



UNIVERSIDAD DE LA RIOJA

TRABAJO FIN DE ESTUDIOS

Título

Revalorización de subproductos de uva: compuestos de interés, técnicas de extracción y aplicaciones

Autor/es

RUBÉN MARTÍNEZ BRETÓN

Director/es

M^a BELEN AYESTARÁN ITURBE y Zenaida Guadalupe Mínguez

Facultad

Escuela de Máster y Doctorado de la Universidad de La Rioja

Titulación

Máster Universitario en Tecnología, Gestión e Innovación Vitivinícola

Departamento

AGRICULTURA Y ALIMENTACIÓN

Curso académico

2021-22



Revalorización de subproductos de uva: compuestos de interés, técnicas de extracción y aplicaciones, de RUBÉN MARTÍNEZ BRETÓN
(publicada por la Universidad de La Rioja) se difunde bajo una Licencia Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-SinObraDerivada 3.0 Unported.
Permisos que vayan más allá de lo cubierto por esta licencia pueden solicitarse a los titulares del copyright.

Trabajo de Fin de Máster

Revalorización de subproductos de uva: compuestos de interés, técnicas de extracción y aplicaciones

Revaluation of grape by-products: compounds of interest, extraction techniques and applications

Autor : *Rubén Martínez Bretón*

Tutoras: M^a Belén Ayestarán Iturbe y Zenaida Guadalupe Mínguez

MÁSTER:

Máster en Tecnología, Gestión e Inn. Vitivinícola

Escuela de Máster y Doctorado



AÑO ACADÉMICO: 2021/2022

Índice

0.	Resumen/Abstract.....	3
1.	Introducción	4
2.	Objetivos	6
3.	Materiales.....	7
4.	Principales residuos en la industria enológica y su composición	14
4.1	Raspón.....	14
4.2	Orujos.....	16
4.3	Lías.....	18
5.	Principales compuestos de interés de los residuos enológicos y su composición	19
6.	Técnicas de extracción de los principales compuestos de interés	20
6.1	Extracción convencional.....	21
6.2	Extracción con agua caliente presurizada	21
6.3	Extracción con fluido supercrítico y subcrítico	23
6.4	Extracción con disolvente eutéctico profundo.....	24
6.5	Extracción asistida por microondas.....	25
6.6	Extracción con ultrasonidos	26
6.7	Extracción con campos eléctricos pulsados (PEF)	28
6.8	Extracción mediante descargas eléctricas de alto voltaje (HVED)	30
6.9	Extracción mediante calentamiento óhmico pulsado (POH)	31
6.10	Extracción mediante procesamiento de alta presión.....	32
7.	Limitaciones de los métodos de extracción	33
8.	Aplicaciones de los principales subproductos y compuestos de interés en la industria. 35	
8.1	Industria alimentaria, farmacéutica y de la salud	35
8.2	Industria cosmética	40
8.3	Industria agrícola y animal	41
9.	Actividad biológica y beneficios para la salud de los compuestos de interés	41
10.	Últimos estudios en la obtención de biocompuestos a partir de subproductos de la industria enológica	43
10.1	Lías.....	43
10.2	Orujos.....	44
11.	Conclusiones.....	45
12.	Bibliografía.....	47

0. Resumen/Abstract

Resumen

La vitivinicultura es una de las actividades agrícolas e industriales más importantes a nivel mundial, sin embargo, debido a su carácter estacional, genera gran cantidad de residuos en un espacio corto de tiempo, que en algunas ocasiones, pueden ser difíciles de gestionar correctamente, por lo que se hace necesario reutilizar esos residuos para obtener productos de alto valor añadido para contribuir a una economía circular y a una mayor sostenibilidad.

El principal objetivo de este trabajo es revisar los antecedentes existentes sobre los principales productos que genera la industria enológica y su posible reutilización y aprovechamiento.

Recientemente se han utilizado diferentes técnicas de extracción de los compuestos de interés, llamadas técnicas de extracción verde, que son más sostenibles que las técnicas convencionales, ya que utilizan menos productos químicos y obtienen mayores rendimientos en la extracción, utilizando menores tiempos, lo que al final se traduce en una mayor rentabilidad.

Una de las últimas aplicaciones de los subproductos de la industria enológica es la obtención de polifenoles, ya que se ha demostrado que tienen propiedades biológicas y beneficiosas para la salud, potenciando la extracción de estos compuestos y sus aplicaciones en la industria alimentaria y cosmética entre otras.

Abstract

Winegrowing is one of the most important agricultural and industrial activities worldwide, however, due to its seasonal nature, it generates a large amount of waste in a short space of time, which sometimes can be difficult to manage properly, so it is necessary to reuse these wastes to obtain high value-added products to contribute to a circular economy and greater sustainability.

The main objective of this work is to review the existing background on the main products generated by the winemaking industry and their possible reuse and utilization.

Recently, different extraction techniques have been used to extract the compounds of interest, called green extraction techniques, which are more sustainable than conventional techniques, since they use fewer chemicals and obtain higher extraction yields, using less time, which in the end translates into greater profitability.

One of the latest applications of the by-products of the winemaking industry is to obtain polyphenols, as they have been shown to have biological and health-

promoting properties, boosting the extraction of these compounds and their applications in the food and cosmetics industries, among others.

1. Introducción

La vid es uno de los cultivos más extendidos a nivel mundial, con una producción total de 63 millones de toneladas de uva anuales, de las cuales aproximadamente el 75% se destinan a la elaboración de vino (FAOSTAT, 2013).

La industria enológica genera una gran cantidad de residuos y subproductos (Figura 1), cuya gestión y eliminación constituyen un importante problema medioambiental, debido a sus características contaminantes, por ejemplo, su elevada carga orgánica, y su carácter estacional. Los principales subproductos resultantes de esta industria son orujos, raspones y lías, los cuales se caracterizan por su alto contenido en compuestos de alto valor añadido que no se han extraído durante el proceso de vinificación, como los compuestos polifenólicos.

Los polifenoles son moléculas presentes de forma natural en determinados alimentos como frutas, verduras, cereales integrales, café, vino, té o chocolate. Además, cuando la planta de vid está sometida a algún tipo de estrés biótico o abiótico activa su metabolismo secundario, estimulando la síntesis de compuestos fenólicos implicados en la respuesta defensiva de la planta. Estos compuestos han sido ampliamente investigados, ya que se les atribuyen importantes propiedades y efectos beneficiosos.

Debido al creciente impacto del ser humano en el medio ambiente en cuanto a contaminación y explotación de recursos se refiere, en los últimos años ha surgido un término denominado economía circular, basado en la reutilización de los subproductos generados para crear un valor añadido. En este contexto, lo que tradicionalmente se consideraba un desecho de producción, actualmente se convierte en una materia prima para obtener nuevos productos comercializables. Los subproductos generados en la industria enológica se han destinado convencionalmente a la obtención de alcohol mediante su destilación, a la elaboración de preparados de alimentación animal y fertilizantes, o bien a la obtención de enocianina. Sin embargo, estas alternativas presentan algunos inconvenientes, pues debido a su composición, se ha observado que afectan negativamente al cultivo y generan problemas de digestibilidad en animales, entre otros. Por ello, debido a sus recientemente descubiertas propiedades antimicrobianas y beneficiosas para la salud, actualmente se investigan otras aplicaciones de los subproductos, tales como la producción de suplementos dietéticos para mejorar la salud cardiovascular, conservantes alimentarios o productos farmacéuticos y cosméticos, como alternativa a la revalorización tradicional de los subproductos generados.

Es necesario el empleo de distintas técnicas y procedimientos de extracción para lograr obtener estos compuestos de alto valor añadido. Hasta finales de la década de los 90, las técnicas de extracción se basaban en la utilización de productos químicos perjudiciales para el medio ambiente y/o procesos de calentamiento para la obtención de los productos de interés, lo cual ocasionaba una degradación de los compuestos termolábiles y un menor rendimiento en la extracción. Sin embargo, en las últimas décadas se han propuesto diversas alternativas para minimizar el uso de productos químicos y energía, las denominadas técnicas de extracción verde, que permiten maximizar los rendimientos de extracción reduciendo el impacto ambiental, de modo que son técnicas con una gran rentabilidad y con un próspero futuro.

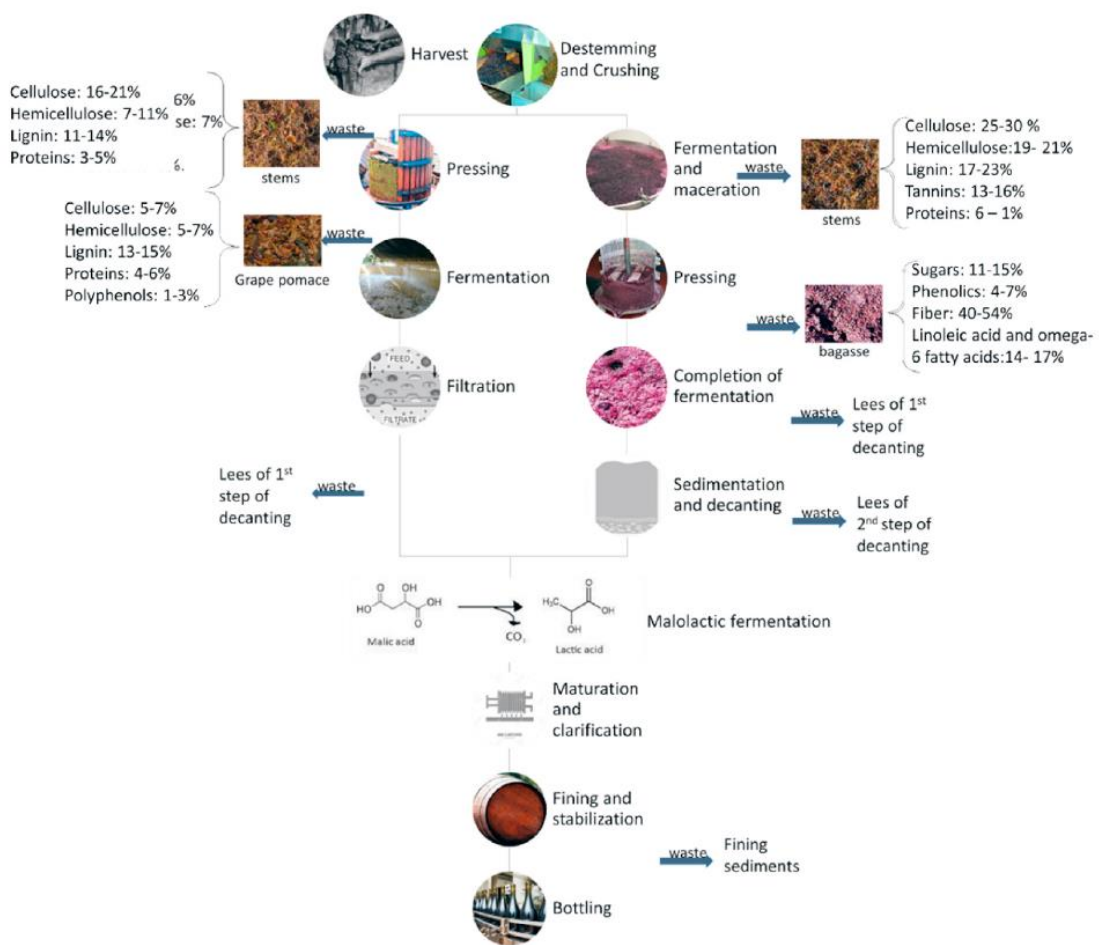


Figura 1: Subproductos generados durante el proceso de vinificación. Fuente: Coelho et al., (2020).

2. Objetivos

El objetivo principal de este Trabajo Fin de Máster es revisar los antecedentes existentes sobre los subproductos que genera la industria enológica y su posible aprovechamiento.

Para ello se plantearon distintos objetivos específicos en la revisión bibliográfica:

- Principales residuos en la industria enológica y su composición.
- Principales compuestos de interés de los residuos enológicos y su composición.
- Técnicas de extracción de los principales compuestos de interés, con especial interés en las técnicas de extracción verde o medioambientalmente más sostenibles y sus limitaciones.
- Aplicaciones de los principales subproductos y compuestos de interés en la industria.
- Actividad biológica y beneficios para la salud de los compuestos de interés.
- Últimos estudios en la obtención de biocompuestos a partir de subproductos de la industria enológica.

Se incluye además un apartado de materiales donde se indica como se llevó a cabo la revisión bibliográfica.

3. Materiales

Para la revisión bibliográfica se utilizaron un total de 145 artículos de 71 revistas/libros diferentes (Tabla 1). Se incluyó también el factor de impacto de la revista en el año 2021, cuyo cálculo se realiza a través de la siguiente fórmula:

$$\frac{\text{Citas en 2021 a artículos publicados en 2019 + 2020}}{\text{Número de artículos citables en 2019 + 2020}}$$

Tabla 1: Campo, temática, revista y su factor de impacto a la que pertenece el artículo.

Campo	Temática	Autor	Revista/Libro	Factor de impacto
Residuos enológicos	Valorización de residuos de bodega	Devesa-Rey et al., 2011	<i>Waste Management</i>	8.816
		Panouille et al., 2007	<i>Handbook Of Waste Management And Co-Product Recovery In Food Processing</i>	-
		Rajha et al., 2014a	<i>International Conference On Renewable Energies For Developing Countries 2014</i>	-
		Braga et al., 2002	<i>American Journal Of Enology And Viticulture</i>	2.630
		Šelo et al., 2021	<i>Foods</i>	5.561
	Orujo y Raspón	Llobera & Canellas, 2007	<i>Food Chemistry</i>	9.231
	Lías/Levaduras	Pérez-Serradilla & De Castro, 2008	<i>Food Chemistry</i>	9.231
		Zimmerli & Dick, 1996	<i>Food Additives & Contaminants</i>	2.045
		Leong et al., 2006	<i>Australian Journal Of Grape And Wine Research</i>	2.862
		Fernandes et al., 2007	<i>Australian Journal Of Grape And Wine Research</i>	2.862
		Guilloux-Benatier et al., 2001	<i>Oeno One</i>	3.000
		Chassagne et al., 2005	<i>Food Chemistry</i>	9.231

Tabla 1: Continuación.

Residuos enológicos	Extractos de levadura para reducir OTA	Moruno et al., 2005	<i>American Journal Of Enology And Viticulture</i>	2.630	
	Composición fenólica del raspón	Souquet et al., 2000	<i>Journal Of Agricultural And Food Chemistry</i>	5.895	
	Composición fenólica del orujo	Deng et al., 2011	<i>Food Research International</i>	7.425	
	Extracción de polifenoles de las semillas	Nawaz et al., 2006	<i>Separation And Purification Technology</i>	9.136	
	Extractos de orujo	de Campos et al., 2008	Bioresource Technology	11.889	
		Canalejo et al., 2021	<i>Food Chemistry</i>	9.231	
		Šelo et al., 2022	<i>Foods</i>	5.561	
		Teles et al., 2019	<i>Food Research International</i>	7.425	
		Bucić-Kojić et al., 2020	<i>Food & Function</i>	6.317	
	Extracción de polifenoles de las lías	De Iseppi et al., 2021a	<i>Lwt - Food Science And Technology</i>	6.056	
		De Iseppi et al., 2021b	<i>Lwt - Food Science And Technology</i>	6.056	
		da Silva Araújo et al., 2014	<i>Innovative Food Science & Emerging Technologies</i>	7.104	
		Núñez et al., 2006	<i>Journal Of Agricultural And Food Chemistry</i>	5.895	
		Costa et al., 2018	<i>Journal Of The Brazilian Chemical Society</i>	-	
	Principales compuestos de interés	Polifenoles	Garrido & Borges, 2013	<i>Food Research International</i>	7.425
			Balasundram et al., 2006	<i>Food Chemistry</i>	9.231
			Baderschneider & Winterhalter, 2001	<i>Journal Of Agricultural And Food Chemistry</i>	5.895
			Castillo-Muñoz et al., 2007	<i>Journal Of Agricultural And Food Chemistry</i>	5.895
			Jeffery et al., 2008	<i>Journal Of Grape And Wine Research</i>	2.862
Schoedl et al., 2012			<i>Scientia Horticulturae</i>	4.342	
Treutter et al., 2006			<i>Environmental Chemistry Letters</i>	13.615	

Tabla 1: Continuación.

Principales compuestos de interés	Polifenoles	Montealegre et al., 2006	<i>Journal Of Food Composition And Analysis</i>	4.520
		Cook & Samman, 1996	<i>The Journal Of Nutritional Biochemistry</i>	-
		Di Lecce et al., 2014	<i>Food Chemistry</i>	9.231
		Martínez-Lapuente et al., 2015	<i>Food Chemistry</i>	9.231
		Martínez-Lapuente et al., 2018	<i>Grapes And Wines - Advances In Production, Processing, Analysis And Valorization</i>	-
	Antocianos	Mattivi et al., 2006	<i>Journal Of Agricultural And Food Chemistry</i>	5.895
Técnicas de extracción	Técnicas convencionales	Karvela et al., 2009	<i>Talanta</i>	6.556
		Agustin-Salazar et al., 2014	<i>Australian Journal Of Grape And Wine Research</i>	2.862
		Guendez et al., 2005	<i>Food Chemistry</i>	9.231
		Lapornik et al., 2005	<i>Journal Of Food Engineering</i>	6.203
		Pekić et al., 1998	<i>Food Chemistry</i>	9.231
	Técnicas emergentes	Coelho, et al 2020	<i>Trends In Food Science & Technology</i>	16.002
		Galanakis, 2012	<i>Trends In Food Science & Technology</i>	16.002
		Galanakis, 2013	<i>Food And Bioproducts Processing</i>	5.105
	Importancia de la estructura celular para la elección de técnicas de extracción	Pinelo et al., 2006	<i>Trends In Food Science & Technology</i>	16.002
	Efecto del solvente sobre la extracción	Do et al., 2014	<i>Journal Of Food And Drug Analysis</i>	6.157
	Disolvente eutéctico	Alonso et al., 2018	<i>Anales De Química De La RSEQ</i>	-
	Extracción verde	Barba et al., 2016	<i>Trends In Food Science & Technology</i>	16.002

Tabla 1: Continuación.

