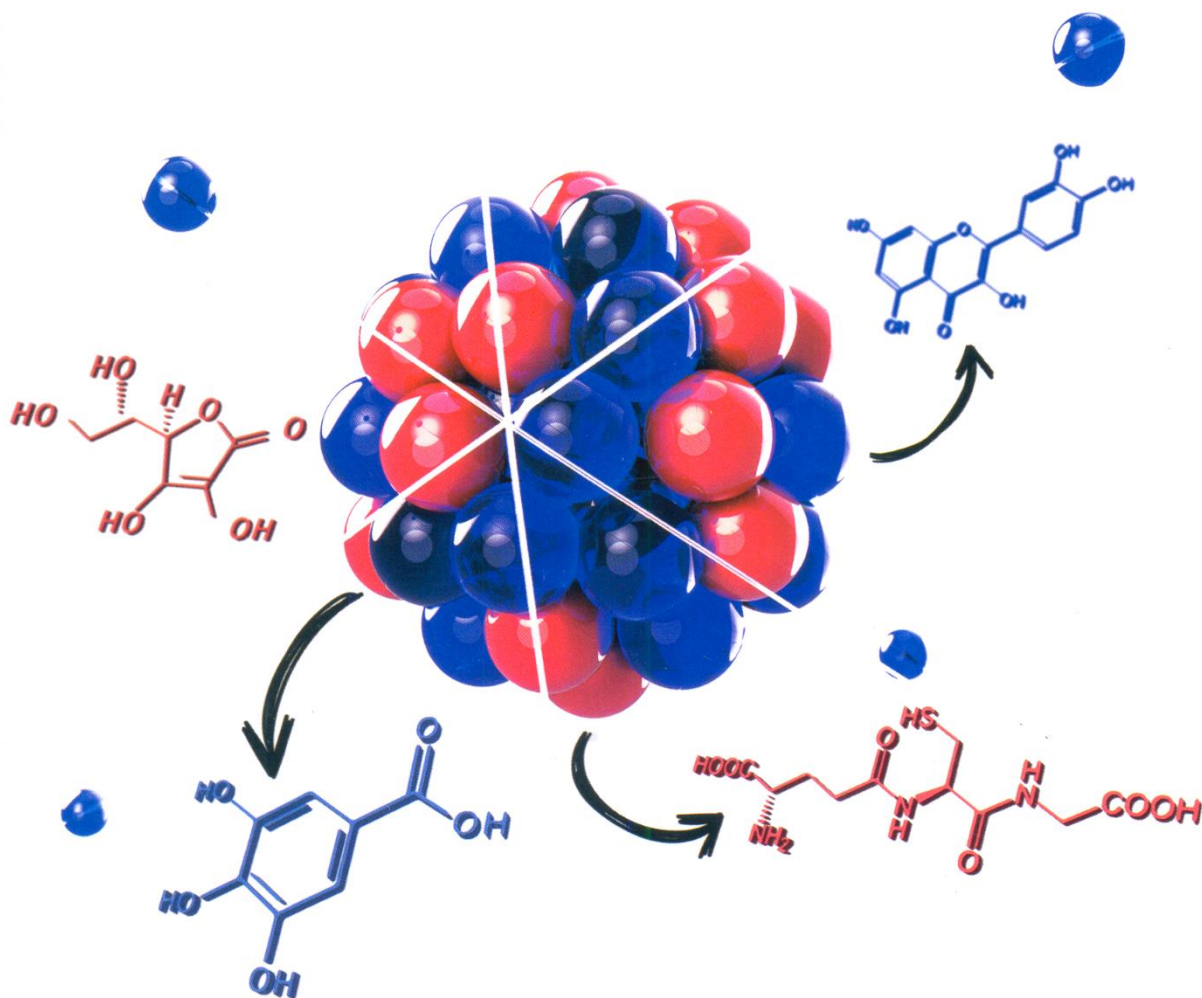


Aprovechamiento de subproductos de la industria alimentaria para la obtención de compuestos bioactivos



Editores: Dr. Gustavo A. González-Aguilar, Dr. Adrián Hernández-Mendoza
Dr. Jorge Milán-Carrillo, Dra. Belinda Vallejo-Cordoba, Dr. Aarón F. González-Córdova



AGT EDITOR, S.A.

Aprovechamiento de Subproductos de la Industria Alimentaria para la Obtención de Compuestos Bioactivos

Dr. Gustavo A. González-Aguilar

Laboratorio de Antioxidantes y Alimentos Funcionales
Coordinación de Tecnología de Alimentos de Origen Vegetal
Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C.



Dr. Adrián Hernández-Mendoza

Laboratorio de Química y Biotecnología de Productos Lácteos
Coordinación de Tecnología de Alimentos de Origen Animal
Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C.



Dr. Jorge Milán-Carrillo

Facultad de Ciencias Químico Biológicas
Universidad Autónoma de Sinaloa



Dra. Belinda Vallejo-Córdoba

Laboratorio de Química y Biotecnología de Productos Lácteos
Coordinación de Tecnología de Alimentos de Origen Animal
Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C.



Dr. Aarón F. González-Córdova

Laboratorio de Química y Biotecnología de Productos Lácteos
Coordinación de Tecnología de Alimentos de Origen Animal
Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C.



AGT EDITOR, S.A.

Dr. Gustavo A. González-Aguilar

Laboratorio de Antioxidantes y Alimentos Funcionales
Coordinación de Tecnología de Alimentos de Origen Vegetal
Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C.

Dr. Adrián Hernández-Mendoza

Laboratorio de Química y Biotecnología de Productos Lácteos
Coordinación de Tecnología de Alimentos de Origen Animal
Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C.

Dr. Jorge Milán-Carrillo

Facultad de Ciencias Químico Biológicas
Universidad Autónoma de Sinaloa

Dra. Belinda Vallejo-Córdoba

Laboratorio de Química y Biotecnología de Productos Lácteos
Coordinación de Tecnología de Alimentos de Origen Animal
Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C.

Dr. Aarón F. González-Córdova

Laboratorio de Química y Biotecnología de Productos Lácteos
Coordinación de Tecnología de Alimentos de Origen Animal
Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C.

La presentación y arreglo en conjunto de **APROVECHAMIENTO DE SUBPRODUCTOS DE LA INDUSTRIA ALIMENTARIA PARA LA OBTENCIÓN DE COMPUESTOS BIOACTIVOS**, son propiedad del editor. Ninguna parte de esta obra puede ser reproducida o transmitida, mediante ningún sistema o medio electrónico o mecánico (incluyendo el fotocopiado, la grabación o cualquier método para recuperar y almacenar información), sin la autorización por escrito del editor.

Primera Edición AGT Editor / CIAD / UAS, 2018

D.R. © 2018, AGT Editor, S. A.

Progreso 202 Planta Alta,

Col. Escandón, México, 11800, D.F.

Primera edición, Septiembre 2018

D.R. © Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A.C.

D.R. © Universidad Autónoma de Sinaloa

ISBN: 978-607-7551-46-1 AGT Editor, S. A.

ISBN: 978-607-7900-33-7 CIAD

ISBN: 978-607-737-232-5 Universidad Autónoma de Sinaloa

Impreso en México

Printed and made in Mexico

Aarón F. González-Córdova. Laboratorio de Química y Biotecnología de Productos Lácteos, Coordinación de Tecnología de Alimentos de Origen Animal, Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. Carretera a La Victoria Km 0.6. C.P. 83304, Hermosillo, Sonora, México.

Abraham Wall-Medrano. Instituto de Ciencias Biomédicas. Departamento de Ciencias Químico-Biológicas. Universidad Autónoma de Ciudad Juárez. Anillo Envolverte del PRONAF y Estocolmo S/N, C.P. 32310, Ciudad Juárez, Chihuahua, México.

Abril Herrera-Cazares. Posgrado en Ciencia y Tecnología de los Alimentos, Universidad Autónoma de Querétaro, Cerro de las Campanas S/N. Col. Centro, C.P. 76010 Santiago de Querétaro, Querétaro, México.

Adrián Hernández-Mendoza. Laboratorio de Química y Biotecnología de Productos Lácteos, Coordinación de Tecnología de Alimentos de Origen Animal, Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. Carretera a La Victoria Km 0.6. C.P. 83304, Hermosillo, Sonora, México.

Alán Pavlovich Abril. Departamento de Investigación y Posgrado en Alimentos, Universidad de Sonora, Blvd. Luis Encinas y Rosales S/N, C.P.83000, Hermosillo, Sonora, México.

Alejandra M. Preciado Saldaña. Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A.C. Carretera a La Victoria Km 0.6. C.P. 83304, Hermosillo, Sonora, México.

Alejandro Fontes Zepeda. Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A.C. Carretera a La Victoria Km 0.6. C.P. 83304, Hermosillo, Sonora, México.

Alfonso García Galaz. Laboratorio de Bioquímica de Proteínas y Glicanos. Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A.C. Carretera a la Victoria Km. 0.6. C.P. 83304. Hermosillo, Sonora, México.

Alicia P. Cárdenas Castro. Tecnológico Nacional de México, Campus Tepic, Av. Tecnológico No. 2595, Col. Lagos del Country, C.P. 63175, Tepic, Nayarit, México.

Alma A. Vázquez-Flores. Departamento de Ciencias Químico Biológicas, Universidad Autónoma de Ciudad Juárez. Universidad Autónoma de Ciudad Juárez. Anillo Envolverte del PRONAF y Estocolmo S/N, C.P. 32310, Ciudad Juárez, Chihuahua, México.

Ana M. Puebla Pérez. Departamento de Microbiología y Patología, Centro Universitario de Ciencias de la Salud, Universidad de Guadalajara, Sierra Mojada 950, Col. Independencia, C.P. 44340, Guadalajara, Jalisco, México.

Ana T. Gutiérrez Ibáñez. Facultad de Ciencias Agrícolas. Universidad Autónoma del Estado de México. Instituto Literario Núm. 100, Col. Centro, C.P. 50000, Toluca, Estado de México, México.

Orujo de uva como ingrediente de alimentos funcionales

Oscar A. Muñoz-Bernal¹, Joaquín Rodrigo-García², Nina del Rocío Martínez¹, Jorge García-Fajardo³, Emilio Alvarez Parrilla¹

¹Departamento de Ciencias Químico Biológicas,

²Departamento de Ciencias de la Salud, Instituto de Ciencias Biomédicas, Universidad Autónoma de Ciudad Juárez, Av. Plutarco Elías Calles # 1210, Fovisste Chamizal, C.P. 32310, Ciudad Juárez, Chihuahua, México.

³Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco. A.C. Vía de la Innovación 404. Autopista Mty-Aeropuerto Km 10, Parque PIIT. C.P. 66629. Apodaca, Nuevo León.

Resumen

El proceso de vinificación de vino tinto genera un 45 % de subproducto conocido como orujo, el cual normalmente es utilizado como abono, o en el mejor de los casos como alimento para ganado. Considerando que el orujo contiene principalmente cascarrilla y semilla, ambos ricos en compuestos antioxidantes, así como fibra soluble e insoluble, este subproducto puede ser considerado como una fuente importante de compuestos nutraceuticos que puedan ser utilizados para la formulación de alimentos funcionales, lo cual permitiría darle valor agregado a este subproducto. En el presente capítulo se darán a conocer los avances más recientes sobre la caracterización nutricional del orujo, así como sus usos actuales y potenciales como fuente de ingredientes para la elaboración de alimentos funcionales.

Palabras clave: vino, uva, subproducto, fibra dietética, compuestos fenólicos, alimentos funcionales

Introducción

En los últimos años se ha presentado un incremento en el consumo de vino tanto a nivel nacional como internacional, debido en gran medida a la evidencia científica que correlaciona el consumo moderado de vino (1 o 2 copas al día) con la prevención de enfermedades crónico-degenerativas, lo cual ha hecho que los consumidores vean al vino como una fuente de aporte de compuestos beneficios para la salud.

