

## Obtención de compuestos fenólicos a partir de residuos de uva isabella (*Vitis labrusca*)

## Phenolic compound recovery from isabella grape's waste (*Vitis labrusca*)

## Obtenção de compostos fenólicos a partir de resíduos de uva isabella (*Vitis labrusca*)

ANGELA VIVIANA RUALES-SALCEDO<sup>1</sup>, ANDRÉS FELIPE ROJAS-GONZÁLEZ<sup>2</sup>,  
CARLOS ARIEL CARDONA-ALZATE<sup>3</sup>

### RESUMEN

*Los residuos de la agroindustria presentan un gran potencial como fuente de compuestos de valor agregado. El presente estudio evalúa la caracterización química de residuos generados en el cultivo (sarmientos) y en la producción (i.e. semillas, hollejos y escobajos) de pulpa de uva Isabella. La caracterización se realiza cuantificando los compuestos fenólicos totales y la actividad antioxidante. Los resultados mostraron que los escobajos y las semillas presentan mayor concentración de compuestos fenólicos totales ( $22,08 \pm 0,20$  y  $10,62 \pm 0,17$  mg de equivalente de ácido gálico/g) y*

**Recibido para evaluación:** 8 de Julio de 2016.

**Aprobado para publicación:** 25 de Septiembre de 2017.

- 1 Universidad Nacional de Colombia, sede Manizales, Facultad de Ingeniería y Arquitectura, Departamento de Ingeniería Química, Grupo de Investigación en Aprovechamiento de Residuos. MSc. Manizales, Colombia.
- 2 Universidad Nacional de Colombia, sede Manizales. Facultad de Ingeniería y Arquitectura, Departamento de Ingeniería Química, Grupo de Investigación en Aprovechamiento de Residuos. PhD. Manizales, Colombia.
- 3 Universidad Nacional de Colombia, sede Manizales. Facultad de Ingeniería y Arquitectura, Departamento de Ingeniería Química, Grupo de Investigación en Procesos Químicos, Catalíticos y Biotecnológicos. PhD. Manizales, Colombia.

**Correspondencia:** avruales@unal.edu.co

mayor actividad antioxidante ( $0,29 \pm 0,01$  y  $0,63 \pm 0,01$ ), respectivamente. Como conclusión, los escobajos y las semillas tienen potencial como materia prima para la obtención de compuestos con actividad antioxidante que podrían ser empleados en la formulación de: cremas, alimentos funcionales y alimentos enriquecidos. Sin embargo, las bondades de los componentes con actividad antioxidante de las semillas son más conocidas y reconocidas que las de los escobajos. Por tanto, el reto para aprovechar el potencial de las semillas está enfocado en cómo realizar la extracción industrialmente. De otro lado, se necesitan más investigaciones para entender las bondades y aplicación de los compuestos fenólicos de los escobajos

## ABSTRACT

The food industry waste has a great potential as a source of high value-added components. In this research, it is evaluated the chemical characterization of waste produced in the cultivation (vine shoots) and production (i.e skins, stalks and seeds) of Isabella grape juice. The waste is characterized through the quantification of the total phenolic compounds and the antioxidant activity. The analysis showed that the stalks and the seeds have the highest concentration of total phenolic components ( $22,08 \pm 0,20$  y  $10,62 \pm 0,17$  mg gallic acid equivalent/g) and the highest antioxidant activity ( $0,29 \pm 0,01$  y  $0,63 \pm 0,01$ ), respectively. As a conclusion, the stalks and seeds have great potential as raw material for the recovery of antioxidant activity components, which could be used in: creams, functional foods and fortified foods formulation. However, the goodness of the components with antioxidant activity from seeds is better known and recognized than from the stalks. Therefore, the challenge to exploit the seeds potential is in how to extract it industrially. On the other hand, more research is required understand the goodness and application of phenolic components from the stalks.

