

FACULTAD DE INGENIERÍA



INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL

“ESTABILIDAD TÉRMICA DE LAS ANTOCIANINAS EN
EXTRACTOS DE HOLLEJOS RESIDUALES DE
ELABORACIÓN DE VINO TINTO”

Tesis para optar el título profesional de:

Ingeniera Agroindustrial

Autoras:

Gladys Esmeralda Lujan Herrera

Maria Fernanda Merino Miñano

Asesor:

Dr. Ricardo David Vejarano Mantilla

Trujillo - Perú

2021

ACTA DE AUTORIZACIÓN PARA SUSTENTACIÓN DE TESIS

El asesor Ricardo David Vejarano Mantilla, docente de la Universidad Privada del Norte, Facultad de Ingeniería, Carrera profesional de Ingeniería Agroindustrial, ha realizado el seguimiento del proceso de formulación y desarrollo de la tesis de los estudiantes:

- Luján Herrera Gladys Esmeralda
- Merino Miñano María Fernanda

Por cuanto, **CONSIDERA** que la tesis titulada: “*Estabilidad térmica de las antocianinas en extractos de hollejos residuales de elaboración de vino tinto*” para aspirar al título profesional de: Ingeniero Agroindustrial por la Universidad Privada del Norte, reúne las condiciones adecuadas, por lo cual, **AUTORIZA** al o a los interesados para su presentación.

Dr. Ricardo David Vejarano Mantilla
Asesor

ACTA DE APROBACIÓN DE LA TESIS

Los miembros del jurado evaluador asignados han procedido a realizar la evaluación de la tesis de los estudiantes: *Gladys Esmeralda Luján Herrera* y *María Fernanda Merino Miñano*, para aspirar al título profesional con la tesis denominada: “*Estabilidad térmica de las antocianinas en extractos de hollejos residuales de elaboración de vino tinto*”.

Luego de la revisión del trabajo, en forma y contenido, los miembros del jurado concuerdan:

Aprobación por unanimidad

Calificativo:

Excelente [20 - 18]

Sobresaliente [17 - 15]

Bueno [14 - 13]

Aprobación por mayoría

Calificativo:

Excelente [20 - 18]

Sobresaliente [17 - 15]

Bueno [14 - 13]

Desaprobado

Firman en señal de conformidad:

DEDICATORIA

A nuestros padres, por habernos forjado como las personas que somos actualmente, nuestros logros se los debemos a ustedes. Nos formaron con reglas y algunas libertades, pero lo más importante es que nos motivaron constantemente a luchar por nuestros sueños. Su ayuda y apoyo constante ha sido y seguirá siendo fundamental para nuestras vidas. Esto es gracias a ustedes, los amamos.

AGRADECIMIENTO

A Dios, por permitirnos llegar a esta importante etapa
de nuestras vidas.

A nuestros padres, por siempre brindarnos su apoyo
incondicional.

A nuestro asesor, por guiarnos e incentivarnos a
continuar por el camino de la investigación.

A nuestra familia y amigos, por ser nuestro soporte,
motivarnos cada día y no permitir rendirnos.

Tabla de contenidos

ACTA DE AUTORIZACIÓN PARA SUSTENTACIÓN DE TESIS	2
ACTA DE APROBACIÓN DE LA TESIS	3
DEDICATORIA	4
AGRADECIMIENTO	5
ÍNDICE DE TABLAS	7
ÍNDICE DE FIGURAS	8
ÍNDICE DE ECUACIONES	9
RESUMEN	10
CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN	11
CAPÍTULO II. METODOLOGÍA	20
CAPÍTULO III. RESULTADOS Y DISCUSIONES	24
CAPÍTULO IV. CONCLUSIONES	30
REFERENCIAS	31

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1	19
Tabla 2	22
Tabla 3	26
Tabla 4	27

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Estructura de las antocianinas a diferentes valores de pH	15
Figura 2. Interacciones de las antocianinas	17
Figura 3. Cromatogramas HPLC para la separación de antocianinas en los extractos de las fracciones F y V de los hollejos de uva tinta.....	24
Figura 4. Parámetros de color mediante espectrofotometría UV-vis en los extractos de las fracciones F y V de hollejos de uva tinta.....	29