Estos estudios han relacionado el efecto benéfico del vino con la presencia de alcohol (en concentraciones menores al 15 %) y compuestos antioxidantes como estilbenos (resveratrol), antocianinas, flavonoides (quercetina) y taninos condensados (proantocianidinas), que son extraídos de la cascarrilla y semilla de la uva durante el proceso de maceración.

A pesar de que la producción de vino en México representa solamente el 0.16 % del total mundial, con una producción de 38,000 toneladas en 2010, en los últimos años, el consumo nacional de vino se ha incrementado en promedio un 10-13 % anual. De este mercado, el vino mexicano representa 25 % del total. A nivel nacional, Baja California es el principal productor de vino, con un segmento del 83 % de la producción nacional, en una superficie plantada de 40,000 hectáreas.

El proceso de vinificación genera aproximadamente un 40-60 % de subproducto conocido como orujo, el cual es rico en fibra y compuestos polifenólicos, motivo por el cual ha despertado gran interés entre los tecnólogos de alimentos para utilizarlo como materia prima de compuestos bioactivos.

En el presente capítulo, se pretende describir los procesos de obtención del orujo, sus propiedades nutricionales, caracterización de compuestos bioactivos y aplicaciones actuales y futuras.

18.1. Generalidades

El orujo de uva es un subproducto del proceso de la uva y está compuesto generalmente por la semilla, piel, pulpa y tallo. Aproximadamente el 40 % de la producción total de uva se emplea en la producción de vino.

Se estima que por cada 100 kg de uva de vinificación, al final se producen entre 20 y 25 kg de orujo de uva, generando aproximadamente entre 5 y 9 millones de toneladas al año de este subproducto a nivel mundial (Radovanović et al., 2014). Existe un interés creciente en este subproducto debido a su contenido en fibra dietaria y polifenoles para la alimentación animal (Basalan et al., 2011) y potencial uso para consumo humano en productos de panadería, bebidas y productos cárnicos, además de su posible uso en la industria cosmética y farmacéutica (Beres et al., 2017). El orujo de uva puede ser una excelente fuente de compuestos con propiedades funcionales y nutricionales, además de considerarse una innovación en el área de los ingredientes alimentarios (Cuchu et al., 2015).

En la **Figura 18.1a** se presenta el proceso de vinificación de vino tinto, que involucra la cosecha de uva roja, despallado, maceración y fermentación, prensado y drenado, para obtener por un lado el vino que pasa al proceso de maduración en tanque o barrica, y por el otro la obtención del orujo, que está constituido por un 25 % de semilla, 50 % de cascarrilla y 25 % de rastrojo, sin embargo, este último es separado durante el proceso de despallado, debido a que el rastrojo confiere características indeseables al vino, por su alto contenido de taninos condensados.

En la **Figura 18.1b** se presenta un diagrama general del uso del orujo para la obtención de diferentes subproductos. Los principales usos comerciales son para la obtención de aceite de semilla de uva, y elaboración de harina de orujo, que puede ser utilizado para la elaboración de alimento para ganado y en composta.

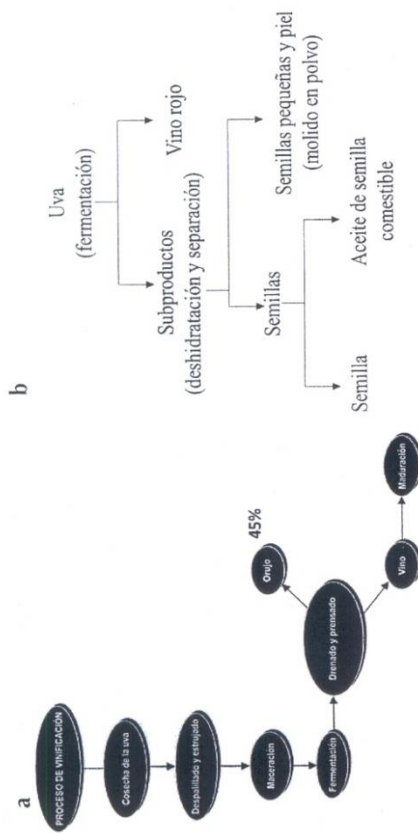


Figura 18.1. Subproductos del proceso de vinificación (Yi et al., 2009).

18.2. Composición nutricional (análisis proximal)

La composición química del orujo de uva varía dependiendo del tipo de uva, el método de producción de vino y la proporción de semillas, pulpa, piel y tallos presentes en el subproducto (Basalan et al., 2011).

Los principales componentes del orujo de uva son las semillas y la piel. En la elaboración de vino tinto, el jugo y orujo de uva son fermentados juntos. La presencia de piel en esta etapa provee los pigmentos, tales como antocianinas, que aportan el color del vino.

En el caso del vino blanco, el orujo no se involucra en la fermentación; sólo el jugo se fermenta, debido a lo cual el orujo proveniente de este proceso tiene más pulpa y azúcares residuales en comparación con el orujo generado en la elaboración de vino tinto (Beres et al., 2017). En el Cuadro 18.1, se presenta la composición química de algunas variedades de uva roja, blanca y subproductos.

La uva fresca muestra un contenido de humedad entre 73 y 85 %, mientras que los subproductos como el orujo presentan valores desde 50 a 72 % y los tallos de 55 a 80 %. La variabilidad en el contenido de humedad depende de la variedad de uva y proceso de vinificación (González-Centeno et al., 2010).

Cuadro 18.1. Composición química de algunas variedades de uva fresca roja, blanca y sus subproductos*.

Variedad	Humedad	Proteína**	Lípidos	Cenizas	Azúcares solubles	Fibra dietaria
Uvas para vino tinto						
<i>Cabernet s.</i>	74.0 ± 0.3	2.3 ± 0.2	0.8 ± 0.1	0.9 ± 0.1	15.6 ± 1.5	5.5 ± 0.3
Orujo	61.5 ± 0.7	3.1 ± 0.4	0.6 ± 0.1	2.1 ± 0.1	2.3 ± 0.4	30.4 ± 1.2
Tallos	65.8 ± 0.1	2.0 ± 0.3	0.9 ± 0.2	3.7 ± 0.2	3.1 ± 0.1	23.9 ± 1.5
<i>Callet</i>	76.1 ± 0.2	2.7 ± 0.3	0.8 ± 0.1	1.0 ± 0.0	15.5 ± 1.5	4.3 ± 0.1
Orujo	55.6 ± 0.5	2.7 ± 0.1	0.3 ± 0.1	2.2 ± 0.5	2.5 ± 0.1	37.2 ± 1.1
Tallos	66.3 ± 0.2	2.8 ± 0.1	0.7 ± 0.2	2.4 ± 0.2	3.1 ± 0.2	25.5 ± 1.3
<i>Manto negro</i>	78.3 ± 0.6	1.8 ± 0.3	0.7 ± 0.1	0.5 ± 0.0	15.9 ± 1.1	3.7 ± 0.2
Orujo	63.6 ± 1.0	3.2 ± 0.4	0.7 ± 0.1	2.1 ± 0.3	3.1 ± 0.5	27.6 ± 1.4
Tallos	59.7 ± 0.3	2.7 ± 0.2	0.4 ± 0.0	2.8 ± 0.1	2.9 ± 0.2	30.0 ± 1.3
<i>Merlot</i>	75.9 ± 0.3	2.4 ± 0.1	0.7 ± 0.2	0.7 ± 0.0	15.3 ± 1.0	4.5 ± 0.2
Orujo	53.9 ± 0.1	3.8 ± 0.3	0.5 ± 0.1	2.1 ± 0.2	2.4 ± 0.2	37.4 ± 2.2
Tallos	61.5 ± 0.5	2.2 ± 0.2	0.9 ± 0.1	4.3 ± 0.2	2.9 ± 0.2	28.8 ± 1.2
<i>Tempranillo</i>	74.3 ± 0.3	2.9 ± 0.3	0.8 ± 0.0	0.9 ± 0.1	15.4 ± 1.2	5.1 ± 0.2
Orujo	55.7 ± 0.3	3.1 ± 0.1	0.6 ± 0.2	2.3 ± 0.0	2.0 ± 0.1	36.9 ± 1.2
Tallos	56.8 ± 0.3	2.1 ± 0.2	0.4 ± 0.1	4.3 ± 0.1	2.2 ± 0.2	34.8 ± 1.2
<i>Syrah</i>	77.9 ± 0.4	2.1 ± 0.2	0.4 ± 0.1	0.8 ± 0.1	14.4 ± 0.6	4.6 ± 0.2
Orujo	50.2 ± 1.0	3.3 ± 0.1	0.7 ± 0.1	3.0 ± 0.1	2.1 ± 0.0	40.8 ± 1.4
Tallos	64.9 ± 1.2	2.4 ± 0.1	0.9 ± 0.2	1.7 ± 0.2	3.0 ± 0.2	26.3 ± 1.5
Uvas para vino blanco						
<i>Chardonnay</i>	77.3 ± 0.2	2.7 ± 0.3	0.6 ± 0.1	0.8 ± 0.1	14.7 ± 1.3	3.7 ± 0.3
Orujo	63.9 ± 0.3	2.7 ± 0.3	1.0 ± 0.2	1.8 ± 0.0	6.2 ± 0.2	23.5 ± 1.1
Tallos	67.5 ± 0.6	2.5 ± 0.2	0.7 ± 0.1	2.8 ± 0.3	1.8 ± 0.1	26.0 ± 1.3
<i>Macabeu</i>	79.3 ± 0.2	2.2 ± 0.1	0.7 ± 0.1	0.4 ± 0.1	14.8 ± 1.0	3.4 ± 0.3
Orujo	72.2 ± 0.3	3.2 ± 0.4	0.9 ± 0.1	1.9 ± 0.0	2.1 ± 0.1	19.9 ± 1.2
Tallos	72.7 ± 0.3	1.8 ± 0.3	0.5 ± 0.0	1.5 ± 0.1	3.2 ± 0.1	19.5 ± 1.1
<i>Parellada</i>	83.2 ± 0.2	2.3 ± 0.2	0.3 ± 0.0	0.9 ± 0.2	12.2 ± 0.9	2.2 ± 0.2
Orujo	62.8 ± 0.5	3.4 ± 0.2	0.7 ± 0.2	1.8 ± 0.1	2.2 ± 0.1	30.2 ± 1.4
Tallos	76.7 ± 0.4	2.6 ± 0.4	0.8 ± 0.1	1.5 ± 0.1	2.9 ± 0.2	16.5 ± 0.9
<i>Prensal b.</i>	78.8 ± 0.3	2.1 ± 0.2	0.4 ± 0.1	0.5 ± 0.0	15.3 ± 1.1	3.1 ± 0.3
Orujo	69.3 ± 0.9	3.1 ± 0.4	0.7 ± 0.1	2.0 ± 0.1	2.1 ± 0.2	21.9 ± 1.2
Tallos	69.7 ± 0.2	2.8 ± 0.3	0.7 ± 0.0	1.8 ± 0.1	3.7 ± 0.1	21.2 ± 1.4

*Resultados reportados como g/100 g peso fresco. ** Determinada por el método Kjeldahl utilizando el factor de 6.25 para estimación del contenido proteico (González-Centeno et al., 2010).

De manera general se estima que la composición, en peso seco (PS), del orujo de uva roja es: celulosa (14.5 %), hemicelulosa (10.3 %), pectina (5.4 %), lignina (17.2 %), proteína (14.5 %), azúcares (2.7 %) (Radovanović et al., 2014). Sin embargo, esta composición varía dependiendo de la variedad de uva, el lugar de cultivo, el tipo de proceso de vinificación, entre otros factores.

Por ejemplo, el orujo obtenido de la uva *Brazilian Pinot noir*, mediante un proceso para vino blanco, presentó un contenido menor de proteína (13.8 %) y mayor en fibra dietaria (51.4 %) en comparación de la uva *Vranac (Vitis vinifera L.)* cultivada en Serbia, además de tener un contenido en grasa de 4.2 %, carbohidratos 19.7 % y cenizas 5.5 % (PS).