## RESUMO

Os resíduos da agroindústria apresentam grande potencial como fonte de compostos de valor agregado. O presente estudo avalia a caracterização química de resíduos gerados na cultura (sarmentos) e na produção (i.e. casca, talos e sementes) de polpa de uva Isabella. A caracterização é realizada quantificando os compostos fenólicos totais e a atividade antioxidante. Os resultados mostraram que os talos e as sementes apresentam maior concentração de compostos fenólicos totais ( $22,08 \pm 0,20$  y  $10,62 \pm 0,17$  mg de equivalente de ácido gálico/g) e maior atividade antioxidante ( $0,29 \pm 0,01$  y  $0,63 \pm 0,01$ ), respectivamente. Como conclusão, os talos e as sementes têm potenciais como matéria-prima para a obtenção de compostos com atividade antioxidante que poderiam ser empregados na formulação de: cremes, alimentos funcionais e alimentos enriquecidos. Porém, as bondades dos componentes com atividade antioxidante das sementes são mais conhecidas e reconhecidas que as dos caules. Por tanto, o desafio para aproveitar o potencial das sementes é focado em como realizar a extração industrialmente. Por outro lado, são necessárias mais pesquisas para compreender as bondades e aplicação dos compostos fenólicos dos talos.

## PALABRAS CLAVES:

Actividad antioxidante, Caracterización de residuos, Escobajos, Semillas de uva.

## KEY WORDS:

Antioxidant activity, Waste characterization, Grape seeds, Grape stalks.

## PALAVRAS-CHAVE:

Atividade antioxidante, Caracterização de resíduos, Talos, Sementes de uva.

## INTRODUCCIÓN

Los compuestos fenólicos de plantas (fitofenoles) se definen como metabolitos secundarios sintetizados por las rutas metabólicas Shikimato/fenilpropanoide o acetato-malonato/policétida [1]. Los fitofenoles son ampliamente conocidos por los efectos benéficos que tienen en la salud, debido a que son antioxidantes potenciales, capaces de romper la cadena de propagación de los radicales libres, mediante la donación de un átomo de hidrógeno [2]. De esta manera, los fitofenoles pueden actuar como anticancerígenos, antidiabéticos, antibacterianos, protectores contra trastornos cardiovasculares y de daño hepático [3]. Por lo anterior, la industria farmacéutica y alimentaria tiene gran interés en este tipo de compuestos para el desarrollo de nutraceuticos de tipo suplemento dietético (ej. píldoras, cápsulas, comprimidos) y alimento funcional [3].

La industria alimentaria es considerada una fuente de extracción de compuestos fitoquímicos, los cuales pueden ser obtenidos de los residuos que se generan en el procesamiento de frutas y hortalizas. Este enfoque es beneficioso para los productores de la industria alimentaria, ya que genera una ventaja económica al emplear todo el tejido de las frutas y hortalizas [4]. En las plantas, los fitoquímicos se encuentran en diferentes proporciones, dependiendo de la variedad y de la parte (hojas, tallos, semillas y frutos) de la cual se extraen [5]. En el caso de los residuos, la composición de los fitoquímicos puede presentar modificaciones (perder la actividad antioxidante), dependiendo de los procesos físicos y químicos a los cuales se sometan las frutas u hortalizas. Por este motivo, es necesario realizar estudios cualitativos y cuantitativos, que permitan determinar la viabilidad de un residuo como materia prima de compuestos fitoquímicos.

En Colombia, la producción anual de uva es de 25600 toneladas aproximadamente [6], la cual es destinada a la producción de pulpas, zumos, mermeladas, bebidas alcohólicas y consumo en fresco. En la actualidad, los residuos generados en estos procesos de transformación son de poco valor económico debido a que no se realiza un aprovechamiento importante de ellos. Se sabe que la uva tiene compuestos bioactivos como los compuestos fenólicos que son de gran valor comercial [7]. Sin embargo, los estudios disponibles en la literatura sobre este tema, son principalmente de residuos de la producción de vino empleando variedades de

uva que no son cultivadas en el país [8-9]. Colombia no es un gran productor ni consumidor de vino, pero en su lugar la población colombiana tiene involucrado en su dieta el consumo de jugos naturales. Por tanto, la generación de residuos a partir de la producción de pulpa y jugos de fruta pueden representar una fuente importante de compuestos bioactivos.

