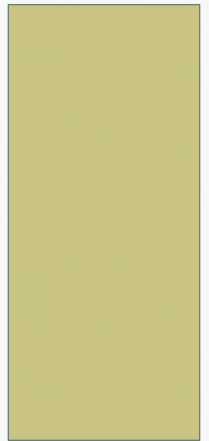


# APROVECHAMIENTO DE RESIDUOS VITIVINÍCOLAS CON FINES BIOTECNOLÓGICOS

ANDREA ANTONIOLLI , ARIEL FONTANA,  
PATRICIA PICCOLI, RUBÉN BOTTINI

Instituto de Biología Agrícola de Mendoza,  
Facultad de Ciencias Agrarias, CONICET-Universidad  
Nacional de Cuyo, Chacras de Coria, Argentina





Orujo



Restos de poda



Escobajo



# Orujo







# Orujo Malbec

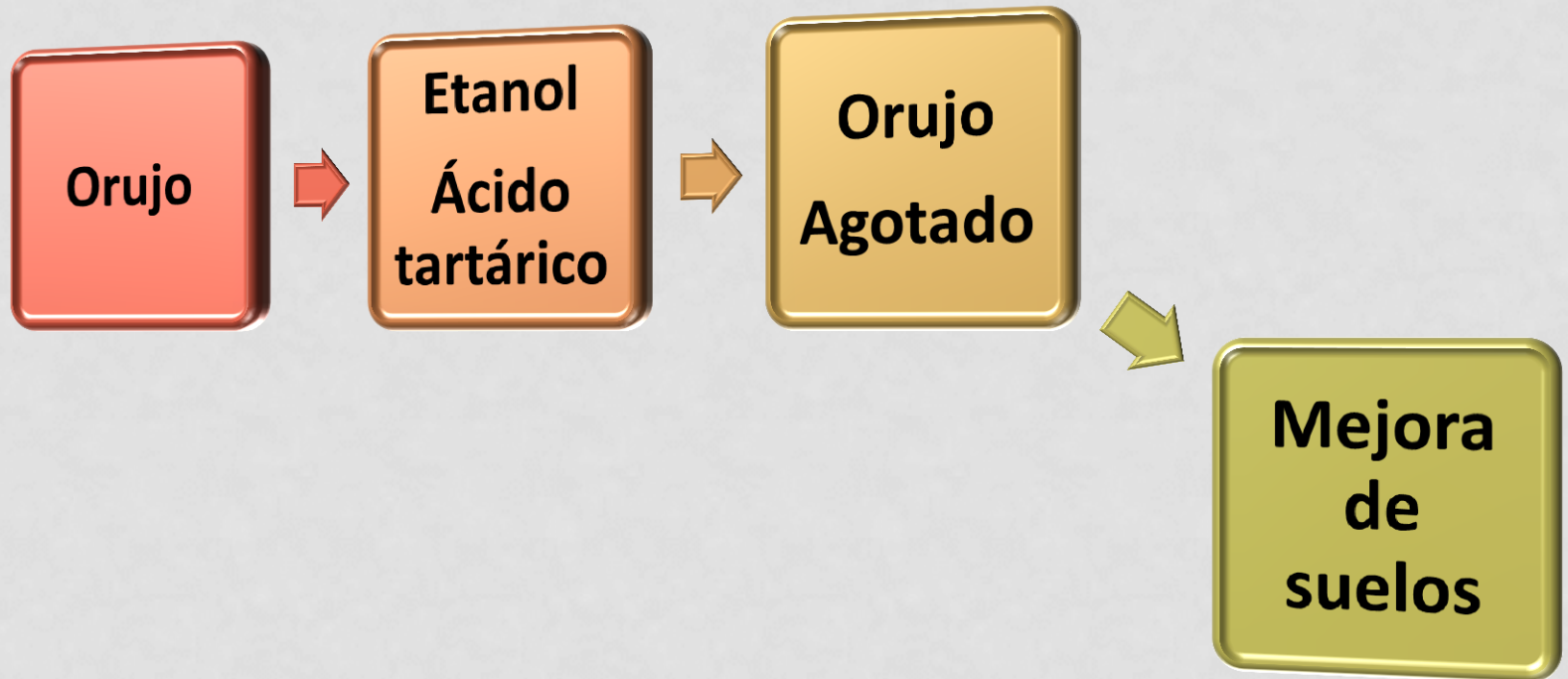


METABOLITOS  
PRIMARIOS

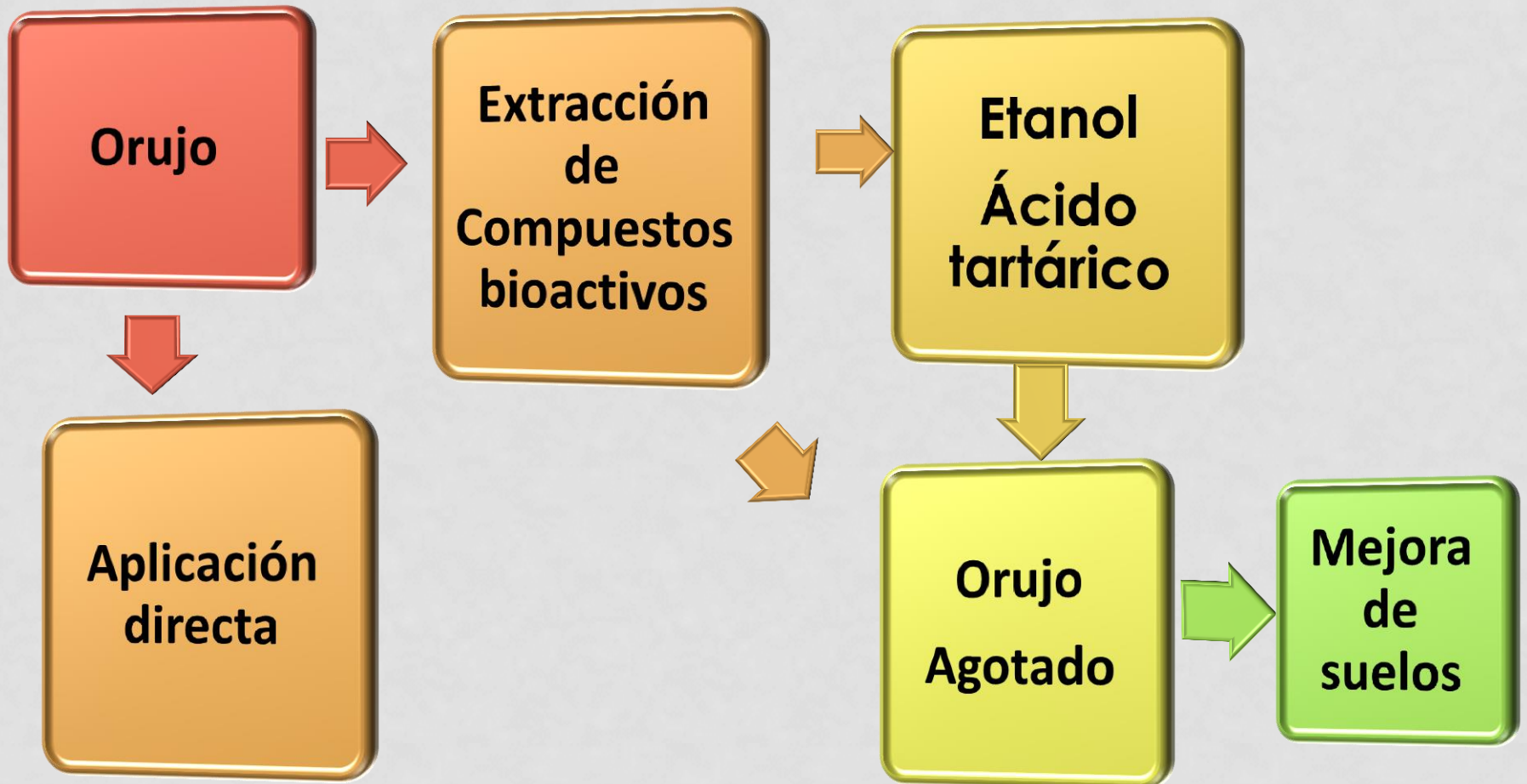
COMPUESTOS  
ORIGINADOS  
VINIFICACIÓN

METABOLITOS  
SECUNDARIOS

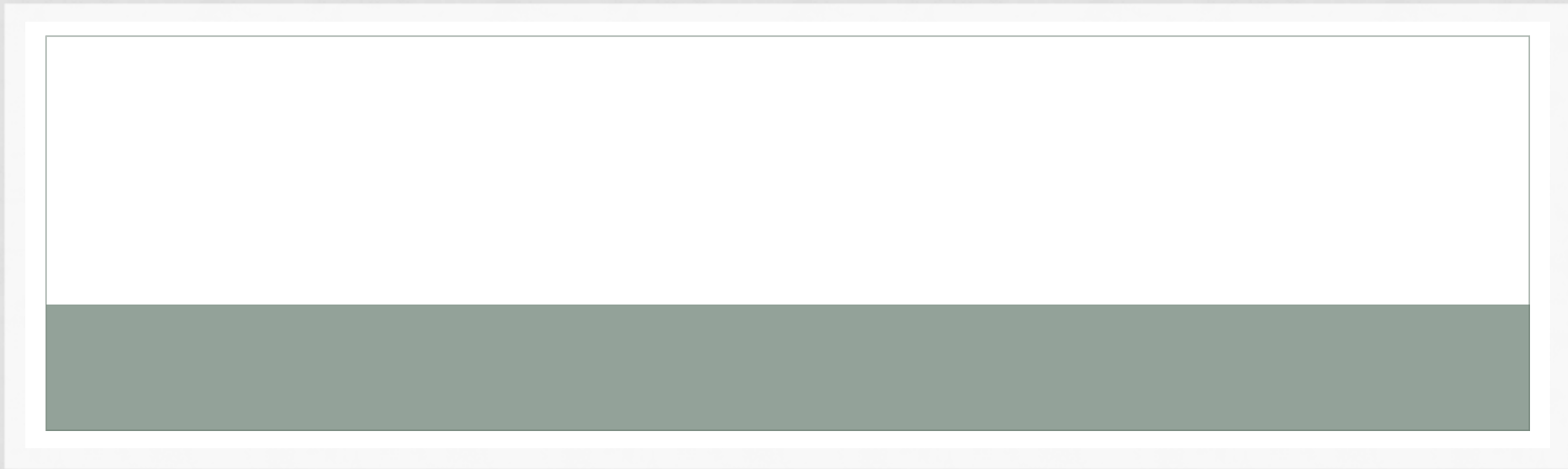
# ACTUAL APROVECHAMIENTO DE ORUJOS



# APROVECHAMIENTO DE COMPUESTOS BIOACTIVOS



**METABOLITOS SECUNDARIOS EN ORUJOS DE  
UVAS TINTAS (*VITIS VINIFERA* L.) CV. MALBEC Y  
SUS APLICACIONES BIOTECNOLÓGICAS**





## OBJETIVO GENERAL

Extraer compuestos del metabolismo secundario presentes en el orujo de uva de cv. Malbec, caracterizarlos y evaluar su potencial aplicación en biotecnología.



# METABOLITOS



## PRIMARIOS:

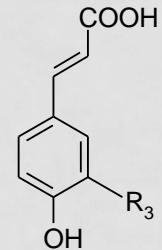