A su vez, el contenido proteico del orujo obtenido de la uva *Brazilian Pinot noir* fue ligeramente mayor al encontrado para *Merlot* (11.26 %), *Cabernet Sauvignon* (12.34 %) y *Pinot noir* (12.13 %) (PS) de orujos provenientes de los Estados Unidos de América (Deng et al., 2011) y menor al reportado para orujo proveniente de cultivos de Turquía y compuesto por tallos, piel y pulpa (18.89 %) (**Cuadro 18.2**) (Basalan et al., 2011).

Cuadro 18.2. Composición proximal de las diferentes partes componentes del orujo proveniente de uva para la producción de vino tinto en Turquía*.

	Tallo	Piel más pulpa	Semilla	p
Materia seca	31.4	18.8	48.8	<0.001
Proteína cruda	6.9	11.9	9.3	0.001
Extracto etéreo	1.2	4.6	6.2	0.001
Cenizas	7.6	11.7	2.7	<0.001
Carbohidratos (sin fibra)	40.9	30.3	26.4	0.001
Fibra neutro detergente	43.3	41.3	55.2	0.001
Fibra ácido detergente	32.4	36.0	49.2	0.001

*Resultados reportados como g/100 g peso seco (modificado de Basalan et al., 2011).

La semilla de la uva contiene una fracción importante de proteína. Un estudio realizado en semillas provenientes de uva blanca (*Glera*, *Trebbiano*, *Durella*, *Cortese*, *Moscato Colli Euganei*, *Manzoni Bianco*, *Moscato Fiori d'Arancio*, *Garganega*) y roja (*Raboso Piave* y *Corvina*) en Italia, mostró un contenido aproximado de 40 % de proteína en el endospermo de la semilla desengrasada (el endospermo fue separado de la corteza

de la semilla). La principal fracción proteica identificada fue de tipo globulinas, las cuales podrían tener una función de almacenamiento.

Generalmente este tipo de proteínas están presentes en las semillas de varias plantas como multímeros de elevado peso molecular, estabilizados por interacciones no covalentes que ocurren entre diferentes subunidades, que a su vez están constituidas por enlaces disulfuro de polipéptidos procedentes de la escisión de una proteína precursora.

Las fracciones de albúminas de las diferentes variedades se presentaron principalmente en la banda de 60 kDa, mientras que se observó una baja fracción de prolaminas en el endospermo de la semilla de uva (Gazzola et al., 2014) grape (*Vitis vinifera L.*).

Por otra parte, el contenido de grasa de los subproductos de la vinificación proviene principalmente de las semillas. En dos variedades de uva roja (*Cabernet Sauvignon* y *Royal Rouge*) de la región de Ontario, Canadá, el orujo de uva en polvo mostró un contenido de lípidos de 7.3 % y 6.8 %, respectivamente.

El contenido total de lípidos en las semillas estuvo dentro del intervalo de 7.6 % a 16 % y desde 2.9 % a 4.3 % en los residuos de semilla prensada. La variabilidad en el contenido de lípidos depende nuevamente de la variedad de la uva y el proceso de extracción del aceite. La calidad del aceite extraído depende del perfil de sus lípidos y no solamente de su composición en ácidos grasos (Yi et al., 2009).

Yi et al. (2009) encontraron cantidades importantes de ácidos grasos libres (AGL) y diacilglicéridos (DAG) en el orujo de uva en polvo. La presencia de una lipasa en el fruto produce la hidrólisis de triacilglicéridos (TAG) a AGL, DAG y monoacilglicéridos (MAG). Las cantidades de las fracciones de TAG fueron comparables a las de AGL en el orujo de uva en polvo *Cabernet sauvignon*, mientras que las fracciones de TAG fueron cinco veces más que los AGL en el orujo de uva en polvo *Royal Rouge*.

El contenido de cada fracción parece depender en gran medida de la variedad de uva y el tipo de procesamiento del cual se obtiene el orujo. Por otra parte, el orujo de uva contiene principalmente ácidos grasos insaturados (AGI) (78.8 %), de los cuales el 58.1 % son poliinsaturados (AGP) para el *Royal Rouge* y 62.7 % para el *Cabernet Sauvignon*. Los ácidos grasos monoinsaturados (AGM) variaron entre 14.3 % (*Royal Rouge*) y 16.6 % (*Cabernet sauvignon*).

El análisis de AGP, n-6 y n-3 mostró un 60 % de ácido linoleico (C18:2, n-6) y un 2.3 % de ácido α -linoléico (C18:3, n-3). La proporción de n-6 a n-3 en el orujo de uva *Cabernet Sauvignon* fue de 36.9 %, mientras que para el orujo de *Royal Rouge* fue de 20.8. Considerando las sugerencias nutricionales en el consumo de n-6 y n-3 (<5:1) y la recomendación de aumentar el consumo de n-3 para la dieta norteamericana, la adición del aceite de orujo de uva como ingrediente alimentario debe considerar esta proporción de ácidos grasos, dado el alto contenido de n-6 en el orujo de uva.

orujo de uva *Pinot noir*, utilizando una extracción con agua caliente (90 °C, tamaño de partícula 354 y 250 nm y soluto-disolvente 1:10), fueron: ramnosa:arabínosa:xilosa:manosa:galactosa:glucosa:ácido galacturónico (proporción: 3:32:2:13:11:20:19 M, respectivamente) (Beres et al., 2016).

La piel de la uva está constituida por un complejo lignocelulítico que contiene grandes cantidades de hemicelulosa, la cual por hidrólisis produce una amplia variedad de monómeros de xilosa y glucosa principalmente (Devesa-Rey et al., 2011).

Las sustancias pécticas son los principales polímeros que constituyen la pared celular de la uva fresca (38-49 mol %) y del orujo de uva (37-54 mol %). La celulosa fue el segundo polímero en abundancia en la pared celular en el orujo de uva (27-37 mol %). Particularmente, los tallos contienen más celulosa (40-48 mol %) y en segundo lugar polisacáridos pécticos (27-37 mol %). Existen diferencias significativas comparando la composición de la pared celular de la uva roja y blanca, particularmente en pectina, siendo mayor el contenido de este carbohidrato en las variedades blancas.

El homogalacturonano (HG), constituido por una cadena principal de restos de ácido galacturónico α -1,4, es la fracción de pectina más grande, representando en promedio alrededor de 63 mol % de pectinas totales en uvas frescas, 68 mol % en tallos y hasta 74 mol % en el orujo de uva.

Considerando el contenido de celulosas y hemicelulosas como la fracción de fibra dietaria insoluble (FDI) y las pectinas como la fracción de fibra dietaria soluble (FDS) y que la proporción aceptable de FDI/FDS es de 1.0 a 2.3, se observó que tanto la uva fresca como el orujo de uva se encuentran dentro de este intervalo (1.0 a 1.7) y es mayor para los tallos (1.7 a 2.7) (González-Centeno et al., 2010).

No obstante, otros estudios han reportado proporciones mayores de fibra dietaria, por ejemplo, para uva blanca de 6.0 a 13.6 (Peréz-Jiménez & Sáyago-Ayerdi, 2009) y para uva roja de 4.0 a 22.1 (Sáyago-Ayerdi et al., 2009). De seis variedades de uva roja y cuatro de uva blanca en España, se determinó que los polímeros pécticos tienen menos del 50 % de su ácido urónico esterificado, por lo que se clasifican como fuentes de pectinas de bajo metoxilo.

Algunas propiedades funcionales determinadas en estos carbohidratos (residuos insolubles en alcohol, AIR, por sus siglas en inglés) fueron su capacidad de hinchamiento de 7.2 a 12 mL H₂O/g AIR para el orujo de uva y de 6.8 a 12.9 mL H₂O/g AIR tanto de uva blanca como roja. En la capacidad de retención de agua (CRA), entendido como la cantidad de agua que permanece enlazada a la fracción de fibra después de centrifugar, se observó una CRA de 6.4 a 10.7 g H₂O/g AIR para la uva fresca, de 3.8 a 9.0 g H₂O/g AIR para el orujo de uva y de 5.5 a 10.7 g H₂O/g AIR para tallos.

Finalmente para la capacidad de adsorción de grasa (CAG), entendido como la habilidad de la fracción de fibra para retener aceite después de centrifugar, se obtuvo un

Otros ácidos grasos identificados fueron el ácido oleico (C18:1, n-9) en 12.2 % y 14.0 % para *Royal Rouge* y *Cabernet sauvignon* respectivamente, además del ácido palmítico (C16:0) y esteárico (C18:0) como los dos principales ácidos grasos saturados (Lutterodt et al., 2011; Yi et al., 2009).

La semilla de la uva también es fuente de macro y micro elementos importantes en la nutrición. Las semillas de variedades rojas contiene altos niveles de macro elementos como potasio, sodio, calcio, magnesio y micro elementos como hierro, cobre y zinc lo que hace a este subproducto una fuente importante de nutrimentos (Lachman et al., 2013).

En Francia se ha reportado en orujos de uva un contenido de azúcares entre 20 y 46 % (p/p), siendo principalmente glucanos y xiloglucanos (Rondeau et al., 2013).

Además de la humedad, el componente principal para la uva fresca es la fracción de azúcares solubles, mientras que para los subproductos (orujo y tallos) la mayor fracción la conforman polisacáridos de la pared celular y lignina (González-Centeno et al., 2010) (**Cuadro 18.3**).

Cuadro 18.3. Principales fracciones de fibra en orujo de uva de diferentes variedades de uva.

	Compuestos solubles*	Hemicelulosa*	Celulosa*	Lignina*
<i>Cabernet Sauvignon</i> (Francia)	588 ± 7	41 ± 3	81 ± 2	131 ± 12
<i>Merlot</i> (Francia)	569 ± 7	65 ± 1	72 ± 3	132 ± 9
<i>Chardonnay</i> (Francia)	442 ± 7	55 ± 3	124 ± 2	144 ± 9
<i>Pinot noir</i> (Francia)	390 ± 7	43 ± 2	157 ± 1	188 ± 6
<i>Marselan</i> (Líbano)	406 ± 2	58 ± 4	147 ± 4	191 ± 5
<i>Syrah</i> (Líbano)	392 ± 2	51 ± 3	129 ± 4	180 ± 8
<i>Carbernet Sauvignon</i> (Líbano)	392 ± 10	55 ± 2	168 ± 18	207 ± 11
<i>Carbernet Franc</i> (Francia)	374 ± 5	38 ± 3	172 ± 2	204 ± 7
Orujo de uva ensilado (Francia)	182 ± 11	12 ± 2	282 ± 5	311 ± 13

*Resultados reportados como g/kg de sólidos totales (El Achkar et al., 2017).

En el orujo de uva en polvo más del 50 % consiste en fibra, lo cual sugiere un uso potencial como ingrediente alimentario, lo que significa que una porción de 10 g de orujo en polvo contribuye con el 20 % de la ingesta diaria recomendada para un adulto. Los principales monosacáridos identificados en extractos liofilizados obtenidos del

rango de 4.7 a 7.7 g aceite/g AIR para la uva fresca, de 3.8 a 5.1 g aceite/g AIR para el orujo y de 4.1 a 6.6 g aceite/g AIR en tallos (González-Centeno et al., 2010). Chamorro et al. (2012) demostraron que la adición de carbohidrasas al orujo de uva (celulasa, pectinasa, tanasa) o una mezcla de estas enzimas, incrementa el contenido de monosacáridos (ramnosa, arabinosa, xilosa, galactosa) y libera compuestos polifenólicos incrementando la capacidad antioxidante y el valor nutricional de este subproducto (Chamorro et al., 2012).

18.3. Fitoquímicos

El orujo de uva es el principal subproducto originado durante el proceso de vinificación. Es muy complejo en cuanto a su composición, a grandes rasgos contiene un 30 % de polisacáridos, 20 % de pectinas y 15 % de proantocianidinas, lignina, proteínas y compuestos polifenólicos (Dávila et al., 2017; Teixeira et al., 2014).