Técnicas de extracción	Extracción verde	Makris, 2018	<i>Current Opinion In Green And Sustainable Chemistry</i>	8.843
		Plotka-Wasyłka et al., 2017	<i>Trac Trends In Analytical Chemistry</i>	14.908
		Koubaa et al., 2015	<i>Journal Of Agricultural And Food Chemistry</i>	5.895
	Extracción de polifenoles	Brahim et al., 2014	<i>Industrial Crops And Products</i>	6.449
		Rajha et al., 2014b	<i>Food Research International</i>	7.425
		Rajha et al., 2014c	<i>International Journal Of Molecular Sciences</i>	6.208
		Louli et al., 2004	<i>Bioresource Technology</i>	11.889
	Microondas	Pérez-Serradilla & De Castro, 2011	<i>Food Chemistry</i>	9.231
		Jain et al., 2009	<i>Asian Journal Research Chemistry</i>	4.236
		Alupului et al., 2012	<i>Upb Science Bulletin, Series B</i>	-
		Chemat & Cravotto, 2012	<i>Microwave-Assisted Extraction For Bioactive Compounds: Theory And Practice (Vol. 4)</i>	-
		Liazid et al., 2011	<i>Food Chemistry</i>	9.231
		Al Bittar et al., 2013	<i>Food Chemistry</i>	9.231
		Yu et al., 2014	<i>Advanced Materials Research</i>	-
	Ultrasonidos	Achat et al., 2012	<i>Ultrasonics Sonochemistry</i>	9.336
		Patist & Bates, 2008	<i>Innovative Food Science & Emerging Technologies</i>	7.104
		Pingret et al., 2012	<i>Journal Of Food Engineering</i>	6.203
		Virost et al., 2010	<i>Ultrasonics Sonochemistry</i>	9.336
		Cho et al., 2006	<i>Journal Of Food Engineering</i>	6.203
		El Darra et al., 2013a	<i>European Food Research And Technology</i>	3.498

Tabla 1: Continuación.

Técnicas de extracción	Ultrasonidos	Corrales et al., 2008a	<i>Journal Of Food Engineering</i>	6.203
		Vilkhu et al., 2008	<i>Innovative Food Science & Emerging Technologies</i>	7.104
		Da Porto et al., 2013	<i>Ultrasonics Sonochemistry</i>	9.336
		Rajha et al., 2015	<i>Separation And Purification Technology</i>	9.136
		Novak et al., 2008	<i>Analytica Chimica Acta</i>	6.911
		González et al., 2020	<i>Food And Bioproducts Processing</i>	5.105
	Campos eléctricos pulsados	Vivanco et al., 2021	<i>Revista Chilena De Nutrición</i>	-
		Balasa, et al. 2006	<i>Food Factory Of The Future 3</i>	-
		El Darra et al., 2013a	<i>European Food Research And Technology</i>	3.498
		El Darra et al. 2013b	<i>Food And Bioprocess Technology</i>	5.581
		Barba et al., 2015	<i>Food And Bioprocess Technology</i>	5.581
		Brianceau et al., 2015	<i>Innovative Food Science & Emerging Technologies</i>	7.104
		Rajha et al., 2014b	<i>Food Research International</i>	7.425
	Descargas eléctricas de alto voltaje	Boussetta & Vorobiev, 2014	<i>Comptes Rendus Chimie</i>	2.550
		Boussetta et al., 2012	<i>Innovative Food Science & Emerging Technologies</i>	7.104
		Boussetta et al., 2013	<i>British Journal Of Biomedical Science</i>	2.432
	Alta presión	Jun, 2013	<i>Critical Reviews In Food Science And Nutrition</i>	11.208
		Corrales et al., 2008b	<i>Journal Of Food Engineering</i>	6.203
		Corrales et al., 2009	<i>Journal Of Food Engineering</i>	6.203
		Casazza et al., 2010	<i>Journal Of Food Engineering</i>	6.203
		Casazza et al., 2012	<i>International Journal Of Food Science & Technology</i>	3.612

Tabla 1: Continuación.

Técnicas de extracción	Calentamiento óhmico pulsado	Praporscic, 2005	<i>Tesis Doctoral</i>	-	
		El Darra et al., 2013b	<i>Food And Bioprocess Technology</i>	5.581	
	Agua caliente presurizada	Plaza & Turner, 2015	<i>Trac Trends In Analytical Chemistry</i>	14.908	
		Vergara-Salinas et al., 2013	<i>Journal Of Agricultural And Food Chemistry</i>	5.895	
		Vergara-Salinas et al., 2015	<i>Food Chemistry</i>	9.231	
	Fluidos subcríticos/supercríticos	Bleve et al., 2008	<i>Separation And Purification Technology</i>	9.136	
		Palma et al., 1999	<i>Journal Of Chromatography A</i>	4.601	
		Pascual-Marti et al., 2001	<i>Talanta</i>	6.556	
		Casas et al., 2010	<i>Journal Of Food Engineering</i>	6.203	
		Wagner & Pruß, 2002	<i>Journal Of Physical And Chemical Reference Data</i>	5.048	
	Aplicaciones	Aplicaciones de los polifenoles	El Gharras, 2009	<i>International Journal Of Food Science & Technology</i>	3.612
			Bowtell & Kelly, 2019	<i>Sports Medicine</i>	11.928
Cases et al., 2017			<i>Nutrients</i>	6.706	
Yamakoshi et al., 2002			<i>Food And Chemical Toxicology</i>	5.572	
Bentivegna & Whitney en el 2002			<i>Food And Chemical Toxicology</i>	5.572	
Orujos		García-Lomillo & González-SanJosé, 2017	<i>Comprehensive Reviews In Food Science And Food Safety</i>	15.786	
		Doores, 2011	<i>Food Additives Data Book</i>	-	
Actividad biológica y beneficios para la salud de los compuestos de interés	Compuestos bioactivos presentes en los residuos enológicos	Teixeira et al., 2014	<i>International Journal Of Molecular Sciences</i>	6.208	
		Fernandes et al., 2013	<i>Industrial Crops And Products</i>	6.449	
	Beneficios para la salud	Katalinić et al., 2010	<i>Food Chemistry</i>	9.231	
		Furiga et al., 2009	<i>Food Chemistry</i>	9.231	

Tabla 1: Continuación.

Actividad biológica y beneficios para la salud de los compuestos de interés	Beneficios para la salud	Vattem & Shetty, 2003	Process Biochemistry	4.885
		Anastasiadi et al., 2012	LWT-Food Science And Technology	6.056
		Kallithraka et al., 2014	Food Chemistry	9.231
		Cook et al., 2015	<i>European Journal Of Applied Physiology</i>	3.346
		Charradi et al., 2018	<i>Biomedicine & Pharmacotherapy</i>	7.419
		Zhang & Tsao, 2016	<i>Current Opinion In Food Science</i>	9.800
		Baenas et al., 2018	<i>Foods And Supplements, Polyphenols: Properties, Recovery, And Applications</i>	-
		Cheyrier, 2005	<i>American Journal Of Clinical Nutrition</i>	8.475
		Katalinić et al., 2010	Food Chemistry	9.231
		Weaver et al. 2021	<i>European Journal Of Nutrition</i>	4.865
		Bobek, 1999	<i>British Journal Of Biomedical Science</i>	2.432
		Shi et al., 2003	<i>Journal Of Food Agriculture & Environment</i>	0.435
		Dohadwala & Vita, 2009	<i>The Journal Of Nutrition</i>	4.687
		Sano et al., 2005	<i>Thrombosis Research</i>	10.407
		Moreno et al., 2003	<i>Nutrition</i>	4.893
		Feng et al., 2005	<i>Brain Research Bulletin</i>	3.715
		Wang et al., 2010	<i>Canadian Journal Of Physiology And Pharmacology</i>	2.245
		Apostolou et al., 2013	<i>Food And Chemical Toxicology</i>	5.572
	Balu et al., 2006	<i>Brain Research Bulletin</i>	3.715	
	Actividad biológica	Anastasiadi et al., 2009	<i>Journal Of Agricultural And Food Chemistry</i>	5.895
Vaquero et al., 2007		<i>Food Control</i>	6.652	

Tabla 1: Continuación.

Actividad biológica y beneficios para la salud de los compuestos de interés	Actividad biológica	Jayaprakasha et al., 2003	<i>Food Research International</i>	7.425
		Adámez et al., 2012	<i>Food Control</i>	6.652
		Dias et al., 2015	<i>LWT-Food Science And Technology</i>	6.056
		Cueva et al., 2012	<i>Letters In Applied Microbiology</i>	2.813
		Katalinić et al., 2010	Food Chemistry	9.231
		Ahn et al., 2004	<i>Journal Of Food Protection</i>	2.755
		Mendoza et al., 2013	<i>Industrial Crops And Products</i>	6.449

4. Principales residuos en la industria enológica y su composición

Además del propio producto vitivinícola como es el vino, en las bodegas también se generan diferentes tipos de desechos y subproductos, como raspones, orujo de uva, lías y aguas residuales de alta carga. Los residuos generados en bodega se producen principalmente durante la época de vendimia, aunque también se generan a lo largo del año y pueden ser materiales peligrosos si no se eliminan o tratan adecuadamente (Devesa-Rey et al., 2011).

Estos desechos se caracterizan por presentar niveles altos de Demanda Química de Oxígeno (DQO) y una alta biodegradabilidad.

4.1 Raspón

Los raspones de uva constituyen un residuo de la industria vitivinícola que es utilizado parcialmente como fuente de compuestos astringentes, representados mayoritariamente por las proantocianidinas (Llobera & Canellas et al., 2007). Los raspones generalmente se eliminan antes de los siguientes pasos de la vinificación para evitar una excesiva astringencia o un efecto negativo en las características organolépticas del vino, suponiendo una pérdida de acidez y una pérdida del alcohol en torno al 0.5%.

La cantidad de raspones varía entre el 1,4% y el 7% de la uva procesada (Souquet et al., 2000) y supone el 30% del volumen. El raspón está compuesto principalmente por celulosa (25-30%), hemicelulosa (19-21%), lignina (17-23%), taninos (13-16%) y proteínas (1-6%) (Coelho., et al 2020). La escasa información disponible sobre este subproducto indica que podría ser una fuente valiosa e interesante de fibra dietética y antioxidantes, como los compuestos polifenólicos.

Entre esos compuestos se encuentran ácidos hidroxibenzóicos, ácidos hidroxicinámicos, flavan-3-oles, flavones, flavonoles y estilbenos (Teixeira et al., 2014). Todos estos compuestos presentes en los raspones se resumen en la Tabla 2.

Tabla 2: Compuestos químicos presentes en los raspones de uva. Fuente: Elaboración propia (adaptado de Coelho et al., 2020).

Familia	Compuesto
Ácidos Hidroxibenzóicos	Ácido Gálico
	Ácido Siríngico
Ácidos Hidroxicinámicos	Ácido Caféico
	Ácido trans-caftárico
	Ácido p-Coumárico
	Ácido Cortárico
Flavan-3-oles	Ácido Ferúlico
	Catequina
	Equicatequina
	Galato de epicatequina
	Epigalocatequina
	Procianidina B1
	Procianidina B2
Procianidina B3	
Flavones	Luteolina
Flavonoles	Engeletina
	Kaempferol
	K-3-O-Glc
	K-3-O-Gluc
	Myr-3-O-Glc
	Myr-3-O-Gluc
	Quercetina

En la actualidad, el valor comercial de este subproducto es bajo, utilizándose principalmente como alimento para animales, como enmiendas de suelo o para combustión, con un poder calorífico de 2.000 a 2.500 kcal/kg seco de raspón (Togores, 2011).

4.2 Orujos

El orujo de uva es el subproducto que se origina durante la elaboración de los vinos en la etapa de prensado (Figura 2). Estos orujos están compuestos por las semillas, las pieles y la pulpa.

En la actualidad se producen nueve millones de toneladas de este subproducto al año en todo el mundo (Katalinić et al., 2010), lo que supone el 20% del total de la producción de uva destinada a la elaboración de vino (Panouille et al., 2007).

El porcentaje de humedad varía del 50 al 72% según la variedad de uva y su estado de maduración. Su composición en azúcares varía entre el 11-15%, los compuestos polifenólicos entre el 4-7%, la celulosa entre el 40-54% y los orujos son ricos en ácido linoleico y omega 6 (14-15%) (Coelho et al., 2020). La proporción de semillas se sitúa en torno al 15% (Nawaz et al., 2006). La información disponible sobre la composición de las semillas señala contenidos de hasta 40% en fibra, 16% en aceites esenciales, 11% en proteínas, otros compuestos como azúcares y minerales, y un 7% en compuestos polifenólicos como los taninos (que representan el 60-70% de los compuestos extraíbles) (de Campos et al., 2008). Esta concentración de compuestos polifenólicos es de gran interés, ya que las semillas pueden ser utilizadas por industrias como la cosmética, la farmacéutica y alimentaria como fuente de compuestos antioxidantes naturales (Furiga et al., 2009).

Las pieles de uva constituyen en torno al 65% del total del orujo de uva y debido a su composición, es una fuente rica en compuestos polifenólicos, aunque su extracción depende del proceso de vinificación y del método de extracción utilizado (Teixeira et al., 2014, Pinelo et al., 2006). Debido a su composición, las pieles de uva pueden ser una fuente interesante de compuestos bioactivos, pero la falta de procesos de valorización adecuados hace que su uso principal sea como compost (Pinelo et al., 2006).

Los orujos tienen un alto contenido en polisacáridos no digeribles, por lo que es posible que los mismos requieran de un proceso de fermentación adicional para evitar trastornos gastro-intestinales cuando este material se integra en alimentos o piensos como una forma de valorización. Los principales compuestos polifenólicos que presentan los orujos de uva son los ácidos hidroxibenzóicos, ácidos hidroxicinámicos, flavan-3-oles, flavones, flavonoles, antocianos y estilbenos (Coelho et al., 2020). Todos estos compuestos presentes en los orujos se resumen en la Tabla 3.

Tabla 3: Compuestos químicos presentes en los orujos de uva y su localización. Fuente: Elaboración propia (adaptado de Coelho et al., 2020).

Familia	Compuesto	Localización		
		Pieles	Semillas	Pulpa
Ácido hidroxibenzóicos	Ácido Gálico	✓	✓	✓
	Ácido protocatechuico	✗	✓	✗
	Ácido caftárico	✓	✗	✗
	Ácido p-cumárico	✓	✗	✓
	Ácido fertárico	✓	✗	✗
	Ácido ferúlico	✗	✗	✓
Flavan-3-oles	Catequina	✓	✓	✓
	Epicatequina	✓	✓	✓
	Galato de epicatequina	✗	✓	✗
	Procianidina B1	✓	✓	✗
	Procianidina B2	✓	✓	✗
	Procianidina B3	✓	✓	✗
	Procianidina B4	✗	✓	✗
	Procianidina C1	✓	✓	✗
Flavonoles	Isorhamnetin	✓	✗	✓
	Kaempferol	✗	✗	✓
	Quercetina	✗	✗	✓
Antocianos	Cianidina	✓	✗	✓
	Delfinidina	✓	✗	✓
	Malvidina	✓	✗	✓
	Peonidina	✓	✗	✓
Estilbenos	Resveratrol	✗	✓	✓

Por su composición, el orujo de uva puede ser utilizado en diferentes procesos como la extracción de aceite de semilla de uva, la extracción de polifenoles como antocianinas, flavonoles, flavanoles, ácidos fenólicos, resveratrol, ácido cítrico, metanol, etanol y producción de energía por metanización. Los orujos de uva también pueden utilizarse para la obtención de bebidas alcohólicas a través de fermentaciones cortas de los azúcares residuales que quedan en los orujos después de la fermentación alcohólica del vino o la destilación de estos (Brahim et al., 2014, Deng et al., 2011).



Figura 2: Pasta de orujos de uva tinta obtenida tras el proceso de prensado. Fuente: Elaboración propia.

4.3 Lías

Las lías (Figura 3), también conocidas como posos, se definen en el reglamento de la CEE nº 337/79 como el residuo formado en el fondo de los recipientes que contienen vino, después de la fermentación, durante el almacenamiento o después de tratamientos autorizados, así como el residuo obtenido después de la filtración o la centrifugación.



Figura 3: Removido o battonage de lías de un vino blanco. Fuente: <https://www.interempresas.net/Vitivinicola/Articulos/262198-Ultrasonidos-en-la-crianza-para-reducir-los-costes-de-produccion-del-vino.html>

Las lías del vino se componen de microorganismos (mayoritariamente levaduras), ácido tartárico, materia orgánica y compuestos polifenólicos (Pérez-Serradilla & De Castro, 2011).

Las lías juegan un papel importante durante el proceso de vinificación ya que interactúan con los compuestos polifenólicos, que están relacionados con el color y las propiedades organolépticas del vino. Las lías también liberan enzimas que

favorecen la hidrólisis y la transformación de sustratos polifenólicos en compuestos polifenólicos de alto valor añadido y de importancia como el ácido gálico o el ácido elágico (Vattem & Shetty, 2003). Durante la crianza del vino, las células de levadura presentes en las lías sufren un proceso de autólisis, además de la descomposición de las membranas celulares, la liberación de compuestos intracelulares y enzimas hidrolíticas, que producen grandes cambios en la composición organoléptica de los vinos (Pérez-Serradilla & De Castro, 2008).

Algunos estudios se han centrado en el papel que juegan las lías en la evolución de compuestos tóxicos como micotoxinas, fenoles volátiles y pesticidas. La ocratoxina A (OTA) es una micotoxina cancerígena producida por varias especies de hongos del género *Aspergillus* (*A. melleus*, *A. ochraceus*, *A. sulphureus*, *A. alliaceus*, *A. carbonarius* y *A. niger*) y *Penicillium* (*P. verrucosum* y *P. nordicum*), cuya presencia fue descrita por primera vez por Zimmerli & Dick, (1996). Para eliminar esta micotoxina, tradicionalmente se realizaba a través de la adición de distintos clarificantes como la bentonita o el carbón activo, siendo este último el más eficaz (Leong et al., 2006, Fernandes et al., 2007). Sin embargo, los últimos estudios muestran la eficacia de las lías de levadura para absorber estas micotoxinas y su eliminación, evitando así la utilización de agentes clarificantes (Moruno et al., 2005).

La presencia de los compuestos 4-etilfenol y 4-etilguayacol en el vino se debe a la presencia de levaduras del género *Brettanomyces* y los vinos pueden presentar aromas a cuero, caballo, medicinal y especiado. Varios estudios han mostrado que el contenido en 4-etilfenoles y 4-etilguayacoles de vinos que realizaban la crianza sobre sus lías era menor al contenido de estos compuestos en vinos que realizaban la crianza en ausencia de lías (Guilloux-Benatier et al., 2001, Chassagne et al., 2005).

5. Principales compuestos de interés de los residuos enológicos y su composición

Dentro de los principales compuestos de interés de los residuos enológicos se encuentran los compuestos polifenólicos. Los compuestos polifenólicos se dividen en dos grandes grupos, los compuestos no flavonoides y los flavonoides.