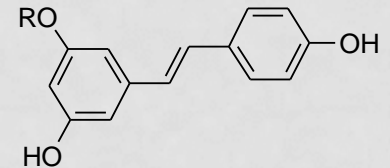
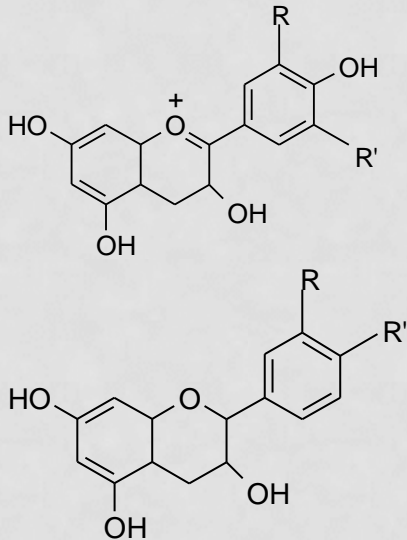
- Azúcares
- Aminoácidos
- Polímeros estructurales
- Lípidos



## SECUNDARIOS:

- Compuestos fenólicos
- Terpenos
- VOCs

# Compuestos bioactivos



# Compuestos fenólicos

- Son constituyentes comunes de alimentos de origen vegetal
- Comprenden una amplia variedad de moléculas que tienen una estructura de polifenol (varios grupos hidroxilo en los anillos aromáticos) o un anillo de fenol

## Creciente interés en los compuestos fenólicos

En los últimos años investigadores y productores de alimentos han vuelto cada vez más interesados en polifenoles.

### Razones:

reconocimiento  
de las  
propiedades  
antioxidantes

abundancia en  
nuestra dieta

su papel en la  
prevención de  
diversas  
enfermedades  
asociadas con  
el estrés  
oxidativo



## COMPUESTOS BIOACTIVOS



FIBRA  
ALIMENTARIA



TERPENOS  
fitosteroles



OTROS  
METABOLITOS:  
aminoácidos  
lípidos





OBTENCIÓN DE EXTRACTO DE ORUJO LIOFILIZADO  
Y ORUJO LIOFILIZADO.