Esta última fracción es de gran importancia ya que el orujo presenta un elevado contenido de compuestos polifenólicos. Diversos estudios han probado que los antioxidantes provenientes del orujo tienen una gran actividad antioxidante, la cual puede ser aprovechada para diferentes industrias tales como la alimentaria, farmacéutica o cosmética (Tournour et al., 2015).

El orujo puede dividirse en tres fracciones: tallos, piel y semillas, cada una difiere en la composición de compuestos polifenólicos presentes (Dávila et al., 2017).

18.3.1. Tallos

Dentro de la composición del orujo, los tallos representan un 25 % del peso total y es la fracción a la cual se le ha dado menos importancia. Su uso como subproducto sólo se ha limitado a la industria agrícola como fertilizante o como alimento para rumiantes (Barros et al., 2014; Ruiz-Moreno et al., 2015)

En cuanto a compuestos polifenólicos presentes, se ha observado que las uvas rojas contienen más compuestos polifenólicos en comparación con las blancas (Xia et al., 2013).

Los principales compuestos polifenólicos que han sido detectados en los tallos son proantocianidinas (Barros et al., 2014).

Están compuestos por lignina, celulosa, hemicelulosa y taninos. Aunque el porcentaje de cada uno de estos componentes varía según la variedad de uva, el origen geográfico, el clima y el tiempo de cosecha (Dávila et al., 2017).

Estudios previos enfocados en determinar el perfil polifenólico en los tallos de uva han encontrado un promedio de 45 mg/g peso seco (PS) de proantocianidinas. Las más abundantes son los polímeros de catequina y epicatequina (Figura 18.2), con un grado de polimerización que va entre 5 a 11 monómeros, también se han encontrado epicatequin galato en forma de monómero y dímero.

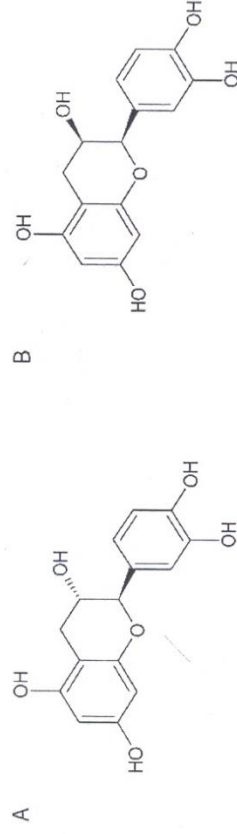


Figura 18.2. Principales monómeros de las proantocianidinas presentes en el orujo de uva. A) Catequina. B) Epicatequina.

La segunda fracción de compuestos polifenólicos más abundante en tallos son los flavonoides (1.5 mg/g PS). Los principales son quercetina y kaempferol (Figura 18.3). Sin embargo, es más común encontrarlos de forma glucosilada, siendo la quercetin 3-glucosido y la rutina los flavonoides mayoritarios (Anastasiadi et al., 2012).

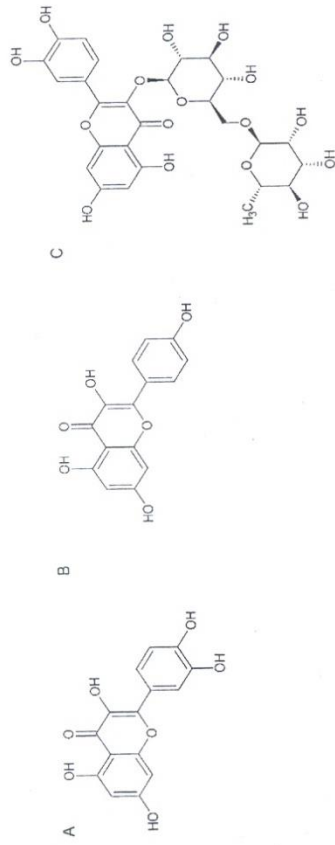


Figura 18.3. Flavonoides presentes en el orujo de uva. A) Quercetina. B) Kaempferol. C) Rutina (Anastasiadi et al., 2012).

Los siguientes compuestos en abundancia son los estilbenos. Especialmente se han detectado resveratrol y su dímero *ε*-viniferina (**Figura 18.4**), encontrándose el dímero en mayor contenido (hasta dos veces más).

Entre los ácidos fenólicos, se han encontrado derivados de los ácidos hidroxicinámicos principalmente gálico y siríngico y derivados de los ácidos hidroxibenzoicos caféico, *p*-cumárico y ferúlico. El único que ha sido encontrado en cantidades importantes es el gálico en concentraciones que van de 0.17-0.18 mg/g PS (Anastasiadi et al., 2012; Barros et al., 2014).

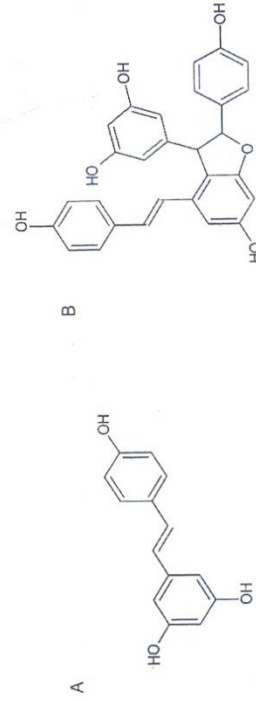


Figura 18.4. Estilbenos representativos en el orujo de uva. A) Trans-resveratrol. B) Dímero de resveratrol (ϵ -Viniferina) (Anastasiadi et al., 2012; Barros et al., 2014).

18.3.2. Piel

La piel representa casi la mitad del peso del orujo producido. La pared celular de la piel de las uvas está compuesta por celulosa, hemicelulosa y pectina. También, se sabe que en la piel se concentra gran parte de las antocianinas y proantocianidinas que son extraídas durante el proceso de maceración de los vino tintos (Dávila et al., 2017).

Este subproducto ha sido utilizado como alimento para animales. Sin embargo, para poder utilizarlo en otras aplicaciones es necesario determinar el perfil polifenólico en la piel de la uva (Mendes et al., 2013).

Como ya se mencionó anteriormente, el contenido de compuestos polifenólicos puede modificarse dependiendo de la variedad, la región y el clima. Sin embargo, el perfil polifenólico que presentan suele ser muy similar.

El grado de polimerización de las proantocianidinas de la piel (entre 2 y 8 monómeros) es menor que el encontrado en extractos de tallo y semilla (Pinelo et al., 2006). Por otro lado, es raro encontrar galatos en esta fracción. Al igual que en los tallos, la catequina y la epicatequina son los principales monómeros de proantocianidinas presentes en la piel.

Las antocianinas presentes en esta fracción son la delphinidina, cianidina, petunidina, peonidina y malvidina unidas a un glucósido (**Figura 18.5**). La malvidin 3-glucósido es la antocianina con mayor abundancia en piel, mientras que la delphinidina está en pequeñas cantidades (Caldas et al., 2018).

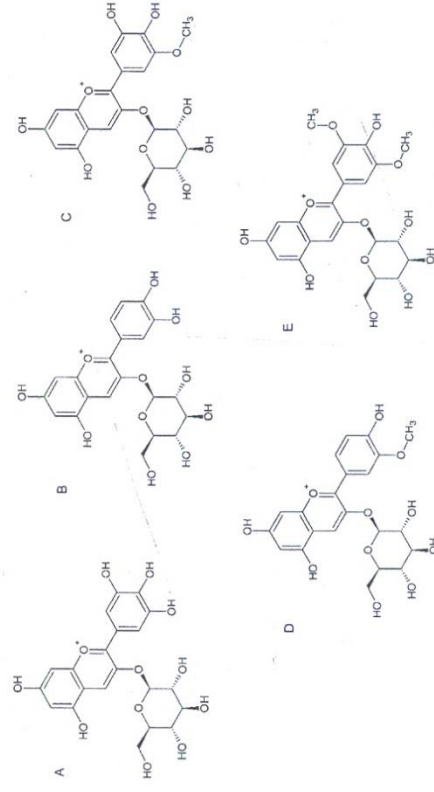


Figura 18.5. Antocianinas presentes en el orujo de uva. A) Delphinidina. B) Cianidina. C) Petunidina. D) Peonidina. E) Malvidina (Caldas et al., 2018).

En cuanto a los flavonoides, se ha descrito que se puede encontrar rutina, miricetina, kaempferol, isoramnetina, siendo el más abundante la quercetina en su forma glucosilada. Por otro lado, los estilbenos que se pueden encontrar en la piel de las uvas difiere a la de los tallos, ya que en esta fracción se encuentra el resveratrol en forma de monómero libre y glucosilado, también conocido como piceido, el cual no ha sido detectado en tallos.

Además, se ha encontrado que la piel puede contener piceanol en su forma glucosilada. Por último, se ha encontrado que la piel puede contener derivados de ácidos fenólicos como el p-coumárico, elálgico y vanílico (Figura 18.6).

Sin embargo, el contenido de estos es menor en comparación a las antocianinas y proantocianidinas (Caldas et al., 2018; Katalinić et al., 2010).

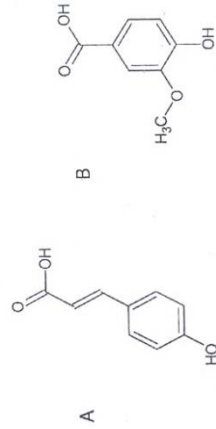


Figura 18.6. Ácidos fenólicos simples presentes en el orujo. A) Ácido p-cumárico. B) Ácido vanílico (Caldas et al., 2018; Katalinić et al., 2010).

18.3.3. Semillas

Las semillas son las integrantes más utilizadas del orujo por las diferentes industrias, especialmente para la producción de aceites. Representa 5 % del peso de la uva, y su contenido es fibra (40 %), proteína (11 %), lípidos (16 %) y compuestos polifenólicos (7 %) (Dávila et al., 2017; Nunes et al., 2016).

Los principales compuestos polifenólicos presentes en las semillas son proantocianidinas (alrededor de un 90%) (Nunes et al., 2016). Diversos estudios, en los que se han realizado caracterizaciones químicas de esta fracción, han mostrado que la catequina y la epicatequina son los principales monómeros que forman las proantocianidinas (Prodanov et al., 2013).

En cuanto al grado de polimerización que presentan las proantocianidinas de las semillas, se han identificado polímeros de 2 a 10 unidades (Di Lecce et al., 2014; Prodanov et al., 2013; Yilmaz & Toledo, 2004).

Otros compuestos polifenólicos que se han identificado en las semillas son el ácido gálico y el ácido protocatéico en cantidades que se consideran como niveles traza (Prodanov et al., 2013).

18.3.4. Métodos de extracción de compuestos polifenólicos

El orujo de uva contiene una gran variedad de compuestos polifenólicos, los cuales presentan diferentes características químicas y polaridades, por lo cual la selección del disolvente para extracción es muy importante. Por ello, se han desarrollado y optimizado métodos que permitan la mejor extracción y rendimiento de los mismos (Drosou et al., 2015).

La metodología para la extracción de compuestos polifenólicos se pueden dividir en 5 etapas: tratamiento macroscópico de la muestra, separación de moléculas, extracción, purificación y formación del producto.

La etapa crítica es la extracción y existen diversos trabajos que se han enfocado en este paso. La composición de los extractos está influenciada por el tipo de fracción de orujo (tallo, piel y semillas) y por el disolvente utilizado (Hogervorst et al., 2017).

El disolvente que más ha sido utilizado para la extracción de compuestos polifenólicos en el orujo de uva es el etanol, debido a que se genera de manera natural durante el proceso de fermentación en el vino, además es de uso seguro y amigable con el ambiente en comparación con otros disolventes como el metanol y acetona, Tournour et al. (2015) y Casazza et al. (2010) evaluaron al metanol y etanol como disolventes para extracción de compuestos polifenólicos de orujo, y obtuvieron que los extractos con metanol presentaban un mayor contenido de compuestos en comparación con el etanol.