La mayoría de estudios relacionados con compuestos bioactivos como los fenoles, se enfocan en la caracterización, cuantificación, extracción y estudios biomédicos *in vivo* o *in vitro* [3, 10]. Con la finalidad de iniciar estudios en los residuos de uva generados en Colombia, el presente documento tiene como objetivo evaluar la caracterización química de residuos generados en el cultivo y en la producción de pulpa de uva Isabella (*Vitis labrusca*), en términos de compuestos fenólicos totales y capacidad antioxidante. Los residuos de la producción de pulpa de uva son: escobajos, hollejos (cáscaras) y semillas, y los residuos del cultivo de uva son los sarmientos, los cuales se generan en las labores de poda del cultivo de uva después de la cosecha. La metodología que se desarrolla en este trabajo consta de cuatro etapas principales: adecuación de los residuos, extracción de los compuestos fenólicos, cuantificación de compuestos fenólicos totales y cuantificación de la actividad antioxidante. En la discusión de los resultados se comparan las características encontradas de cada uno de los residuos y se examina la viabilidad de emplear estos residuos como materia prima de extractos ricos en compuestos fenólicos.

## MÉTODO

### Obtención y adecuación de los residuos

Los residuos: escobajos (Es), hollejos (Ho) semillas (Sm) y sarmientos (Sr), se obtuvieron de una empresa productora de pulpa y de labores de poda de un cultivo de uva, localizados en el Valle del Cauca. Todos los residuos se recolectaron inmediatamente después de su producción y se almacenaron a -20°C hasta su análisis. Previo a la extracción de compuestos fenólicos, los Es, Ho y Sm almacenados se dejaron descongelar a temperatura ambiente y se maceraron en un mortero de porcelana. Los Sr se redujeron de tamaño con la ayuda de un bisturí hasta obtener tamaños de 1,0 cm de largo por 0,4 cm de ancho, aproximadamente. Posterior a la adecuación de tamaño, los Sr se maceraron igual que es resto de residuos.

## Extracción de compuestos fenólicos

En la extracción de los compuestos fenólicos, se pesaron 250 mg de cada residuo macerado en un tubo para centrífuga y se adicionó 1 mL de metanol al 80%. El tubo con la muestra se agitó en un vortex durante 1 minuto y se centrifugó a 10000 rpm durante 15 minutos, donde se obtuvo un sobrenadante y un precipitado. El sobrenadante se recuperó en un microtubo de centrífuga de 2 mL. Con el precipitado se realizó una segunda extracción adicionando 500  $\mu$ L de metanol al 99,8% y agitando en el vortex. Esta segunda extracción se centrifugó con las mismas condiciones previamente mencionadas. El sobrenadante obtenido se unió con el de la primera extracción y el precipitado se descartó. Al microtubo que contiene los sobrenadantes se adicionó metanol al 80% hasta completar 2 mL. El metanol se utilizó como solvente debido a que es más eficaz en la extracción de compuestos fenólicos en comparación con etanol y agua [11]. Todo el procedimiento se realizó por triplicado y en ausencia de luz.