Dentro de los compuestos no flavonoides destacan los ácidos fenólicos y los estilbenos. Los ácidos fenólicos son derivados del ácido benzoico y cinámico y se encuentran en forma de ésteres. Se dividen a su vez en dos grandes grupos, los ácidos hidroxibenzoicos y los hidroxicinámicos. Los ácidos hidroxibenzoicos son un grupo de ácidos, como el ácido gálico o el tánico, que pueden liberarse a partir de la hidrólisis de los taninos condensados, cuyo origen es la madera (Garrido & Borges, 2013). El ácido gálico es el compuesto más importante por su papel como precursor de taninos hidrolizables (Kallithraka et al., 2014). Los ácidos hidroxicinámicos se encuentran esterificados y participan en reacciones de oxidación enzimática, pueden actuar como copigmentos, participan en la formación de piroantocianos, contribuyen a la

estabilidad del color y por la acción de ciertos microorganismos (hongos, bacterias y levaduras del género *Brettanomyces*) pueden generar fenoles (aromas a cuero, animal) volátiles al transformar estos ácidos (Togores, 2011). Los estilbenos están formados por dos anillos aromáticos y se acumulan en la planta como respuesta a factores de estrés abiótico y biótico (Garrido & Borges, 2013). Presentan actividad biológica frente a distintas bacterias y hongos (*Botrytis cinerea*, *Plasmopora viticola*, *Uncinula necator*). El resveratrol es el compuesto más importante dentro de este grupo.

Los compuestos flavonoides se dividen en flavonoles, flavanoles, flavonas y antocianinas. Los flavonoles pueden unirse a las antocianinas y a los ácidos fenólicos para producir pigmentos más estables, dando lugar a la copigmentación. Presentan mayor concentración las variedades tintas que las blancas, y puede generarlos la planta de vid como protección a la radiación UV (Treutter et al., 2006). Los flavanoles, también llamados flavan-3-oles, son los principales compuestos responsables de la astringencia, el amargor y la estructura de los vinos (Montealegre et al., 2006). Se dividen a su vez en dos grupos: los taninos condensados (provienen de la uva) y los taninos hidrolizables (provienen de la madera de roble). Participan en reacciones de oxidación y pueden actuar como copigmentos, aumentando la estabilidad del color. Las flavonas son compuestos con un doble enlace entre el carbono C2 y el C3 y se diferencian de los flavonoles por la ausencia del grupo hidroxilo en el carbono 3. Las flavonas se han descrito en la bibliografía en cantidades no significativas en los orujos a excepción de la luteolina (Garrido & Borges, 2013). Las antocianinas o antocianos, son los compuestos responsables del color en los vinos tintos. Son relativamente inestables y se oxidan fácilmente. Los principales factores que más influyen en la inestabilidad de los antocianos son el pH, la presencia de SO₂ y de oxígeno. Destacan la cianidina, peonidina, delphinidina, petunidina y maldivina.

6. Técnicas de extracción de los principales compuestos de interés

De acuerdo con Galakanis (2012), se describen cinco etapas en la recuperación de compuestos de alto valor añadido a partir de subproductos de la industria alimentaria: a) pretratamiento de la matriz macroscópica, b) separación de moléculas, v) extracción de moléculas, d) purificación y f) formación de productos. Según la literatura el paso más importante es la extracción de la molécula, de modo que este trabajo revisa el potencial de diversas metodologías de extracción para la recuperación de compuestos de interés a partir de los residuos y subproductos de las bodegas.

Los métodos tradicionales de extracción se basan principalmente en procesos de calentamiento por lo que facilitan la transferencia de masa entre las distintas fases, sin embargo, consumen mucha energía y pueden degradar los compuestos termolábiles. Por ello, hoy en día la investigación se centra en el desarrollo de metodologías innovadoras, denominadas de extracción “verde”, que permitan

obtener de manera eficaz y sostenible compuestos de alto valor añadido, basadas en evitar/minimizar el uso de disolventes orgánicos, reducir el tiempo y la temperatura de extracción, aumentar la transferencia de masa, obtener mayores rendimientos de extracción, conseguir una buena calidad del extracto y reducir el consumo de energía (Galanakis, 2013).

6.1 Extracción convencional

Las técnicas de extracción convencional se basan principalmente en el aporte de calor, la ebullición y la destilación, así como en una selección adecuada de solventes y agitación para mejorar la solubilidad química y la tasa de transferencia de masa (Jun, 2013). Sin embargo, aunque la mayoría de estas técnicas tienen un uso limitado, su bajo coste hace que se empleen en la revalorización de subproductos de la industria vitivinícola.

Por lo tanto, en la eficiencia de la extracción convencional, el factor más importante es el solvente utilizado para la extracción. También se deben controlar otros factores como el tiempo de extracción, la temperatura del solvente y de la muestra. Los solventes polares generalmente se emplean para recuperar compuestos de alto valor de las matrices vegetales, siendo los más adecuados las mezclas acuosas. El etanol ha sido reconocido como un buen solvente para la extracción de polifenoles y es seguro para el consumo humano. El metanol se utiliza para extraer polifenoles de bajo peso molecular, mientras que la acetona se utiliza para la extracción de flavanoles (Do et al., 2014).

En un estudio se realizó una extracción alcalina de polifenoles de sarmientos de vid y se evaluó el efecto de las concentraciones de NaOH en la extracción de los polifenoles. El resultado mostró que esta metodología era un procedimiento respetuoso con el medio ambiente, lo que condujo a la recuperación de los compuestos objetivo (Rajha et al., 2014a).

6.2 Extracción con agua caliente presurizada

La extracción con agua caliente a presión es un método no convencional basado en la extracción de moléculas o compuestos utilizando agua caliente como disolvente (Figura 4). La principal propiedad de esta técnica es utilizar valores de temperatura por encima de 100 °C y valores de presión superiores a 0.1 MPa, pero por debajo de los valores del punto crítico del agua (374 °C y 22.1 MPa) (recuadro Figura 16). Al aumentar la temperatura del agua, la solubilidad de los compuestos de interés es mayor, lo que aumenta el rendimiento de extracción.

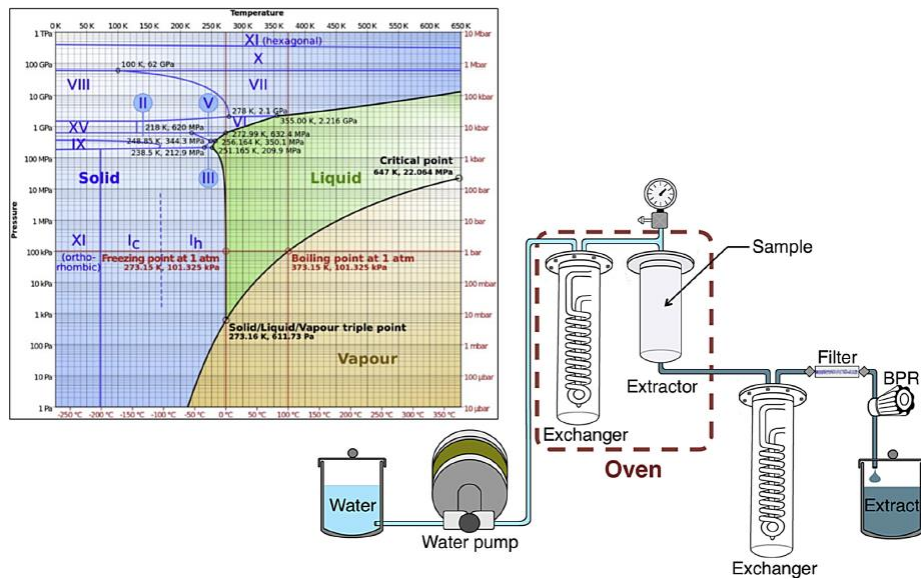


Figura 4: Representación esquemática de un equipo de extracción de agua caliente a presión. El recuadro representa el diagrama de fases del agua. Fuente: Barba et al., (2016).

Cuando se utiliza el agua como solvente, esta tecnología también podría denominarse extracción con agua subcrítica, extracción con fluido sobrecalentado, extracción con líquido presurizado o extracción acelerada con solvente (Plaza & Turner, 2015).

Algunos autores han evaluado los efectos de esta técnica (150 bar, 40-120 °C) sobre la recuperación de compuestos antioxidantes (antocianinas y polifenoles) de los hollejos de dos variedades de uva de vinificación (*St. Laurent* y *Alibernet*) en comparación con las mismas muestras de hollejo extraídas con metanol y etanol comprimido. Los autores encontraron que la extracción con agua presurizada era el método más eficiente y benigno para la recuperación de compuestos antioxidantes fenólicos del hollejo de uva. Otros autores (Vergara-Salinas et al., 2013) han evaluado el impacto de esta técnica (103 bar, 50-200 °C, 5-30 minutos) sobre la recuperación de polifenoles, antocianinas y taninos del orujo de uva antes y después de la fermentación. Los autores descubrieron que la recuperación de antioxidantes aumentó proporcionalmente a la temperatura, con los mayores rendimientos de extracción de antocianinas a 100 °C. Sin embargo, el rendimiento de extracción de polifenoles disminuyó significativamente cuando las temperaturas fueron mayores de 100 °C. Además, los autores también encontraron que algunas proantocianidinas termolábiles se extrajeron solo entre 50 y 100 °C. Estos resultados fueron confirmados en un estudio posterior (Vergara-Salinas et al., 2015) en el que obtuvieron una mayor extracción de polifenoles a 100 °C frente al extracto obtenido a 200 °C.

6.3 Extracción con fluido supercrítico y subcrítico

El punto crítico (Figura 5) de un compuesto es aquel en el que las densidades del líquido y el vapor son iguales. Se consigue con una temperatura y una presión críticas, que una vez superadas, el compuesto puede existir como una mezcla de líquido-gas. A medida que el compuesto es calentado, la densidad del compuesto en estado líquido y gaseoso se van acercando hasta alcanzar el punto crítico. Las variables más importantes a controlar en este proceso son la temperatura y la presión. Los fluidos críticos son buenos disolventes ya que presentan un rendimiento de extracción comparable a los disolventes químicos y tienen un coeficiente de difusión próximo a los gases (Wagner & Pruß, 2002).

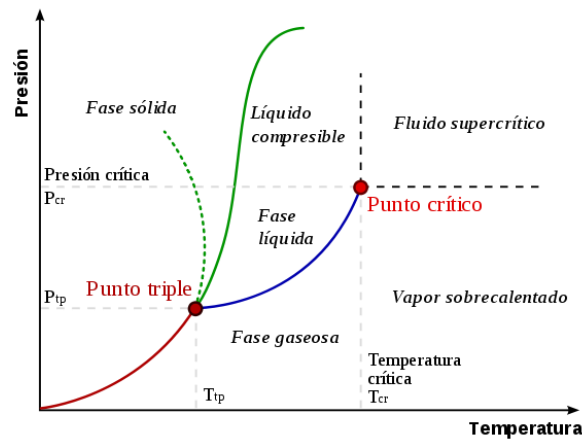


Figura 5: Diagrama de fases de un compuesto. Fuente: https://es.wikipedia.org/wiki/Fluido_supercr%C3%ADtico#/media/Archivo:Diagrama_fases.png

El fluido más utilizado para procesos de extracción supercrítica es el CO_2 ya que presenta una temperatura crítica baja fácil de conseguir ($31.1\text{ }^\circ\text{C}$), una presión crítica de 74 bares, no produce toxicidad y por lo tanto es seguro de utilizar. Al elevar el CO_2 por encima de su punto crítico termodinámico, se difunde a través de la muestra como un gas y disuelve los compuestos de interés como un líquido. Cuando se utiliza este proceso, la extracción mediante CO_2 supercrítico se produce en ausencia de luz y aire, lo que disminuye las reacciones de degradación de los compuestos de interés. Debido al carácter polar que presenta el CO_2 , se puede mezclar con otros disolventes orgánicos, como el metanol, el etanol o la acetona, para aumentar el poder solvatante del CO_2 y por lo tanto la solubilidad y extractabilidad de los polifenoles (Barba et al., 2016).

El etanol es el disolvente más utilizado en sustitución de los disolventes convencionales, ya que está permitido en la industria alimentaria y es fácil de eliminar por evaporación a temperatura ambiente. En la mayoría de ocasiones, se utiliza etanol como cosolvente junto con el CO_2 ya que aumenta la temperatura crítica de la mezcla (Barba et al., 2016).

La utilización de CO₂ subcrítico para la extracción junto con el etanol y/o el metanol como codisolvente se han utilizado para la recuperación de polifenoles de los subproductos de uva. Bleve et al., (2008) desarrolló un método para purificar antocianinas de extractos de hollejo utilizando CO₂. Los autores extrajeron las antocianinas de los hollejos de la uva utilizando una mezcla de etanol/agua junto con ácido trifluoroacético al 0.2% para acidificar el medio. Los autores demostraron que el proceso de purificación generó dos fracciones: una que contenía las antocianinas puras y la segunda que contenía etanol y otros componentes del hollejo de la uva, presentando un rendimiento en la extracción de antocianinas del 85%. Palma et al., (1999) desarrolló una nueva metodología para extraer polifenoles de semilla de uva blanca, obteniendo extractos de ácido gálico, catequina y epicatequina como compuestos polifenólicos predominantes.

La extracción con fluidos supercríticos también ha sido ampliamente investigada para la recuperación de compuestos de alto valor. Esta tecnología proporciona extractos caracterizados por su alta pureza. La mayoría de los estudios que evalúan el potencial de esta técnica para recuperar compuestos de alto valor de los subproductos de la uva estaban centrados en la recuperación de resveratrol.

Pascual-Martí et al., (2001) evaluó y optimizó las condiciones de extracción del fluido supercrítico para la recuperación del resveratrol de los hollejos de uva, descubriendo que las condiciones óptimas de extracción se dieron a 110 bar, 40 °C, concentración de etanol del 7,5% y un tiempo de extracción de 15 minutos. En estas condiciones el contenido de resveratrol se recuperó al 100%. En otro estudio se evaluó el efecto del CO₂ supercrítico sobre la recuperación de resveratrol a partir de semillas, raspones y orujo de uva de la variedad *Palomino Fino*, encontrando que la recuperación máxima se obtuvo de las pieles cuando se utilizaba una mezcla de CO₂ y etanol al 5% a 400 bares y 35 °C (Casas et al., 2010).

6.4 Extracción con disolvente eutéctico profundo

Las mezclas eutécticas se obtienen a partir de dos o más materiales sólidos que son inmiscibles, éstos se calientan y se produce un cambio de fase de sólido a líquido cuando alcanzan una temperatura determinada, denominada punto eutéctico, donde ambos se comportan como un líquido puro. Las mezclas eutécticas de bajo punto de fusión son materiales líquidos que pueden estar formados por sustancias naturales como ácidos orgánicos (Pej: ácido cítrico), polioles como la glucosa, y por sales como el citrato de sodio. Se caracterizan por poseer una toxicidad casi nula, una biodegradabilidad muy alta, baja presión de vapor, facilidad en la preparación y bajo coste, razones por la que estos líquidos han atraído la atención como medios de extracción más ecológicos (Makris, 2018, Płotka-Wasyłka et al., 2017).

Makris, (2018) utilizó esta técnica para recuperar polifenoles del hollejo de uva, obteniendo resultados muy prometedores al aumentar el rendimiento de extracción en un 40% frente a las técnicas de extracción convencional (mezclas de agua-etanol) al utilizar un disolvente eutéctico profundo basado en glicerol, además demostró que el extracto obtenido rico en polifenoles mostró una bioactividad superior al extracto obtenido de manera convencional.

6.5 Extracción asistida por microondas

Las microondas (Figura 6) son ondas electromagnéticas, en el intervalo de frecuencia de 300 MHz – 300 GHz, que siguen una conducción iónica y esto produce la rotación del dipolo a nivel molecular. Debido a la conducción iónica, la temperatura de la muestra y del disolvente aumenta, de manera que este aumento de temperatura produce un aumento en la solubilidad de los compuestos de interés, además de la ruptura de las membranas celulares, lo que aumenta la penetración del solvente en la muestra (Jain et al., 2009).

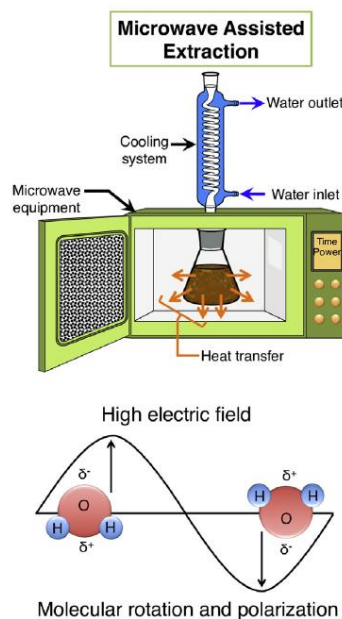


Figura 6: Equipo de extracción asistida por microondas utilizado a escala de laboratorio que muestra el mecanismo de rotación molecular. Fuente: Barba et al., (2016).

Según Alupului et al., (2012), el proceso de extracción por microondas implica tres pasos secuenciales: a) separación de los solutos de los sitios activos de la matriz de la muestra a temperatura y presión aumentadas, b) difusión del solvente a través de la muestra y c) liberación de los solutos de la muestra al solvente. Las variables a controlar durante el proceso de extracción son el tipo de solvente y su volumen, el tiempo de extracción, la potencia de las microondas (en vatios) y su frecuencia (GHz), la temperatura de extracción y la cantidad de muestra. La variable de extracción más significativa es el tipo de solvente utilizado, más incluso que la potencia de las microondas o el tiempo de extracción (Liazid et al., 2011).

La extracción por microondas presenta algunas ventajas, como un calentamiento más rápido para la extracción de sustancias bioactivas del material vegetal, gradientes térmicos pequeños, tamaño de los equipos reducido y mayor rendimiento en la extracción (Chemat & Cravotto, 2012) por lo que el tratamiento con microondas está siendo ampliamente investigado para la extracción y valorización de compuestos naturales a partir de distintos subproductos. También debido a la posibilidad de implementar esta técnica a escala industrial.

Liazid et al., (2011) estudió la aplicación de las microondas para la extracción de antocianinas de la piel de la uva. Los resultados obtenidos mostraron una notable reducción en el tiempo de extracción de 5 horas a 5 minutos comparando los métodos de extracción líquida convencionales frente a la aplicación de microondas. Además, también se extrajeron tres derivados acílicos adicionales con las microondas mientras que con el método convencional no se recuperaron a niveles medibles. Al Bittar et al., (2013) también produjo zumo de uva rico en polifenoles mediante su extracción con microondas. Yu et al., (2014) realizó experimentos para evaluar diferentes condiciones de procesamiento a través de las microondas para la extracción de polifenoles de la piel de la uva, mostrando unas condiciones óptimas para la extracción de 40 ml, 50% de etanol, 1 g de piel de uva, 540 W de potencia y 3 minutos de tiempo de procesado.