La utilización del metanol, además, conlleva un mayor contenido de compuestos de tipo flavonoide. Por otro lado, Drosou et al. (2015) al comparar extractos realizados con agua, etanol 50 %, metanol 50 % y acetona 50 %, observaron que el extracto realizado con etanol 50 % presentó el mayor contenido de compuestos polifenólicos en comparación con los otros disolventes utilizados.

Pintać et al. (2018) realizaron un estudio para determinar el mejor disolvente de extracción de compuestos polifenólicos en orujo de *Cabernet Sauvignon* y *Merlot*. Para ello utilizaron como disolvente metanol al 80 %, etanol 80 %, acetona 100 %, acetato de etilo 100 % y una mezcla de metanol, agua destilada y ácido fórmico (1.5 %) en proporciones. Para ello utilizaron como disolvente metanol al 80 %, etanol 80 %, acetona 100 %, acetato de etilo 100 % y una mezcla de metanol, agua destilada y ácido fórmico en dos proporciones 50 y 80 %.

El extracto de *Cabernet sauvignon* con metanol y ácido fórmico en las proporciones 50 y 80 % de metanol, mostraron el mayor contenido de fenoles totales en comparación con los extractos obtenidos con los otros disolventes. Sin embargo, para *Merlot* el disolvente que mejor funcionó fue la acetona.

El perfil polifenólico obtenido, también mostró diferencias entre los compuestos encontrados en cada uno de los disolventes. El acetato de etilo mostró ser el disolvente con mayor afinidad para todos los compuestos polifenólicos. Mientras que para la extracción de antocianinas los disolventes con metanol fueron los más eficaces.

Además de analizar los disolventes para la extracción de los compuestos polifenólicos del orujo, se han estudiado diferentes procesos de extracción para determinar su efecto sobre el rendimiento final de los compuestos polifenólicos, entre ellos la extracción por ultrasonido y microondas (Casazza et al., 2010).

Las comparaciones realizadas utilizando como procesos de extracción ultrasonido, microondas, presión y temperaturas altas mostraron diferencias entre los rendimientos.

La metodología que obtenía mayor rendimiento de extracción de fenoles totales fue mediante la utilización de alta temperatura y presión con 35 mg/g PS, seguido de la extracción por microondas con 20 mg/g PS, mientras que el menor rendimiento se obtuvo utilizando la metodología de ultrasonido con 8 mg/g PS (Casazza et al., 2010).

Drosou et al. (2015), encontraron resultados similares al comparar los procesos de extracción por microondas y ultrasonido, ya que los mejores rendimientos se obtuvieron por microondas.

Al comparar la metodología convencional de extracción líquido-sólido con la extracción con microondas, se encontró que la mejor metodología para extraer compuestos en las semillas resultaba ser la extracción convencional líquido-sólido, mientras que para la extracción de los compuestos en la piel, la extracción por microondas era la mejor opción (Medouni-Adrar et al., 2015).

Estas investigaciones muestran que la extracción de los compuestos polifenólicos del orujo depende de varios factores, principalmente de la matriz de la que se desea realizar la extracción. Otro factor importante es el disolvente, ya que no existe un disolvente universal y se debe realizar un análisis del disolvente adecuado para cada muestra de manera específica. La eficiencia de la extracción depende mucho de la elección del disolvente, ya que la polaridad es importante si se desea extraer fracciones concretas de compuestos polifenólicos en el orujo.

En cuanto a los procesos de extracción, se observa que las que tienen un mejor rendimiento son las metodologías que utilizan alta presión, temperatura y la extracción por microondas.

Sin embargo, se debe contemplar que no todas las metodologías pueden ser aplicadas a nivel industrial. Esto debido a los altos costos que representa la tecnología empleada para la obtención de los compuestos polifenólicos del orujo a gran escala.

18.4. Evaluaciones biológicas del orujo

El orujo de uva es una fuente importante de compuestos polifenólicos, y dentro de los más importantes se encuentran las antocianinas, proantocianidinas, flavonoles y estilbenos. Este tipo de compuestos han sido sometidos a diversos estudios para evaluar tanto su actividad biológica como antioxidante, por su efecto cardio-protector, anticancerígeno, antimicrobiano, entre otras (Teixeira et al., 2014). El Cuadro 18.4., muestra algunos de los estudios publicados donde se evalúan los diferentes efectos biológicos que presenta el orujo y sus fracciones como semillas, tallos y piel.

Cuadro 18.4. Evaluaciones biológicas realizadas con el orujo de uva y sus fracciones.

Actividad	Subproducto	Método de extracción	Modelo de prueba	Resultados	Referencia
Antioxidante	Tallos	Metanol acidificado	Inhibición de ERO en células humanas de músculo liso	Inhibición de ERO con bajas concentraciones de extracto (IC ₇₅ 10.4-49.1 µg/g de extracto).	Anastasiadi et al. (2012)
	Orujo	Metanol	Daño en membrana de eritrocitos por radical AAPH	Prevención de la deformación de eritrocitos con concentración 0.1 µg/mL de extracto. Extracto modificó la fluidez de la membrana impidiendo paso de ERO al interior.	García-Becerra et al. (2016)
	Piel	Etolanol 80 %	In vitro: DPPH FRAP	Para DPPH extractos mostraron un IC ₅₀ de 58-239 mg EAG/L. Para FRAP extractos mostraron un IC ₅₀ de 52-655 mg EAG/L.	Katalinić et al. (2010)

Actividad	Subproducto	Método de extracción	Modelo de prueba	Resultados	Referencia
Antimicrobiano	Orujo	Agua/ Etanol/ Acetato de etilo/ hexano (ultra- sonido)	Inhibición de <i>S. aureus</i> , <i>B. cereus</i> , <i>P.</i> <i>aeruginosa</i> , <i>C. albicans</i> , <i>C.</i> <i>parapsilosis</i> , <i>C.</i> <i>krusei</i>	Extractos por ultra- sonido no mostraron inhibición. Extractos de fluido supercrítico mostraron halos de inhibición de 10 a 21 mm. Extractos por soxhlet inhibición de 14 mm. CMI de 500 a 2000 µg/mL	Oliveira et al. (2013)
		Etanol/ CO ₂ (flui- do super- crítico)	Inhibición de <i>S.</i> <i>aureus</i> , <i>B. ce-</i> <i>reus</i> , <i>E. coli</i> , <i>S.</i> <i>infantis</i> ,	Extractos mostraron inhibición del creci- miento de microorga- nismos. MIC de 0.0.09 a 0.44 mg EAG/L.	Katalinić et al. (2010)
		Etanol 80 %	Ratón	Prevencción de forma- ción de oligómeros de Aβ en cerebro de ratón después de 5 meses, dosis-depen- diente (200 mg/kg/d)	Wang et al. (2008)
Neuroprotector	Semi- llas	Agua			

Actividad	Subproducto	Método de extracción	Modelo de prueba	Resultados	Referencia
Cardioprotector	Orujo	Metanol 50 %	Ratas Wistar normotensas	Niveles de glucosa, colesterol total, LDL y HDL no fueron afec- tados por consumo de extracto. Niveles de VLDL y triacilglicérols dismi- nuyeron en compara- ción con control.	de Oliveira et al. (2017)
		Acetona 70 %	<i>In vitro</i> : Oxidación de LDL	Extracto mostró me- jor inhibición de la oxidación de la LDL en comparación a la catequina (100 ppm).	de Camargo et al. (2014)
		Metanol acidifica- do	<i>In vitro</i> : Oxidación de LDL	Inhibición en la oxi- dación de la LDL con bajas concen- traciones de extracto (IC ₅₀ 1.9-9.5 µg/g de extracto).	Anastasiadi et al. (2012)
Anticáncer	Orujo	Metanol 75 %	Células Caco-2	Extractos mostraron un efecto dosis-de- pendiente para la proliferación de célu- las cancerígenas. 100 µg/mL inhibió el 52 % de células a las 48 h.	Jara-Palacios et al. (2015)
		Etanol	Células Caco-2	Extracto a una con- centración de 10 mL/L inhibió el cre- cimiento celular en 82 % respecto al control. Efecto dosis-depen- diente.	Lazze et al. (2009)

Los compuestos polifenólicos presentes en el orujo de uva pueden actuar como antioxidantes exógenos al organismo, ayudando a neutralizar los radicales libres mediante diferentes mecanismos, tales como quelación de radicales libres o por reducción de los mismos donando un electrón (Teixeira et al., 2014).

Existen diversos trabajos que han evaluado el poder antioxidante de los extractos de orujo de uva. Para ello se han utilizado diferentes metodologías tales como el ABTS, DPPH, FRAP y AAPH. Al comparar la actividad antioxidante de los extractos de orujo de uva roja y blanca se ha observado que aquellos provenientes de las variedades rojas tienen una mayor capacidad antioxidante.

Esto debido a las diferencias que existen entre el contenido y perfil de compuestos polifenólicos en ambos tipos de orujo y donde las variedades rojas presentan mayores niveles de antocianinas. Se ha reportado para el orujo de uva roja hasta 450 µmol equivalente de Trolox por cada gramo de peso seco (mmol ET/g PS) mientras que para el orujo de uva blanca 250 µmol ET/g PS (Barros et al., 2014).

Algunos estudios muestran que los compuestos polifenólicos de extracto de orujo pueden disminuir daños en las membranas de eritrocitos. En este modelo de eritrocitos se puede observar el daño oxidativo mediante su hemólisis. Los eritrocitos son tratados con el radical AAPH y después se ponen en contacto con el extracto de orujo. Se observó que con una concentración de extracto de 11.62 µg/mL se inhibió la hemólisis de los eritrocitos (García-Becerra et al., 2016).

18.4.2. Actividad cardioprotectora

Otro efecto que se le ha atribuido a los compuestos polifenólicos tanto del vino como del orujo es el efecto cardioprotector. Algunos estudios muestran que dichos compuestos pueden inhibir la oxidación de proteínas de baja densidad (LDL) además de mejorar la función endotelial, la presión arterial y la agregación plaquetaria. Los niveles de LDL han sido aceptados como biomarcador para el riesgo de padecer y desarrollar enfermedades cardiovasculares, por lo que algunos estudios han evaluado cómo se modifican dichos niveles cuando se consume orujo de uva, para ello se han utilizado cultivos de arterias, así como modelos murinos (de Oliveira et al., 2017; Xia et al., 2013).

En un estudio realizado por de Oliveira et al. (2017), analizaron el efecto de la suplementación por 30 días de extracto de orujo en ratas y comparando con un grupo control al cual sólo se le dio agua. Al final del tratamiento se midieron los niveles de glucosa en plasma, colesterol total y LDL.

Actividad	Subproducto	Método de extracción	Modelo de prueba	Resultados	Referencia
Antiinflamatorio	Orujo	Etanol/ Agua (enzimático)	Células de riñón	Reducción de la inflamación por disminución del TNF α (62 % respecto al control.	Ferri et al., (2017)
	Orujo	Etanol 40 %	Ratas Holtzman	Reducción en la formación de edemas en un 19 % respecto al control en 18 d.	Gonçalves et al. (2017)
	Orujo	Etanol 80 %	Ratón	Inhibición del edema a las 2 h (1 g/kg) con respecto al control negativo. Reducción en los niveles de TNF α e IL1-β.	Denny et al. (2014)
Antidiabéticos	Orujo	Acetona 50 %	α-Glucosidasas de intestino de rata	Inhibición de las α-glucosidasas por el extracto entre 72-88 % con 0.5 mg/mL de extracto.	Kadouh et al. (2016)
	Orujo	Etanol. 80 %	α-Glucosidasas de intestino de ratón	Inhibición de la α-glucosidasa en un 63.9 % respecto al control a una concentración de extracto de 10 µg/mL	Hogan et al. (2010)

18.4.1. Actividad antioxidante

El estrés oxidativo se define como un desequilibrio redox, bien por el exceso de especies reactivas o radicales libres o bien por una deficiencia de los sistemas antioxidantes endógenos en el organismo. Este desbalance puede ocasionar daños importantes a biomoléculas como ADN, proteínas o lípidos. Además, el estrés oxidativo ha sido asociado con el aumento de la prevalencia de enfermedades crónicas no transmisibles (Benzie & Choi, 2014).