## Compuestos fenólicos totales

Los compuestos fenólicos totales se determinaron siguiendo la metodología de Follin-Ciocalteu mencionada por Da Porto *et al.* (2013) [12], con algunas modificaciones. Para el desarrollo de esta metodología se construyó una curva de calibración con la lectura de las absorbancias a 765 nm de 50, 100, 200, 350 y 500 mg/L de ácido gálico. Se utilizó agua destilada como blanco, la cual corresponde a la coordenada 0,0 en la curva de calibración. Los extractos de cada uno de los residuos se diluyeron en agua destilada hasta alcanzar un factor de dilución de 5 y se tomaron 60  $\mu$ L para adicionarlos a 4,75 ml de agua destilada en un tubo de ensayo. Posteriormente, se adicionaron 300  $\mu$ L de reactivo Follin 1N al tubo de ensayo y se dejó reaccionar durante 8 min. Transcurrido este tiempo se agregaron 900  $\mu$ L de carbonato de sodio ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) al 20%, se dejó reaccionar durante 2h y se leyó la absorbancia a 765 nm. El resultado se remitió a la ecuación obtenida de la curva de calibración y se expresó como mg de equivalentes de ácido gálico (EAG) por g de muestra en base seca. El cálculo en base seca se realizó empleando el porcentaje de materia seca total presentado en Rojas *et al.* (2015) [13]. Todo este procedimiento se llevó a cabo por triplicado y en ausencia de luz.

## Capacidad antioxidante

La actividad antioxidante se evaluó siguiendo la metodología de radicales libres propuesta por Spatafora *et al.* (2013) [14]. En el desarrollo de este análisis se realizaron entre 5 y 7 diluciones del extracto metanólico, utilizando factores de dilución en un rango de 3 a 300, dependiendo de la muestra. De cada dilución se tomaron 150  $\mu$ L y se adicionaron a un tubo de ensayo que contenía 3 mL de 2,2-Difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) a una concentración de  $6 \times 10^{-5}$  mol/l. Inmediatamente se realizó la lectura de las absorbancias en un espectrofotómetro a 515 nm, en diferentes tiempos (0, 1, 15, 30 y 45 min), hasta que el valor de las absorbancias se estabilizó. El blanco se obtuvo con la misma metodología descrita utilizando agua destilada como muestra. Posteriormente, se identificó el tiempo en el cual todos los valores de las absorbancias fueron estables para calcular el porcentaje de inhibición por medio de (Ec.1) y se eligieron las diluciones que presentaron inhibición entre 20 y 80%. Con estos datos se construyó un gráfico de inhibición contra concentración para hallar la ecuación y calcular el  $\text{IC}_{50}$ , el cual representa la concentración de muestra necesaria para obtener una inhibición del 50% de los radicales libres (DPPH). Los resultados se presentaron en  $\mu$ g de muestra/mL de solución. Esta determinación se realizó por triplicado.

$$\%Inh = 1 - \frac{Abs_{Dnl}}{Abs_{Bl}} * 100 \quad (\text{Ec. 1})$$

Donde:

*Inh*: inhibición;

$Abs_{Dnl}$ : absorbancia de la dilución;

$Abs_{Bl}$ : absorbancia del blanco

## Análisis estadístico

El análisis estadístico de los compuestos fenólicos totales y la capacidad antioxidante se realizó en Excel. Todas las determinaciones se realizaron por triplicado y los resultados se expresaron como la media de tres determinaciones  $\pm$  desviación estándar.

## RESULTADOS

### Compuestos fenólicos totales de los residuos

Los compuestos fenólicos totales se determinan por el método espectrofotométrico de Follin-Ciocalteu. La curva de calibración se realiza con seis concentraciones diferentes de ácido gálico, por medio de las cuales se obtiene (Ecuación 2), con un coeficiente de correlación ( $R^2$ ) de 0,9958.

