

EVALUACIÓN DE LA EXTRACCIÓN DE COMPUESTOS BIOACTIVOS (POLIFENOLES Y FLAVONOIDES) A PARTIR DEL ORUJO DE UVA (*VITIS VINIFERA* 'CABERNET FRANC')

GINA G. BANDERA ROJAS¹

THELMA K. MORALES
MARTÍNEZ¹

URIEL A. SIRERA GÓMEZ²

LUIS F. MORA CORTÉS¹

GUSTAVO SORIA
ARGÜELLO²

BRENDA CRUZ ORTIZ¹

*EVALUATION OF THE EXTRACTION OF BIOACTIVE COMPOUNDS (POLYPHENOLS AND FLAVONOIDS) FROM GRAPE POMACE (*VITIS VINIFERA* 'CABERNET FRANC')*

RESUMEN

En este estudio se evaluó la eficiencia de extracción de compuestos bioactivos de polifenoles y flavonoides a partir del orujo de uva (*Vitis vinifera* 'Cabernet Franc') mediante el uso de diferentes concentraciones de solventes y variaciones de pH. Los extractos se obtuvieron mediante ultrasonido, manteniendo condiciones controladas de temperatura y tiempo para evitar la degradación de los compuestos bioactivos. Los resultados muestran que el tratamiento con etanol al 50 % y pH 3 presentó el mayor rendimiento tanto en flavonoides (219,78 mg EQ/g PS) como en polifenoles (45,61 mg EAG/g PS), seguido por el etanol al 70 % y pH 3 en ambos casos. En contraste, los solventes acuosos mostraron baja eficiencia en la extracción de estos compuestos, confirmando la importancia de los solventes orgánicos para optimizar la recuperación de compuestos bioactivos. Estos resultados indican que la concentración del solvente y el pH son factores importantes para maximizar la extracción de polifenoles y flavonoides del orujo de uva. La optimización de estos parámetros podría mejorar el aprovechamiento del orujo de uva como fuente de compuestos bioactivos, con aplicaciones en las industrias textil, alimentaria y farmacéutica.

Palabras clave: orujo de uva; compuestos bioactivos; polifenoles; flavonoides.

1. Facultad de Ciencias Químicas, Unidad Sureste, UAdeC.

2. CONAHCYT, Centro de Investigación en Química Aplicada, Saltillo, Coah.

Correspondencia
gustavo.soria@ciqa.edu.mx

ABSTRACT

*This study evaluated the extraction efficiency of bioactive compounds, specifically polyphenols and flavonoids, from grape pomace (*Vitis vinifera* 'Cabernet Franc') using different solvent concentrations and pH variations. Extracts were obtained via ultrasound, maintaining controlled temperature and time conditions to prevent degradation of the bioactive compounds. The results show that the treatment with 50 % ethanol at pH 3 achieved the highest yield for both flavonoids (219.78 mg EQ/g DW) and polyphenols (45.61 mg GAE/g DW), followed by 70 % ethanol at pH 3 in both cases. In contrast, aqueous solvents demonstrated low efficiency in extracting these compounds, confirming the importance of organic solvents in optimizing the recovery of bioactive compounds. These findings indicate that solvent concentration and pH are important factors for maximizing grape pomace extraction of polyphenols and flavonoids. Optimizing these parameters could enhance the utilization of grape pomace as a source of bioactive compounds with potential applications in the textile, food, and pharmaceutical industries.*

Keywords: grape pomace; bioactive compounds; polyphenols; flavonoids.