ÍNDICE DE ECUACIONES

Ecuación 1.	22
-------------------------	-----------

RESUMEN

Se evaluó la estabilidad de las antocianinas en extractos de hollejos de uva tinta después de aplicar temperaturas de deshidratación de 40 °C y 150 °C. Se utilizaron dos fracciones de hollejos: hollejos de uva sin fermentar (F) y hollejos de uva después de vinificación (V). Se prepararon extractos de ambos tipos de hollejos y se midió el contenido total de antocianinas mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), la capacidad antioxidante y los parámetros de color mediante espectrofotometría UV-vis. Las antocianinas en los extractos de hollejos de uva deshidratados a 40 °C (F40 y V40) fueron más estables, con un contenido total de antocianinas de 99.86 y 63.45 mg/L, respectivamente. Además, los extractos de hollejos de uva F40 mostraron la mayor capacidad antioxidante (CA), obteniendo el 100% de inhibición del radical DPPH con 1.0 g de estos hollejos, mientras que la misma cantidad de los demás hollejos mostró un porcentaje de inhibición menor a 46.01%. Según el análisis de color, los extractos F40 y V40 mostraron los valores más altos de intensidad de color (IC de 1.21 y 0.57, respectivamente), así como el mayor porcentaje de color rojo (56% y 60%, respectivamente). En contraste, los extractos F150 y V150 mostraron el mayor porcentaje de color amarillo (76% y 51%, respectivamente), lo que indica una degradación térmica de las antocianinas a sus formas incoloras. Según los resultados, se obtuvo una mayor estabilidad a alta temperatura en los hollejos de uva fermentada (V).

Palabras clave: Antocianinas, estabilidad, hollejos residuales, residuos de vinificación.

CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN

1.1. Realidad problemática

El proceso de vinificación (conversión de la uva en vino) genera cantidades considerables de residuos sólidos, denominados orujos de uva, compuestos por aproximadamente un 25% de semillas, un 25% de tallos y un 50% de pieles (Jin & Kelly, 2009). En muchos casos, estos residuos aún se manejan con costos elevados de transporte y eliminación (Taurino et al., 2019).

En los últimos años en Perú se ha observado un aumento importante en el consumo per cápita de uva tinta, y especialmente en la producción de vino tinto (OIV, 2020), cuya disposición de residuos se está convirtiendo en un tema de interés.

Estos residuos contienen altos niveles de compuestos fenólicos, los cuales han mostrado diversos beneficios, por ejemplo, ayudando a prevenir diversas enfermedades relacionadas con el estrés oxidativo. Los compuestos fenólicos actúan capturando electrones que no están emparejados y generando especies menos reactivas. La interrupción de reacciones en cadena de autooxidación, desactivación del oxígeno singlete, supresión del estrés nitrosativo, sinergia con otros antioxidantes, activación de enzimas antioxidantes e inhibición de enzimas oxidantes, son también otros mecanismos para la prevención de enfermedades (Peng et al., 2016; Vejarano et al., 2019).

En el vino tinto, los compuestos fenólicos se extraen de los hollejos y pepitas durante el proceso de conversión de la uva en vino, en el que el azúcar de la uva se convierte en alcohol, y actúa como disolvente de los compuestos fenólicos, principalmente antocianinas (Waterhouse, 2002).

Las antocianinas cumplen importantes funciones en los alimentos al conferir el típico color rojo, y se pueden obtener a partir de diferentes materias primas como uva tinta, arándano, saúco, maíz morado, camote morado, etc., siendo una fuente importante los materiales residuales que se generan tras la transformación de estas materias primas en sus productos derivados. Una de las fuentes más importantes de antocianinas es la uva tinta, cuyo contenido puede llegar hasta los 830 mg por 100 g de hollejo fresco (Romero, 2008).