# OBTENCIÓN DE EXTRACTO DE ORUJO

Orujo fresco



Extracción  
sólido-líquido



Centrifugado



Concentrado en  
rotavapor



Liofilización



Extracto  
liofilizado



Análisis

Pruebas biológicas

# OBTENCIÓN DE ORUJO LIOFILIZADO

Orujo fresco



Liofilizar



Molienda



Orujo  
liofilizado



Análisis

Pruebas

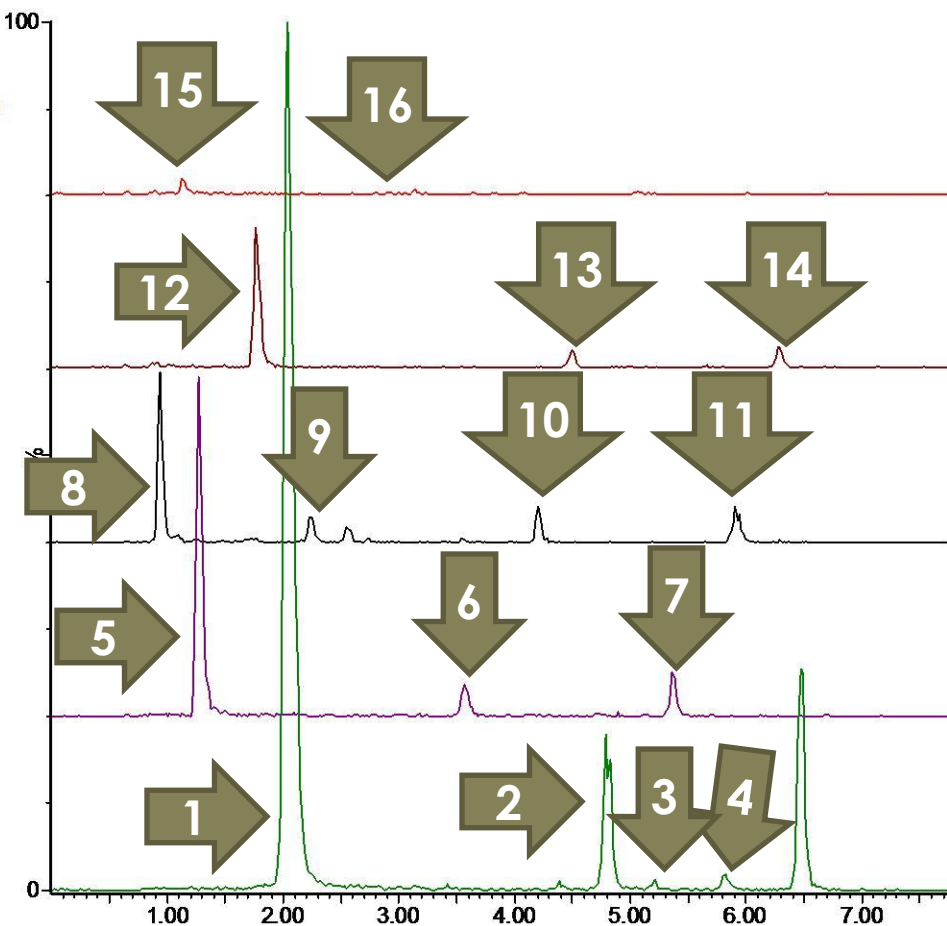
**Rendimientos de extracción y TPC en extracto de orujo,  
y TPC en orujo cv. Malbec**

	Extracto de orujo	Orujo
<b>Rendimiento total (g GPE 100 g<sup>-1</sup> GP PS)</b>	16,1 ± 3,1	--
<b>TPC GAE FC (mg GAE g<sup>-1</sup> GPE ó GP)</b>	196,2 ± 22,7	41,6 ± 2,1
<b>TPC GAE 280 (mg GAE g<sup>-1</sup> GPE ó GP )</b>	165,7 ± 30,2	34,1 ± 3,1
<b>Rendimiento en polifenoles (mg GAE g<sup>-1</sup> GP PS)</b>	31,6 ± 7,0	--

ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICO DEL PERFIL  
DE METABOLITOS DE ORUJO Y SU  
EXTRACTO



# Perfil de antocianos UPLC-MS

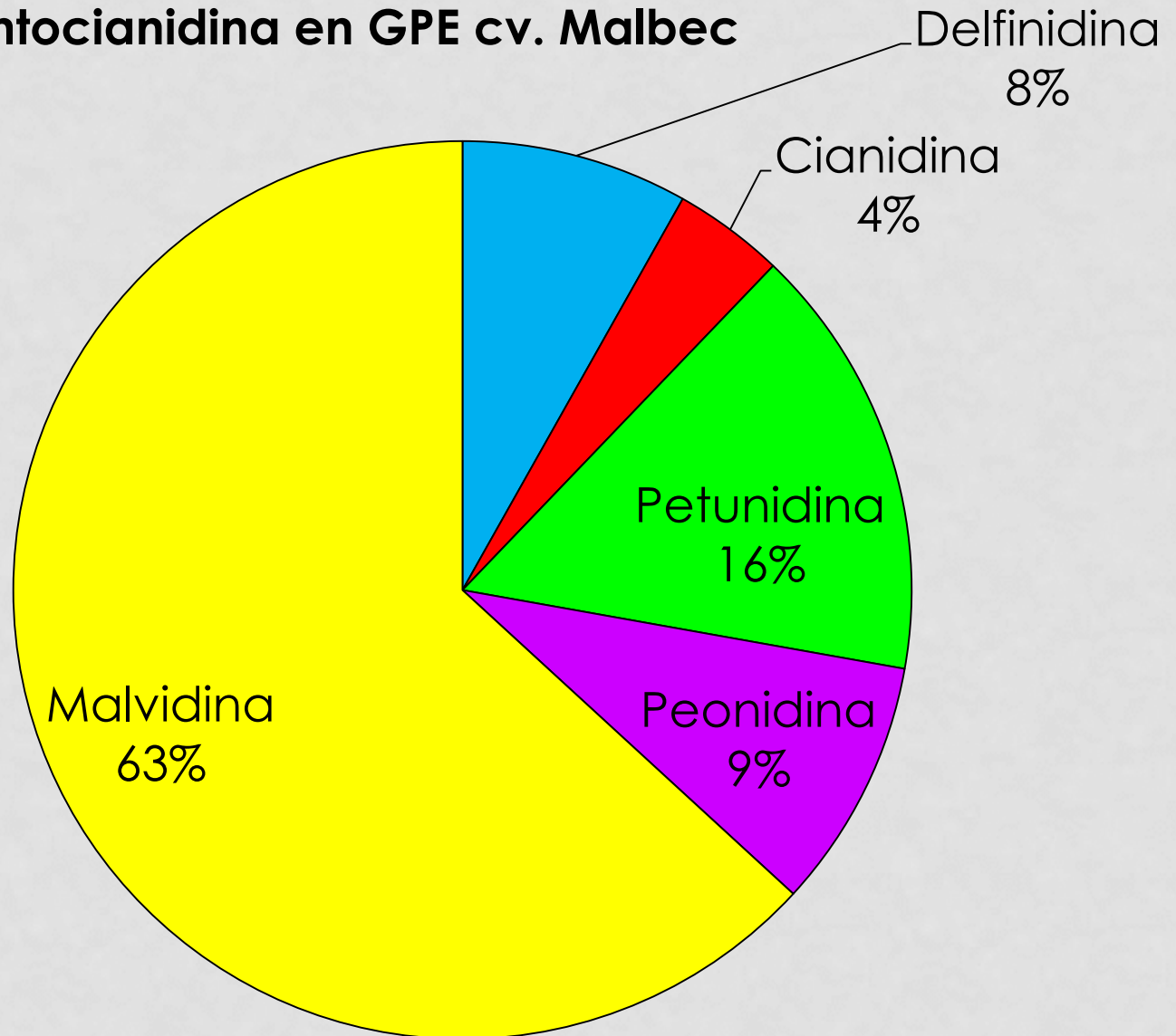


Ref.	Rt	[M <sup>+</sup> ]	Antocianina identificada
1	2.039	493	Malvidina-3-glucósido
2	4.786	535	Malvidina-3-(6''-acetil)glucósido
3	5.206	655	Malvidina diglucosido
4	5.818	639	Malvidina 3-(6''-p-cumarilglucosido)
5	1.286	479	Petunidina-3glucósido
6	3.561	521	Petunidina 3-(6''-acetilglucósido)
7	5.363	625	Petunidina 3-(6''-p-cumarilglucósido)
8	0.936	465	Delfinidina 3 glucósido
9	2.249	507	Delfinidina 3-(6''-acetylglucósido)
10	4.208	611	Delfinidina cumaril glucósido
11	5.905	659	Delfinidina galloyl acetil glucósido
12	1.776	463	Peonidina-3-glucósido
13	4.488	505	Peonidina 3-(6''-acetilglucósido)
14	6.290	609	Peonidina 3-(6''-p-cumarilglucósido)
15	1.146	449	Cianidina 3-glucósido
16	3.141	517	Vitisin B