I. INTRODUCCIÓN

La producción de vino genera una cantidad significativa de subproductos, entre ellos el orujo de uva, que es el hollejo, semillas y tallos remanentes tras el proceso de prensado (Muhlack y col., 2018). Este subproducto es una fuente importante de compuestos bioactivos, particularmente polifenoles y flavonoides, conocidos por sus propiedades antioxidantes y sus beneficios para la salud humana, incluyendo efectos antiinflamatorios, antimicrobianos y anticancerígenos (Yu y Ahmedna, 2013; León-González y col., 2017; Pérez-Ortiz y col., 2019; Bucić-Kojić y col., 2020; Balea y col., 2020). En este contexto, la recuperación de estos compuestos a partir del orujo de uva representa una oportunidad tanto para la industria vitivinícola como para los

sectores alimentario, cosmético y farmacéutico, contribuyendo al desarrollo de productos con valor agregado y a la sostenibilidad ambiental mediante la reducción de residuos (Castro y col., 2024).

La eficiencia de la extracción de compuestos bioactivos depende de múltiples factores, incluyendo el tipo de solvente, la concentración y el pH de la solución (Zhou y col., 2022). Estudios previos han demostrado que solventes orgánicos, como el etanol y el metanol, suelen ser más efectivos que el agua para extraer polifenoles y flavonoides del orujo de uva (Putnik y col., 2018; Saleba y col., 2022). Sin embargo, las condiciones óptimas de extracción pueden variar considerablemente según el tipo de compuesto y la matriz vegetal, por lo que es necesario identificar los parámetros específicos que maximicen el rendimiento (Monrad y col., 2010; Rodrigues y col., 2023).

El presente estudio tiene como objetivo evaluar diferentes condiciones de extracción para maximizar el contenido de polifenoles y flavonoides en el orujo de uva de la variedad *Vitis vinifera* 'Cabernet Franc'. Para ello se utilizaron soluciones de etanol a distintas concentraciones y variaciones de pH para determinar su impacto en la recuperación de estos compuestos bioactivos. Los resultados pueden proporcionar una base para la implementación de métodos de extracción eficientes y sostenibles, que promuevan el aprovechamiento del orujo de uva como fuente de compuestos bioactivos con aplicaciones en diversas industrias.

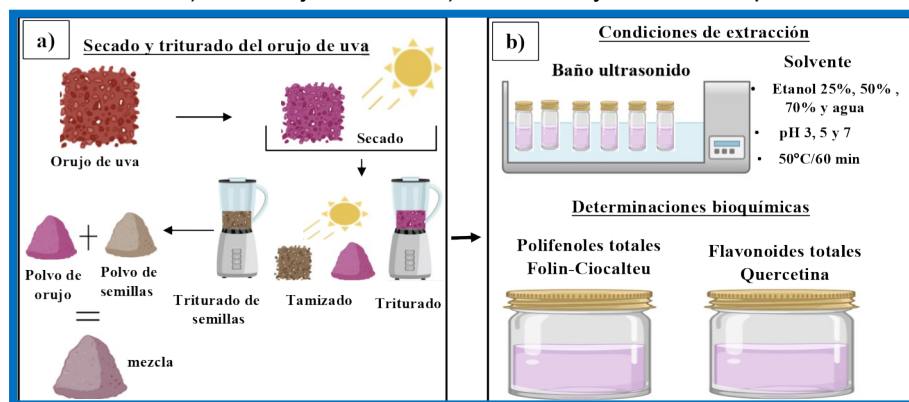
II. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 OBTENCIÓN Y SECADO DEL ORUJO DE UVA

El orujo de uva (*Vitis vinifera* 'Cabernet Franc') utilizado en este estudio fue obtenido durante el mes de septiembre de 2024 de la vinícola ©Bodegas del Viento, ubicada en la Sierra de Arteaga, en el estado de Coahuila para el secado del orujo se desagregaron los aglomerados formados durante el proceso de prensado de la uva y se distribuyó sobre papel kraft para facilitar la absorción de la humedad. El material se dejó secar a temperatura ambiente (~30°C) durante tres días hasta alcanzar un contenido de humedad del 7.5%, el cual se determinó de acuerdo con la norma ASTM-D-3030-23 empleando una termobalanza

METLER LJ1. Posteriormente, el orujo seco fue triturado en lotes de 100 g. en una licuadora Ninja BN750 de 1.4 kW de potencia hasta obtener un polvo fino (Figura 1a).