Los resultados encontrados mostraron que no existía diferencia significativa entre el control y el tratamiento en los niveles de glucosa, colesterol total y LDL. Sin embargo, mostraron una tendencia a disminuir los niveles de LDL. En otro estudio realizado por Camargo et al. (2014), observaron la inhibición en la oxidación de la LDL por acción de dos extractos de orujo.

Se observó que ambos extractos inhibieron la oxidación de la LDL. En especial de la fracción insoluble de los extractos la cual está compuesta principalmente por proantocianidinas a las cuales se les atribuye la habilidad de prevenir la oxidación de las LDL. Es importante recordar que la oxidación de la LDL es un factor de inicio de la placa ateromatosa, la cual incrementa el riesgo cardiovascular.

18.4.3. Actividad anticancerígena

Los compuestos polifenólicos provenientes de extracto de orujo han sido probados para inhibir el crecimiento de células cancerígenas. Jara-Palacios et al. (2015) probaron un extracto de orujo en células de colon (Caco-2). Para ello utilizaron 4 concentraciones de extracto 10, 25, 50 y 100 µg/mL, observando que la inhibición en el crecimiento de las células era dependiente de la concentración de extracto.

Todas las concentraciones mostraron tener un efecto inhibitorio a las 72 horas de exposición excepto la concentración de 10 µg/mL. La concentración de 100 µg/mL mostró la mayor inhibición a las 48 h con un 52 %. Dicha inhibición es atribuida a los compuestos polifenólicos los cuales se ha observado que pueden bloquear vías de crecimiento en las células.

Lazze et al. (2009) encontraron resultados similares, al probar el efecto de un extracto de orujo en células Caco-2, las concentraciones más altas del extracto (10 mL extracto/L disolución) mostraron los mejores efectos antiproliferativos en las células cancerígenas. Esto se lo atribuyen al alto contenido de compuestos como flavonoides y proantocianidinas los cuales pueden estar involucradas en el bloqueo de vías de señalización en las células cancerígenas.

En su investigación, los autores observaron que a concentraciones de 100 mL/L, no se observó ningún efecto citotóxico, demostrando la alta especificidad del extracto frente a células cancerígenas.

18.4.4. Actividad antimicrobiana

El crecimiento de bacterias patógenas en alimentos es uno de los principales problemas debido a potenciales contaminaciones. Se sabe que los compuestos polifenólicos son sintetizados en las plantas para combatir el ataque de bacterias patógenas (entre otras funciones), por lo que se ha intentado utilizar los compuestos polifenólicos de extractos de orujo contra bacterias patógenas (Hogervoort et al., 2017)

Oliveira et al. (2013) evaluaron el efecto de extractos de orujo de las variedades *Merlot* y *Syrah* sobre el crecimiento de 4 bacterias: *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*.

Para ello utilizaron el método de difusión en agar y determinaron la concentración mínima inhibitoria. Los resultados mostraron que los extractos de orujo son más efectivos contra bacterias de tipo Gram + como *S. aureus* y *B. cereus*. Las bacterias Gram - fueron más resistentes a los extractos, lo cual es atribuido a la doble membrana que presentan este tipo de bacterias y que las hace aún más resistentes.

Las concentraciones mínimas de inhibición de los extractos del orujo de *Merlot* y *Syrah* mostraron su efecto a concentraciones altas, de 650 a 750 µg/mL, lo cual indicaría que estos extractos tienen un efecto antimicrobiano moderado en contra de bacterias Gram + y -. Esto debido a que para poder afirmar que los extractos son buenos como antimicrobianos, se requiere un efecto a concentraciones por debajo de los 500 µg/mL (Oliveira et al., 2013).

En otro estudio se analizó el efecto antimicrobiano de 14 extractos provenientes de la piel de uva blanca y roja. Los resultados mostraron que ambos tipos de extracto podían inhibir el crecimiento de las bacterias a concentraciones de 0.014 y 0.59 mg EAG/mL.

Sin embargo, no se observó una diferencia significativa en la inhibición de bacterias Gram + como *S. aureus* y *B. cereus* y Gram - como *E. coli* y *S. infantis* (Katalinić et al., 2010).

18.4.5. Actividad neuroprotectora

Los compuestos polifenólicos del orujo de uva han mostrado tener efecto neuroprotector, los cuales han sido asociados con la prevención de enfermedades neurodegenerativas como el Alzheimer (Xia et al., 2013). En un estudio realizado por Wang et al. (2008) se evaluó el efecto de los compuestos polifenólicos de las semillas de uva en la inhibición del péptido A β , cuya acumulación y oligomerización está asociada con el riesgo de padecer Alzheimer.

Los resultados obtenidos mostraron que los compuestos polifenólicos de las semillas de la uva previenen la formación de oligómeros del péptido A β . En otro estudio realizado por Ksiezak-Reding et al. (2012) se evaluó el efecto del extracto de las semillas de uva en contra de la formación de filamentos de proteínas tau las cuales estas asociadas con el desarrollo de Alzheimer.

El tratamiento con 100 μ M de extracto de semillas de uva mostraron tener efectos como alterar e incluso destruir los filamentos a los 5 y 1 h de incubación. Estos resultados muestran que los compuestos polifenólicos de los subproductos de la uva pueden ser utilizados como apoyo en el tratamiento en enfermedades neurodegenerativas como el Alzheimer.

18.5. Usos actuales del subproducto

Para evaluar los usos actuales del orujo de uva, se realizó un análisis de las patentes publicadas mediante la base de datos Patbase (<https://www.patbase.com/login.asp>) que analiza las patentes publicadas a nivel mundial. Para facilitar el estudio, se realizaron tres búsquedas diferentes:

- Grape pomace (orujo de uva).
- Grape by products (subproductos de uva).
- Orujo, y los resultados se presentan en la **Figura 18.7**.

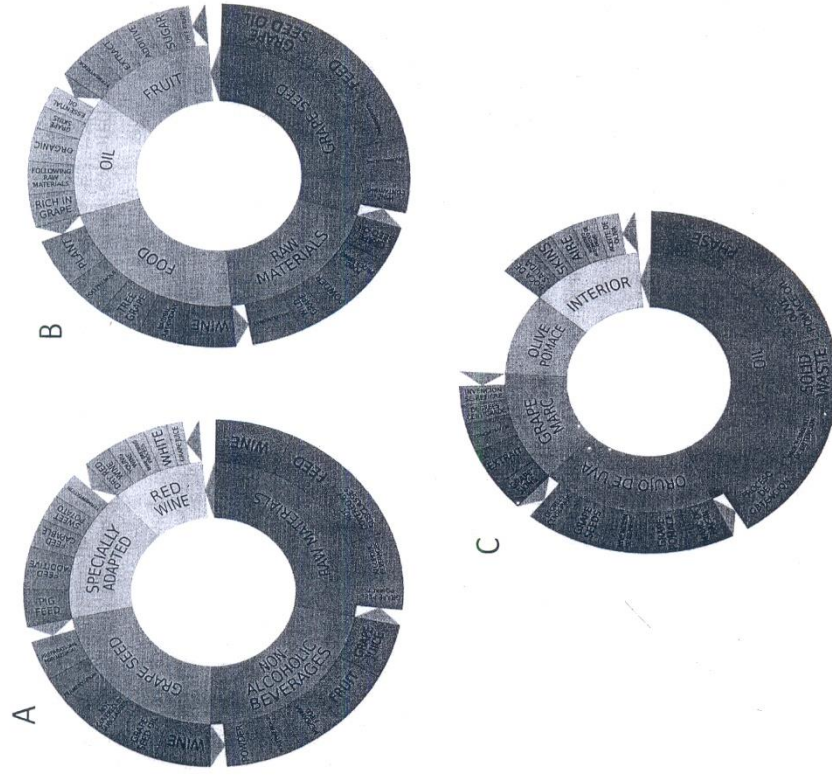


Figura 18.7. Agrupación de patentes vigentes en los últimos 20 años consultada en la base de datos "Patbase" (enero de 2018) para a) 282 patentes con "grape pomace", b) 81 patentes con "grape by products", c) 114 patentes con orujo (base de datos "Patbase": <https://www.patbase.com/login.asp>).

18.5.1. Orujo de uva

De un análisis de patentes en la base de datos Patbase consultada en enero del 2018 con las palabras claves "grape pomace", tanto en el título como en el resumen, dieron un total de 392 patentes, de las cuales 282 permanecen vigentes en los últimos 20 años. Estas patentes vigentes fueron agrupadas por familias de acuerdo a la **Figura 18.7A**. En esta figura, se aprecia con color más intenso la zona donde se encuentran agrupadas el mayor número de patentes, así podemos encontrar 25 patentes en la sección de "wine" del bloque "raw materials", mientras que en la sección "grape juice" del bloque "non-alcoholic beverages" tan sólo 4 patentes.

Ahora bien, si nos enfocamos en la sección de compuestos de orujo de piel de uva (grape peel pomace) del bloque "raw materials" se localizaron solamente 8 patentes vigentes a enero del 2018, y todas ellas de origen chino.

Entre las patentes más relevantes del orujo de uva se encontraron dos relacionadas a su uso como ingrediente de alimento para pollos (Yanfei, 2014; Gengxin, 2017); como ingrediente de pasteles cocidos al vapor (Shunqun, 2017); un método para la producción de licor destilado de arroz glutinoso y orujo de cáscara de uva (Cunzhi, 2016); como ingrediente de material de cultivo de pleurotus (Chaoyong, 2017); el desarrollo de una tecnología para la obtención de licor destilado de orujo (Guo et al., 2017).

18.5.2. Subproductos de uva

Del análisis de patentes consultada a través de la base de datos Patbase con las palabras claves "grave by-products" resultaron un total de 104 patentes, de las cuales 81 están vigentes a enero de 2018, siendo China y Corea del Sur los principales países inventores.

Estas patentes vigentes fueron agrupadas por familias de acuerdo con la **Figura 18.7B**. Se puede apreciar que para el bloque de "grape seed" es donde más patentes se pudieran localizar y específicamente con aplicaciones de aceite de semillas de uvas.

En el campo de los cosméticos, existe la invención (Jing et al., 2014) en la cual han desarrollado una crema de protección solar rica en aceite de semilla de uva y proclanidina. Otra invención (Jung & Hyung, 2014), proporciona un método para la producción de extracto de uva a partir de pieles de uva y semillas de uva que comprende: una etapa de selección, acopio de pieles y semillas de uva, la eliminación de sustancias extrañas mediante lavado; una etapa para obtener el extracto mediante molienda de las pieles de la uva y extracción de las semillas de uva usando un disolvente.

Con un tratamiento especial se logra estabilizar el extracto emulsionado de ambas partes de la uva (piel y semillas) con una excelente actividad antioxidante y palatabilidad por lo que es aplicable para diversos usos como aditivo cosmético y alimentario.

Otra patente interesante (Huihui et al., 2017), se refiere al desarrollo de un método para la extracción de aceite hidrolizado de semilla de uva mediante un método enzimático acuoso.

El método incluye los siguientes pasos como es el uso de una enzima para extraer el hidrolizado de aceite de semilla de uva a un valor de pH de 7, usando fosfato de calcio, maltodextrina, suero en polvo y sacarosa; se aplica la tecnología de microchorro de alta presión para tratar el hidrolizado mediante homogeneización a una presión de 160 MPa; y el polvo de proteína rica en calcio se obtiene después del secado por pulverización. En general, el método enzimático acuoso es utilizado para la extracción de la proteína rica en calcio y el hidrolizado del aceite de semilla de uva.