En tal sentido, se justifica la presente investigación en la búsqueda de nuevas aplicaciones que permitan valorizar los residuos de la elaboración de vino tinto, como una fuente

adicional de ingresos para las empresas dedicadas a dicha actividad. La literatura existente reporta aplicaciones que incluyen extracción de compuestos bioactivos (Castro-López et al., 2016; Sette et al., 2020), fertilizantes de suelos (Arvanitoyannis et al., 2006), recuperación de ácido tartárico (Yalcin et al. ., 2008), extracción de aceite (Fiori, 2007), producción de enzimas hidrolíticas (Díaz et al., 2009), producción de bioetanol mediante fermentación en estado sólido (Li et al., 2010), fabricación de ladrillos ligeros (Taurino et al., 2019), carbón (Sette et al., 2020), entre otras aplicaciones.

Desde la perspectiva del uso específico de hollejos residuales para el desarrollo de alimentos, la harina de hollejo de uva tinta se ha utilizado como fuente de compuestos antioxidantes en la formulación de snacks (Bender et al., 2016). Otra alternativa podría ser la elaboración de infusiones, como previamente se ha desarrollado a partir de residuos de frutos con alto contenido en antocianinas, por ejemplo, de cáscara de jaborcaba (Da Silva et al., 2015).

Por otro lado, los alimentos funcionales están diseñados para conferir beneficios fisiológicos y reducir el riesgo de enfermedades más allá de las funciones nutricionales básicas (USDA, 2015) debido a su contenido de compuestos bioactivos que incluyen antocianinas, fitoesteroles, probióticos, fibra o ácidos grasos, y cuyo consumo ha ido aumentando considerablemente en años recientes. Estos compuestos bioactivos han demostrado actividades antioxidantes, antiinflamatorias, anticancerígenas, antimicrobianas, entre otras (Vejarano et al., 2019), ayudando a prevenir la prevalencia de morbilidad y mortalidad.

Además, es importante considerar los tratamientos aplicados para reducir la degradación de los compuestos bioactivos. En ese sentido, el estudio tuvo como objetivo determinar el efecto de dos temperaturas de deshidratación sobre la estabilidad de las antocianinas de los hollejos de uva, en base a su contenido total de antocianinas, capacidad antioxidante (CA) y parámetros de color, como base para el desarrollo futuro de un Infusión de hollejos de uva tinta residual.

1.2. Marco Teórico

1.2.1. Residuos

Residuo es todo aquel material en estado sólido, líquido o gaseoso, que resulta de un proceso de extracción, transformación, fabricación o consumo, y del cual el poseedor de este decide o tiene la obligación de abandonar.

1.2.2. Alimento funcional

Se considera todo alimento que, además de su valor nutritivo, aporta algún efecto añadido y beneficioso para la salud que va más allá de la estricta nutrición y que puede ser preventivo o terapéutico (USDA, 2015). Para ser funcional, un alimento debe de haber demostrado fehacientemente un efecto de disminución del riesgo de padecer una patología o actuar de forma terapéutica sobre cierta enfermedad, además de conocer sus riesgos en caso de “sobredosis”.

1.2.3. Compuestos bioactivos

Los compuestos bioactivos contribuyen a la protección de la salud. Su acción estaría relacionada a proteger las células de los daños producidos por radicales libres, es decir, retardan o inhiben la oxidación de los componentes celulares por acción de radicales libres y, en consecuencia, son esenciales antioxidantes que protegen contra la propagación de la cadena oxidativa. Estos colaboran en la disminución de riesgos de patologías y se considera que su ingesta regular como parte de la dieta ayuda a prevenir enfermedades diversas (cáncer, diabetes, hipertensión y enfermedades cardiovasculares), a retrasar el envejecimiento, y mejorar el estado físico (Paulino, 2013).

1.2.4. Compuestos antioxidantes

Los antioxidantes son sustancias químicas que se caracterizan por impedir o retrasar la oxidación de diversas sustancias principalmente de los ácidos grasos cuyas reacciones se producen tanto en los alimentos como en el organismo humano, en el cual puede provocar alteraciones fisiológicas importantes desencadenantes de diversas enfermedades (Zamora, 2007).