6.6 Extracción con ultrasonidos

Los ultrasonidos son unas ondas mecánicas cuya frecuencia está por encima de la capacidad de audición del oído humano (Achat et al., 2012). Debido al efecto de cavitación (Figura 7) que producen, los ultrasonidos mejoran la transferencia de masa a través de la disrupción de las paredes celulares, pudiéndose usar como un proceso independiente o como parte de un procedimiento por etapas para la extracción de determinados compuestos (Barba et al., 2016). Las principales variables a controlar durante el proceso de extracción son el tiempo y la temperatura de extracción, el tipo de solvente utilizado, la frecuencia (20-35 kHz (El Darra et al., 2013a) para compuestos polifenólicos), la potencia de las ondas, la cantidad de muestra y la superficie de la muestra.

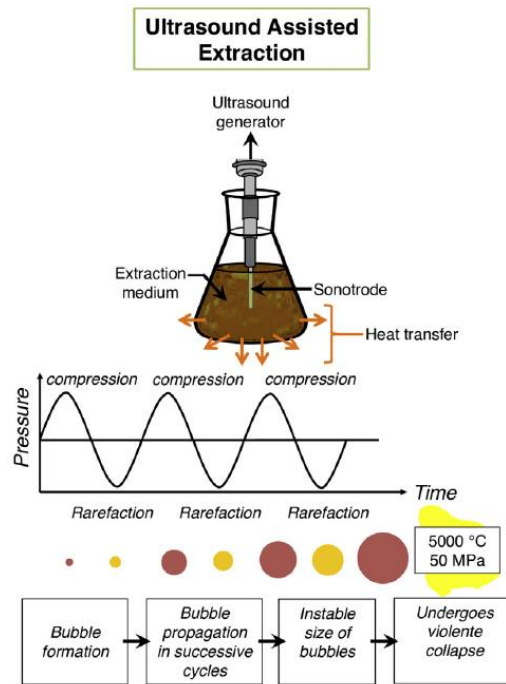


Figura 7: Principio de extracción asistida por ultrasonidos y el fenómeno de cavitación. Fuente: Barba et al., (2016).

La extracción por ultrasonidos puede ser fácilmente implementada con los dispositivos o maquinaria ya existentes en la industria (Patist & Bates, 2008) para mejorar la eficiencia de extracción de compuestos polifenólicos, azúcares y otros compuestos de interés en mostos y vinos.

Diversos estudios han mostrado la eficiencia de los ultrasonidos en la recuperación de polifenoles del orujo de manzana, siendo un proceso más rápido y sostenible frente al procedimiento convencional (Achat et al., 2012, Pingret et al., 2012, Virot et al., 2010). Otros autores han estudiado la recuperación de resveratrol de la uva a partir de ultrasonidos (Cho et al., 2006), obteniendo rendimientos mayores (hasta un 24% más en la variedad *Campbell* y un 28% más en la variedad *Gerbong*) y una disminución del tiempo de extracción en comparación con la extracción tradicional con solventes. También se ha comprobado que la aplicación de ultrasonidos produce un aumento significativo (hasta un 7% superior) en la recuperación de polifenoles e intensidad de color durante su aplicación en la fermentación de la uva *Cabernet Franc* (El Darra et al., 2013c). Corrales et al., (2013) en su estudio evaluó los efectos de los ultrasonidos combinados con el tratamiento térmico (70 °C) para la recuperación compuestos bioactivos antioxidantes a partir de subproductos de la uva. Observaron un aumento significativo en los compuestos fenólicos totales en los extractos obtenidos tras aplicar ultrasonidos en comparación con la extracción convencional con agua. De manera similar Vilkhue et al., (2008) obtuvo una mejora significativa en el rendimiento de extracción de los polifenoles (6-35%) cuando aplicaron la técnica de ultrasonidos en orujos de uva tinta. También Da Porto et al., (2013) estudió el rendimiento de extracción entre los solventes convencionales y los ultrasonidos en la extracción de aceite de semilla de uva, obteniendo resultados similares después de 6 horas de extracción con solventes

convencionales en comparación con sólo 30 minutos utilizando ultrasonidos (150 W y 20 kHz). También informaron de que se requirieron solo 15 minutos para extraer compuestos fenólicos utilizando ultrasonidos en comparación con 12 horas utilizando maceración, lo que demuestra el potencial de los ultrasonidos para recuperar mayores cantidades de polifenoles que los métodos convencionales. Por otro lado, algunos autores evaluaron el efecto de los ultrasonidos sobre la recuperación de proteínas y polifenoles en sarmiento de vid, obteniendo un aumento significativo en la extracción de polifenoles, pero requiriendo niveles de energía mucho más elevados para obtener niveles similares en comparación con otros tratamientos físicos como las descargas eléctricas de alto voltaje (Rajha et al., 2014).

6.7 Extracción con campos eléctricos pulsados (PEF)

La extracción con campos eléctricos pulsados (PEF) es una técnica no térmica que consiste en la aplicación de pulsos de alto voltaje, entre 100-300 V/cm y 20-80 kV/cm, a una muestra colocada en una cámara de tratamiento compuesta por dos electrodos conectados entre sí que se encuentran a una distancia determinada (Figura 8). Normalmente, el tratamiento PEF se realiza a una temperatura igual o ligeramente superior a la ambiental y durante un tiempo de tratamiento inferior a 1 segundo (μ s o ms), evitando el deterioro de compuestos termolábiles (Koubaa et al., 2015).

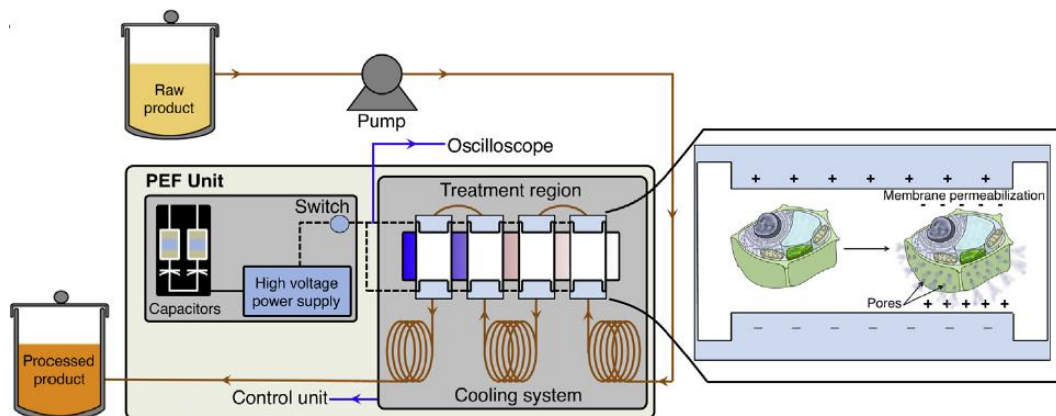


Figura 8: Representación esquemática de un sistema de tratamiento continuo de campos eléctricos pulsados. Fuente: Barba et al., (2016).

Debido a la compresión electromecánica, las membranas celulares de las células vegetales se dañan, dando lugar a la formación de poros temporales o permanentes. Este fenómeno de daño celular se denomina "electroporación" y promueve la inactivación de organismos patógenos, reduce la actividad enzimática, favorece la transferencia de masa, mantiene las cualidades organolépticas de los productos como el color y el sabor, así como el contenido en compuestos antioxidantes (Vivanco et al., 2021). Las principales variables a controlar son la fuerza y la intensidad del campo eléctrico, el tiempo y la temperatura de extracción, el solvente utilizado y la masa de la muestra.

En relación con la revalorización de subproductos de la industria enológica, esta tecnología ha sido mayormente investigada para la recuperación de antioxidantes, observándose que la concentración de los compuestos recuperados puede variar enormemente en función de la matriz alimentaria y de las condiciones de tratamiento de PEF aplicadas.

La fuerza del campo eléctrico es uno de los factores más importantes que influyen en la concentración de los compuestos extraídos. Por ejemplo, Balasa et al., (2006) evaluaron los efectos de PEF de baja intensidad en la extracción de polifenoles en mosto de uva (*Vitis vinífera*), y descubrieron que el tratamiento con pulsos de bajo voltaje (0,5 kV/cm, 50 pulsos, 0,1 kJ/kg) aumentaba el contenido polifenólico total del mosto (TP) en un 13%, en comparación con el mosto sin tratar. Con un mayor aumento de la intensidad (2,4 kV/cm, 50 pulsos 2,3 kJ/kg), se encontró un incremento del contenido de TP del 28%, producido por un mayor grado de permeabilización de la membrana celular. Sin embargo, el empleo de PEF de mayor intensidad no conduce necesariamente a una mayor extracción de polifenoles totales en los residuos de la uva, pues la aplicación de PEF a 0,5 kV/cm proporcionó un mayor aumento del contenido de TP (24%) en las uvas que su aplicación a 2,4 kV/cm (Balasa et al., 2006), debido a que los pulsos eléctricos de bajo voltaje podrían inducir estrés en las células de la baya, estimulando la producción de metabolitos secundarios.

En otro estudio, se evaluó el impacto de los campos eléctricos pulsados (0,8-5 kV/cm, 1-100 ms, 42-53 kJ/kg) en la recuperación de fenoles en uvas de la variedad *Cabernet Franc* durante la fermentación alcohólica, en comparación con un tratamiento térmico (50 °C, 15 min, 125 kJ/kg) (El Darra et al., 2013a). El estudio mostró una mejora significativa en la extracción de fenoles (contenido de antocianinas y taninos) de las muestras después de aplicar PEF (51-62%), en comparación con el tratamientos térmico (20%).

Asimismo, El Darra et al. (2013b) evaluaron el potencial de los PEF para mejorar el contenido total de antocianos y polifenoles de extractos de uva (*Cabernet Franc* y *Cabernet Sauvignon*) obtenidos tras la maceración en frío durante 6 días a 6 °C. Se observó que el tratamiento con PEF (5 kV/cm, 1 ms, 48 kJ/kg) condujo a un aumento considerable del contenido de flavonoides (quercetina y epicatequina) y antocianinas del mosto obtenido tras la maceración en frío.

Barba et al., (2015) evaluó los efectos de los campos eléctricos pulsados (13,3 kV/cm, 0-564 kJ/kg) en la recuperación selectiva de biocompuestos de orujos fermentados de la variedad *Dunkelfelder*. Los autores compararon tratamientos físicos alternativos para la recuperación de estos compuestos. Se demostró que el tratamiento con PEF era más selectivo para la recuperación de antocianinas y que utilizando esta tecnología los rendimientos de extracción aumentaron hasta un 22 y un 55%, en comparación con las extracciones asistidas por ultrasonidos (USN) y con descargas eléctricas de alto voltaje (HVED). Otros autores investigaron la aplicación del tratamiento PEF combinado con la densificación para recuperar polifenoles del orujo de uva de bajo contenido de humedad, sin ninguna adición de líquido conductor (Brianceau et al., 2015). Además, estudiaron el impacto de un suplemento hidroalcohólico a diferentes temperaturas. Se encontró que el tratamiento de PEF (1,2 kV/cm, 18 kJ/kg) y la densidad del orujo de 1 g/cm³ condujeron a la mayor

recuperación de polifenoles del orujo de uva. Además, también evidenciaron una extracción selectiva de antocianos tras el tratamiento con campos eléctricos pulsados, obteniéndose una relación antocianos/total de flavan-3-oles a 20 °C de 7.1 y 9.0, para las muestras control y tratadas con PEF respectivamente.

Del mismo modo, Rajha et al., (2014) también encontraron un incremento significativo en la extracción de polifenoles cuando se aplicó el tratamiento PEF (50 kJ/kg) a los sarmientos de vid.

6.8 Extracción mediante descargas eléctricas de alto voltaje (HVED)

La tecnología de descargas eléctricas de alto voltaje ha sido utilizada por diferentes investigadores para recuperar compuestos de alto valor añadido a partir de varios materiales vegetales alimentarios debido a la ruptura eléctrica que se produce en los tejidos celulares (Bousetta & Vorobiev, 2014). La circulación de electrones entre los electrodos (Figura 9) produce una serie de fenómenos como ondas de choque de alta amplitud de presión, la cavitación de las burbujas, la creación de turbulencias en el líquido y la producción de especies activas, lo que producen una fragmentación de las partículas y un daño de la estructura celular, facilitando así la liberación de compuestos intracelulares. Además, también existen burbujas de aire que están presentes inicialmente en el agua y que se forman debido al calentamiento, que aceleran el proceso (Barba et al., 2016). En esta técnica debe controlarse principalmente el voltaje al que se aplican las descargas, junto con el tiempo de extracción, el solvente, la temperatura y la cantidad de muestra.

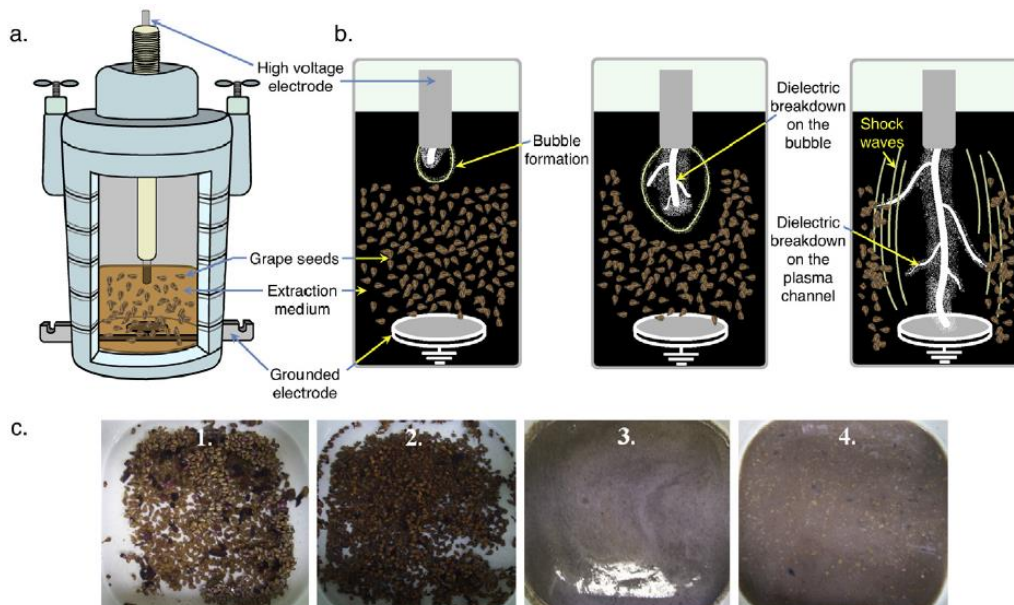


Figura 9: (a): Representación esquemática de una celda de descargas eléctricas de alto voltaje, (b): Representación esquemática de la ruptura celular de las muestras, (c): muestras de tratamiento; (1): muestra control, (2): muestras piloto tratadas con descargas eléctrica de alto voltaje, (3): muestras de laboratorio tratadas con descargas eléctrica de alto voltaje, (4): muestras piloto tratadas con descargas eléctrica de alto voltaje. Fuente: Barba et al., (2016).

Boussetta et al., (2012) investigó la extracción de polifenoles de orujo de uva mediante esta tecnología a escala piloto en orujos de uva, semillas, hollejos y raspones. Los resultados mostraron que después de aplicar esta técnica, la extracción de polifenoles totales se incrementó en 7 veces. Sin embargo, se requieren de grandes energías de tratamiento para lograr los mismos resultados a escala real que en el laboratorio. Los mismos autores (Boussetta et al., 2013) compararon esta técnica (40 kV) para la extracción de polifenoles de semillas de uva con la técnica de campos eléctricos pulsados. Los resultados del estudio que la técnica de extracción mediante descargas eléctricas de alto voltaje aumentó el rendimiento de extracción de los polifenoles de la semilla, hasta alcanzar un máximo de 9 gramos de ácido gálico por cada 100 gramos de materia seca. También se ha demostrado que esta técnica mejora el rendimiento de extracción de polifenoles de los sarmientos de la vid en comparación con los ultrasonidos, además de suponer un ahorro en energía (Rajha et al., 2014). En su estudio Rajha et al., (2015) mostraron en sarmientos de vid que el mayor daño celular se producía después de combinar una molienda del material seguido de la aplicación de descargas eléctricas de alto voltaje, por lo que obtuvieron una mayor extracción de compuestos intracelulares.

6.9 Extracción mediante calentamiento óhmico pulsado (POH)

En algunos casos, la aplicación de campos eléctricos moderados no es suficiente para dañar las células situadas en la piel de la uva. Por lo que es necesario aumentar la temperatura para lograr un efecto mayor. La aplicación de POH (Figura 10) consiste en aumentar la temperatura a través de movimientos iónicos tras la aplicación de un tratamiento PEF. Es técnica podría ser útil para recuperar los compuestos intracelulares utilizando campos eléctricos moderados ($< 1000 \text{ V/cm}$) y temperaturas moderadas de $20\text{-}50 \text{ }^\circ\text{C}$ (Praporscic, 2005).

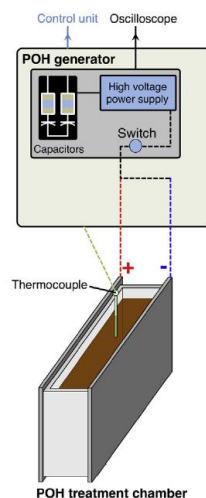


Figura 10: Representación esquemática de un sistema de calentamiento óhmico pulsado (POH) a escala de laboratorio. Fuente: Barba et al., (2016).

Algunos estudios han evaluado los efectos de la extracción mediante POH (20-800 V/cm) a diferentes porcentajes de etanol en agua en la recuperación de polifenoles de orujo de uva tinta, mostrando que el tratamiento con POH fue capaz de provocar la destrucción de la membrana celular, aumentando así la extracción de polifenoles del orujo de uva, obteniendo un 36% más de recuperación de polifenoles que la muestra no tratada, cuando el tratamiento con POH se aplicó a 400 V/cm seguido de una difusión de 60 minutos a 50 °C y con una mezcla hidroalcohólica de 30% etanol en agua (El Darra et al., 2013).

6.10 Extracción mediante procesamiento de alta presión

La extracción mediante el procesamiento con altas presiones (Figura 11) es otra tecnología que ha mostrado buenos resultados para la extracción de compuestos bioactivos antioxidantes de alimentos vegetales (Barba et al., 2015). La presión aumenta entre 200 y 600 MPa lo que provoca la ruptura de la pared celular, junto con una mayor penetración del solvente.