Figura 1. Esquema del proceso de extracción de compuestos bioactivos del orujo de uva: a) secado y triturado, b) extracción y análisis bioquímicos.



2.2 PREPARACIÓN DE SOLVENTES

Para determinar las mejores condiciones de extracción del colorante a partir del orujo de uva, en función de la intensidad de color y la concentración de polifenoles y flavonoides, se realizaron extracciones utilizando solventes a base de etanol en concentraciones de 25%, 50% y 70%, así como agua desionizada. Los solventes etanólicos se prepararon a partir de etanol al 96% RA/ACS de CTR SCIENTIFIC, mediante la fórmula de dilución $C1V1=C2V2$ ajustando las soluciones con agua desionizada de pH de 5.3 la cual se obtuvo mediante Milli-Q Advantage A10.

El pH de cada solvente se ajustó a valores de 3, 5 y 7 y se midió mediante un conductímetro PH700 p/mV Metern APERA. Para acidificar, se utilizó Ácido Acético Glacial con pureza del 97% de J.T. Baker, mientras que el ajuste básico se realizó con una solución de Hidróxido de Sodio ACS de Fermont ajustada al 10%. La relación masa/volumen de extracción fue de 1:10 a una temperatura de 50°C y un tiempo de extracción de 60 minutos. El proceso de extracción se realizó empleando un ultrasonido modelo 08895 - 91 Cole- Parmer con una potencia de operación de 280 W y 40 kHz de frecuencia (Figura 1b).

2.3 DETERMINACIÓN DE CONTENIDO TOTAL DE POLIFENOLES A PARTIR DEL ORUJO DE UVA (*VITIS VINIFERA* 'CABERNET FRANC').

Los compuestos fenólicos totales se cuantificaron utilizando el método de Folin-Ciocalteu, según lo descrito por Singleton y Rossi (Singleton et. al 1965). Cada extracto se diluyó siguiendo los rangos establecidos a partir de la curva de calibración estándar. Las diluciones para los extractos etanólicos fueron de 1:5 y 1:10, mientras que para las extracciones acuosas se utilizó una dilución de 1:1. Posteriormente, se depositaron 20 μL del extracto diluido en un tubo eppendorf, al que se añadieron 800 μL de agua destilada y 60 μL de reactivo Folin-Ciocalteu. Las muestras se agitaron en un vortex y se incubaron durante 5 minutos en oscuridad. Tras este período, se adicionaron 160 μL de Na_2CO_3 al 20%, y la mezcla se incubó durante 5 minutos adicionales en oscuridad. Finalmente, cada tratamiento se replicó por triplicado en placas de 96 pocillos, y la absorbancia se midió a 765 nm utilizando un lector de multiplaca Thermo scientific Multiskan Skyhigh. El solvente de referencia para la medición fue en etanol al 96%, mientras que para la curva de calibración se utilizó ácido gálico a 1000 ppm, registrando cinco puntos de absorbancia. La ecuación obtenida se utilizó para calcular los equivalentes de ácido gálico por litro (mg GAE/l). Este valor se transformó a mg GAE/g de muestra seca.

2.4 DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO TOTAL DE FLAVONOIDES A PARTIR DEL ORUJO DE UVA (*VITIS VINIFERA* 'CABERNET FRANC')