1.2.5. Actividad Antioxidante

Se conoce como actividad antioxidante a la medición analítica de concentraciones de radicales de diferente naturaleza, en un sistema oxidativo controlado. En los alimentos de origen vegetal, se atribuye esta capacidad a la presencia de compuestos fenólicos, especialmente a los flavonoides. Existe consenso en que la actividad antioxidante de los flavonoides resulta de una combinación de las propiedades quelantes del hierro y captadoras de radicales libres (Ciappini, 2013).

1.2.6. Antocianinas

Las antocianinas o antocianos, son pigmentos que están disueltos en la savia vacuolar de los tejidos epidérmicos de flores y frutas donde confieren una gama de colores como el rojo, púrpura o azul. Además, como otros compuestos fenólicos, tienen funciones fotoprotectoras, antioxidantes y de defensa de la planta frente a agentes externos (Hidalgo, 2013).

1.2.7. Factores que afectan la estabilidad de las antocianinas

Existen diversos factores que influyen en la estabilidad de las antocianinas. La estructura de éstas puede verse afectada en cualquier etapa de un proceso tecnológico, como por ejemplo un proceso de extracción de antocianinas de un material vegetal, como así también durante un tratamiento térmico o durante el almacenamiento de un producto que las contiene. A continuación, se exponen los factores más relevantes que afectan a la estabilidad de las antocianinas.

a) pH: Las antocianinas pueden encontrarse en diferentes formas químicas dependiendo del pH, es decir que este factor influye en su estructura y por lo tanto en su estabilidad (Figura 1). A pH 1 predomina el catión flavilio que es de color rojo y es la forma más estable de las antocianinas (Figura 1A), a valores de pH entre 2 y 4 ocurre la pérdida de un protón y adición de agua, encontrándose las antocianinas preferentemente bajo las formas quinoidales (figuras 1B, 1C, 1D) de color azul. A pH entre 5 y 6 se observan las especies pseudobase carbinol, que es incolora (Figura 1E), y chalcona, de color amarillo (Figura 1F), ambas bastante inestables. A pH superiores a 7 se produce la degradación rápida de las antocianinas por oxidación con el aire. Esta reacción se ve afectada, además del pH, por la presencia de

sustituyentes presentes en el anillo B (Garzón, 2008; Castañeda-Ovando et al., 2009; Moldovan et al., 2012).

A pH entre 4 y 6, pH característico de las frutas y hortalizas frescas o procesadas, se observa una mezcla en equilibrio de las formas catión flavilio, bases quinodales y carbinol, como así también de la forma chalcona (Moldovan et al., 2012). Al respecto, Bordignon et al. (2009) estudiaron la extracción de antocianinas de frutillas en el rango de pH de 1 a 13, obteniendo mejores extracciones a valores más bajos de pH.

En un estudio de cinética de degradación de antocianinas presentes en extractos de arándanos agrios (*Viburnum opulus* L.) durante el almacenamiento a valores de pH 3 y 7, Moldovan et al. (2012), obtuvieron una menor degradación a valores más bajos de pH. De modo que la acidez tiene un efecto protector sobre la estructura de las antocianinas. Es por ello que las aplicaciones en sistemas alimentarios son preferentemente a acidez intermedia, donde predomina el catión flavilio (Aguilera et al., 2011).