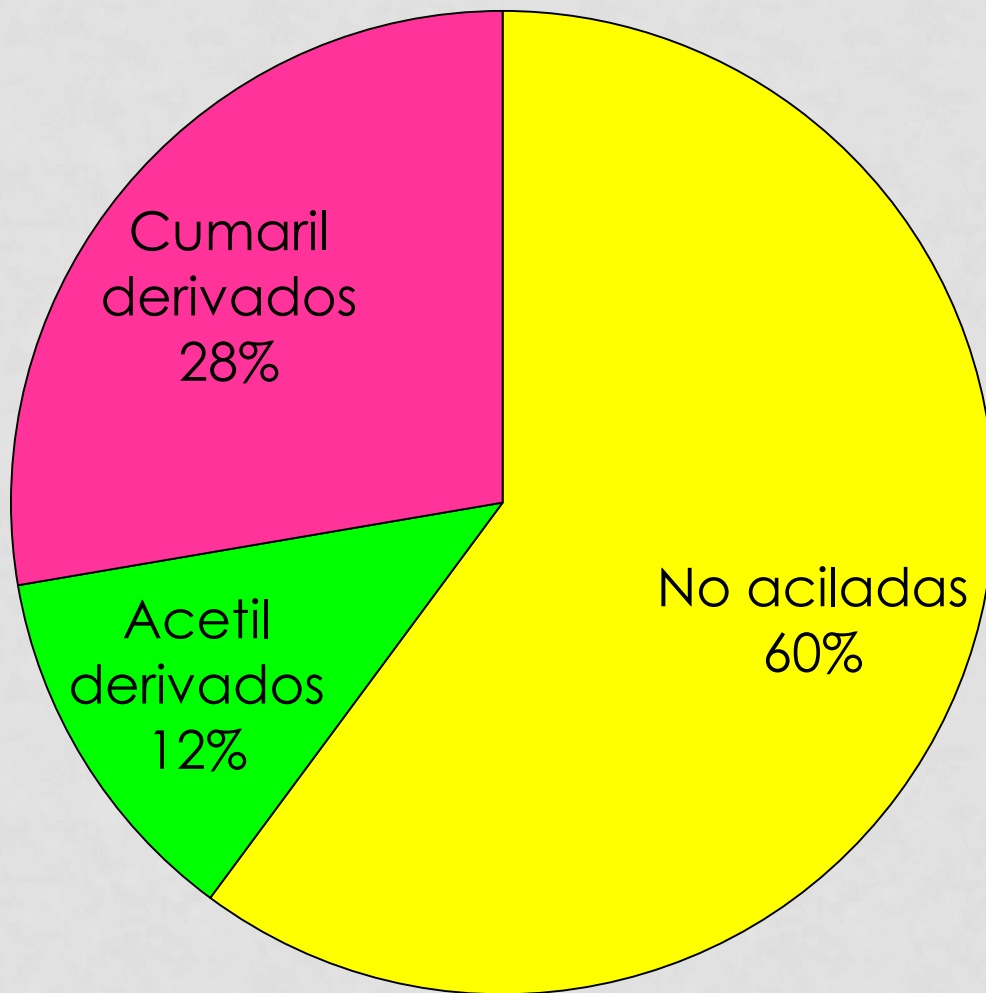
## Composición de antocianinas en extracto de orujo cv. Malbec

Antocianinas	µg g <sup>-1</sup> GPE liofilizado	
	Media	SD
Delfinidina-3-glucósido	4580,55 ±	8,35
Cianidina-3-glucósido	869,96 ±	26,23
Petunidina-3-glucósido	6880,47 ±	107,58
Peonidina-3-glucósido	2460,04 ±	54,87
Malvidina-3-glucósido	26657,97 ±	193,22
<b>Total glucosiladas</b>	<b>41448,98</b>	
Delfinidina-3-(6"-acetil)glucósido	1043,14 ±	8,05
Petunidina-3-(6"-acetil)glucósido	1423,81 ±	41,27
Peonidina-3-(6"-acetil)glucósido	1902,37 ±	28,90
Malvidina-3-(6"-acetil)glucósido	4021,19 ±	101,53
<b>Total acetiladas</b>	<b>8390,51</b>	
Cianidina-3-(6"-p-cumaril)glucósido	1885,76 ±	6,19
Petunidina-3-(6"-p-cumaril)glucósido	2481,19 ±	62,63
Peonidina-3-(6"-p-cumaril)glucósido	1853,73 ±	84,07
Malvidina-3-(6"-p-cumaril)glucósido	12863,86 ±	384,28
<b>Total cumariladas</b>	<b>19084,53</b>	
<b>Total antocianinas</b>	<b>68924,03</b>	

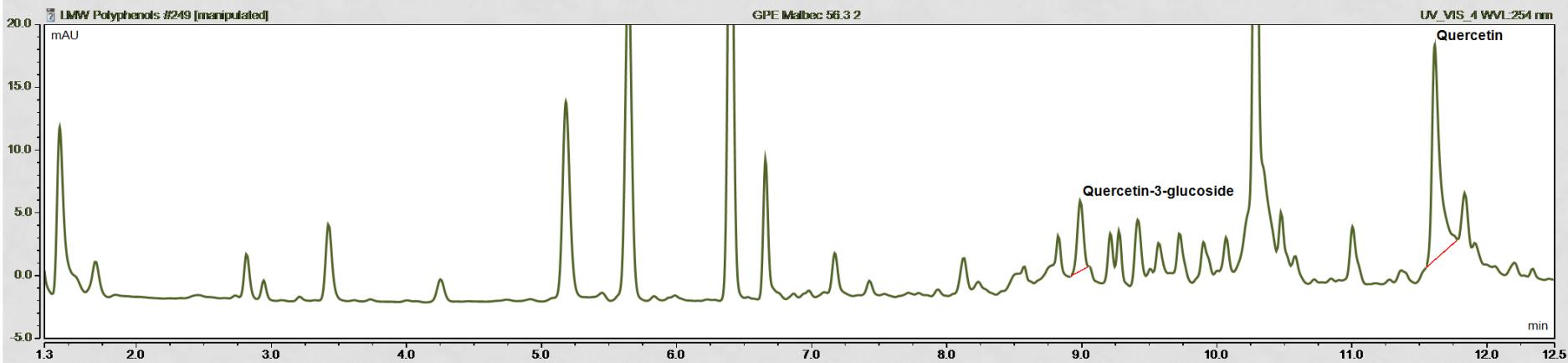
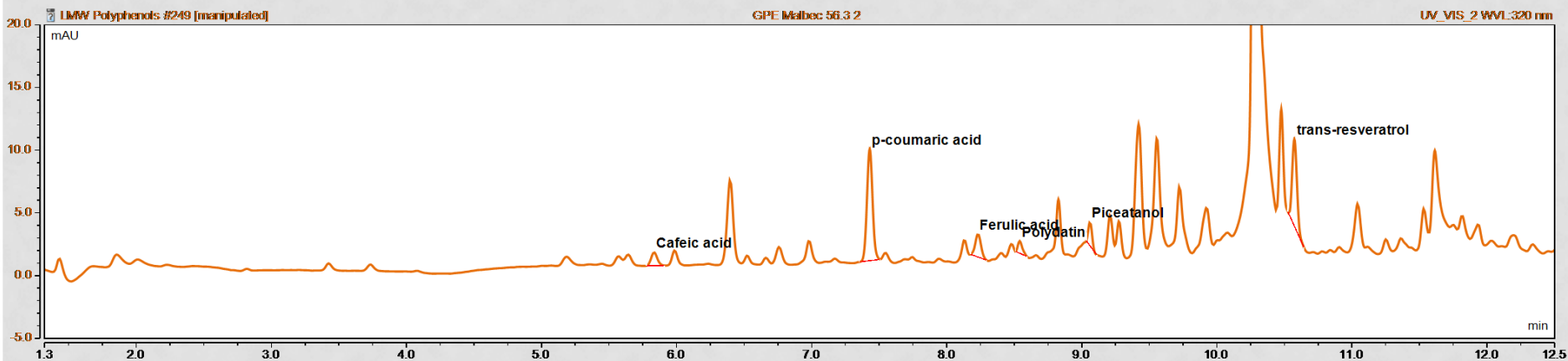
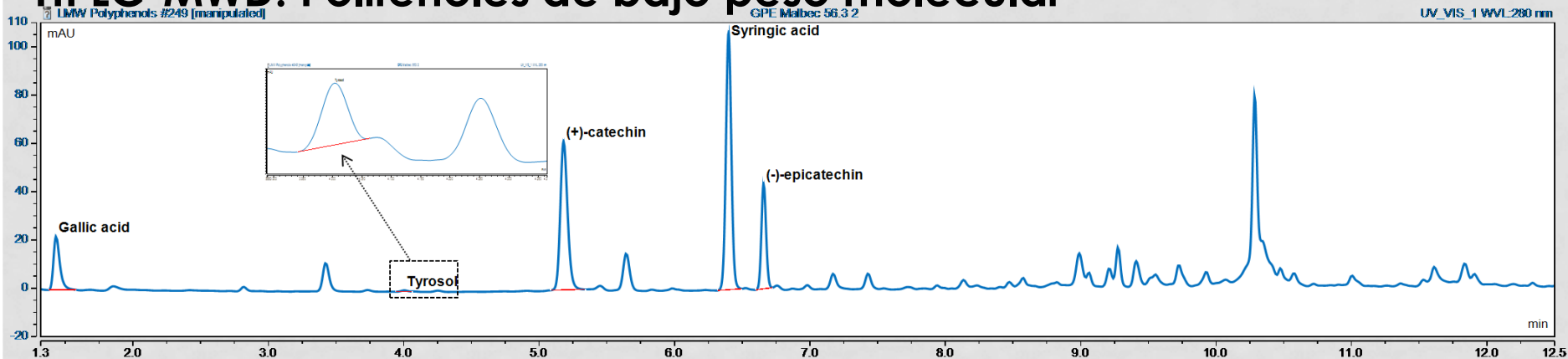
## Distribución de antocianinas por tipo de antocianidina en GPE cv. Malbec