El contenido total de flavonoides se determinó utilizando el método descrito por Morreuw (Morreuw et. al. 2021). Las diluciones preparadas para los extractos etanólicos fueron de 1:10, 1:15 y 1:20, mientras que para las extracciones a base de agua destilada se utilizó una dilución de 1:5. Las diluciones se realizaron siguiendo el rango de la curva de calibración estándar de quercetina a 1000 ppm. Una vez ajustadas las diluciones, se depositaron 200 μL de la muestra en un tubo Eppendorf, seguido de la adición de 75 μL de NaNO_2 al 5%. La mezcla se agitó en un vortex y se incubó durante 5 minutos a temperatura ambiente y en condiciones de oscuridad. Posteriormente, se agregó 375 μL de AlCl_3 al 2%, se agitó nuevamente y se incubó durante 5 minutos en oscuridad. Después, se adicionaron 500 μL de NaOH al 4% y 500 μL de agua destilada, se agitó y se incubó durante 5 minutos en condiciones de oscuridad. Finalmente, la absorbancia de la mezcla se midió en un espectrofotómetro multiplaca a 510 nm. La curva de calibración se construyó utilizando quercetina a 1000 ppm, y la ecuación obtenida se utilizó para calcular el contenido total de

flavonoides por litro (mg EQ/l). Este valor se transformó a mg EQ/ g muestra seca.

Los resultados obtenidos para el contenido total de polifenoles y flavonoides se analizaron mediante un análisis de varianza (ANOVA). Se consideró un nivel de significancia de $p < 0.05$, este análisis estadístico se realizó utilizando el software InfoStat.

III. RESULTADOS

3.1 ANÁLISIS DEL CONTENIDO TOTAL DE POLIFENOLES A PARTIR DEL ORUJO DE UVA (*VITIS VINIFERA* 'CABERNET FRANC').

Los resultados indican que la eficiencia de extracción de polifenoles a partir del orujo de uva (*Vitis vinifera* 'Cabernet Franc') depende significativamente de la concentración del solvente y el pH. Entre los tratamientos evaluados, el etanol al 50 % y pH 3 mostró el mayor contenido de polifenoles (45,61 mg EAG/g) (Figura 2). Esto indica que una concentración intermedia de etanol combinada con un pH ácido proporciona las mejores condiciones para la extracción de polifenoles, lo cual se atribuye a un balance en la polaridad del solvente, que favorece la solubilización de compuestos fenólicos (Chemat y col., 2012; Stalikas, 2007).

El rendimiento decreció con otras combinaciones de concentración y pH. En el caso de etanol al 70 % y pH 3, el contenido de polifenoles fue menor (35,13 mg EAG/g), lo que sugiere que concentraciones más altas de etanol pueden disminuir la eficiencia de extracción de algunos polifenoles, posiblemente debido a una menor afinidad entre el solvente y compuestos de polaridad intermedia (Dai y Mumper, 2010). Además, los tratamientos con agua a todos los niveles de pH (3, 5 y 7) mostraron un rendimiento bajo, alcanzando el valor más alto a pH 7 (5,35 mg EAG/g).

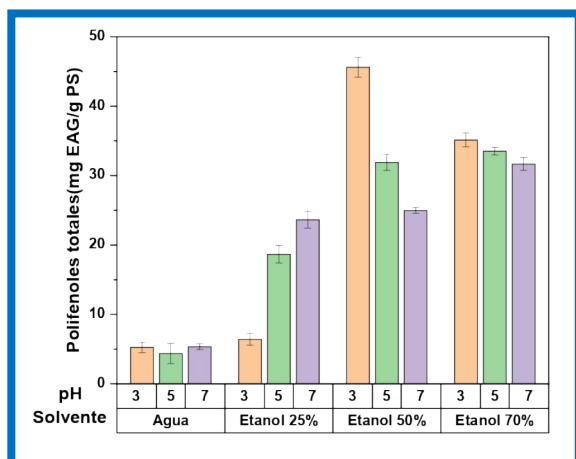


Figura 2. Contenido total de polifenoles a partir del orujo de uva (*Vitis vinifera* 'Cabernet Franc').