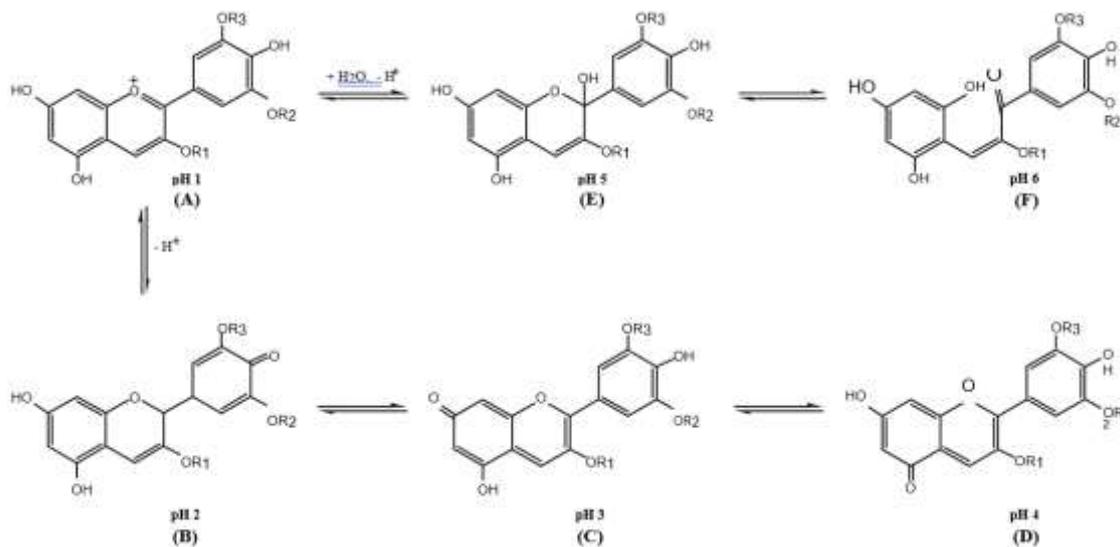


Figura 1. Estructura de las antocianinas a diferentes valores de pH. Donde R1 = H o glúcido, R2 y R3 = H o metilo (Castañeda-Ovando et al., 2009).

b) Temperatura: La temperatura es otro de los factores críticos que influyen en la degradación de las antocianinas (Min-Sheng y Po-Jung, 2007). El incremento de la temperatura provoca pérdidas del azúcar glicosilante en la posición 3 de la molécula, y posterior apertura de anillo, con la consecuente producción de chalconas incoloras (Garzón, 2008).

En un estudio sobre la cinética de degradación de antocianinas de jugo de arándanos entre temperaturas de 40 y 80 °C se observó una mayor degradación a valores más altos de temperatura (Pereira et al., 2010). Resultados similares en jugo de mora fueron reportados por Wang y Xu (2007), así como en extractos de arándanos agrios por Moldovan et al. (2012).

De modo que temperaturas más elevadas provocan un efecto adverso sobre la estructura de las antocianinas, especialmente durante un tratamiento térmico. Sin embargo, los mejores rendimientos de extracción de antocianinas de un determinado producto suelen suceder a temperaturas altas. Probablemente, este último efecto se deba a la mayor transferencia de antocianinas desde la matriz que lo contiene hacia el seno de la disolución extractiva. Por lo tanto, en un proceso de extracción de antocianinas de hollejos habría que buscar una temperatura óptima que favorezca la extracción, pero sin perjudicar la calidad del extracto.

c) Agua: El agua puede actuar como nucleófilo y atacar el catión flavilio en el C-2 formando la base carbinol incolora (Figura 1). Sin embargo, esta degradación puede variar, dependiendo de la concentración de azúcares o con el fenómeno denominado copigmentación.

Cuando los azúcares se encuentran a altas concentraciones, la actividad de agua es baja, por lo que las moléculas de agua tienen menores posibilidades de atacar el catión flavilio para formar la base carbinol. Sin embargo, cuando los azúcares están en bajas concentraciones la actividad de agua no se ve afectada, por lo que sus productos de degradación (hidroximetilfurfural y furfural) aceleran la degradación de las antocianinas (Kopjar y Piližota, 2009).

Dado que la molécula de agua interviene en reacciones que deterioran las antocianinas, resulta conveniente su eliminación para disminuir las probabilidades de ataque nucleofílico al catión flavilio.

d) Copigmentación: La copigmentación es uno de los principales factores de estabilización de la estructura del catión flavilio (Sari et al., 2012; Kopjar et al., 2011) mediante la interacción con compuestos llamados copigmentos, presentes en células vegetales (Rein, 2005), que pueden ser polifenoles, alcaloides, aminoácidos, ácidos orgánicos, entre otros (Sari et al., 2012).