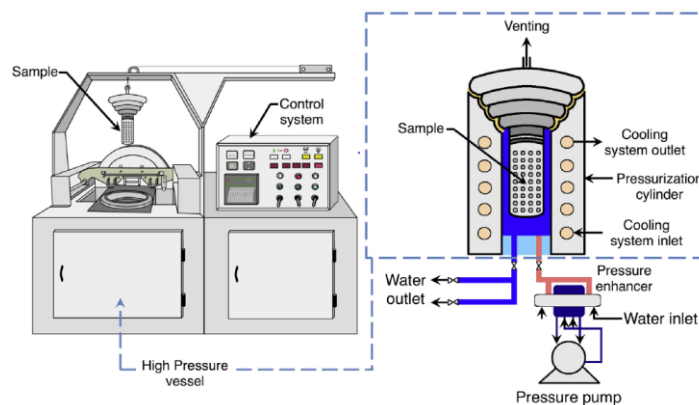


Figura 11: Representación esquemática de un equipo de procesamiento de alta presión para la recuperación de compuestos de alto valor añadido a partir de tejidos vegetales. Fuente: Barba et al., (2016).

Se han realizado algunos estudios para evaluar la recuperación de polifenoles del orujo y la piel de la uva mediante esta técnica (200-600 MPa, 20-70 °C, 30-90 minutos) (Corrales et al., 2008, Corrales et al., 2009), obteniendo un aumento significativo en el contenido de antocianinas totales e individuales después del procesamiento de las muestras mediante altas presiones en comparación con los métodos de extracción convencionales. También se ha visto que las altas presiones pueden ser una herramienta útil para extraer compuestos termolábiles.

Por otro lado, se ha evaluado el potencial de las altas presiones combinados con el uso de altas temperaturas mostrando resultados muy buenos. En concreto Casazza et al., (2010) investigó el uso de esta técnica para la extracción de resveratrol de la piel de la uva y de las semillas. Los resultados mostraron que esta técnica proporcionó una mayor extracción de compuestos polifenólicos tanto para semillas como para hollejos frente a los métodos de extracción convencionales. En otro

estudio para investigar el uso potencial de las altas presiones para recuperar compuestos polifenólicos de los hollejos de uva, Casazza et al., (2012) utilizó un tiempo de extracción de 15-330 minutos y una temperatura de 30-150 °C, mostrando los mayores niveles de extracción a 150 °C durante 270 minutos. Los compuestos fenólicos se identificaron mediante HPLC mostrando mayores niveles de ácido gálico, protocatecúico, catequinas, ácido vainílico, ácido siríngico, resveratrol y quercetina.

7. Limitaciones de los métodos de extracción

Una buena elección de las técnicas de extracción es una cuestión fundamental para obtener una valorización racional de los subproductos de la vinificación, de manera que la composición cualitativa y cuantitativa de los extractos no sólo depende del origen del material vegetal, de las condiciones climáticas y la parte o tejido utilizado (raspón, semillas, hollejos, orujos, etc.) sino también de las condiciones físico-químicas del proceso industrial de extracción, la combinación de disolventes y de los procedimientos de extracción (Teixeira et al., 2014).

También es necesario la purificación del extracto obtenido, eliminando todos los componentes inertes e indeseables que pueden interferir en la actividad biológica de los extractos, proceso por el cual se eliminan olores, sabores y colores de los extractos (Louli et al., 2004).

Hasta el momento, existe un conjunto de técnicas de extracción para aislar compuestos fenólicos de los residuos de la vinificación. La más extendida es la extracción por solventes sólido/líquido. En esta técnica de extracción intervienen gran cantidad de factores como el tipo de disolvente, la proporción y la relación solvente/muestra, el tipo de compuesto que se quiere extraer, la temperatura y el tiempo de extracción, no existiendo una única condición óptima para todos los tipos de residuos derivados de esta actividad (Teixeira et al., 2014).

Los estudios muestran que las soluciones hidroalcohólicas proporcionan un rendimiento bastante elevado de extracción, aunque no son selectivos para los distintos tipos de fenoles que existen en los residuos (Karvela et al., 2009, Agustín-Salazar et al., 2014). El metanol también ha sido utilizado para la extracción fenólica de residuos de uva, pero debido a su toxicidad, su uso está restringido a procedimientos analíticos. Por este motivo, el etanol ha sido estudiado como un disolvente más ecológico y está reconocido como seguro por la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) y el Comité de Expertos en Aditivos Alimentarios de la FAO (EFSA, 2012, FAO, 1970), ya que, debido a su punto bajo de ebullición, su eliminación es fácil y también su reutilización, además cualquier posible residuo es escasamente tóxico a la concentración restante (Guendez et al., 2005). En cuanto a la comparación entre estos dos solventes (etanol y metanol) en la eficiencia de extracción de compuestos polifenólicos, así como su capacidad antioxidante (Agustín-Salazar et al., 2014), los autores descubrieron una estrecha relación entre el

disolvente utilizado y el residuo para obtener un mayor rendimiento en la extracción. El trabajo mostró que el metanol era el disolvente con mayor capacidad de extracción. Otros estudios (Lapornik et al., 2005) mostraron que los extractos de etanol/agua y metanol/agua tenían un contenido en polifenoles 7 veces más alto que solamente los extraídos con agua, con un tiempo de extracción de 12 horas. Diversos estudios han demostrado que el etanol recupera en gran medida los flavonoles, mientras que el metanol recupera más flavan-3-oles (Pekić et al., 1998). Pero el uso de diferentes solventes como el etanol, el metanol y la acetona, generalmente mezclados con agua, produce una coextracción significativa de sustancias contaminantes, lo que disminuye el contenido final en los compuestos de interés del extracto y complica su purificación (Teixeira et al., 2014). En este sentido, una serie de trabajos sobre la eficiencia en el proceso de extracción de los compuestos polifenólicos de residuos de uva basados en la minimización de las condiciones experimentales como la temperatura, el tiempo de extracción, utilización de menor cantidad de solventes, para obtener técnicas más respetuosas con el medio ambiente han obtenido resultados muy prometedores en este campo.

La extracción con fluidos supercríticos es una buena alternativa a los procesos de extracción convencional, en la que se utilizan grandes cantidades de disolventes dañinos para el medioambiente, ya que esta técnica utiliza menos cantidad de solventes, y en la mayoría de las ocasiones se utiliza CO₂, compuesto naturalmente presente en la atmósfera. Diversos estudios han mostrado resultados superiores en la extracción frente a los métodos convencionales, aunque es necesario un gran equipamiento para llevar a cabo esta técnica y por lo general se necesita una gran inversión para la adquisición de estos equipos.

En cuanto a las extracciones mediante ultrasonidos y microondas, se ha demostrado que acortan los tiempos de extracción y aumentan los rendimientos, además de aumentar también la calidad del extracto obtenido en términos de composición fenólica. Estos métodos se utilizan por lo general, a escala de laboratorio, pero en algunas ocasiones se han implementado a nivel industrial (Casazza et al., 2010). Estos métodos son mucho más rápidos que los convencionales ya que proporcionan una mayor área de contacto entre la fase sólida y la líquida como consecuencia de la reducción del tamaño de las partículas (Teixeira et al., 2014). Además, el fenómeno de cavitación que provocan los ultrasonidos induce la ruptura de la pared celular, mejorando la transferencia de masa y facilitando el acceso de los solventes al contenido celular (Novak et al., 2008). Por otro lado, las microondas emplean energía para calentar disolventes en contacto con los subproductos, reduciendo el tiempo de extracción y el consumo de disolvente.

Por otro lado, la extracción con agua caliente presurizada, la extracción con campos eléctricos pulsados, la extracción mediante descargas eléctricas de alto voltaje, el calentamiento óhmico pulsado y las altas presiones, lo que buscan es provocar la ruptura de la pared celular mediante distintos métodos, para mejorar la transferencia de materia y lograr una mayor extracción de los compuestos de interés y una mayor pureza de los extractos de manera que estos métodos utilizan una

cantidad de solvente mucho menor, tiempos de extracción más cortos y obtienen mayores rendimientos en la extracción. Todo ello conlleva un ahorro de recursos y tiempo y por lo tanto, una mayor rentabilidad. Aunque es necesario continuar con la investigación, ya que la mayoría de estos métodos se emplean a escala de laboratorio y a escala experimental, para lograr implementarlos a nivel industrial y que sean rentables para la industria, ya que en la mayoría de las ocasiones el equipamiento tiene un precio elevado, pero podría compensarse con los mayores rendimientos en la extracción.

8. Aplicaciones de los principales subproductos y compuestos de interés en la industria

8.1 Industria alimentaria, farmacéutica y de la salud

8.1.1 Antocianos

Durante la década de los 70 la mayoría de los orujos se utilizaban para la producción de enocianina. La enocianina es una sustancia de color rojo que se obtiene a partir de los orujos u hollejos de las variedades tintas, formada mayoritariamente por antocianos en su mayoría y otros polifenoles, utilizándose mayoritariamente como colorante alimentario (E-163) (Togores, 2011). La obtención de enocianina se puede realizar de varias maneras (Togores, 2011):

- **Difusión en proceso discontinuo:** El orujo de uva tinta sin pepitas se trata en depósitos de hormigón revestido con una solución de sulfuroso (600 a 1500 g SO_2 /100 kg de orujo) a una temperatura de 60 °C durante 70 horas. Una vez termina esta operación, el líquido se sangra y los orujos restantes se presan para obtener el líquido restante. Se mezclan los líquidos, se clarifican y mediante un evaporador a vacío, se elimina el agua de la disolución.
- **Extracción con soluciones aciduladas:** Se introducen los orujos en un depósito provisto de un agitador y se le añade una solución de agua destilada entre 60-65 °C acidulada al 1% con ácido clorhídrico, en una relación orujo/disolvente de 2/1. Al cabo de una hora, los líquidos del escurrido y del filtrado se mezclan, se filtran y se concentran a vacío. A continuación, se le añade al líquido un absorbente (talco), que atrapa a los antocianos y se une a ellos y posteriormente se separa por centrifugación. El talco con los antocianos se introduce en una solución acuosa de etanol y acidificada, se centrifuga para eliminar el talco, y el líquido restante se filtra y se evapora de nuevo a vacío. Por último, el extracto se introduce en un secador y se obtiene la enocianina en polvo.
- **Extracción por el método Sefcal:** Se utiliza una solución acuosa de SO_2 al 0.2% como disolvente para la extracción de los antocianos. En primer lugar, se refrigera la piqueta (líquido obtenido por el lavado de los orujos) para eliminar

los tartratos, se concentra a vacío, se fermenta para eliminar los azúcares residuales, se vuelve a concentrar para recuperar el alcohol, obteniéndose la enocianina líquida.

- **Extracción con resinas adsorbentes:** Los antocianos de los orujos son extraídos por la maceración en caliente en una solución, la solución se filtra y pasa por unas columnas que extraen los antocianos de la solución. Los antocianos son eluidos con etanol, la mezcla se concentra a vacío y se obtiene enocianina líquida concentrada.

8.1.2 Ácido tartárico

Otro uso común de los orujos es la extracción de ácido tartárico (Figura 12) para su uso dentro de la industria alimentaria. El rendimiento de la recuperación de ácido tartárico oscila entre 50-75 gramos de ácido tartárico por kilogramo de orujo (Braga et al., 2002). Este compuesto se aplica ampliamente en varias categorías de alimentos como productos lácteos, aceites y grasas comestibles, pescado, productos cárnicos, productos a base de frutas y verduras y bebidas alcohólicas. Se utiliza debido a sus propiedades antioxidantes, regulador de pH, conservantes y presenta un sabor agrio que es capaz de realzar algunos sabores positivos (García-Lomillo & González-San José, 2017). El tartrato de potasio también se utiliza en productos horneados debido a su capacidad para reaccionar con el bicarbonato de sodio y producir CO₂ sin necesidad de fermentación (Doores, 2011).

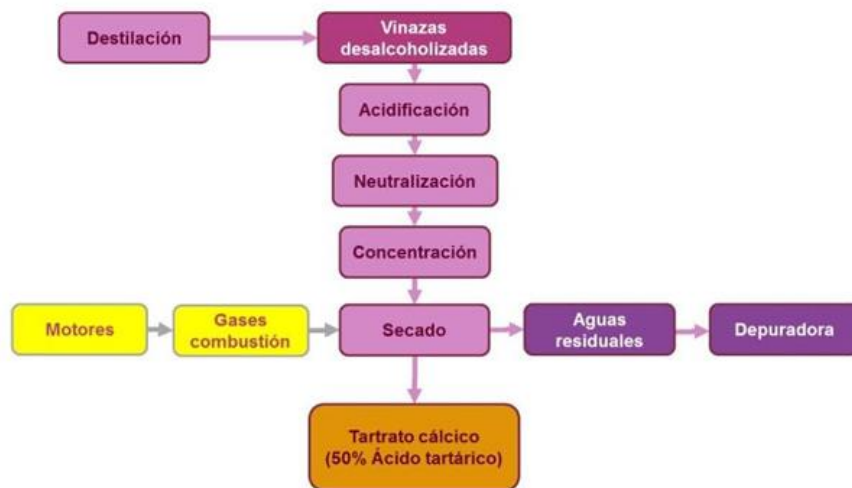


Figura 12: Proceso de obtención de tartrato de calcio a partir de vinazas. Fuente: <http://www.agralco.es/productos/tartrato/>

8.1.3 Aceite de semilla de uva

Uno de los usos más recientes del orujo de uva es la producción de aceite (Figura 13) de semilla de uva. Las pepitas contienen un 12-16% de aceite, que puede

ser extraído de manera similar al de otras semillas (colza, girasol, etc.). El proceso de producción de aceite de semilla es el siguiente (Togores, 2011): en primer lugar, se trituran las semillas con unos molinos, pasando a una prensa continua donde se obtiene un aceite de presión. Se separa el aceite obtenido por presado y los restos sólidos, que se someten a un proceso de extracción con un disolvente. Se añade hexano para disolver el contenido graso de los restos y la mezcla de hexano y aceite se somete a una destilación, donde se separan los dos componentes. El aceite bruto obtenido necesita ser refinado, ya que su contenido en ceras es bastante elevado. Para el refinado se añade ácido fosfórico o NaOH para la neutralización de las ceras, seguido de una refrigeración donde se insolubilizan. Una vez eliminadas las ceras, el aceite se calienta hasta los 12 °C y se centrifuga, se decolora con carbón activo y se desodoriza mediante vacío.



Figura 13: Esquema de la obtención de aceite de pepita de uva. Fuente: <http://www.agralco.es/productos/aceite-de-pepita/>

8.1.4 Alcohol

Otro uso principal de los orujos es la obtención de piquetas (Figura 14). Las piquetas son el líquido fermentado obtenido por lavado o maceración de los orujos, ya sean orujos frescos o fermentados (Togores, 2011). El uso de las piquetas en la actualidad es su aprovechamiento alcohólico por destilación o la elaboración de vinagre de baja calidad. Para la obtención de las piquetas se utiliza una batería de difusión que se compone de unos recipientes que contienen los orujos y se introduce agua de abajo hacia arriba, de manera que, por la diferencia de densidad entre el vino y el agua, el vino tiende a acumularse en la parte superior al agua, pasando a continuación este líquido a otro recipiente y así sucesivamente. Los recipientes contienen un doble fondo agujereado sobre el que se sitúa el orujo, una tubería de entrada por debajo del falso fondo por la que se introduce el agua y una tubería de salida por la parte superior por la que sale el líquido (Togores, 2011).

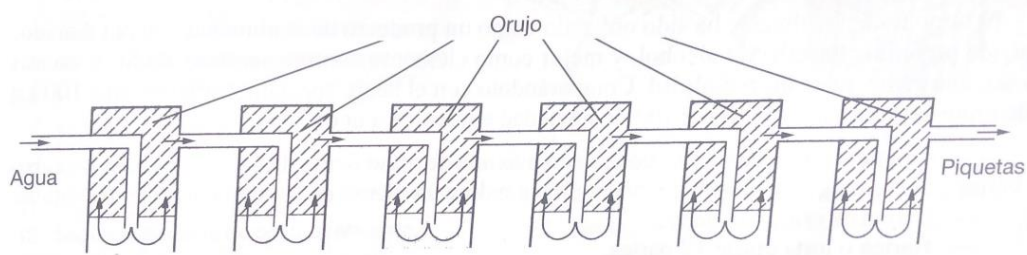


Figura 14. Batería de difusión para la obtención de piqueta de orujos. Fuente: Togores, 2011.

Los orujos y las lías también pueden ser utilizadas para la obtención de alcohol mediante su destilación (Figura 15).

En el caso de los orujos, en primer lugar, si es necesaria su fermentación, se depositan en recipientes o silos para realizar este proceso con una duración aproximada de 5-6 días, alcanzando temperaturas por encima de los 40 °C. Una vez terminada la fermentación, los silos deben sellarse lo mejor posible para limitar la entrada del aire que puede provocar alteraciones microbianas. A continuación, el orujo se saca del silo progresivamente y se introducen en un desalcoholizador, en el cual el orujo fluye en zigzag a contracorriente con vapor de agua que es introducido por la salida. Se produce la volatilización y el arrastre del etanol de manera progresiva al avance de los orujos. Los vapores recolectados, también llamados flemas, tienen una graduación entre 10-40% de etanol y pasan a una columna de destilación para producir alcohol bruto. Las piquetas de orujo también pueden sufrir este proceso para la obtención de alcohol. A partir de este proceso, se pueden obtener alcohol bruto, empleado fundamentalmente como combustible para automóviles mezclado con gasolina y bioetanol, aguardientes y destilados de vino, alcohol neutro o rectificado y alcohol deshidratado.