Estos resultados indican que el agua, siendo un solvente altamente polar, es menos eficiente para la extracción de compuestos fenólicos en matrices complejas como el orujo de uva (Pinelo y col., 2005). En la Figura 3a se muestra la intensidad de color en los extractos obtenidos con diferentes solventes y pH. Se observa que, a medida que la concentración del etanol aumenta, también lo hacía la intensidad del color. Sin embargo, la intensidad de color entre los tratamientos con etanol al 50% y al 70% a pH 3 fueron similares (Figura 3b). Por otra parte, los extractos acuosos presentaron una intensidad de color baja confirmando la importancia de los solventes orgánicos para optimizar tanto la recuperación de compuestos bioactivos, así como la intensidad de color.

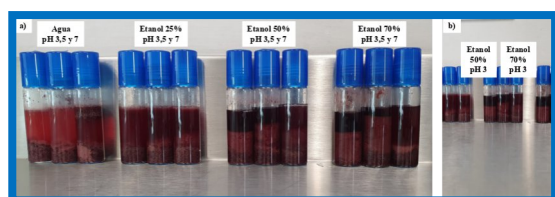


Figura 3. a) Extracción de biocompuestos de orujo de uva con diferentes solventes y pH mediante ultrasonido, b) extracción con solvente de etanol al 50% y 70% con pH 3.

Adicionalmente, el etanol al 25 % y pH 7 también demostró una eficiencia moderada, con un contenido de polifenoles de 23,64 mg EAG/g, pero sin igualar al tratamiento óptimo con etanol al 50 % y pH 3 (Figura 2). Esto reafirma la hipótesis de que la polaridad del solvente y el pH del medio son factores importantes en la extracción de polifenoles, sugiriendo que el etanol al 50 % en condiciones ácidas optimiza el proceso de extracción (Vergara-Salinas y col., 2013).

ANÁLISIS DEL CONTENIDO TOTAL DE FLAVONOIDES A PARTIR DEL ORUJO DE UVA (*VITIS VINIFERA* 'CABERNET FRANC')

Los resultados muestran que el contenido total de flavonoides (mg EQ/g de muestra) varía significativamente entre los diferentes tratamientos de extracción, dependiendo de la concentración del solvente y el pH. En general, los extractos etanólicos muestran un mayor contenido de flavonoides en comparación con los tratamientos acuosos a todos los niveles de pH evaluados. El tratamiento con etanol al 50 % y pH 3 obtuvo el mayor contenido de flavonoides (219,78 mg EQ/g) (Figura 4). Este resultado coincide con estudios previos que demuestran que concentraciones intermedias de etanol pueden ser efectivas para la extracción de compuestos bioactivos debido a su capacidad para solubilizar tanto compuestos polares como no polares (Lafka y col., 2007; Spigno y col., 2007).

Los valores obtenidos para el etanol al 70 % variaron según el pH, alcanzando 159,11 mg EQ/g a pH 5, mientras que disminuyó a 60,22 mg EQ/g a pH 7. Esto indica que, aunque solventes con alta concentración de etanol son efectivos, el equilibrio de polaridad en el etanol al 50 % parece proporcionar una ventaja en la extracción de flavonoides (Dai y Mumper, 2010). Estos resultados sugieren que optimizar tanto la concentración de etanol como el pH es fundamental para maximizar la recuperación de flavonoides del orujo de uva, proporcionando así una base para su aprovechamiento en diversas aplicaciones industriales.

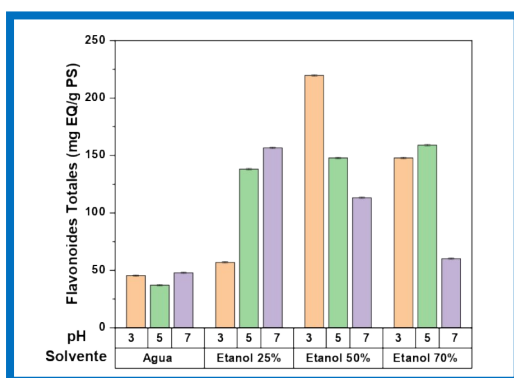


Figura 4. Contenido total de flavonoides a partir del orujo de uva (*Vitis vinifera* 'Cabernet Franc').