La copigmentación se lleva a cabo a pH ácido (Mazza, 1995) y puede ocurrir a través de una serie de interacciones, siendo los mecanismos más importantes la copigmentación intermolecular, copigmentación intramolecular, autoasociación y formación de complejos con metales (Figura 2).

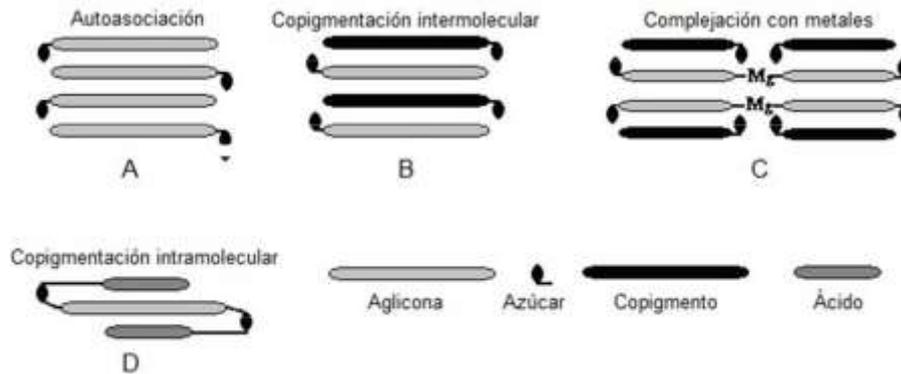


Figura 2. Interacciones de las antocianinas (Rein, 2005).

e) **Oxígeno:** Las antocianinas pueden oxidarse por reacción directa con oxígeno, o bien a través de una oxidación indirecta en la que éstas reaccionan con compuestos que han sido previamente oxidados, dando lugar a la formación de productos de color marrón o incoloro. También, pueden reaccionar con radicales de oxígeno, actuando como antioxidantes. Estos mecanismos de oxidación se ven favorecidos cuando se eleva la temperatura (Rein, 2005).

Garzón (2008) reportó considerables pérdidas de antocianinas, especialmente pelargonidina-3-glucósido de fresa, en presencia de oxígeno. Por tanto, para reducir las posibilidades de deterioro de las antocianinas es importante eliminar el oxígeno del medio.

1.3. Formulación del problema

¿Cuál será el efecto de la temperatura de deshidratación en la estabilidad térmica de antocianinas en extractos de hollejos residuales de elaboración de vino tinto?

1.4. Objetivos

1.4.1. Objetivo general

Evaluar el efecto de la temperatura de deshidratación en la estabilidad térmica de antocianinas en extractos de hollejos residuales de elaboración de vino tinto

1.4.2. Objetivos específicos

- Evaluar el efecto de la temperatura de deshidratación sobre el contenido de antocianinas en extractos de hollejos residuales de elaboración de vino tinto.
- Determinar el perfil antociánico en extractos de hollejos residuales de elaboración de vino tinto mediante cromatografía líquida de alta resolución.
- Evaluar el efecto de la temperatura de deshidratación sobre la capacidad antioxidante en extractos de hollejos residuales de elaboración de vino tinto.
- Evaluar el efecto de la temperatura de deshidratación sobre los parámetros de color en extractos de hollejos residuales de elaboración de vino tinto.

1.5. Hipótesis

Una temperatura de 40 °C permitirá mantener el mayor contenido de antocianinas, la mayor capacidad antioxidante y los mejores parámetros de color en extractos de hollejos residuales de elaboración de vino tinto.

Tabla 1

Operacionalización de variables.