18.5.3. Orujo

Con la búsqueda de la palabra clave orujo, se obtuvieron 114 patentes registradas en los últimos 20 años, siendo España donde más patentes están protegidas con innovaciones relacionadas al orujo, seguida por Alemania y Estados Unidos, mientras que en México se tienen registradas 7 patentes. Sin embargo, la palabra orujo también describe al subproducto de la industria del aceite de oliva. Del análisis de las 114 patentes (**Figura 18.7C**), se puede discriminar las patentes asociadas a "orujo de uva" y "grape marc", encontrándose 17 y 12 patentes respectivamente.

De entre las patentes más significativas del bloque de "orujo de uva" se pueden mencionar la invención de un procedimiento que permite obtener un extracto tánico a partir del orujo de la uva que es soluble o dispersable en agua fría con bajo costo (Adzet Adzet, 2004); el desarrollo de combustible sólido a partir de residuos descartados por las fábricas de jugos de manzana, de pera, de uva, de aceite de oliva, etc. (Aramberri, 2012).

El desarrollo de una bebida funcional que comprende vino desalcoholizado, aroma de vino, extracto de lúpulo enriquecido en isoxantohumol y, opcionalmente extracto de orujo de uva y extracto de semillas de uva, y un procedimiento para la obtención de extracto de lúpulo, así como al uso de dicha bebida en la prevención o tratamiento del síndrome metabólico (Fornari Reale et al., 2013).

El desarrollo de un producto lácteo al aroma de vino enriquecido con polifenoles, elaborado a partir de leche, cuajo, fermentos lácticos y sal, caracterizado porque comprende, al menos: polifenoles procedentes de la extracción de orujo de uva (Rodríguez-Cuadarrama et al., 2012); formulación fungicida del tipo emulsificado o microencapsulado que comprende extractos de orujo de uva o pomasa y corresponde a un sistema de dos fases: una fase oleosa consiste de extracto concentrado de polifenoles de orujo de uva, y una fase acuosa (Cotoras-Tadic et al., 2016); composición sólida, seca y molida proveniente del orujo de uva, excedente de la fabricación de vinos; procedimiento para preparar la composición, que comprende presecado natural al aire libre, secado industrial, molienda y envasado; y uso de la composición en la fabricación de alimento animal (Frias-Cabrera, 2009); proceso de obtención de un extracto de compuestos fenólicos a partir de orujo de uva tinta *Vitis vinifera* a bajas temperaturas con aplicación como ingrediente en alimentos y bebidas aptas para consumo humano y animal (Eldar-Guzmán-Nieves, 2011).

En la patente (Villanueva et al., 2016) se tiene protegido un ingrediente funcional de orujos de uva y su procedimiento para su obtención. La invención se refiere a fibra procedente de orujos de uva que contiene compuestos polifenólicos naturales de la vid que le confieren capacidad antioxidante, a su transformación para aumentar la fracción soluble y a su utilización en alimentos.

El desarrollo de un nuevo proceso biológico de extracción para la obtención de un extracto con actividad farmacológica a partir de orujo de uva se encuentra protegido por la patente (Rubio Parrado & González Herrera, 2014).

Este proceso conduce a la obtención de un nuevo producto de origen natural totalmente soluble y con capacidad vasodilatadora, el cual tiene características como alimento funcional o nutracéutico para la prevención y/o tratamiento de ciertas patologías cardiovasculares.

Otra patente, (González-Moro, 2010), nos menciona un procedimiento de extracción de polifenoles a partir de orujo de uva procedente de destilación que se basa en la recolección de los orujos residuales del proceso de destilación realizado mediante arrastre con vapor y fuego directo.

Se realiza una extracción de los polifenoles de dicho orujo mediante la utilización de una mezcla hidroalcohólica (etanol/agua acidificada a pH 1, 50:50), a una temperatura de 40-55 grados y durante un tiempo de 3-4 horas.

Otra invención (Figueroa-Lizama, 2015) está relacionada con un método para obtener una composición antioxidante a partir del orujo de uva negra.

El procedimiento consiste en cultivar la uva negra en condiciones de alta radiación ultravioleta, extraer el orujo (pepas de uva y hollejo) y restos de jugo de uva tras haber comprimido los racimos en un mortero, secar el orujo en tambores industriales a 30-70

grados durante 5-25 horas, procesar y pulverizar el orujo seco (humedad máxima de 1-10 %) para encapsulación o elaboración de jarabe o jugo.

18.6. Problemáticas y tendencias futuras

El análisis de la información aportada en el presente capítulo nos indica que el orujo proveniente del proceso de vinificación es una fuente importante de fibra, compuestos fenólicos y ácidos grasos poliinsaturados, lo cual lo posiciona como un ingrediente ideal para la obtención de nutracéuticos e ingredientes para alimentos funcionales.

Sin embargo, al igual que con todos los productos y subproductos de origen natural, es necesario realizar una caracterización del orujo proveniente de las diferentes zonas de producción, debido a la variación tan grande existente en el contenido tanto de macronutrientes (proteínas, lípidos, fibra, humedad y carbohidratos), así como de fitoquímicos, debido no sólo a la variedad de uva utilizada y zona de cultivo, sino también al proceso de vinificación seguido por el productor, pueden afectar la composición del orujo. Un punto importante a considerar al utilizar el orujo o el aceite de semilla de uva es la relación w-6/w-3 (20-37) muy superior a la recomendada (< 5), lo cual puede limitar su uso.

Un análisis de las principales patentes publicadas sobre uso de orujo demuestra que sus aplicaciones actuales son principalmente para la extracción de aceite de semilla, extracción de compuestos fenólicos monoméricos y poliméricos, elaboración de alimentos/bebidas funcionales (principalmente cardioprotectores), elaboración de panes sustituidos con harina de orujo, alimentación de ganado y elaboración de licores.

Sin embargo, el número de estudios biológicos existentes son muy pequeños e insuficientes para poder clasificar al orujo como un ingrediente funcional, debido principalmente a que los estudios solamente se han desarrollado a nivel *in vitro* y con modelos animales, faltando desarrollar estudios clínicos que permitan aceptar los resultados obtenidos con los modelos más sencillos.

Agradecimiento: Al programa CYTED por financiamiento del la Red Iberoamericana de Aprovechamiento Integral de Alimentos Autóctonos Subutilizados, dentro del cual se enmarca este capítulo. Así mismo al CONACYT por otorgar la beca doctoral al M. en C. Oscar A. Muñoz-Bernal, así como al programa CYTED.

Bibliografía

- Adzet, J. M. (2004). 'Vegetable tannic extract for tanning of hides consists of pressed grape peel in an aqueous sulfonation agent solution, autoclaved and purified'. España: ES2197821A.
- Anastasiadi, M., Pratsinis, H., Klekas, D., Skaltsounis, A. L., & Haroutounian, S. A. (2012). Grape stem extracts: Polyphenolic content and assessment of their *in vitro* antioxidant properties. *IWT-Food Science & Technology*, 48(2), 316–322.
- Aramberri, J. A. (2012). 'Combustible Sólido en Panes y el Proceso de su Elaboración'. Argentina: AR081997A.
- Barros, A., Gironés-Vilaplana, A., Teixeira, A., Collado-González, J., Moreno, D. A., Gil-Izquierdo, A., & Domínguez-Perles, R. (2014). Evaluation of grape (*Vitis vinifera* L.) stems from Portuguese varieties as a resource of (poly)phenolic compounds: A comparative study. *Food Research International*, 65(PC), 375–384.
- Basalan, M., Gungor, T., Owens, F. N., & Yalcinkaya, I. (2011). Nutrient content and *in vitro* digestibility of Turkish grape pomaces. *Animal Feed Science & Technology*, 169(3–4), 194–198.
- Beres, C., Costa, G. N. S., Cabezudo, I., da Silva-James, N. K., Teles, A. S. C., Cruz, A. P. G., & Freitas, S. P. (2017). Towards integral utilization of grape pomace from winemaking process: A review. *Waste Management*, 68, 581–594.
- Beres, C., Simas-Tosin, F. F., Cabezudo, I., Freitas, S. P., Iacomini, M., Mellinger-Silva, C., & Cabral, L. M. C. (2016). Antioxidant dietary fibre recovery from Brazilian Pinot noir grape pomace. *Food Chemistry*, 201, 145–152.
- Benzie, I. F. F., & Choi, S. W. (2014). Antioxidants in food: Content, measurement, significance, action, cautions, caveats, and research needs. *Advances in Food & Nutrition Research*, 71, 1–53.
- Caldas, T. W., Mazza, K. E. L., Teles, A. S. C., Mattos, G. N., Brígida, A. I. S., Conte-Junior, C. A., & Tonon, R. V. (2018). Phenolic compounds recovery from grape skin using conventional and non-conventional extraction methods. *Industrial Crops & Products*, 111(May 2017), 86–91.
- Casazza, A. A., Aliakbarian, B., Mantegna, S., Cravotto, G., & Perego, P. (2010). Extraction of phenolics from *Vitis vinifera* wastes using non-conventional techniques. *Journal of Food Engineering*, 100(1), 50–55.
- Chamorro, S., Viveros, A., Alvarez, I., Vega, E., & Brenes, A. (2012). Changes in polyphenol and polysaccharide content of grape seed extract and grape pomace after enzymatic treatment. *Food Chemistry*, 133(2), 308–314.
- Chaoyong, C. (2017) 'Bagged pleurotus geesteranus culture material and preparation method thereof'. China: CN106831121A.
- Cotoras Tadic, M., Mendoza Espinola, L. S., Bustos Cerda, R. O., Grancelli Oliveira, A., Godoy Pedraza, D., & Molina, V. E. (2016) 'Emulsified or micro-encapsulated natural fungicidal formulation comprising extracts of grape marc or pomace, for controlling infestation by botrytis cinerea in plants, parts of said plants or the fruits thereof, and method for producing said formulation'. Chile: WO16106467A1.
- Cunzhi, Z. (2016) 'Method for producing distilled liquor from glutinous rice and grape peel pomace'. China: CN106635704A.
- Dávila, I., Robles, E., Egúés, I., Labidi, J., & Gullón, P. (2017). The Biorefinery Concept for the Industrial Valorization of Grape Processing By-Products. In Galanakis C. M. (Ed.), Handbook of Grape Processing By-Products: Sustainable Solutions (pp. 29–53). London, UK: Elsevier.
- 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.
- Camargo, A. C., Regitano d'Arce, M. A. B., Biasoto, A. C. T., & Shahidi, F. (2014). Low molecular weight phenolics of grapejuice and wine-making by-products: Antioxidant activities and inhibition of oxidation of human LDL-cholesterol and DNA strand breakage. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 62(50), 2159–71.
- Oliveira, W. P., Biasoto, A. C. T., Marques, V. F., Santos, I. M. dos, Magalhães, K., Correia, L. C., & Shahidi, F. (2017). Phenolics from Winemaking By-Products Better Decrease VLDL-Cholesterol and Triacylglycerol Levels than Those of Red Wine in Wistar Rats. *Journal of Food Science*, 82(10), 2432–2437.
- 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.
- Denny, C., Lazarini, J. G., Franchin, M., Melo, P. S., Pereira, G. E., Massarioli, A. P., & Rosalen, P. L. (2014). Bioprospection of Petit Verdot grape pomace as a source of anti-inflammatory compounds. *Journal of Functional Foods*, 8(1), 292–300.
- 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.
- Drosou, C., Kyriakopoulou, K., Bimpilas, A., Tsimogiannis, D., & Krokida, M. (2015). A comparative study on different extraction techniques to recover red grape pomace polyphenols from vinification byproducts. *Industrial Crops & Products*, 75, 141–149.