$$mg \text{ EAG} / l = \frac{Abs_{765nm}}{0,0023} \quad (\text{Ec. 2})$$

En el Cuadro 1 se presentan los compuestos fenólicos totales de los Sr, Es, Ho y Sm, al igual que datos reportados en la literatura. Aquí se observa que el contenido de fenoles totales de los residuos se encontró en un rango de 4,18 a 22,08 mg EAG/g, donde los Es (22,08 mg EAG/g) y Sm (10,62 mg EAG/g) presentaron la mayor concentración. Como se observa en el cuadro, los datos de la literatura se presentan en un rango de concentraciones para cada residuo. Este rango muestra la menor y la mayor concentración de EAG reportada en la literatura consultada, para un mismo tipo de residuo. Cetin *et al.* (2011) [15] al igual que Anastasiadi *et al.* (2012) [16] evaluaron diferentes variedades de sarmientos y escobajos, respectivamente, encontrando diferencias significativas en la concentración de fenólicos totales. De otro lado, Da Porto *et al.* (2013) [12] evaluaron diferentes métodos de extracción para la misma variedad de semilla observando diferencias significativas en la cantidad de fenólicos totales. Al comparar los resultados de los fenólicos totales del presente estudio con los datos de la literatura (Cuadro 1), se observa que los Es se encuentran por encima del rango reportado por Anastasiadi *et al.* (2012) [16]. Mientras que los resultados obtenidos para los Sr, Ho y Sm son inferiores a los publicados por Cetin *et al.* (2011) [15], Deng *et al.* (2011) [17], Santos *et al.* (2011) [18] y Da Porto *et al.* (2013) [12]. Esto posiblemente se debe a que en la metodología de extracción utilizada, la maceración no logra fracturar efectivamente materiales duros como los Sr y Sm, lo cual limita la superficie de contacto entre el material y el solvente, generando como consecuencia un rendimiento bajo de extracción. Otro factor que puede influir en la baja extracción

de los fenólicos totales es que los residuos no son presecados antes del proceso de extracción, y por lo regular tanto los compuestos fenólicos totales como la actividad antioxidante aumentan a mayor deshidratación de la muestra [9].

### Actividad antioxidante

La actividad antioxidante de los residuos se determinó por la metodología espectrofotométrica de los radiales libres. En el Cuadro 2 se muestran los resultados de los análisis, expresados en términos del  $IC_{50}$  y datos de la literatura. En el cuadro se observa que Es (0,29 mg/mL) y Sm (0,63 mg/mL) reportan la concentración más baja capaz de inhibir el 50% del DPPH, mientras que los Sr (10,91 mg/mL) muestran la mayor concentración. Este comportamiento está relacionado con el contenido de compuestos fenólicos (Cuadro 1) donde Es y Sm muestran los mayores valores y Sr los menores. La actividad antioxidante de Es muestra congruencia con estudios previos realizados por Spatafora *et al.* (2013) [14]. Mientras que los resultados de Ho y Sm se encuentran por encima del rango reportado en la literatura [18]. Esto quiere decir que se necesita mayor cantidad de Ho y Sm del presente estudio, para inhibir el 50% del DPPH.

### Perspectiva de los compuestos fenólicos de uva

Según los resultados anteriormente presentados, Sm y Es son los residuos con mayor concentración de compuestos fenólicos totales y actividad antioxidante. Los resultados previamente publicados por Rojas

**Cuadro 1.** Compuestos fenólicos totales de los residuos de uva.

Res.	Fenólicos Totales		
	Presente estudio	Literatura	
	mg EAG/g muestra b.s.	mg EAG/g muestra b.s.	Ref.
Sr	4,18 ± 0,11	25,36 - 36,56	[15]
Es	22,08 ± 0,20	6,10 - 14,34	[16]
Ho	6,69 ± 0,02	11,20 - 26,70	[17]
Sm	10,62 ± 0,17	91,53 - 122,35 89,47 - 104,19	[18] [18]

Res.: residuos. b.s.: base seca. EAG: Equivalentes de ácido gálico. Sr: Sarmientos, Es: Escobajos, Ho: Hollejos, Sm: Semillas.

