 kHz
- Modo pulsado
- 30 y 70% intensidad
- 25-55 °C

Sus aplicaciones se han desarrollado para el procesado, conservación y extracción, entre otras. Es un proceso considerado “ecológico e innovador” que implica menos tiempos de tratamiento y energía, constituyendo una buena alternativa a los convencionales (7).

La tecnología de US se basa en la aplicación de ondas acústicas a una frecuencia por encima del umbral que puede oír el oído humano (> 16 kHz). Los de alta potencia tienen frecuencias entre 16 y 100 kHz e intensidades de 10-1000 W/cm², lo cual puede inducir cambios físicos y químicos en las propiedades de los alimentos, siendo el principal mecanismo la cavitación.

Los US se propagan por series de compresión

y rarefacción a través del medio dando lugar al fenómeno de cavitación (7). Se originan burbujas que implosionan violentamente alcanzándose en breves periodos de tiempo elevadas temperaturas (5000 K) y altas presiones (1000 atm). Este colapso puede causar fuertes efectos físicos fuera de las burbujas como microcorrientes. Otro de los efectos a tener en cuenta es que, dependiendo de las condiciones de trabajo, parte de la energía ultrasónica puede absorberse en forma de calor, elevando la temperatura global de la muestra y disminuyendo el efecto de los US (8). La cavitación podría inducir, también, la formación de radicales libres debido a la rotura de moléculas de agua que podrían reaccionar y modificar, a su vez, otras moléculas; si bien esto suele ocurrir de forma más evidente a valores elevados de frecuencias de oscilación (9).

“Los ultrasonidos implican menos tiempos de tratamiento y energía”

Debido a la concentración de grandes cantidades de energía en múltiples puntos del medio tratado por US, una de sus principales aplicaciones está relacionada con la despolimerización/desagregación de macromoléculas de origen biológico. En general, se considera que al disminuir el tamaño molecular pueden verse modificadas sus propiedades biológicas. Así, Corzo-Martínez y col. (10) y Soria y col. (11) revisaron los principales efectos de los US de potencia sobre la despolimerización de proteínas y polisacáridos, respectivamente. En general, los principales factores que influyen son la potencia, la frecuencia, el tiempo, la temperatura y el tipo, masa molecular y concentración de las biomoléculas.

Hasta nuestro conocimiento, son escasos los trabajos que han estudiado el efecto de los US en extractos vegetales. Solo en casos aislados, se ha visto la aplicación de US para intensificar el proceso de extracción de taninos de *Valonea* (12), así como para descomponerlos

en combinación con agentes oxidantes como el peróxido de hidrógeno (13), no existiendo estudios sobre la potencial aplicación de los US en la despolimerización/desagregación de taninos con objeto de modificar su bioactividad.

Impacto de los US en la actividad antioxidante de procianidinas de semilla de uva

Por todo ello, se estudió el efecto de los US de potencia sobre los taninos de semillas de uva *Vitis vinífera L.* y sobre sus propiedades antioxidantes, con el fin de disponer de ingredientes con bioactividad mejorada respecto a los compuestos de partida y, así, diversificar sus aplicaciones en la industria agroalimentaria.

Para ello, se llevó a cabo: i) la obtención, el fraccionamiento y la caracterización de polímeros de procianidinas (PPCs) de alta masa molecular de semillas de uva; ii) la aplicación de US bajo condiciones controladas (45 kHz, continuo e intermitente; 20 kHz, sonda 12,7 mm, 30 y 70% amplitud) en la fracción de PCs purificada; iii) la evaluación del efecto de los US en la estructura de las PCs y en su actividad antioxidante.

El efecto más relevante fue un aumento del contenido en los polímeros y en menor medida de los monómeros y oligómeros estudiados en las muestras tratadas en baño en modo continuo y en los tratamientos de sonda con una amplitud del 30%. Este resultado pudo ser debido a una ruptura de los complejos entre PCs y proteínas



Planta piloto de filtración tangencial utilizada en la separación de los componentes de los extractos.

o polisacáridos, lo que provocaría un aumento en el contenido de PPCs libres.