## Distribución de antocianinas por el tipo de sustitución en GPE cv. Malbec



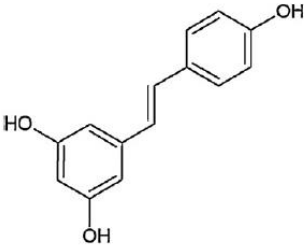
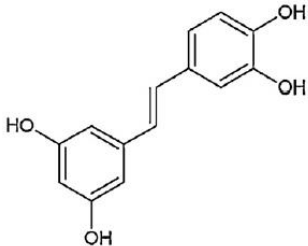
# HPLC-MWD: Polifenoles de bajo peso molecular





# Niveles de polifenoles de bajo peso molecular en extracto de orujo cv. Malbec

RESULTADOS

compuesto	$\mu\text{g g}^{-1}$ GPE liofilizado		compuesto	$\mu\text{g g}^{-1}$ GPE liofilizado	
<b>Ácidos hidroxibenzoicos</b>	<b>Media</b>	<b>DE</b>	<b>Flavanoles</b>	<b>Media</b>	<b>DE</b>
Ácido gálico	252,81 $\pm$	18,52	(+)-catequina	3387,47 $\pm$	374,74
Ácido siríngico	1731,69 $\pm$	156,25	(-)-epicatequina	1763,37 $\pm$	221,8
total ácidos hidroxibenzoicos	<b>1984,50</b>		total flavanoles	<b>5150,84</b>	
<b>Ácidos hidroxicinámicos</b>			<b>Flavonoles</b>		
Ácido cafeico	15,99 $\pm$	2,59	Quercetin-3-glucósido	112,16 $\pm$	12,11
Ácido p-cumárico	64,56 $\pm$	5,25	Quercetina	557,34 $\pm$	83,85
Ácido ferúlico	24,06 $\pm$	1,13	total flavonoles	<b>669,5</b>	
total ácidos hidroxicinámicos	<b>104,61</b>		<b>Otros compuestos</b>		
<b>Estilbenos</b>			OH-Tirosol	5,09 $\pm$	0,62
Polic			Tirosol	33,98 $\pm$	2,69
Picea			total otros compuestos	<b>39,07</b>	
trans			<b>Total compuestos fenólicos</b>	<b>8035,53</b>	
total					
					
	resveratrol	piceatannol			

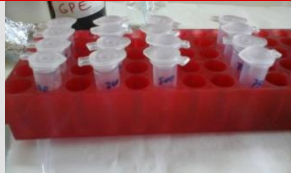
## Niveles de polifenoles de bajo peso molecular en orujo cv. Malbec

RESULTADOS

compuesto	$\mu\text{g g}^{-1}$ GPE liofilizado		compuesto	$\mu\text{g g}^{-1}$ GPE liofilizado	
<b>Ácidos hidroxibenzoicos</b>	<b>Media</b>	<b>DE</b>	<b>Flavanoles</b>	<b>Media</b>	<b>DE</b>
Ácido gálico	18,13 $\pm$	8,88	(+)-catequina	258,39 $\pm$	28,85
Ácido siríngico	156,56 $\pm$	6,55	(-)-epicatequina	173,21 $\pm$	61,28
total ácidos hidroxibenzoicos	<b>174.69</b>		Procianidina B2	29,46 $\pm$	13,06
<b>Ácidos hidroxicinámicos</b>			(-)-galato de epicatequina	253,42 $\pm$	153,79
Ácido cafeico	7,04 $\pm$	0,63	total flavanoles	<b>722,14</b>	
Ácido p-cumárico	55,12 $\pm$	2,86	<b>Flavonoles</b>		
Ácido ferúlico	4,63 $\pm$	0,31	Camferol-3-glucósido	12,60 $\pm$	0.27
total ácidos hidroxicinámicos	66,79		Quercetina	64,13 $\pm$	26.37
<b>Estilbenos</b>			total flavonoles	<b>76.73</b>	
Polidatin	n/d		<b>Otros compuestos</b>		
Piceatanol	n/d		OH-Tirosol	n/d	
trans-resveratrol	2,14 $\pm$	0,68	Tirosol	7,83 $\pm$	0.76
total estilbenos	<b>2,14</b>		total otros compuestos	<b>7,83</b>	
			<b>Total compuestos fenólicos</b>	<b>1050,32</b>	

# Terpenos y VOCs

**EXTRACTO DE  
ORUJO  
LIOFILIZADO**



**diclorometano**

**MTBE**

**ORUJO  
LIOFILIZADO**



**MTBE**

**ORUJO FRESCO**



**hexano**

**MTBE**



**GC-MS**

# Terpenos y VOCs

Se ha detectado en el orujo fresco la presencia de al menos 19 compuestos orgánicos volátiles

De importancia biológica los terpenos nerolidol, copaene, escualeno, farnesol y fitol, y los compuestos fenil-etil alcohol, epimanoil óxido.