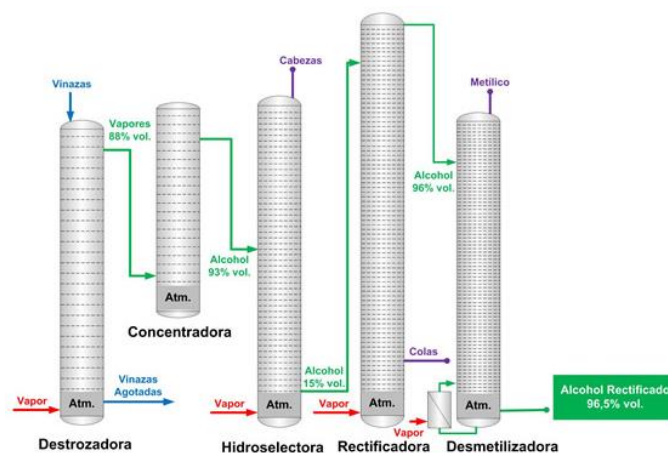


Figura 15: Sistema de obtención de alcohol neutro a partir de las vinazas o piquetas obtenidas de los orujos. Fuente: <http://www.agralco.es/productos/alcohol/alcohol-neutro-o-rectificado/>

En cuanto a la obtención de alcohol de las lías (Figura 16) en primer lugar se pasan por un sistema de cribado para eliminar las impurezas. A continuación, las lías se introducen en una 1 columna de destilación que separa las sustancias no volátiles, concentrando las volátiles. A continuación, se introducen en una 2 columna llamada hidroselectora, donde se diluye con agua caliente y se vuelve a destilar. En esta columna se eliminan los ésteres, el metanol, el acetato de metilo y el acetato de etilo, ya que todos ellos son compuestos más volátiles que el etanol. A continuación, las lías, que ya tienen una graduación de 10-15 ° pasan a una 3 columna rectificadora de destilación que eleva el grado hasta 96°. Finalmente, el destilado pasa por una 4 columna desmetilizadora en la que se produce un calentamiento entre el punto de ebullición del metanol y el etanol, y éste primero se volatiliza de acuerdo con la normativa.

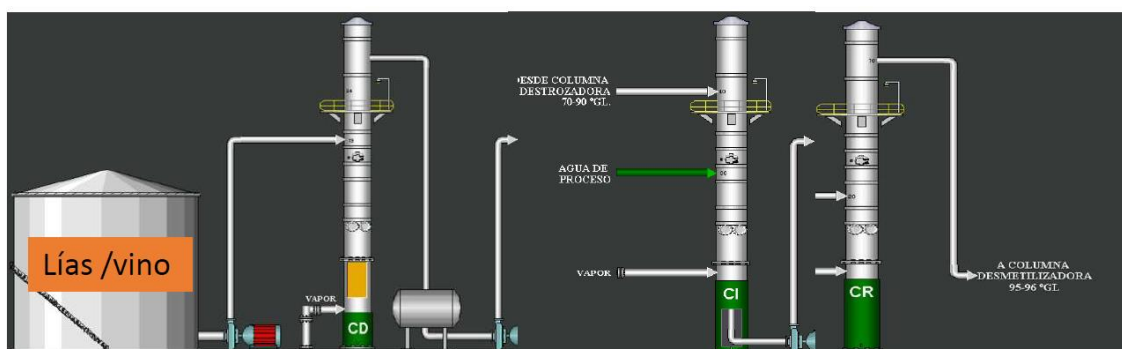


Figura 16: Esquema de la obtención de alcohol a partir de lías. Fuente: Adaptado de Pérez-Serradilla & De Castro, (2008).

8.1.5 Polifenoles

Uno de los usos más recientes de los polifenoles es la suplementación (Figura 17) en la industria alimentaria que se crea a partir de ellos. Esta suplementación puede ser utilizada para la realización de ejercicio físico, ya que los polifenoles pueden mejorar el rendimiento y la recuperación del ejercicio por las propiedades antioxidantes, antiinflamatorias y vasoactivas (Bowtell & Kelly, 2019). Diversos estudios han mostrado un incremento en el rendimiento físico al proporcionar a diversos sujetos suplementación mediante extractos de polifenoles. Por ejemplo, en su estudio Cases et al., (2017), estudiaron una combinación de extractos de polifenoles de té verde, uva y granada y uva y manzana (500 mg) proporcionada 1 hora antes de realizar ejercicio físico y observaron el aumento de la potencia media y la potencia pico durante distintos ciclos de carrera. Cook et al., 2015 también observó un aumento en el rendimiento en una prueba ciclista tras proporcionar a los participantes extractos de polifenoles durante 7 días (105 mg/día).

Otro de los usos recientes de los polifenoles es la incorporación de extractos como conservantes de alimentos debido a su actividad microbiana (ver apartado 9 Actividad biológica y beneficios para la salud de los compuestos de interés). Diversos

estudios han mostrado su seguridad en la utilización en alimentos a nivel de experimentación con animales. Por ejemplo, Yamakoshi et al., (2002), comprobaron la toxicidad oral aguda y subcrónica en ratas, a través de un preparado de semilla de uva, cuyos principales polifenoles fueron procianidinas, mostrando que no hubo ninguna evidencia de toxicidad a dosis de 2 y 4 g/kg. Tampoco mostraron toxicidad en ratas otro estudio llevado a cabo por Bentivegna & Whitney en el 2002. Además, en su estudio Charradi et al., (2018) observaron una reducción de la lipoperoxidación, un aumento de algunas enzimas antioxidantes y mejoró la circulación del corazón y riñones en ratas, utilizando un polvo de semilla de uva rico en procianidinas, catequinas y epicatequinas.

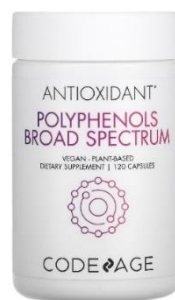


Figura 17: Suplementación a base de polifenoles de la marca Code Age®. Fuente: https://es.iherb.com/pr/codeage-polyphenols-broad-spectrum-antioxidant-vegan-plant-based-120-capsules/112603?qclid=CjwKCAjwh-CVBhB8EiwAjFEPGbc6y-UsNnviV7C5nrR05sVwabeiSNdQ2y-r5PAEJOzRhYQD-B-xBoCpzoQAvD_BwE&qclsrc=aw.ds

8.2 Industria cosmética

En la actualidad, se comercializan muchos productos cosméticos (Figura 18) a partir de polifenoles como cremas de día y de noche, sérums faciales, como fluido matificantes, cremas antiarrugas y protectoras (Pej.: Pure Super Grape de la marca Marks and Spencer® o Vinoperfect de la marca Caudalíe®).



Figura 18: Productos cosméticos a base de polifenoles de distintas marcas. Fuente: <https://www.marieclaire.co.uk/news/beauty-news/m-s-pure-super-grape-skincare-range-61075> y <https://www.sephora.es/p/vinoperfect-serum-resplandor-antimanchas-543062.html>

8.3 Industria agrícola y animal

Uno de los principales usos agrícolas del orujo de uva es su utilización como fertilizante. Éste puede utilizarse destilado o sin destilar, como corrector físico de los suelos (como una enmienda orgánica). También pueden utilizarse las cenizas de combustión del orujo, al tener un gran contenido en potasio, en la preparación de abonos industriales, para enriquecer abonos orgánicos o como fertilizante potásico. También puede utilizarse mediante un proceso de compostaje (Togores, 2011). Las pepitas también pueden utilizarse como fertilizante, pero en forma de torta residual generada en el proceso de extracción del aceite, ya que enteras no presentan ninguna actividad fertilizante. La torta de pepitas presenta cierta capacidad fertilizante al presentar un contenido en nitrógeno del 2.7%, en fósforo (P_2O_5) un 0.6% y en potasio (K_2O) un 0.7 %.

El orujo también puede utilizarse como alimentación animal, utilizando preferiblemente orujo sin alcohol, y utilizándolo como complemento alimenticio debido a su escaso valor nutritivo y su complicada digestión en los animales. De manera aproximada, unos 100 kg de orujo con un 5% de humedad equivalen a 30 kg de heno. También pueden utilizarse para alimentación animal las pepitas bajo la forma de torta o harina que se genera en el proceso de extracción del aceite de semilla (Togores, 2011).

También puede utilizarse las levaduras obtenidas de las lías evitando su desnaturalización por el calentamiento, para alimentación animal como posible fuente proteica. Pero este uso puede no ser muy adecuado, debido al gran contenido en polifenoles que pueden convertir las levaduras como poco asimilables y con cierta toxicidad. Sin embargo, la utilización de estas levaduras al orujo uva en la fase de compostaje mejora la calidad del estiércol al equilibrar la relación C/N de este (Togores, 2011).

9. Actividad biológica y beneficios para la salud de los compuestos de interés

Hasta la fecha, existen numerosas evidencias que muestran la actividad biológica de los subproductos de la industria vitivinícola, principalmente debida a su contenido en compuestos fenólicos. Se atribuye a estos subproductos actividades antioxidantes, antimicrobianas, antiinflamatorias, anticancerígenas y de protección cardiovascular, que respaldan su uso en las industrias farmacéutica, alimentaria y cosmética, entre otras.

Cuando el cuerpo humano se expone a condiciones externas (contaminantes, radiación y patógenos, etc.) produce una gran cantidad de especies reactivas de oxígeno (ROS), lo que provoca estrés oxidativo y también puede generar inflamación (Zhang & Tsao, 2016). Los compuestos fenólicos previenen o inhiben la producción de ROS, evitando los procesos de oxidación y reparando los daños en los tejidos

(Baenas et al., 2018). Esta actividad antioxidante evita la oxidación de las lipoproteínas LDL, la agregación plaquetaria y el deterioro de los glóbulos rojos, previniendo enfermedades degenerativas relacionadas con el estrés oxidativo (Cheynier, 2005; Katalinić et al., 2010).

La capacidad de los polifenoles para evitar la oxidación de los ácidos grasos poliinsaturados de las lipoproteínas de baja densidad (LDL) tiene una consecuencia directa en la prevención de enfermedades cardiovasculares. Weaver et al., (2021) revisaron la eficacia de los polifenoles de la uva y del vino tinto en la salud y en la función vascular de animales y humanos. Observaron mejoras significativas en la presión arterial y en la función vascular tanto en animales como en humanos, concluyendo que los polifenoles tienen potencial para mejorar la salud vascular en poblaciones de riesgo, aunque estos beneficios no son tan frecuentes en humanos como los observados en animales.

Bobek, (1999) estudió la capacidad de los residuos de bodega para minimizar la oxidación de LDL, mediante la incorporación de un extracto de orujos de uva en la dieta de ratones, evidenciando una disminución a la mitad de los niveles de colesterol en hígado y suero, así como un aumento del 26% de las lipoproteínas de alta densidad (HDL). Asimismo, los extractos de semilla de uva también han demostrado ser una fuente de polifenoles capaces de reducir el riesgo de enfermedades cardíacas al inhibir la oxidación de LDL, mejorar la función endotelial, disminuir la presión arterial, inhibir la agregación plaquetaria, reducir la inflamación y activar las proteínas que previenen la senescencia celular (Shi et al., 2003; Dohadwala & Vita, 2009). Además, la administración intravenosa y oral de procianidinas aisladas de semillas de uva ha demostrado ser eficaz para evitar la formación de trombos (Sano et al., 2005).

El extracto de semillas de uva también se ha empleado como tratamiento para limitar la absorción de grasas en la dieta y la acumulación de grasa en el tejido adiposo, debido a su actividad sobre la inhibición de las enzimas lipasa pancreática y lipoproteína lipasa, que metabolizan las grasas (Moreno et al., 2003). También se ha demostrado que los extractos de semilla de uva pueden proporcionar un efecto modulador sobre el daño oxidativo del ADN relacionado con la edad y la peroxidación de lípidos en el sistema nervioso central (Feng et al., 2005; Balu et al., 2006), así como prevenir la inflamación, mostrando efectos protectores frente a la colitis ulcerosa, entre otras afecciones inflamatorias (Wang et al., 2010).

La bibliografía atribuye también actividad antimicrobiana a los compuestos fenólicos presentes en los residuos de vinificación, de modo que el empleo de estas sustancias naturales puede contribuir a combatir el creciente problema de salud pública derivado de la resistencia a los antibióticos.

Anastasiadi et al., (2009) demostraron que las altas concentraciones de flavonoides y sus derivados en las semillas de uva, así como el contenido de flavonoides, estilbenos y ácidos fenólicos en el raspón, son responsables de la actividad antimicrobiana. Asimismo, los datos proporcionados por Vaquero et al.,

(2007) sugieren que el ácido cafeico y la quercetina son responsables de capacidad inhibitoria, particularmente frente a *Listeria monocytogenes*.

En este sentido, los extractos de orujo y semillas de uva han mostrado eficacia frente a bacterias de interés médico, tanto Gram-positivas (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis* y *Bacillus coagulans*) como Gram-negativas (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Salmonella enteritidis*) (Jayaprakasha et al., 2003). Sin embargo, la bibliografía diverge en cuanto a la efectividad de los compuestos fenólicos frente a las bacterias Gram-negativas, pues mientras que algunos autores reportan que los microorganismos Gram-negativos son menos sensibles a la actividad antimicrobiana de los extractos enológicos como consecuencia de la mayor barrera lipídica que limita el acceso de los agentes antimicrobianos al interior de las células (Delgado Adámez et al., 2012; Días et al., 2015), otros autores afirman que los compuestos fenólicos muestran importantes efectos inhibitorios frente al crecimiento de microorganismos Gram-negativos (Cueva et al., 2012; Katalinić et al., 2010). Esta discrepancia puede atribuirse a la relación interespecífica entre las diferentes cepas bacterianas y a la composición química del extracto ensayado.

Más trabajos en este campo han informado que el extracto de semillas de uva inhibe el crecimiento de *Candida albicans*, *Salmonella typhimurium*, y *Listeria monocytogenes* (Ahn et al., 2004). Del mismo modo, los extractos de orujo de uva también han mostrado actividad antifúngica frente a *Botrytis cinérea* (Mendoza et al., 2013).

10. Últimos estudios en la obtención de biocompuestos a partir de subproductos de la industria enológica

10.1 Lías

En su estudio, De Iseppi et al., (2021b), extrajeron manoproteínas de lías de vino blanco, para su uso como aditivo enológico, mediante un autoclave, ultrasonidos y métodos enzimáticos, obteniendo un contenido significativamente mayor de polisacáridos de alto peso molecular en el extracto producido con el autoclave en comparación con los ultrasonidos y las enzimas, lo que concuerda con estudios anteriores como da Silva Araújo et al., (2014). Los autores también evaluaron los efectos de las manoproteínas extraídas sobre la estabilidad proteica de un vino blanco inestable, obteniendo una reducción cercana al 7% de la turbidez en los vinos tratados con las manoproteínas extraídas mediante ultrasonidos y enzimas, confirmando el efecto estabilizante que tienen los extractos de levadura a base de manoproteínas en el vino. Sin embargo, a pesar de una reducción significativa de la turbidez en comparación con el vino control, el nivel de estabilización que lograron los autores fue demasiado bajo como para permitir una reducción sustancial de la

dosis de bentonita. En cuanto a la estabilidad tartárica, el extracto obtenido mediante el autoclave fue el único capaz de reducir la precipitación de tartratos en un 11%, pero no llegando a los niveles suficientes para estabilizar completamente el vino. Los autores también evaluaron las propiedades antiespumantes de los extractos de levadura obtenidos mostrando que el extracto de autoclave tuvo un mayor impacto en este aspecto. Este resultado concuerda con estudios previos (Núñez et al., 2006) que muestran que las manoproteínas extraídas por calor, producen mejores resultados en la capacidad espumante, ya que el extracto tiene mayor cantidad de manoproteínas y proteínas, dos de los principales componentes espumantes del vino (Martínez-Lapuente et al., 2015).

De Iseppi et al., (2021a), utilizó lías de vino tinto y blanco para obtener un extracto y evaluar sus propiedades emulsionantes y espumantes, mostrando gran capacidad para producir grandes volúmenes de espuma, muy estable, con una disminución del volumen a las 3 horas, a excepción del extracto derivado de las lías de vino tinto, que desapareció a las 2,5 horas. Este hecho se debe a las grandes cantidades de compuestos polifenólicos del extracto, que se asocian con una reducción de la estabilidad de la espuma (Martínez-Lapuente et al., 2018).

Costa et al., (2018), evaluó el perfil aromático de los vinos espumosos elaborados con extractos de lías y manoproteínas antes de realizar la segunda fermentación y encontraron que los vinos elaborados presentaban niveles más altos de compuestos que influyen positivamente en el aroma como el acetato de isoamilo (plátano), hexanoato de etilo (afrutado), 1-octanol (afrutado/dulce), acetato de hexilo (afrutado), hexadecanoato de etilo (afrutado/manzana), 2-etil-1-hexanol (afrutado/dulce), β -damascenona, terpenos y norisoprenoides C-13, frente al vino control. Además, todos los compuestos que podrían producir aromas negativos a los vinos se encontraron en una proporción menor que en el vino control.

10.2 Orujos

Canalejo et al., (2021) investigó la influencia de distintos parámetros en la extracción de polisacáridos de orujo de uva blanca sin fermentar. Evaluó el efecto de la concentración de solvente en la extracción, y no obtuvieron diferencias significativas en la concentración de los dos solventes utilizados (ácido tartárico y oxalato de amonio). También evaluó el efecto del pH del solvente en el rendimiento de extracción, obteniendo que los pH ácidos aumentaban la extracción de polisacáridos totales y polisacáridos de alto y medio peso molecular. Sin embargo, los pH altos favorecieron la extracción de polisacáridos de menor masa molecular. También obtuvieron que la mayor relación sólido/líquido (1:4; orujo/solvente) mejoró la extracción de polisacáridos totales con el ácido tartárico, mientras que con el otro solvente no hubo diferencias. Para el tiempo de extracción, en el ácido tartárico solo obtuvieron diferencias en los polisacáridos de menor masa molecular,

mientras que para el oxalato de amonio, obtuvieron diferencias en todos los tipos de polisacáridos.

González et al., (2020) evaluó la extracción de compuestos bioactivos mediante ultrasonidos del orujo de uva de la variedad *Tannat* comparando la extracción con y sin empleo de ultrasonidos. Los resultados del estudio mostraron el aumento de la capacidad antioxidante, los compuestos polifenólicos totales y los antocianos con un tiempo de extracción de 30 minutos, frente a las extracciones con solventes convencionales.

Šelo et al., (2022) utilizó orujo de uva como sustrato para el cultivo de hongos filamentosos con el objetivo de mejorar la recuperación de los compuestos polifenólicos. En el estudio, los autores inocularon los distintos hongos en el orujo de uva y después de 1-5 días y 10-15 días, realizaron una extracción convencional con metanol y ácido acético glacial, obteniendo mayores rendimientos en la extracción de ácido gálico tras 2 días de tratamiento, de ácidos hidroxibenzóicos tras 3 días, de ácido cumárico tras 15 días, de flavan-3-oles y flavonoles tras 5, 10 y 15 días, de procianidinas entre 1 y 3 y de estilbenos tras 5 días de tratamiento. Esto puede deberse a que los hongos, sintetizan un sistema complejo de enzimas involucradas en la degradación de la estructura, por ejemplo, del orujo de uva, y puede conducir a la liberación de compuestos fenólicos de la estructura lignocelulósica, lo que resulta en un aumento en el contenido de compuestos fenólicos debido a enzimas hidrolíticas (Šelo et al., 2021, Teles et al., 2019). Sin embargo, también puede darse la degradación de los compuestos por hidrólisis enzimática, por lo que es importante controlar el proceso y detenerlo cuando se logre la concentración deseada (Bucić-Kojić et al., 2020).