- El Achkar, J. H., Lendormi, T., Hobaika, Z., Salameh, D., Louka, N., Maroun, R. G., & Lanoisellé, J. L. (2017). Anaerobic digestion of nine varieties of grape pomace: Correlation between biochemical composition and methane production. *Biomass & Bioenergy*, 107(October), 335–344.
- Eldar Guzman Nieves, C. A. (2011). 'Process For Obtaining An Extract Of Phenolic Compounds From Marc Of The Red Grape *Vitis Vinifera* At Low Temperatures For Application In Foods And Beverages Destined For Human And Animal Consumption'. Mexico: MX2009012494A1.
- Ferri, M., Rondini, G., Calabretta, M. M., Michelini, E., Vallini, V., Fava, F., & Tassoni, A. (2017). White grape pomace extracts, obtained by a sequential enzymatic plus ethanol-based extraction, exert antioxidant, anti-tyrosinase and anti-inflammatory activities. *New Biotechnology*, 39, 51–58.
- Figuerola-Lizama, P. (2015). 'Procedimiento para la Obtencion de una Composicion Antioxidante de Orujo de Uva Negra; Usos de la Composicion'. Chile: CL2015001575A.
- Fornari-Reale, T., Reglero, G., Marin, F. R., Prodanov, M., Ruiz-Rodríguez, A., Ibáñez, E., Jaime, L., Soler-Rivas, C., García-Risco, M. R., Santoyo, S., González, M., Arranz, E., & Gil-Ramírez, A. (2013). 'Functional Heart-Healthy Drink Containing Wine And Extracts Of Hops'. España: ES2401361AA.
- Frías-Cabrera, D. H. (2009). 'Composicion Solida, Seca Proveniente Del Orujo De Uva Excedente De La Fabricacion De Vinos Que Se Presenta En Forma De Polvo; Proceso De Elaboracion Que Consiste En: Pre-Secado Natural Al Aire Libre Hasta 30-35 Percent De Humedad, Secado Industrial Hasta U'. Chile: CL2008000284A.
- García-Becerra, L., Mijangos, M., Rivas-Morales, C., Verde-Star, J., Oranday-Cárdenas, A., & Vinardell María, P. (2016). Antioxidant comparative effects of two grape pomace Mexican extracts from vineyards on erythrocytes. *Food Chemistry*, 194, 1081–1088.
- Gazzola, D., Vincenzi, S., Gastaldon, L., Tolin, S., Pasini, G., & Curioni, A. (2014). The proteins of the grape (*Vitis vinifera* L.) seed endosperm: Fractionation and identification of the major components. *Food Chemistry*, 155, 132–139.
- Gengxin, C. (2017). 'Selenium-rich chicken feed and preparation method thereof'. China: CN106819572A.
- Gonçalves, G. A., Soares, A. A., Correa, R. C. G., Barros, L., Haminiuk, C. W. I., Pereira, R. M., & Bracht, A. (2017). Merlot grape pomace hydroalcoholic extract improves the oxidative and inflammatory states of rats with adjuvant-induced arthritis. *Journal of Functional Foods*, 33, 408–418.
- González-Centeno, M. R., Rosselló, C., Simal, S., Garau, M. C., López, F., & Femenia, A. (2010). Physico-chemical properties of cell wall materials obtained from ten grape varieties and their byproducts: Grape pomaces and stems. *IWTFood Science & Technology*, 43(10), 1580–1586.
- González Moro, C. (2010). 'Procedimiento de Extracción de Polifenoles a partir de Orujo de Uva procedente de Destilación'. España: ES2319032B.
- Guchu, E., Ebeler, S. E., Lee, J., & Mitchell, A. E. (2015). Monitoring selected monomeric polyphenol composition in pre- and post-fermentation products of *Vitis vinifera* L. cv. Airén and cv. Grenache noir. *IWTFood Science & Technology*, 60(1), 552–562.
- Guo, C. et al. (2017). 'Grape Peel Pomace Distilled Liquor Brewing Technology'. CHINO: CN106867805A.
- Hogan, S., Zhang, L., Li, J., Sun, S., Canning, C., & Zhou, K. (2010). Antioxidant rich grape pomace extract suppresses postprandial hyperglycemia in diabetic mice by specifically inhibiting alpha-glucosidase. *Nutrition & Metabolism*, 7(71), 1–9.
- Hogervorst, J. C., Miljić, U., & Puškaš, V. (2017). Extraction of Bioactive Compounds from Grape Processing By-Products A2 - Galanakis, Charis M. BT - Handbook of Grape Processing By-Products. In Galanakis C. M. (Ed.), Handbook of Grape Processing By-Products: Sustainable Solutions (pp. 105–135). Academic Press.
- Huihui, C. et al. (2017). 'Application method for extracting grape seed oil hydrolysate through aqueous enzymatic method'. CHINO: CN107190041A.
- Jara-Palacios, M. J., Hernanz, D., Cifuentes-Gomez, T., Escudero-Gilete, M. L., Heredia, F. J., & Spencer, J. P. E. (2015). Assessment of white grape pomace from winemaking as source of bioactive compounds, and its antiproliferative activity. *Food Chemistry*, 183, 78–82.
- Jing, Z., Chunlong, Y., Yufei, F., Jian, Y., Mingting, L., & Tingyao, T. (2014). 'Sunscreen cream rich in grape seed oil and procyanidine'. China: CN103520023A.
- Jung, J. S. & Hyung, L. M. (2014). 'Method for manufacturing grape extract from grape skin and seed, and grape extract produced thereby'. Corea: KR101374617B.
- Kadouch, H. C., Sun, S., Zhu, W., & Zhou, K. (2016). α -Glucosidase inhibiting activity and bioactive compounds of six red wine grape pomace extracts. *Journal of Functional Foods*, 26, 577–584.
- 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.
- Ksiazek-Reding, H., Ho, L., Santa-Maria, I., Diaz-Ruiz, C., Wang, J., & Pasinetti, G. M. (2012). Ultrastructural alterations of Alzheimer's disease paired helical filaments by grape seed-derived polyphenols. *Neurobiology of Aging*, 33(7), 1427–1439.
- Lachman, J., Hejtmánková, A., Hejtmánková, K., Horníčková, Š., Pivec, V., Skala, O., & Příbyl, J. (2013). Towards complex utilisation of winemaking residues: Characterisation of grape seeds by total phenols, tocols and essential elements content as a by-product of winemaking. *Industrial Crops & Products*, 49, 445–453.

- Lazze, M. C., Pizzala, R., Gutiérrez Pecharromás, F. J., Gatón Garnica, P., Antolín Rodríguez, J. M., Fabris, N., & Bianchi, L. (2009). Grape Waste Extract Obtained by Supercritical Fluid Extraction Contains Bioactive Antioxidant Molecules and Induces Antiproliferative Effects in Human Colon Adenocarcinoma Cells. *Journal of Medicinal Food*, 12(3), 561–568.
- Lutterodt, H., Slavin, M., Whent, M., Turner, E., & Yu, L. (2011). Fatty acid composition, oxidative stability, antioxidant and antiproliferative properties of selected cold-pressed grape seed oils and flours. *Food Chemistry*, 128(2), 391–399.
- Medouni-Adrar, S., Boulekbache-Makhlouf, L., Caddot, Y., Medouni-Haroune, L., Dahmoune, F., Makhoukhe, A., & Madani, K. (2015). Optimization of the recovery of phenolic compounds from Algerian grape by-products. *Industrial Crops & Products*, 77, 123–132.
- Mendes, J. A. S., Prozil, S. O., Evtuguin, D. V., & Lopes, L. P. C. (2013). Towards comprehensive utilization of winemaking residues: Characterization of grape skins from red grape pomaces of variety Touriga Nacional. *Industrial Crops & Products*, 43(1), 25–32.
- Minesoft & RWS-Group (2018). Patbase. Retrieved: 22 January 2018. www.patbase.com
- Nunes, M. A., Pimentel, F., Costa, A. S. G., Alves, R. C., & Oliveira, M. B. P. P. (2016). Cardioprotective properties of grape seed proanthocyanidins: An update. *Trends in Food Science & Technology*, 57, 31–39.
- Oliveira, D. A., Salvador, A. A., Smânia, A., Smânia, E. F. A., Maraschin, M., & Ferreira, S. R. S. (2013). Antimicrobial activity and composition profile of grape (*Vitis vinifera*) pomace extracts obtained by supercritical fluids. *Journal of Biotechnology*, 164(3), 423–432.
- 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.
- Pintač, D., Majkić, T., Torovič, L., Orčić, D., Beara, I., Simin, N., & Lesjak, M. (2018). Solvent selection for efficient extraction of bioactive compounds from grape pomace. *Industrial Crops & Products*, 111(2018), 379–390.
- Peréz-Jiménez, J., & Sáyago-Ayerdi, S. G. (2009). Grape antioxidant dietary fibre A natural food additive and a dietary supplement. *Agro Food Industry Hi-Tech*, 20, 17–19.
- Prodanov, M., Vacas, V., Hernández, T., Estrella, I., Amador, B., & Winterhalter, P. (2013). Chemical characterisation of Malvar grape seeds (*Vitis vinifera* L.) by ultrafiltration and RP-HPLC-PAD-MS. *Journal of Food Composition & Analysis*, 31(2), 284–292.
- Radovanović, V., Đekić, S., & Radovanović, B. (2014). Winery Waste Management in Serbia: Vranac Grape Marc As Source of Antioxidants. *FBIM Transactions*, 2(2), 24–30.
- Rodríguez-Guadarrama, A., Cortijo, García, V., Villanueva, Sanchez, S., & Moro, González, L. C. (2012). 'Polyphenol-enriched dairy product having a wine aroma'. España: ES2372336AA.
- Rondeau, P., Gambier, F., Jolibert, F., & Brosse, N. (2013). Compositions and chemical variability of grape pomaces from French vineyard. *Industrial Crops & Products*, 43(1), 251–254.
- Rubio Parrado, J., & Gonzalez Herrera, M. D. (2014). 'Procedimiento de obtención de extractos enzimáticos con actividad farmacológica a partir de orujo de uva'. España: ES2489296B.
- Ruiz-Moreno, M. J., Raposo, R., Cayuela, J. M., Zafrilla, P., Piñeiro, Z., Moreno-Rojas, J. M., & Cantos-Villar, E. (2015). Valorization of grape stems. *Industrial Crops & Products*, 63, 152–157.
- Sáyago, S. G., Brenes, A., & Goñi, I. (2009). Effect of grape antioxidant dietary fiber on the lipid oxidation of raw and cooked chicken hamburgers. *LWT - Food Science & Technology*, 42(5), 971–976.
- Shunqun, W. (2017). 'Blueberry and grape compound-flavored steamed cakes as well as preparation method and application thereof'. China: CN106616297A.
- 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.
- Tournour, H. H., Segundo, M. A., Magalhães, L. M., Barreiros, L., Queiroz, J., & Cunha, L. M. (2015). Valorization of grape pomace: Extraction of bioactive phenolics with antioxidant properties. *Industrial Crops & Products*, 74, 397–406.
- Villanueva, S. et al. (2016). 'Ingrediente funcional de orujos de uva y procedimiento para su obtención'. España: ES2586743B.
- Wang, J., Ho, L., Zhao, W., Ono, K., Rosensweig, C., Chen, L., & Pasinetti, G. M. (2008). Grape-Derived Polyphenolics Prevent A Oligomerization and Attenuate Cognitive Deterioration in a Mouse Model of Alzheimer's Disease. *Journal of Neuroscience*, 28(25), 6388–6392.
- Xia, E., He, X., Li, H., Wu, S., Li, S., & Deng, G. (2013). Biological Activities of Polyphenols from Grapes. In Polyphenols in Human Health and Disease (Vol. 1, pp. 47–58). Elsevier Inc.
- Yanfei, K. (2014). 'Chicken feed improving egg yield of hens and manufacturing method for chicken feed'. China: CN104351486A.
- Yi, C., Shi, J., Kramer, J., Xue, S., Jiang, Y., Zhang, M., & Pohorly, J. (2009). Fatty acid composition and phenolic antioxidants of winemaking pomace powder. *Food Chemistry*, 114(2), 570–576.