El uso de agua como solvente resultó en los niveles más bajos de flavonoides en todos los valores de pH, siendo el más alto el de agua

a pH 7 (47,98 mg EQ/g) (Figura 4). Estos resultados confirman la limitada eficiencia de los solventes acuosos en la extracción de flavonoides, lo cual es consistente con la literatura, que indica que el agua, al ser un solvente altamente polar, tiene una capacidad limitada para extraer compuestos fenólicos que poseen estructuras menos polares (Pinelo y col., 2005). Estos resultados sugieren que la optimización de los parámetros de pH y la concentración del solvente son fundamentales para maximizar la extracción de flavonoides en el orujo de uva.

CONCLUSIONES

Este estudio demostró que la eficiencia de extracción de compuestos bioactivos, específicamente polifenoles y flavonoides, a partir del orujo de uva (*Vitis vinifera* 'Cabernet Franc') depende de la concentración de solvente y del pH. Los resultados indican que el etanol al 50 % y pH 3 maximizan el rendimiento de ambos compuestos, logrando valores de 219,78 mg EQ/g PS para flavonoides y 45,61 mg EAG/g PS para polifenoles. Este resultado confirma que las soluciones intermedias de etanol en condiciones ácidas mejoran la extracción de compuestos fenólicos, probablemente debido al equilibrio de polaridad que ofrecen para solubilizar tanto compuestos polares como no polares.

En contraste, los tratamientos acuosos mostraron una baja eficiencia, lo que sugiere que el agua, por su alta polaridad, no es adecuada para extraer cantidades significativas de polifenoles y flavonoides en matrices complejas como el orujo de uva. Estos resultados son relevantes para ajustar los parámetros de extracción y mejorar el aprovechamiento del orujo de uva como fuente de compuestos bioactivos. La optimización de la extracción de polifenoles y flavonoides puede facilitar el desarrollo de aplicaciones en la industria alimentaria, farmacéutica y textil, contribuyendo a la economía circular y a la reducción de desechos en la industria vitivinícola.

AGRADECIMIENTOS

Se agradece al Laboratorio Nacional de Materiales Grafénicos (LNMG)

por el soporte técnico y el acceso a los equipos de caracterización, y a la vinícola ©Bodegas del Viento por proporcionar el orujo de uva. También se extiende un especial agradecimiento a los técnicos Jesús Alfonso Mercado, Gilberto Francisco Hurtado, Jesús Francisco Lara y Jesús Alejandro Espinoza por su valioso apoyo en el manejo de los equipos de caracterización.

REFERENCIAS

- Balea, Ș. S., Pârvu, A. E., Pârvu, M., Vlase, L., Dehelean, C. A., & Pop, T. I. (2020). Antioxidant, anti-inflammatory and antiproliferative effects of the *Vitis vinifera* L. var. Fetească Neagră and Pinot Noir pomace extracts. *Frontiers in pharmacology*, 11: 990.
- Bucić-Kojić, A., Fernandes, F., Silva, T., Planinić, M., Tišma, M., Šelo, G., & Andrade, P. B. (2020). Enhancement of the anti-inflammatory properties of grape pomace treated by *Trametes versicolor*. *Food & function*, 11(1): 680-688.
- Castro, L. E. N., Sganzerla, W. G., Silva, A. P. G., John, O. D., Barroso, T. L. C. T., Rostagno, M. A., & Forster-Carneiro, T. (2024). Sustainable extraction methods for the recovery of polyphenolic compounds from grape pomace and its biological properties: A comprehensive review. *Phytochemistry Reviews*, 5: 1-28.
- Chemat, F., Abert-Vian, M., & Visinoni, F. (2012). Green extraction of natural products: Concept and principles. *International Journal of Molecular Sciences*, 13(7): 8615-8627.
- da Silva, D. J., de Oliveira, M. M., Wang, S. H., Carastan, D. J., & Rosa, D. S. (2022). Designing antimicrobial polypropylene films with grape pomace extract for food packaging. *Food Packaging and Shelf Life*, 34: 100929.
- Dai, J., & Mumper, R. J. (2010). Plant phenolics: Extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules*, 15(10): 7313-7352.
- Lafka, T. I., Sinanoglou, V., & Lazos, E. S. (2007). On the extraction and antioxidant activity of phenolic compounds from winery wastes. *Food Chemistry*, 104(3): 1206-1214.
- León-González, A. J., Jara-Palacios, M. J., Abbas, M., Heredia, F. J., & Schini-Kerth, V. B. (2017). Role of epigenetic regulation on the induction of apoptosis in Jurkat leukemia cells by white grape pomace rich in phenolic compounds. *Food & function*, 8(11): 4062-4069.
- Monrad, J. K., Howard, L. R., King, J. W., Srinivas, K., & Mauromoustakos, A. (2010).