11. Conclusiones

En esta revisión bibliográfica, se han estudiado los distintos subproductos derivados del proceso de vinificación, los principales compuestos de interés, las técnicas de extracción y sus limitaciones, sus aplicaciones, actividad biológica y beneficios para la salud y los últimos estudios en la obtención de biocompuestos a partir de los subproductos de la industria enológica.

Debido a la alta producción de subproductos derivados del proceso de vinificación, existe un gran potencial de aprovechamiento de estos, de manera que se contribuye al proceso de economía circular, utilizando estos subproductos como materia prima para generar otros productos de valor, que de otra manera tendrían un alto coste de gestión y de eliminación. Al reutilizar estos subproductos, también se estimula la economía de la industria que se dedica a este proceso y la creación de valor. En definitiva, esto conlleva una sostenibilidad del sector, reduciendo así los subproductos o residuos del sector enológico, una mejora medioambiental, una

reducción de los costes de producción y ofrece nuevas formas de diversificar la producción.

En cuanto a las técnicas de extracción, se deben reemplazar las técnicas de extracción convencionales por las técnicas más recientes ya que la implementación de estas técnicas conlleva una reducción del tiempo de extracción, la energía utilizada es menor, el uso de solventes y productos químicos perjudiciales para el medio ambiente es menor y el rendimiento de extracción es mayor. Además, algunas técnicas son capaces de extraer selectivamente las moléculas sin romper parte del tejido, lo que reduce los procesos de purificación siguientes. Sin embargo, a pesar de sus evidentes ventajas, este tipo de técnicas han sido probadas a nivel de laboratorio y piloto en su mayoría y se ha investigado muy poco sobre su uso a nivel industrial, por lo que este tipo de técnicas todavía no están totalmente preparadas para su implementación a nivel industrial por el elevado coste de los equipos y su instalación.

En cuanto a la actividad biológica y los beneficios para la salud de los compuestos de interés, el hecho de que se haya demostrado que los compuestos polifenólicos tienen propiedades beneficiosas para la salud, como actividad antioxidante, antiinflamatoria, anticancerígenas y de protección cardiovascular, se abre una nueva ventana de investigación para estudiar qué efectos tienen estos compuestos a nivel del ser humano como dosis óptima, efectos secundarios y otros efectos que puedan producir su ingesta. Sin embargo, la concentración de compuestos polifenólicos en el vino es mucho menor que la concentración necesaria para que estos compuestos muestren sus efectos beneficiosos, siendo necesaria su incorporación a la dieta en forma de extractos o suplementación, ya que la ingesta equivalente de vino para llegar a estos niveles queda descartada, ya que el alcohol tendría efectos negativos sobre el metabolismo.

En cuanto a las aplicaciones industriales, las investigaciones sobre las distintas propiedades y beneficios de los polifenoles, abre una nueva puerta para la creación de productos farmacéuticos, cosméticos, suplementación alimentaria, para una nueva revalorización de estos compuestos distintos a la revalorización clásica como obtención de alcohol, fertilizante y alimentación animal. Además, una cuestión importante es que cada vez más, los consumidores demandan más alimentos con menos cantidad de ingredientes químicos y aditivos, requiriendo alimentos con ingredientes naturales y el uso de los compuestos polifenólicos para conservar y añadir a los alimentos los beneficios que estos presentan, podrían ser una buena opción de estudio en un futuro debido a esta gran demanda.

Es importante destacar que los estudios de los últimos 2-3 años se centran en la utilización de subproductos para la obtención de compuestos bioactivos diferentes a los polifenoles. Se trata de los polisacáridos. Estos estudios analizan diferentes técnicas de extracción para la obtención de diferentes polisacáridos a partir de lías y orujos, y señalan su posible utilización como posibles compuestos que mejoran las cualidades organolépticas de los vinos, como coadyuvantes en la estabilización

proteica y tartárica de los vinos, como compuestos con capacidad antiespumante en vinos tranquilos y con propiedades espumantes en vinos espumosos.

12. Bibliografía

Achat, S., Tomao, V., Madani, K., Chibane, M., Elmaataoui, M., Dangles, O., & Chemat, F. (2012). Direct enrichment of olive oil in oleuropein by ultrasound-assisted maceration at laboratory and pilot plant scale. *Ultrasonics sonochemistry*, 19(4), 777-786.

Adámez, J. D., Samino, E. G., Sánchez, E. V., & González-Gómez, D. (2012). In vitro estimation of the antibacterial activity and antioxidant capacity of aqueous extracts from grape-seeds (*Vitis vinifera* L.). *Food Control*, 24(1-2), 136-141.

Agustin-Salazar, S., Medina-Juárez, L. A., Soto-Valdez, H., Manzanares-López, F., & Gámez-Meza, N. (2014). Influence of the solvent system on the composition of phenolic substances and antioxidant capacity of extracts of grape (*Vitis vinifera* L.) marc. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 20(2), 208-213.

Ahn, J., Grün, I. U., & Mustapha, A. (2004). Antimicrobial and antioxidant activities of natural extracts in vitro and in ground beef. *Journal of food protection*, 67(1), 148-155.

Al Bittar, S., Périno-Issartier, S., Dangles, O., & Chemat, F. (2013). An innovative grape juice enriched in polyphenols by microwave-assisted extraction. *Food Chemistry*, 141(3), 3268-3272.

Alonso, D. A., Baeza, A., Cruz, R. C., Gómez, C., Guillena, G., Maset, X., ... & Saavedra, B. (2018). Mezclas eutécticas como alternativa sostenible a los disolventes convencionales en Química Orgánica. *Anales de Química de la RSEQ*, 114(2), 79-87.

Alupului, A., Calinescu, I., & Lavric, V. (2012). Microwave extraction of active principles from medicinal plants. *UPB Science Bulletin, Series B*, 74(2), 129-142.

Anastasiadi, M., Chorianopoulos, N. G., Nychas, G. J. E., & Haroutounian, S. A. (2009). Antilisterial activities of polyphenol-rich extracts of grapes and vinification byproducts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(2), 457-463.

Anastasiadi, M., Pratsinis, H., Kletsas, D., Skaltsounis, A. L., & Haroutounian, S. A. (2012). Grape stem extracts: Polyphenolic content and assessment of their in vitro antioxidant properties. *LWT-Food Science and Technology*, 48(2), 316-322.

Apostolou, A., Stagos, D., Galitsiou, E., Spyrou, A., Haroutounian, S., Portesis, N., ... & Kouretas, D. (2013). Assessment of polyphenolic content, antioxidant activity, protection against ROS-induced DNA damage and anticancer activity of *Vitis vinifera* stem extracts. *Food and Chemical Toxicology*, 61, 60-68.

- Baderschneider, B., & Winterhalter, P. (2001). Isolation and characterization of novel benzoates, cinnamates, flavonoids, and lignans from Riesling wine and screening for antioxidant activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(6), 2788-2798.
- Baenas, N., Abellán, A., Rivera, S., Moreno, D.A., García-Viguera, C., Domínguez-Perles, R., (2018). *Foods and supplements, Polyphenols: Properties, Recovery, and Applications*. Elsevier.
- Balasa, A., Toepfl, S., & Knorr, D. (2006). Pulsed electric field treatment of grapes. *Food Factory of the Future 3. Gothenburg, Sweden*.
- Balasundram, N., Sundram, K., & Samman, S. (2006). Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food chemistry*, 99(1), 191-203.
- Balu, M., Sangeetha, P., Murali, G., & Panneerselvam, C. (2006). Modulatory role of grape seed extract on age-related oxidative DNA damage in central nervous system of rats. *Brain research bulletin*, 68(6), 469-473.
- Barba, F. J., Brianceau, S., Turk, M., Boussetta, N., & Vorobiev, E. (2015a). Effect of alternative physical treatments (ultrasounds, pulsed electric fields, and high-voltage electrical discharges) on selective recovery of bio-compounds from fermented grape pomace. *Food and Bioprocess Technology*, 8(5), 1139-1148.
- Barba, F. J., Terefe, N. S., Buckow, R., Knorr, D., & Orlien, V. (2015b). New opportunities and perspectives of high pressure treatment to improve health and safety attributes of foods. A review. *Food Research International*, 77, 725-742.
- Barba, F. J., Zhu, Z., Koubaa, M., Sant'Ana, A. S., & Orlien, V. (2016). Green alternative methods for the extraction of antioxidant bioactive compounds from winery wastes and by-products: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 49, 96-109.
- Bentivegna, S. S., & Whitney, K. M. (2002). Subchronic 3-month oral toxicity study of grape seed and grape skin extracts. *Food and Chemical Toxicology*, 40(12), 1731-1743.
- Bleve, M., Ciurlia, L., Erroi, E., Lionetto, G., Longo, L., Rescio, L., ... & Vasapollo, G. (2008). An innovative method for the purification of anthocyanins from grape skin extracts by using liquid and sub-critical carbon dioxide. *Separation and Purification Technology*, 64(2), 192-197.
- Bobek, P. (1999). Dietary tomato and grape pomace in rats: effect on lipids in serum and liver, and on antioxidant status. *British journal of biomedical science*, 56(2), 109.
- Boussetta, N., & Vorobiev, E. (2014). Extraction of valuable biocompounds assisted by high voltage electrical discharges: A review. *Comptes Rendus Chimie*, 17(3), 197-203.
- Boussetta, N., Vorobiev, E., Reess, T., De Ferron, A., Pecastaing, L., Ruscassié, R., & Lanoisellé, J. L. (2012). Scale-up of high voltage electrical discharges for polyphenols extraction from grape pomace: Effect of the dynamic shock waves. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 16, 129-136.

- Bowtell, J., & Kelly, V. (2019). Fruit-derived polyphenol supplementation for athlete recovery and performance. *Sports Medicine*, 49(1), 3-23.
- Braga, F. G., e Silva, F. A. L., & Alves, A. (2002). Recovery of winery by-products in the Douro demarcated region: production of calcium tartrate and grape pigments. *American journal of enology and viticulture*, 53(1), 41-45.
- Brahim, M., Gambier, F., & Brosse, N. (2014). Optimization of polyphenols extraction from grape residues in water medium. *Industrial Crops and Products*, 52, 18-22.
- Brianceau, S., Turk, M., Vitrac, X., & Vorobiev, E. (2015). Combined densification and pulsed electric field treatment for selective polyphenols recovery from fermented grape pomace. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 29, 2-8.
- 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.
- Canalejo, D., Guadalupe, Z., Martínez-Lapuente, L., Ayestarán, B., & Pérez-Magariño, S. (2021). Optimization of a method to extract polysaccharides from white grape pomace by-products. *Food Chemistry*, 365, 130445.
- Casas, L., Mantell, C., Rodríguez, M., de la Ossa, E. M., Roldán, A., De Ory, I., ... & Blandino, A. (2010). Extraction of resveratrol from the pomace of Palomino fino grapes by supercritical carbon dioxide. *Journal of Food Engineering*, 96(2), 304-308.
- Casazza, A. A., Aliakbarian, B., Mantegna, S., Cravotto, G., & Perego, P. (2010a). Extraction of phenolics from *Vitis vinifera* wastes using non-conventional techniques. *Journal of Food Engineering*, 100(1), 50-55.
- Casazza, A. A., Aliakbarian, B., Montoya, E. O., & Perego, P. (2010b). t-resveratrol recovery from grape skins using high pressure and temperature extraction. *Journal of Biotechnology*, (150), 333.
- Casazza, A. A., Aliakbarian, B., Sannita, E., & Perego, P. (2012). High-pressure high-temperature extraction of phenolic compounds from grape skins. *International journal of food science & technology*, 47(2), 399-405.
- Cases, J., Romain, C., Marín-Pagán, C., Chung, L. H., Rubio-Pérez, J. M., Laurent, C., ... & Alcaraz, P. E. (2017). Supplementation with a polyphenol-rich extract, PerfLoad®, improves physical performance during high-intensity exercise: A randomized, double blind, crossover trial. *Nutrients*, 9(4), 421.
- Castillo-Muñoz, N., Gómez-Alonso, S., García-Romero, E., & Hermosín-Gutiérrez, I. (2007). Flavonol profiles of *Vitis vinifera* red grapes and their single-cultivar wines. *Journal of agricultural and food chemistry*, 55(3), 992-1002.
- Charradi, K., Mahmoudi, M., Bedhiafi, T., Jebari, K., El May, M. V., Limam, F., & Aouani, E. (2018). Safety evaluation, anti-oxidative and anti-inflammatory effects of

subchronically dietary supplemented high dosing grape seed powder (GSP) to healthy rat. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 107, 534-546.

Chassagne, D., Guilloux-Benatier, M., Alexandre, H., & Voilley, A. (2005). Sorption of wine volatile phenols by yeast lees. *Food Chemistry*, 91(1), 39-44.

Chemat, F., & Cravotto, G. (Eds.). (2012). *Microwave-assisted extraction for bioactive compounds: theory and practice* (Vol. 4). Springer Science & Business Media.

Cheyrier, V. (2005). Polyphenols in foods are more complex than often thought. *The American journal of clinical nutrition*, 81(1), 223S-229S.

Cho, Y. J., Hong, J. Y., Chun, H. S., Lee, S. K., & Min, H. Y. (2006). Ultrasonication-assisted extraction of resveratrol from grapes. *Journal of Food Engineering*, 77(3), 725-730.

Coelho, M. C., Pereira, R. N., Rodrigues, A. S., Teixeira, J. A., & Pintado, M. E. (2020). The use of emergent technologies to extract added value compounds from grape by-products. *Trends in Food Science & Technology*, 106, 182-197.

Cook, M. D., Myers, S. D., Blacker, S. D., & Willems, M. E. T. (2015). New Zealand blackcurrant extract improves cycling performance and fat oxidation in cyclists. *European journal of applied physiology*, 115(11), 2357-2365.

Cook, N. C., & Samman, S. (1996). Flavonoids—chemistry, metabolism, cardioprotective effects, and dietary sources. *The Journal of nutritional biochemistry*, 7(2), 66-76.

Corrales, M., Butz, P., & Tauscher, B. (2008a). Anthocyanin condensation reactions under high hydrostatic pressure. *Food Chemistry*, 110(3), 627-635.

Corrales, M., García, A. F., Butz, P., & Tauscher, B. (2009). Extraction of anthocyanins from grape skins assisted by high hydrostatic pressure. *Journal of Food Engineering*, 90(4), 415-421.

Corrales, M., Toepfl, S., Butz, P., Knorr, D., & Tauscher, B. (2008b). Extraction of anthocyanins from grape by-products assisted by ultrasonics, high hydrostatic pressure or pulsed electric fields: A comparison. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 9(1), 85-91.

Costa, G. P., Nicolli, K. P., Welke, J. E., Manfro, V., & Zini, C. A. (2018). Volatile profile of sparkling wines produced with the addition of mannoproteins or lees before second fermentation performed with free and immobilized yeasts. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 29, 1866-1875.

Cueva, C., Mingo, S., Muñoz-González, I., Bustos, I., Requena, T., Del Campo, R., ... & Moreno-Arribas, M. V. (2012). Antibacterial activity of wine phenolic compounds and oenological extracts against potential respiratory pathogens. *Letters in Applied Microbiology*, 54(6), 557-563.

Da Porto, C., Porretto, E., & Decorti, D. (2013). Comparison of ultrasound-assisted extraction with conventional extraction methods of oil and polyphenols from grape (*Vitis vinifera* L.) seeds. *Ultrasonics sonochemistry*, 20(4), 1076-1080.

- da Silva Araújo, V. B., de Melo, A. N. F., Costa, A. G., Castro-Gomez, R. H., Madruga, M. S., de Souza, E. L., & Magnani, M. (2014). Followed extraction of β -glucan and mannoprotein from spent brewer's yeast (*Saccharomyces uvarum*) and application of the obtained mannoprotein as a stabilizer in mayonnaise. *Innovative food science & emerging technologies*, 23, 164-170.
- de Campos, L. M., Leimann, F. V., Pedrosa, R. C., & Ferreira, S. R. (2008). Free radical scavenging of grape pomace extracts from Cabernet sauvignon (*Vitis vinifera*). *Bioresource Technology*, 99(17), 8413-8420.
- De Iseppi, A., Marangon, M., Lomolino, G., Crapisi, A., & Curioni, A. (2021a). Red and white wine lees as a novel source of emulsifiers and foaming agents. *LWT*, 152, 112273.
- De Iseppi, A., Marangon, M., Vincenzi, S., Lomolino, G., Curioni, A., & Divol, B. (2021b). A novel approach for the valorization of wine lees as a source of compounds able to modify wine properties. *LWT*, 136, 110274.
- Deng, Q., Penner, M. H., & Zhao, Y. (2011). Chemical composition of dietary fiber and polyphenols of five different varieties of wine grape pomace skins. *Food Research International*, 44(9), 2712-2720.
- Devesa-Rey, R., Vecino, X., Varela-Alende, J. L., Barral, M. T., Cruz, J. M., & Moldes, A. B. (2011). Valorization of winery waste vs. the costs of not recycling. *Waste management*, 31(11), 2327-2335.
- Di Lecce, G., Arranz, S., Jáuregui, O., Tresserra-Rimbau, A., Quifer-Rada, P., & Lamuela-Raventós, R. M. (2014). Phenolic profiling of the skin, pulp and seeds of Albariño grapes using hybrid quadrupole time-of-flight and triple-quadrupole mass spectrometry. *Food Chemistry*, 145, 874-882.
- Dias, C., Domínguez-Perles, R., Aires, A., Teixeira, A., Rosa, E., Barros, A., & Saavedra, M. J. (2015). Phytochemistry and activity against digestive pathogens of grape (*Vitis vinifera* L.) stem's (poly) phenolic extracts. *LWT-Food science and technology*, 61(1), 25-32.
- Do, Q. D., Angkawijaya, A. E., Tran-Nguyen, P. L., Huynh, L. H., Soetaredjo, F. E., Ismadji, S., & Ju, Y. H. (2014). Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatica*. *Journal of food and drug analysis*, 22(3), 296-302.
- Dohadwala, M. M., & Vita, J. A. (2009). Grapes and cardiovascular disease. *The Journal of nutrition*, 139(9), 1788S-1793S.
- Doores S. (2011). Acidulants. In: Smith J, Hong-Shum L, editors. *Food additives data book*. West Sussex: Wiley-Blackwell. p 1–58.
- EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM). (2012). Scientific Opinion on the evaluation of the substances currently on the list in the annex to Commission Directive 96/3/EC as acceptable previous cargoes for edible fats and oils—Part II of III. *EFSA Journal*, 10(5), 2703.