*et al.* (2015) [13], muestran que en la producción de pulpa de uva se generan 2,6 y 1,1% (base seca) de residuos de Sm y Es, respectivamente. Teniendo en cuenta esta información, se espera que de 100 kg de uva procesada para la producción de pulpa, se obtenga aproximadamente 57,4 g EAG a partir de los residuos Sm y 11,7 g EAG de los residuos Es. Aunque la cantidad de compuestos fenólicos que se puede obtener a partir de los residuos es aparentemente baja, es de tener en cuenta que este tipo de compuestos se comercializan con base en la actividad o el beneficio que tienen en la salud. Las Sm de uva son ampliamente reconocidas por tener efectos benéficos en la salud, debido a que contiene altas concentraciones de compuesto fenólicos, vitamina E y ácido linoléico [19]. Estudios han demostrado que los extractos de uva tienen actividad contra el VIH por inhibición de la expresión y replicación del virus [20], anticancerígena [10] y como cardioprotector [21]. El estudio de los escobajos como fuente de compuestos de valor agregado es más reciente [22-24].

Como se muestra en el Cuadro 2, la actividad antioxidante de los Es puede ser comparable, o en algunos casos mejor, que la de Sm. Amico *et al.* (2009) [25] demostraron que extractos de Es contienen compuestos fenólicos y no fenólicos con actividad antiproliferativa en células de carcinoma mamario. Sin embargo, este tipo de estudios, donde se evalúa los beneficios que tienen los extractos de Es en la salud, son escasos [25]. Los Es se caracterizan por tener altas cantidades de compuestos fenólicos tipo taninos

**Cuadro 2.** Concentración de muestra para inhibir el 50 % de DPPH (IC<sub>50</sub>) de diferentes residuos de uva.

Res.	Actividad antioxidante		
	Presente estudio	Literatura	
	mg b.s./mL extracto	mg b.s./mL extracto	Ref.
Sr	10,91 ± 0,02		
Es	0,29 ± 0,01	0,03 - 0,30	[14]
Ho	1,33 ± 0,04	0,23 - 0,33	[18]
Sm	0,63 ± 0,01	0,02 - 0,07	[18]

Res.: residuos. b.s.: Base seca. Algunas unidades se modificaron de los artículos originales para facilitar la comparación con los resultados.

condensados (proantocianidinas) [26], y en menor cantidad flavonoles, derivados del ácido hidroxicinámico y antocianinas [23]. Los polifenoles condensados se pueden convertir en productos químicos de alto valor, debido a que son moléculas químicamente radioactivas capaces de reaccionar con agentes nucleofílicos, electrofílicos, proteínas o por medio de reacciones de autocondensación [27]. Bajo estas condiciones, es claro que el reto con los extractos de Sm está en el diseño de procesos de extracción que se caractericen por ser económicos, de alta productividad, y amigable con el medio ambiente, capaces de ser competitivos en el mercado. En el caso de los extractos de Es, es necesario tener más información sobre su efecto benéfico en la salud, así como en la metodología de extracción que se debe implementar, teniendo en cuenta su uso [28].

## CONCLUSIONES

Los escobajos y semillas obtenidos como residuos de la producción de pulpa de uva, tienen mayor potencial de ser empleados como materia prima de productos que requieran actividad antioxidante en su formulación (ej. cremas, alimentos funcionales y alimentos enriquecidos), en comparación con los hollejos y semillas. Sin embargo, el reto de los escobajos y las semillas para desarrollar su potencial e incrementar su valor económico es diferente. Las semillas ya son reconocidas por los efectos benéficos que tiene en la salud. Por tanto, el reto está orientado a diseñar un proceso que permita ser competitivo frente a la oferta del mercado. Mientras que el reto de los escobajos se dirige a averiguar los efectos benéficos que puede tener, ya sea en la salud o como un antioxidante de la industria alimentaria. Como consecuencia, el aprovechamiento del potencial bioactivo que tienen los escobajos en el área de la salud se alcanzaría a largo plazo, comparado con el desarrollo del potencial que presentan las semillas.

## AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional de Colombia por el apoyo económico al proyecto con código 18921 y al Instituto de Biotecnología y Agroindustria por el soporte experimental.