En la mayoría de los ensayos, se produjo un aumento de la actividad antioxidante tras los tratamientos por US, debido probablemente a un incremento en la concentración de compuestos antioxidantes, que se atribuyen básicamente a los PPCs. Este resultado podría relacionarse con lo indicado anteriormente, es decir, el proceso de sonicación pudo haber producido una ruptura o desagregación de los complejos que los taninos forman con otras biomoléculas, aumentando así la actividad antioxidante.

“ En la mayoría de ensayos se produjo un aumento de la actividad antioxidante ”

En el caso de los tratamientos en baño, este efecto disminuyó al disminuir la concentración de las disoluciones y apenas se encontraron diferencias entre modo continuo e intermitente. Sin embargo, en el caso de los tratamientos con sonda, el mayor efecto se observó en la disolución con la concentración más baja. Al comparar los ensayos con sonda, se vio un menor efecto a 70% de amplitud que a 30%. Este resultado a priori, podría parecer controvertido pero su explicación puede deberse, entre otros factores, al efecto de la temperatura y la potencia del US. Así, la temperatura alcanzada en el ensayo con sonda al 30% fue próxima a 50°C y en el de 70% 25°C. Cuando la temperatura es más alta (máximo 60°C) se puede ejercer un efecto aditivo o sinérgico entre ésta y los US sobre la ruptura de enlaces químicos. A 30% de amplitud y 50°C, podrían haberse roto en mayor medida los PPCs acomplejados que con 70% a 25°C.

Además, el aumento de la potencia no siempre garantiza una mayor despolimerización, ya que, aunque a mayor potencia se puede formar una gran cantidad de burbujas de cavitación,



Equipo para el tratamiento de US en baño.

éstas pueden actuar como barreras contra la transmisión de energía en el sistema (11).

Los resultados presentados en este trabajo indican que los US de potencia utilizados en las condiciones aquí descritas, constituyen una eficaz herramienta para modificar estructuralmente las uniones de los taninos (procianidinas) con otras macromoléculas presentes en semillas de uva, lo cual puede ser útil en la modificación de la bioactividad de los extractos respecto a la fracción original. ■

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 Cheynier, V. *The Am J Clin Nutr* 81 (2005): 223S–229S.
- 2 Ranjitha C.Y. y col. *World J. Pharmacy and Pharmaceutical Sci.* 3 (2014): 1483-1488
- 3 Bianchi S. y col. *Industrial Crops and Products*, 61 (2014): 430-437.
- 4 Baderschneider B. y Winterhalter P. *J. Agric Food Chem.* 49 (2001): 2788-2798.
- 5 Bagchi D. y col. *Research communications in molecular pathology and pharmacology*, 95 (1997): 179-189.
- 6 Rasmussen S.E. y col. *Mol. Nutr. Food Res.* 49 (2005): 159-174.
- 7 Soria A.C. y Villamiel M. *Trends in Food Sci & Technol.* 21 (2010): 323-331.
- 8 Villamiel M. y de Jong P. *J. Food Eng* 45 (2000): 171-179.
- 9 Tian Z.M. y col. *Ultrason. Sonochem.* 11 (2004): 399-404.
- 10 Corzo-Martínez y col. *Ultrasound in Food Processing: Recent Advances* (2015): 417-436.
- 11 Soria, A.C. y col. *Ultrasound in Food Processing: Recent Advances*. Ed. M. Villamiel, J.V. García-Pérez, J. Cárcel y J.J. Benedito. John Wiley & Sons, Chichester, West Sussex, United Kingdom. (2017): 437-463.
- 12 Kilicarslan y Ozgunay, *Journal-American Leather Chemists Association* 107 (2012): 362-408.
- 13 Svitelska y col. *Chemosphere* 56 (2014): 982-987.

Agradecimientos: Este trabajo ha sido posible gracias a la financiación del MINECO, Proyecto AGL2014-5344-R