- El Darra, N., Grimi, N., Maroun, R. G., Louka, N., & Vorobiev, E. (2013a). Pulsed electric field, ultrasound, and thermal pretreatments for better phenolic extraction during red fermentation. *European Food Research and Technology*, 236(1), 47-56.
- El Darra, N., Grimi, N., Maroun, R. G., Louka, N., & Vorobiev, E. (2013b). Pulsed electric field, ultrasound, and thermal pretreatments for better phenolic extraction during red fermentation. *European Food Research and Technology*, 236(1), 47-56.
- El Darra, N., Grimi, N., Vorobiev, E., Louka, N., & Maroun, R. (2013c). Extraction of polyphenols from red grape pomace assisted by pulsed ohmic heating. *Food and Bioprocess Technology*, 6(5), 1281-1289.
- El Gharras, H. (2009). Polyphenols: food sources, properties and applications—a review. *International journal of food science & technology*, 44(12), 2512-2518.
- FAOSTAT, 2013. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Available from: <http://faostat3.fao.org/download/Q/QC/E>. Accessed 2016 May 31.
- Feng, Y., Liu, Y. M., Fratkins, J. D., & LeBlanc, M. H. (2005). Grape seed extract suppresses lipid peroxidation and reduces hypoxic ischemic brain injury in neonatal rats. *Brain research bulletin*, 66(2), 120-127.
- Fernandes, A., Ratola, N., Cerdeira, A., Alves, A., & Venâncio, A. (2007). Changes in ochratoxin A concentration during winemaking. *American Journal of Enology and Viticulture*, 58(1), 92-96.
- Fernandes, F., Ramalhosa, E., Pires, P., Verdial, J., Valentão, P., Andrade, P., ... & Pereira, J. A. (2013). Vitis vinifera leaves towards bioactivity. *Industrial crops and products*, 43, 434-440.
- Furiga, A., Lonvaud-Funel, A., & Badet, C. (2009). In vitro study of antioxidant capacity and antibacterial activity on oral anaerobes of a grape seed extract. *Food Chemistry*, 113(4), 1037-1040.
- Galanakis, C. M. (2012). Recovery of high added-value components from food wastes: conventional, emerging technologies and commercialized applications. *Trends in Food Science & Technology*, 26(2), 68e87.
- Galanakis, C. M. (2013). Emerging technologies for the production of nutraceuticals from agricultural by-products: a viewpoint of opportunities and challenges. *Food and Bioproducts Processing*, 91(4), 575e579.
- García-Lomillo, J., & González-SanJosé, M. L. (2017). Applications of wine pomace in the food industry: Approaches and functions. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 16(1), 3-22.
- Garrido, J., & Borges, F. (2013). Wine and grape polyphenols—A chemical perspective. *Food research international*, 54(2), 1844-1858.

- González, M., Barrios, S., Budelli, E., Pérez, N., Lema, P., & Heinzen, H. (2020). Ultrasound assisted extraction of bioactive compounds in fresh and freeze-dried *Vitis vinifera* cv. Tannat grape pomace. *Food and Bioproducts Processing*, 124, 378-386.
- Guendez, R., Kallithraka, S., Makris, D. P., & Kefalas, P. (2005). Determination of low molecular weight polyphenolic constituents in grape (*Vitis vinifera* sp.) seed extracts: Correlation with antiradical activity. *Food chemistry*, 89(1), 1-9.
- Guilloux-Benatier, M., Chassagne, D., Alexandre, H., Charpentier, C., & Feuillat, M. (2001). Influence of yeast autolysis after alcoholic fermentation on the development of *Brettanomyces/Dekkera* in wine. *OENO One*, 35(3), 157-164.
- Jain, T., Jain, V., Pandey, R., Vyas, A., & Shukla, S. S. (2009). Microwave assisted extraction for phytoconstituents—an overview. *Asian Journal Research Chemistry*, 1(2), 19-25.
- Jayaprakasha, G. K., Selvi, T., & Sakariah, K. K. (2003). Antibacterial and antioxidant activities of grape (*Vitis vinifera*) seed extracts. *Food research international*, 36(2), 117-122.
- Jeffery, D. W., Parker, M., & Smith, P. A. (2008). Flavonol composition of Australian red and white wines determined by high-performance liquid chromatography. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 14(3), 153-161.
- Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. Toxicological evaluation of some extraction solvents and certain other substances. In *Proceedings of the FAO Nutrition Meetings*; WHO: Geneva, Switzerland, 1970.
- Jun, X. (2013). High-pressure processing as emergent technology for the extraction of bioactive ingredients from plant materials. *Critical reviews in food science and nutrition*, 53(8), 837-852.
- Kallithraka, S., Salacha, M. I., & Tzourou, I. (2009). Changes in phenolic composition and antioxidant activity of white wine during bottle storage: Accelerated browning test versus bottle storage. *Food Chemistry*, 113(2), 500-505.
- Karvela, E., Makris, D. P., Kalogeropoulos, N., & Karathanos, V. T. (2009). Deployment of response surface methodology to optimise recovery of grape (*Vitis vinifera*) stem polyphenols. *Talanta*, 79(5), 1311-1321.
- Katalinić, V., Možina, S. S., Skroza, D., Generalić, I., Abramović, H., Miloš, M., ... & Boban, M. (2010). Polyphenolic profile, antioxidant properties and antimicrobial activity of grape skin extracts of 14 *Vitis vinifera* varieties grown in Dalmatia (Croatia). *Food chemistry*, 119(2), 715-723.
- Koubaa, M., Rosello-Soto, E., Šic Žlabur, J., Rezek Jambrak, A., Brncic, M., Grimi, N., ... & Barba, F. J. (2015). Current and new insights in the sustainable and green recovery of nutritionally valuable compounds from *Stevia rebaudiana* Bertoni. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63(31), 6835-6846.

- Lapornik, B., Prošek, M., & Wondra, A. G. (2005). Comparison of extracts prepared from plant by-products using different solvents and extraction time. *Journal of food engineering*, 71(2), 214-222.
- Leong, S. L. L., Hocking, A. D., & Scott, E. S. (2006). The effect of juice clarification, static or rotary fermentation and fining on ochratoxin A in wine. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 12(3), 245-251.
- Liazid, A., Guerrero, R. F., Cantos, E., Palma, M., & Barroso, C. G. (2011). Microwave assisted extraction of anthocyanins from grape skins. *Food chemistry*, 124(3), 1238-1243.
- Llobera, A., & Canellas, J. (2007). Dietary fibre content and antioxidant activity of Manto Negro red grape (*Vitis vinifera*): pomace and stem. *Food chemistry*, 101(2), 659-666.
- Louli, V., Ragoussis, N., & Magoulas, K. (2004). Recovery of phenolic antioxidants from wine industry by-products. *Bioresource technology*, 92(2), 201-208.
- Makris, D. P. (2018). Green extraction processes for the efficient recovery of bioactive polyphenols from wine industry solid wastes—Recent progress. *Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry*, 13, 50-55.
- Martínez-Lapuente, L., Ayestarán, B., & Guadalupe, Z. (2018). Influence of wine chemical compounds on the foaming properties of sparkling wines. In *Grapes and wines - Advances in production, processing, analysis and valorization* (pp. 195–223). InTech.
- Martínez-Lapuente, L., Guadalupe, Z., Ayestarán, B., & Pérez-Magariño, S. (2015). Role of major wine constituents in the foam properties of white and rosé sparkling wines. *Food Chemistry*, 174, 330-338.
- Mattivi, F., Guzzon, R., Vrhovsek, U., Stefanini, M., & Velasco, R. (2006). Metabolite profiling of grape: flavonols and anthocyanins. *Journal of agricultural and food chemistry*, 54(20), 7692-7702.
- Mendoza, L., Yañez, K., Vivanco, M., Melo, R., & Cotoras, M. (2013). Characterization of extracts from winery by-products with antifungal activity against *Botrytis cinerea*. *Industrial Crops and Products*, 43, 360-364.
- Montealegre, R. R., Peces, R. R., Vozmediano, J. C., Gascueña, J. M., & Romero, E. G. (2006). Phenolic compounds in skins and seeds of ten grape *Vitis vinifera* varieties grown in a warm climate. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19(6-7), 687-693.
- Moreno, D. A., Ilic, N., Poulev, A., Brasaemle, D. L., Fried, S. K., & Raskin, I. (2003). Inhibitory effects of grape seed extract on lipases. *Nutrition*, 19(10), 876-879.
- Moruno, E. G., Sanlorenzo, C., Boccaccino, B., & Di Stefano, R. (2005). Treatment with yeast to reduce the concentration of ochratoxin A in red wine. *American Journal of Enology and Viticulture*, 56(1), 73-76.

- Nawaz, H., Shi, J., Mittal, G. S., & Kakuda, Y. (2006). Extraction of polyphenols from grape seeds and concentration by ultrafiltration. *Separation and Purification Technology*, 48(2), 176-181.
- Novak, I., Janeiro, P., Seruga, M., & Oliveira-Brett, A. M. (2008). Ultrasound extracted flavonoids from four varieties of Portuguese red grape skins determined by reverse-phase high-performance liquid chromatography with electrochemical detection. *Analytica chimica acta*, 630(2), 107-115.
- Núñez, Y. P., Carrascosa, A. V., González, R., Polo, M. C., & Martínez-Rodríguez, A. (2006). Isolation and characterization of a thermally extracted yeast cell wall fraction potentially useful for improving the foaming properties of sparkling wines. *Journal of agricultural and food chemistry*, 54(20), 7898-7903.
- Palma, M., & Taylor, L. T. (1999). Extraction of polyphenolic compounds from grape seeds with near critical carbon dioxide. *Journal of Chromatography A*, 849(1), 117-124.
- Panouille, M., Ralet, M. C., Bonnin, E., & Thibault, J. F. (2007). Recovery and reuse of trimmings and pulps from fruit and vegetable processing. In *Handbook of waste management and co-product recovery in food processing* (pp. 417-447). Woodhead Publishing.
- Pascual-Marti, M. C., Salvador, A., Chafer, A., & Berna, A. (2001). Supercritical fluid extraction of resveratrol from grape skin of *Vitis vinifera* and determination by HPLC. *Talanta*, 54(4), 735-740.
- Patist, A., & Bates, D. (2008). Ultrasonic innovations in the food industry: From the laboratory to commercial production. *Innovative food science & emerging technologies*, 9(2), 147-154.
- Pekić, B., Kovač, V., Alonso, E., & Revilla, E. (1998). Study of the extraction of proanthocyanidins from grape seeds. *Food Chemistry*, 61(1-2), 201-206.
- Pérez-Serradilla, J. A., & De Castro, M. L. (2008). Role of lees in wine production: A review. *Food chemistry*, 111(2), 447-456.
- Pérez-Serradilla, J. A., & De Castro, M. L. (2011). Microwave-assisted extraction of phenolic compounds from wine lees and spray-drying of the extract. *Food chemistry*, 124(4), 1652-1659.
- Pinelo, M., Arnous, A., & Meyer, A. S. (2006). 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.
- Pingret, D., Fabiano-Tixier, A. S., Le Bourvellec, C., Renard, C. M., & Chemat, F. (2012). Lab and pilot-scale ultrasound-assisted water extraction of polyphenols from apple pomace. *Journal of Food Engineering*, 111(1), 73-81.
- Plaza, M., & Turner, C. (2015). Pressurized hot water extraction of bioactives. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 71, 39e54.

Płotka-Wasyłka, J., Rutkowska, M., Owczarek, K., Tobiszewski, M., & Namieśnik, J. (2017). Extraction with environmentally friendly solvents. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, *91*, 12-25.

Praporscic, I. (2005). *Influence du traitement combiné par champ électrique pulsé et chauffage modéré sur les propriétés physiques et sur le comportement au pressage de produits végétaux* (Doctoral dissertation, Compiègne).

Rajha, H. N., Abou Jaoude, N., Louka, N., Maroun, R. G., & Vorobiev, E. (2014a). Industrial byproducts valorization through energy saving processes. Alkaline extraction of polyphenols from vine shoots. In *International Conference on Renewable Energies for Developing Countries 2014* (pp. 89-94). IEEE.

Rajha, H. N., Boussetta, N., Louka, N., Maroun, R. G., & Vorobiev, E. (2014b). A comparative study of physical pretreatments for the extraction of polyphenols and proteins from vine shoots. *Food Research International*, *65*, 462-468.

Rajha, H. N., Boussetta, N., Louka, N., Maroun, R. G., & Vorobiev, E. (2015). Effect of alternative physical pretreatments (pulsed electric field, high voltage electrical discharges and ultrasound) on the dead-end ultrafiltration of vine-shoot extracts. *Separation and Purification Technology*, *146*, 243-251.

Rajha, H. N., Ziegler, W., Louka, N., Hobaika, Z., Vorobiev, E., Boechzelt, H. G., & Maroun, R. G. (2014c). Effect of the drying process on the intensification of phenolic compounds recovery from grape pomace using accelerated solvent extraction. *International Journal of Molecular Sciences*, *15*(10), 18640-18658.

Sano, T., Oda, E., Yamashita, T., Naemura, A., Ijiri, Y., Yamakoshi, J., & Yamamoto, J. (2005). Anti-thrombotic effect of proanthocyanidin, a purified ingredient of grape seed. *Thrombosis Research*, *115*(1-2), 115-121.

Schoedl, K., Schuhmacher, R., & Forneck, A. (2012). Studying the polyphenols of grapevine leaves according to age and insertion level under controlled conditions. *Scientia Horticulturae*, *141*, 37-41.

Šelo, G., Planinić, M., Tišma, M., Grgić, J., Perković, G., Koceva Komlenić, D., & Bucić-Kojić, A. (2022). A Comparative Study of the Influence of Various Fungal-Based Pretreatments of Grape Pomace on Phenolic Compounds Recovery. *Foods*, *11*(11), 1665.

Šelo, G., Planinić, M., Tišma, M., Tomas, S., Koceva Komlenić, D., & Bucić-Kojić, A. (2021). A comprehensive review on valorization of agro-food industrial residues by solid-state fermentation. *Foods*, *10*(5), 927.

Shi, J., Yu, J., Pohorly, J., Young, J. C., Bryan, M., & Wu, Y. (2003). Optimization of the extraction of polyphenols from grape seed meal by aqueous ethanol solution. *J Food Agric Environ*, *1*(2), 42-47.

- Souquet, J. M., Labarbe, B., Le Guernevé, C., Cheynier, V., & Moutounet, M. (2000). Phenolic composition of grape stems. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(4), 1076-1080.
- Teixeira, A., Baenas, N., Dominguez-Perles, R., Barros, A., Rosa, E., Moreno, D. A., & Garcia-Viguera, C. (2014). Natural bioactive compounds from winery by-products as health promoters: a review. *International journal of molecular sciences*, 15(9), 15638-15678.
- Teles, A. S., Chávez, D. W., Oliveira, R. A., Bon, E. P., Terzi, S. C., Souza, E. F., ... & Tonon, R. V. (2019). Use of grape pomace for the production of hydrolytic enzymes by solid-state fermentation and recovery of its bioactive compounds. *Food Research International*, 120, 441-448.
- Togores, J. H. (2011). *Tratado de Enología. Vol. I y II*. Mundi-Prensa Libros.
- Treutter, D. (2006). Significance of flavonoids in plant resistance: a review. *Environmental Chemistry Letters*, 4(3), 147-157.
- Vaquero, M. R., Alberto, M. R., & De Nadra, M. M. (2007). Antibacterial effect of phenolic compounds from different wines. *Food control*, 18(2), 93-101.
- Vattem, D. A., & Shetty, K. (2003). Ellagic acid production and phenolic antioxidant activity in cranberry pomace (*Vaccinium macrocarpon*) mediated by *Lentinus edodes* using a solid-state system. *Process Biochemistry*, 39(3), 367-379.
- Vergara-Salinas, J. R., Bulnes, P., Zúñiga, M. C., Pérez-Jiménez, J., Torres, J. L., Mateos-Martín, M. L., ... & Pérez-Correa, J. R. (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.
- Vergara-Salinas, J. R., Vergara, M., Altamirano, C., Gonzalez, Á., & Pérez-Correa, J. R. (2015). Characterization of pressurized hot water extracts of grape pomace: Chemical and biological antioxidant activity. *Food chemistry*, 171, 62-69.
- Vilkhu, K., Mawson, R., Simons, L., & Bates, D. (2008). Applications and opportunities for ultrasound assisted extraction in the food industry—A review. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 9(2), 161-169.
- Viot, M., Tomao, V., Le Bourvellec, C., Renard, C. M., & Chemat, F. (2010). Towards the industrial production of antioxidants from food processing by-products with ultrasound-assisted extraction. *Ultrasonics sonochemistry*, 17(6), 1066-1074.
- Vivanco, D., Ardiles, P., Castillo, D., & Puente, L. (2021). Tecnología emergente: Campo de pulsos eléctricos (PEF) para el tratamiento de alimentos y su efecto en el contenido de antioxidantes. *Revista chilena de nutrición*, 48(4), 609-619.
- Wagner, W., & Pruß, A. (2002). The IAPWS formulation 1995 for the thermodynamic properties of ordinary water substance for general and scientific use. *Journal Of Physical And Chemical Reference Data*, 31(2), 387-535.

- Wang, Y. H., Yang, X. L., Wang, L., Cui, M. X., Cai, Y. Q., Li, X. L., & Wu, Y. J. (2010). Effects of proanthocyanidins from grape seed on treatment of recurrent ulcerative colitis in rats. *Canadian journal of physiology and pharmacology*, 88(9), 888-898.
- Weaver, S. R., Rendeiro, C., McGettrick, H. M., Philp, A., & Lucas, S. J. (2021). Fine wine or sour grapes? A systematic review and meta-analysis of the impact of red wine polyphenols on vascular health. *European Journal of Nutrition*, 60(1), 1-28.
- Yamakoshi, J., Saito, M., Kataoka, S., & Kikuchi, M. (2002). Safety evaluation of proanthocyanidin-rich extract from grape seeds. *Food and chemical toxicology*, 40(5), 599-607.
- Yu, H. B., Ding, L. F., Wang, Z., & Shi, L. X. (2014). Study on extraction of polyphenol from grape peel microwave-assisted activity. In *Advanced Materials Research* (Vol. 864, pp. 520-525). Trans Tech Publications Ltd.
- Zhang, H., & Tsao, R. (2016). Dietary polyphenols, oxidative stress and antioxidant and anti-inflammatory effects. *Current Opinion in Food Science*, 8, 33-42.
- Zimmerli, B., & Dick, R. (1996). Ochratoxin A in table wine and grape-juice: occurrence and risk assessment. *Food additives & contaminants*, 13(6), 655-668.