## REFERENCIAS

- [1] QUIDEAU, S., DEFFIEUX, D., DOUAT-CASASUS C. and POUYSÉGU, L. Plant polyphenols: chemical properties, biological activities, and synthesis. *Angewandte Chemie International Edition*, 50(3), 2011, p. 586-621.
- [2] BAYDAR, N.G. and BAYDAR, H. Phenolic compounds, antiradical activity and antioxidant capacity of oil-bearing rose (*Rosa damascena* Mill.) extracts. *Industrial Crops and Products*, 41, 2013, p. 375-380.
- [3] ROUTRAY, W. and ORSAT, V. Preparative extraction and separation of phenolic compounds. *Natural Products*. 1ed. Berlin (Alemania): Springer, 2013, p. 2013-2045.
- [4] SILVA, L.M., FIGUEIREDO, E.A., RICARDO, N.M., VIEIRA, I.G., FIGUEIREDO, R.W., BRASIL, I.M. and GOMES, C.L. Quantification of bioactive compounds in pulps and by-products of tropical fruits from Brazil. *Food Chemistry*, 143, 2014, p. 398-404.
- [5] AZMIR, J., ZAIDUL, I.S.M., RAHMAN, M.M., SHARIF, K.M., MOHAMED, A., SAHENA, F., JAHURUL, M.H.A., GHAFOR, K., NORULAINI, N.A.N. and OMAR, A.K.M. Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: a review. *Journal of Food Engineering*, 117, 2013, p. 426-436.
- [6] AGRONET. Producción nacional por producto [Online]. 2013. Disponible: [http://207.239.251.112/www/htm3b/ReportesAjax/parametros/reporte16\\_2011.aspx?cod=16](http://207.239.251.112/www/htm3b/ReportesAjax/parametros/reporte16_2011.aspx?cod=16). [Citado: 7 febrero de 2016].
- [7] DOSHI, P., ADSULE, P., BANERJEE, K. and OULKAR, D. Phenolic compounds, antioxidant activity and insulinotropic effect of extracts prepared from grape (*Vitis vinifera* L) by products. *Journal of Food Science and Technology*, 52(1), 2015, p. 181-190.
- [8] BRAHIM, M., GAMBIER, F. and BROSE, N. Optimization of polyphenols extraction from grape residues in water medium. *Industrial Crops and Products*, 52, 2014, p. 18-22.
- [9] LÓPEZ DE LERMA, N., PEINADO, J. and PEINADO, R.A. *In vitro* and *in vivo* antioxidant activity of musts and skin extracts from off-vine dried *Vitis vinifera* cv. "tempranillo" grapes. *Journal of Functional Foods*, 5, 2013 p. 914-922.
- [10] VAID, M., SINGH, T., PRASAD, R., KAPPES, J.C. and KATIYAR, S.K. Therapeutic intervention of proanthocyanidins on the migration capacity of melanoma cells is mediated through PGE2 receptors and  $\beta$ -catenin signaling molecules. *American Journal of Cancer Research*, 15(5), 2015, p. 3325-3338.
- [11] CERÓN, I., HIGUITA, J.C. y CARDONA, C.A. Capacidad antioxidante y contenido fenólico total de tres frutas cultivadas en la región andina. *Vector*, 5, 2010, p. 17- 26.
- [12] DA PORTO, C., PORRETTO, E. and DECORTI, D. Comparison of ultrasound-assisted extraction with conventional extraction methods of oil and polyphenols from grape (*Vitis vinifera* L.) seeds. *Ultrasonics Sonochemistry*, 20, 2013, p. 1076-1080.
- [13] ROJAS, A.F., RUALES, A.V. y VELASCO, V. Características energéticas de combustibles densificados de residuos de uva isabella (*Vitis labrusca* L.). *Mutis*, 5(2), 2015 p. 5-15.
- [14] SPATAFORA, C., BARBAGALLO, E., AMICO, V. and TRINGALI, C. Grape stems from Sicilian *Vitis vinifera* cultivars as a source of polyphenol-enriched fractions with enhanced antioxidant activity. *Food Science and Technology*, 54, 2013, p. 542-548.
- [15] CETIN, E.S., ALTINOZ, D., TARCAN, E. and BAYDAR, N.G. Chemical composition of grape canes. *Industrial Crops and Products*, 34, 2011, p. 994-998.
- [16] ANASTASIADI, M., PRATSINIS, H., KLETSAS, D., SKALTSOUNIS, A.L. and HAROUTOUNIAN, S.A. Grape stem extracts: polyphenolic content and assessment of their *in vitro* antioxidant properties. *Food Science and Technology*, 48, 2012, p. 316-322.
- [17] DENG, Q., PENNER, M.H. and ZHAO, Y. Chemical composition of dietary fiber and polyphenols of five different varieties of wine grape pomace skins. *Food Research International*, 44, 2011 p. 2712-2720.
- [18] SANTOS, L.P., MORAIS, D.R., SOUZA, N.E., COTTICA, S.M., BOROSKI, M. and VISENTAINER, J.V. Phenolic compounds and fatty acids in different parts of *Vitis labrusca* and *V. vinifera* grapes. *Food Research International*, 44, 2011, p. 1414-1418.
- [19] REDDY, G.V.B., SEN, A.R., NAIR, P.N., REDDY, K.S., REDDY, K.K. and KONDAIAH, N. Effects of grape seed extract on the oxidative and microbial stability of restructured mutton slices. *Meat Science*, 95, 2013, p. 288-294.
- [20] NAIR, M.P., KANDASWAMI, C. and MAHAJAN, S. Grape seed extract proanthocyanidins down regulate HIV-1 entry coreceptors, CCR2b,