En orujo liofilizado se identificaron sólo 9 de estos compuestos. Se destacan: p-cimeno, nerolidol, farnesol, epimanoil óxido, fitol y mandenol

En el extracto de orujo se identificó fenil-etil alcohol, nerolidol, escualeno y fitol

## Contenido de fibra dietaria en extracto de orujo y orujo cv. Malbec

	Extracto de Orujo	Orujo
<b>Fibra Dietaria Total</b>	8.3 ± 0.1	53.5 ± 0.6
<b>Fibra Dietaria Soluble</b>	2.1 ± 0.1	2.7 ± 0.0
<b>Fibra Dietaria Insoluble</b>	6.2 ± 0.1	50.8 ± 0.5

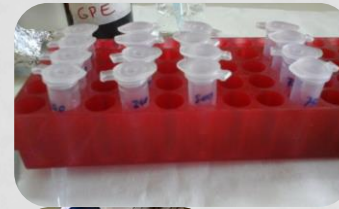
% peso seco. Valor medio de las determinaciones ± desviación estándar, n=3

*ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y  
ACTIVIDAD ANTIPLAQUETARIA DEL  
ORUJO Y EXTRACTO DE ORUJO*

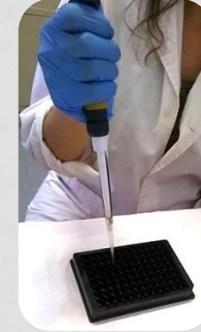


# Actividad Antioxidante ORAC

Diluir de trolox y  
madres de orujo y  
extracto de orujo



Dispensar en las  
microplacas las  
diluciones de las  
muestras y trolox

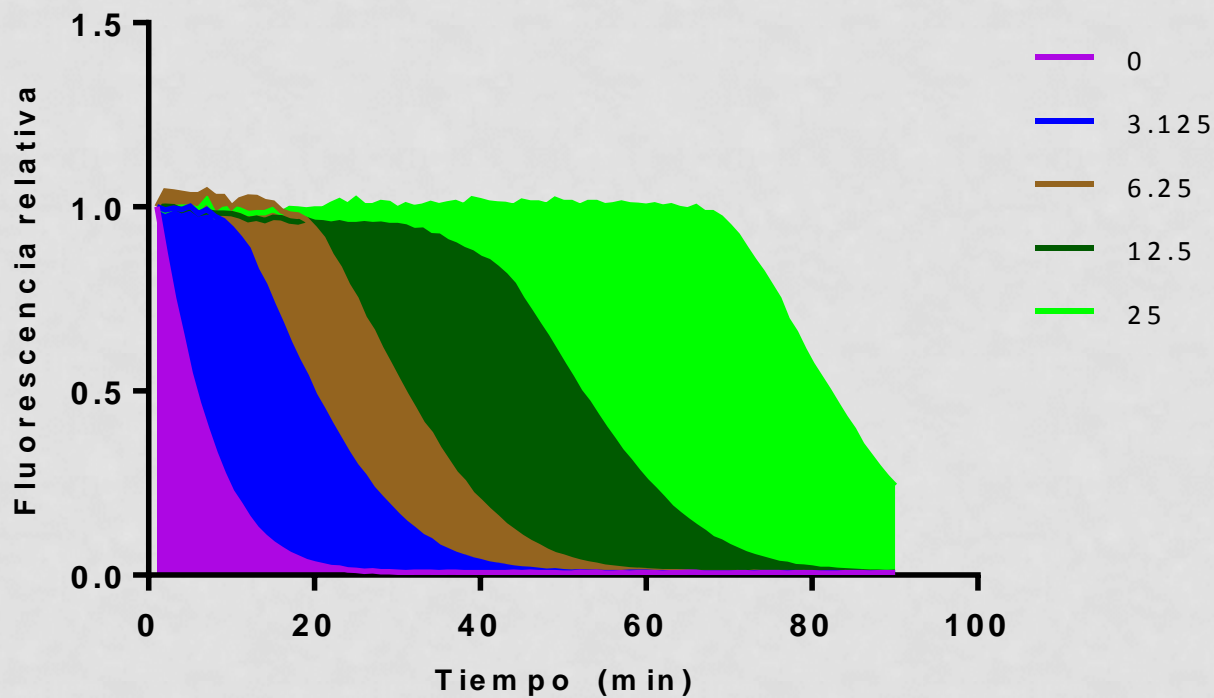


Colocar a cada celda  
fluoresceína. Incubar  
a 37 °C y adicionar  
AAPH



Colocar en  
fluorómetro y  
monitorear 485 nm  
excitación y 538  
emisión cada 1 min





***Evolución en el tiempo de la reacción de la fluoresceína con AAPH en ausencia (0) y en presencia de distintas concentraciones de Trolox (3,125; 6,25; 12,5 y 25 µM).***



## ENSAYOS *IN VITRO*



### Actividad antiplaquetaria

2,4 mg de GPE mL<sup>-1</sup> sangre completa produjo el 100 % de inhibición

IC<sub>50</sub> 1,55 mg GPE mL<sup>-1</sup> sangre completa

### Actividad antioxidante

ORAC (μmol TE g<sup>-1</sup>)