- Subcritical solvent extraction of anthocyanins from dried red grape pomace. *Journal of agricultural and food chemistry*, 58(5): 2862-2868.
- Morreeuw, Z.P.; Escobedo, F.C.; Ríos, G.L.J.; Castillo, Q.D.; Reyes, A.G. (2021). Transcriptome-based metabolic profiling of flavonoids in Agave lechuguilla waste biomass. *Plant Science*, 305: 110748.
- Muhlack, R. A., Potumarthi, R., & Jeffery, D. W. (2018). Sustainable wineries through waste valorisation: A review of grape marc utilisation for value-added products. *Waste management*, 72: 99-118.
- Pérez-Ortiz, J. M., Alguacil, L. F., Salas, E., Hermosín-Gutiérrez, I., Gómez-Alonso, S., & González-Martín, C. (2019). Antiproliferative and cytotoxic effects of grape pomace and grape seed extracts on colorectal cancer cell lines. *Food science & nutrition*, 7(9): 2948-2957.
- Pinelo, M., Arnous, A., & Meyer, A. S. (2005). Upgrading of grape skins: Significance of plant cell-wall structural components and extraction techniques for phenol release. *Trends in Food Science & Technology*, 17(11), 579-590.
- Putnik, P., Bursać Kovačević, D., Ježek, D., Šustić, I., Zorić, Z., & Dragović-Uzelac, V. (2018). High-pressure recovery of anthocyanins from grape skin pomace (*Vitis vinifera* cv. Teran) at moderate temperature. *Journal of Food Processing and Preservation*, 42(1): e13342.
- Rodrigues, R. P., Sousa, A. M., Gando-Ferreira, L. M., & Quina, M. J. (2023). Grape pomace as a natural source of phenolic compounds: solvent screening and extraction optimization. *Molecules*, 28(6): 2715.
- Saleba, L., Saribekova, D., Kunyk, O., & Lazzara, G. (2022). Influence of chemical structure of alcohols on extraction and stability of anthocyanins. *Ukrainian Food Journal*, 11(2): 280-290.
- Stalikas, C. D. (2007). Extraction, separation, and detection methods for phenolic acids and flavonoids. *Journal of Separation Science*, 30(18): 3268-3295.
- Singleton, V., Rossi, J. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*: 16(3), 144-158.
- Vergara-Salinas, J. R., y col. (2013). Effect of pressurized hot water extraction on antioxidants from grape pomace before and after enological fermentation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(28): 6929-6936.
- Yu, J., & Ahmedna, M. (2013). Functional components of grape pomace: Their composition, biological properties and potential applications. *International Journal of Food Science & Technology*, 48(2): 221-237.
- Zhou, D. D., Li, J., Xiong, R. G., Saimaiti, A., Huang, S. Y., Wu, S. X., ... & Li, H. B.

(2022). Bioactive compounds, health benefits and food applications of grape. *Foods*, 11(18): 2755.