- CCR3 and CCR5 gene expression by normal peripheral blood mononuclear cells. *Biology Research*, 35(3-4), 2002, p. 421-431.
- [21] AKABERI, M. and HOSSEINZADEH, H. Grapes (*Vitis vinifera*) as a potencial candidate for the therapy of the metabolic syndrome. *Phytotherapy Research*, 30(4), 2016, p. 540-556.
- [22] SPIGNO, G., MAGGI, L., AMENDOLA, D., DRAGONI, M. and DE FAVERI, D.M. Influence of cultivar on the lignocellulosic fractionation of grape stalks. *Industrial Crops and Products*, 46, 2013, p. 283-289.
- [23] BARROS, A., GIRONÉS-VILAPLANA, A., TEIXEIRA, A., COLLADO-GONZÁLEZ, J., MORENO D.A., GIL-IZQUIERDO, A., ROSA, E. and DOMÍNGUEZ-PERLES, R. Evaluation of grape (*Vitis vinifera* L.) stems from Portuguese varieties as a resource of (poly) phenolic compounds: A comparative study. *Food Research International*, 65, 2014, p. 375-384.
- [24] RUALES-SALCEDO, A.V. Evaluación del potencial energético y bioactivo de los residuos generados por la producción y transformación de la uva [Tesis de Maestría en Ingeniería]. Manizales (Colombia): Universidad Nacional de Colombia, 2015, 117 p.
- [25] AMICO, V., BARRESI, V., CHILLEMI, R., CONDORELLI, D.F., SCIUTO, S., SPATAFORA, C. and TRINGALI, C. Bioassay-guided isolation of anti-proliferative compounds from grape (*Vitis vinifera*) stems. *Natural Product Communications*, 4(1), 2009, p. 27-34.
- [26] SOUQUET, J.M., LABARBE, B., LE GUERNEVE, C., CHEYNIER, V. and MOUTOUNET, M. Phenolic composition of grape stems. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(4), 2000, p. 1076-1080.
- [27] PIZZI, A. Recent developments in eco-efficient bio-based adhesives for wood bonding: opportunities and issues. *Journal of Adhesion Science and Technology*, 20(8), 2006, p. 829-846.
- [28] DOMÍNGUEZ-PERLES R., TEIXEIRA A.I., ROSA, E. and BARROS A.I. Assessment of (poly)phenols in grape (*Vitis vinifera* L.) stems by using food/pharma industry compatible solvents and response surface methodology. *Food Chemistry*, 164, 2014, p. 339-346.