Orujo 258,10 ± 31,94

Extracto de 2756,04 ± 109,05

Orujo

---

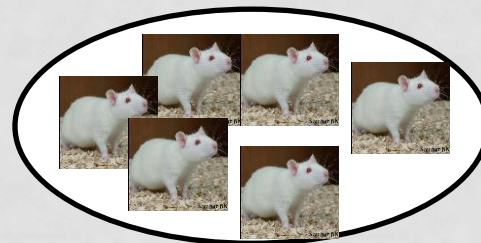
*PROTECCIÓN CARDIOVASCULAR EN  
RATAS CON SÍNDROME  
METABÓLICO*



# PRUEBAS BIOLÓGICAS

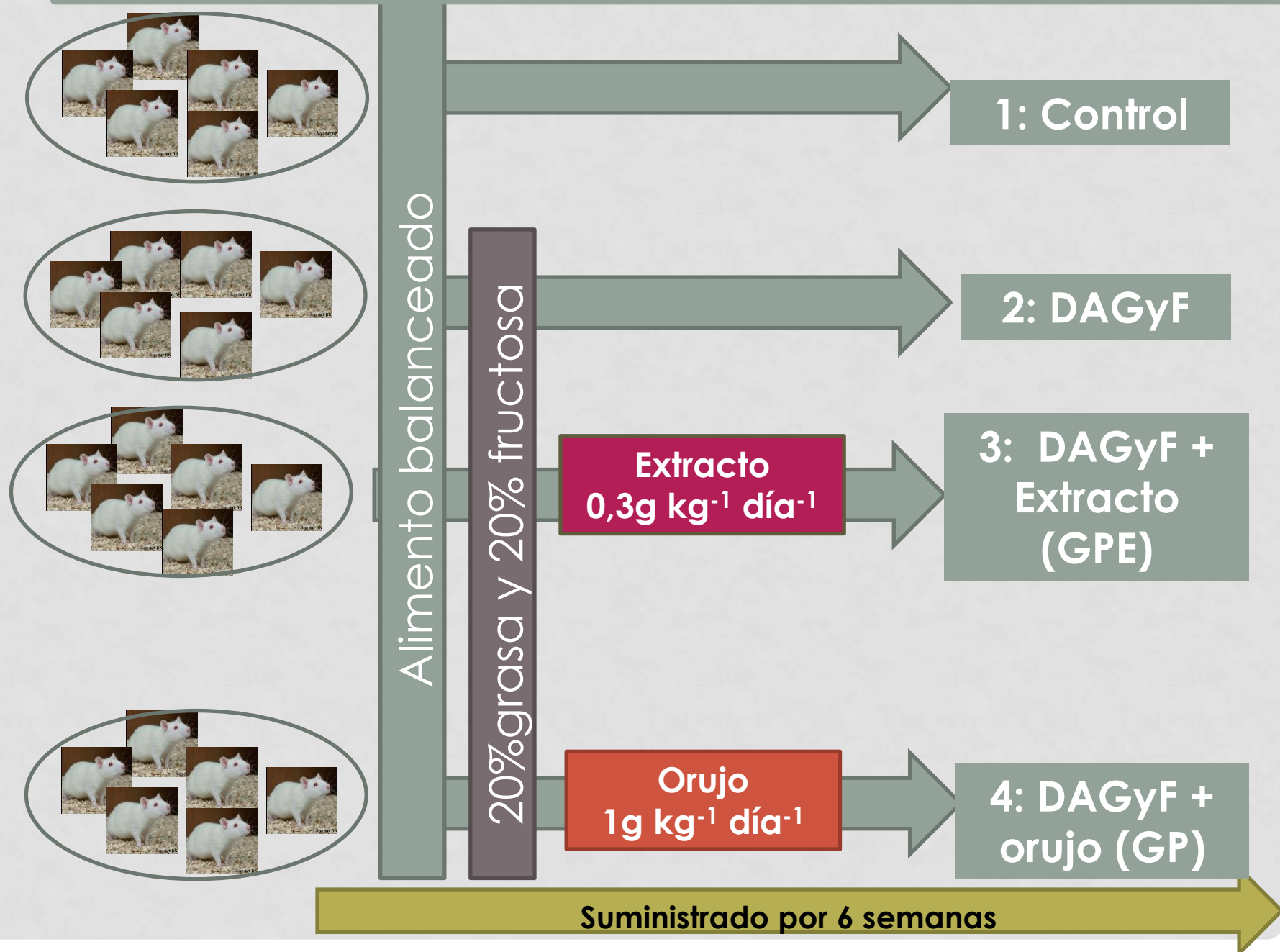


Variables asociadas al  
síndrome metabólico.



Trabajo en colaboración FCM: Dr. Miatello

# SÍNDROME METABÓLICO (MS)

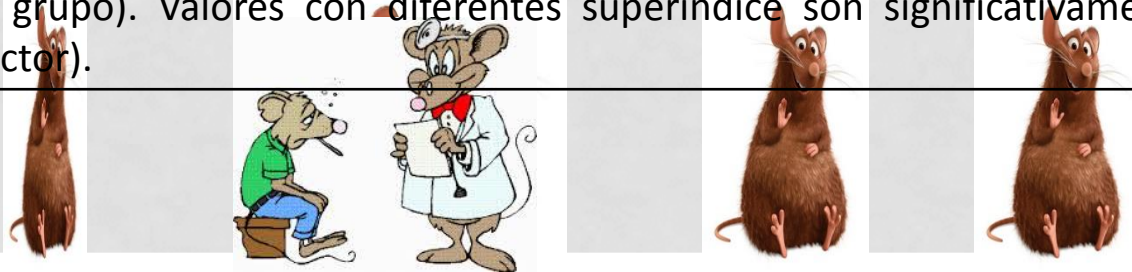




## Parámetros metabólicos en ratas

Parámetro	Ctrl	HFF	HFF + GPE	HFF + GP
<b>Ingesta de comida (g d<sup>-1</sup>)</b>	23.5 ± 1.1	23.1 ± 0.6	20.6 ± 0.5	20.3 ± 0.8
<b>Ingesta de agua (mL d<sup>-1</sup>)</b>	40,3±2,1	35,3±0,9	33,7±0,9	34,1±1,59
<b>PAS mmHg</b>	107 ± 3 <sup>a</sup>	135 ± 5 <sup>b</sup>	121± 3 <sup>a,b</sup>	119 ± 4 <sup>a</sup>
<b>Peso corporal (g)</b>	320 ± 7 <sup>a</sup>	383 ± 13 <sup>b</sup>	348 ± 9 <sup>a,b</sup>	354 ± 14 <sup>a,b</sup>
<b>Glucemia (mg dL<sup>-1</sup>)</b>	92.7 ± 4.7	88.2 ± 3.3	88.7± 2.5	95.8 ± 1.6
<b>Triglicéridos (mg dL<sup>-1</sup>)</b>	120 ± 4 <sup>a</sup>	154 ± 5 <sup>b</sup>	137± 4 <sup>a,b</sup>	132 ± 8 <sup>a</sup>
<b>Colesterol HDL (mg dL<sup>-1</sup>)</b>	30.4 ± 2.6 <sup>a,b</sup>	23.3 ± 1.7 <sup>b</sup>	36.3± 1.7 <sup>a</sup>	33.7 ± 2.6 <sup>a</sup>

Parámetros metabólicos de ratas alimentadas durante 6 semanas con dieta control o con dieta alta en grasa y fructosa (HFF) con y sin el agregado de GPE (HFF+GPE 300 mg Kg-1 d-1) o GP (HFF+GP 1g Kg-1 d-1). Valores medios ± DE (n=6 por grupo). Valores con diferentes superíndice son significativamente diferentes (P < 0.05, ANOVA de un factor).



## Grape Pomace as a Sustainable Source of Bioactive Compounds: Extraction, Characterization, and Biotechnological Applications of Phenolics

Ariel R. Fontana,\* Andrea Antonioli, and Rubén Bottini

Food Chemistry 178 (2015) 172–178

Contents lists available at [ScienceDirect](#)



ELSEVIER

Food Chemistry

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/foodchem](http://www.elsevier.com/locate/foodchem)

## Characterization of polyphenols and evaluation of antioxidant capacity in grape pomace of the cv. Malbec

Andrea Antonioli, Ariel R. Fontana\*, Patricia Piccoli, Rubén Bottini

Food Chemistry 192 (2016) 1–8

Contents lists available at [ScienceDirect](#)



ELSEVIER

Food Chemistry

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/foodchem](http://www.elsevier.com/locate/foodchem)

### Analytical Methods

## Development of a high-performance liquid chromatography method based on a core-shell column approach for the rapid determination of multiclass polyphenols in grape pomaces

Ariel R. Fontana\*, Andrea Antonioli, Rubén Bottini

Presentar bases científicas que permitan la utilización de los residuos de vinificación como una fuente económica y sustentable de principios activos para su aplicación en diferentes industrias de base tecnológica



Cite this: *Food Funct.*, 2016, 7, 1544

## Grape pomace and grape pomace extract improve insulin signaling in high-fat-fructose fed rat-induced metabolic syndrome

Cecilia Rodriguez Lanzi,<sup>a</sup> Diahann Jeanette Perdicaro,<sup>a</sup> Andrea Antonioli,<sup>b</sup> Ariel Ramón Fontana,<sup>b</sup> Roberto Miguel Miatello,<sup>a</sup> Rubén Bottini<sup>b</sup> and Marcela Alejandra Vazquez Prieto\*<sup>a</sup>

 Check for updates

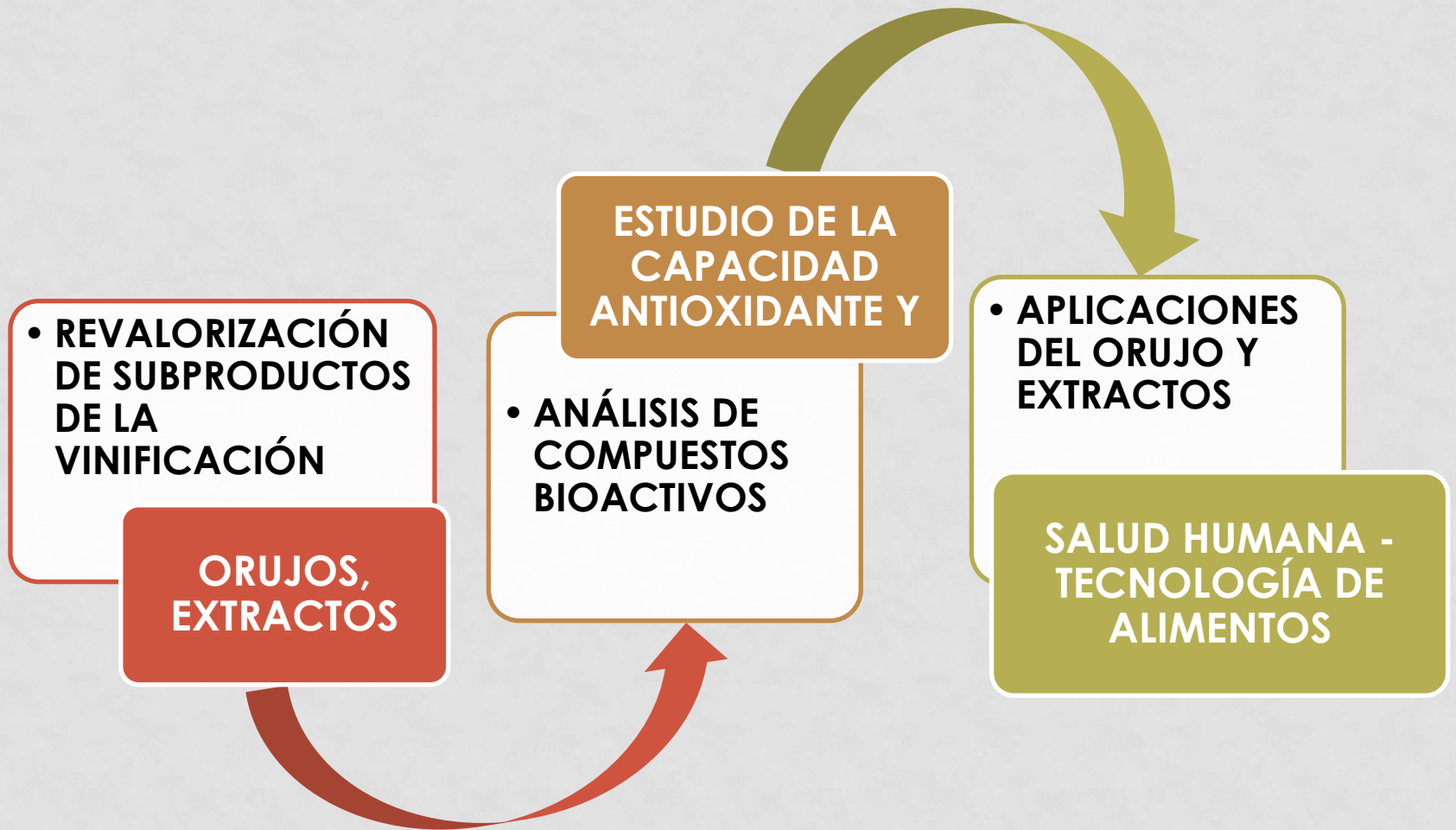
[View Article Online](#)  
[View Journal](#)

# Food & Function

Accepted Manuscript

## Grape pomace reduced reperfusion arrhythmias in rats with a high-fat-fructose diet

Diahann J. Perdicaro<sup>1</sup>, Cecilia Rodriguez Lanzi<sup>1</sup>, Ariel R. Fontana<sup>2</sup>, Andrea Antonioli<sup>2</sup>, Patricia Piccoli<sup>2</sup>, Roberto M. Miatello<sup>1</sup>, Emiliano R. Diez<sup>1</sup>, Marcela A. Vazquez Prieto<sup>1</sup>.



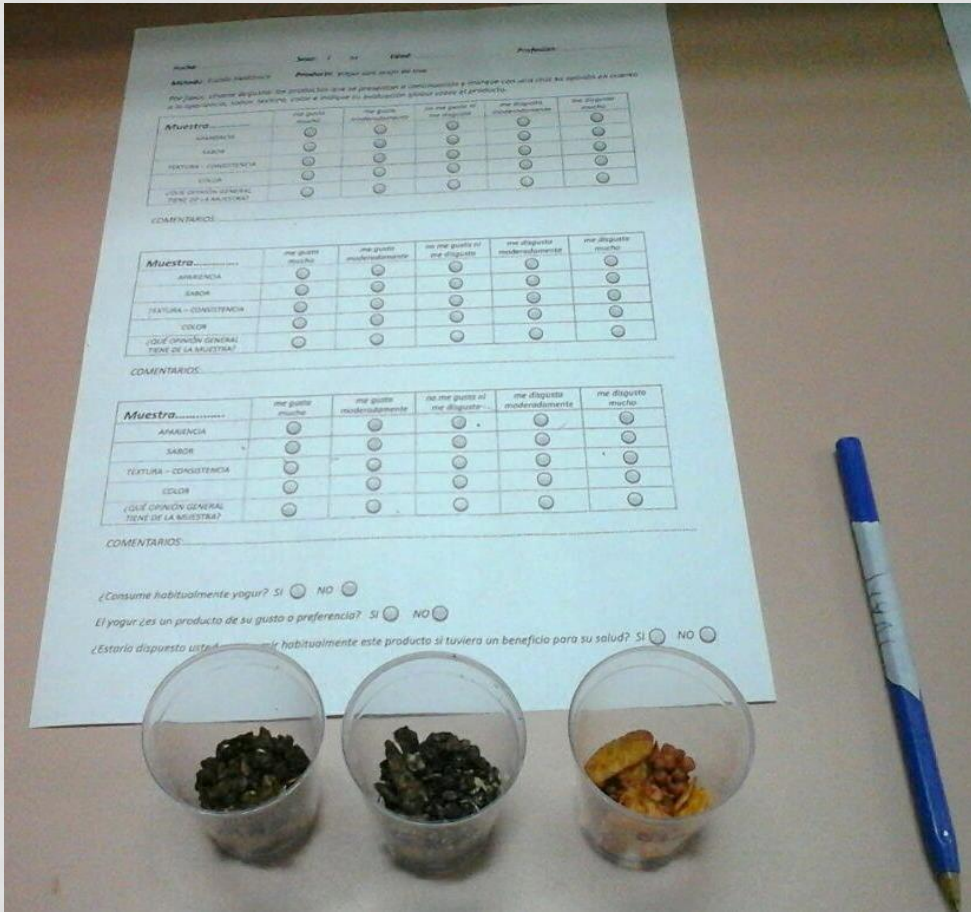
# CONCLUSIONES

Los compuestos volátiles con actividad biológica determinados, la fibra dietaria, sumados a la caracterización de los compuestos fenólicos contribuyen a dar sustento a los efectos biológicos observados en ratas con SM.

El consumo de alimentos enriquecidos con orujo de uva Malbec o su extracto puede ser útil en la prevención o atenuación del MS o enfermedades asociadas.

Estos resultados refuerzan la utilización de los extractos de orujo y del orujo de uva cv. Malbec como nutraceuticos en la industria alimenticia o farmacéutica.





## APLICACIONES EN ALIMENTOS





GRACIAS POR SU  
ATENCIÓN