VARIABLE		DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	INDICADOR	MEDICIÓN
INDEPENDIENTE	Temperatura de deshidratación	Magnitud física que expresa el nivel de flujo de calor, utilizado para el proceso de eliminación de agua en un alimento.	Valor de temperatura en la cual se lleva a cabo el proceso de eliminación de agua en hollejos de uva tinta.	Grados centígrados	Termometría
DEPENDIENTE	Contenido de antocianinas	Cantidad de antocianinas disueltas en la savia vacuolar de los tejidos vegetales donde confieren coloración en la gama de rojo, púrpura o azul.	Cantidad de antocianinas en hollejos de uva tinta que pueden ser extraídos mediante un solvente.	Miligramos de antocianinas por 100 mL de extracto	Cromatografía líquida de alta resolución (HPLC)
	Capacidad antioxidante	Es la capacidad de una sustancia para impedir la degradación oxidativa.	Capacidad de un extracto de hollejos de uva tinta para inhibir la capacidad oxidativa del radical DPPH.	Porcentaje de inhibición del radical DPPH	Espectrofotometría UV-vis
	Parámetros de color	Indicadores que permiten medir la absorbancia de una disolución en una frecuencia de luz específica.	Indicadores que permiten medir la absorbancia de un extracto de hollejos de uva tinta en una frecuencia de luz específica.	<ul style="list-style-type: none"> - Intensidad colorante (IC) - Tonalidad - Porcentaje de color amarillo (% amarillo) - Porcentaje de color rojo (% rojo) - Porcentaje de color azul (% azul) 	Espectrofotometría UV-vis

CAPÍTULO II. METODOLOGÍA

2.1 Tipo de investigación

- 2.1.1 De acuerdo con el fin que se persigue: Aplicada.
- 2.1.2 De acuerdo con la naturaleza de los datos: Cuantitativa.
- 2.1.3 De acuerdo con el nivel: Explicativa.
- 2.1.4 De acuerdo con el diseño de investigación: Experimental pura.

2.2 Materiales, instrumentos y métodos

2.2.1 Materiales

- Hollejos de uva tinta fresca (F).
- Hollejos residuales de uva tinta después de la fermentación (V).

2.2.2 Instrumentos y/o equipos

- Bisturí.
- Estufa de convección forzada.
- Equipo de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC).
- Micropipeta.
- Agitador magnético.
- Centrífuga.

2.2.3 Tratamiento de hollejos residuales de uva tinta

Se adquirieron uvas tintas (*Vitis vinifera* var. Gross Collman) de una bodega local de Cascas (La Libertad, Perú). Las uvas se separaron en dos fracciones: uva intacta y uva para vinificación. En el caso de las bayas intactas, el hollejo se separó con un bisturí. Por su parte, la otra fracción se utilizó para elaborar vino tinto, y los hollejos residuales se recuperaron al final del proceso fermentativo. Ambos tipos de hollejos: hollejos frescos de uva sin fermentar (F) y hollejos de uva después de la vinificación (V), se deshidrataron en una estufa UN55 PLUS (Memmert GmbH Co. KG, Alemania) a 40 °C (72 horas), a fin de preservar el contenido de antocianinas y conferir aromas varietales; y a 150 °C (30 minutos), con el fin de evaluar la estabilidad de las antocianinas y conferir carácter tostado.

Los hollejos deshidratados se trituraron para obtener un polvo homogéneo.

2.2.4 Preparación de los extractos

Los extractos se prepararon con una solución de metanol/agua/ácido fórmico (50.0/48.5/1.5) (Morata, 2004). Para la extracción se maceró 1.0 g de cada polvo de hollejo de uva en 30 mL de solución extractante. Estas suspensiones se agitaron durante 30 minutos a 300 rpm, tras lo cual los extractos se separaron y enrasaron hasta 50 mL, procediendo a centrifugar a 4000 rpm (4 °C) durante 10 minutos. Se almacenó el sobrenadante.

2.2.5 Métodos analíticos

2.2.5.1 Análisis de antocianinas mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC)

Las antocianinas se analizaron mediante cromatografía líquida de alta resolución con un detector de matriz de diodos (HPLC-DAD) de acuerdo con la metodología descrita en Del Fresno et al. (2020). Se utilizó un cromatógrafo Agilent Technologies 1100 (Palo Alto, California, EE. UU.). Se utilizó una columna de fase inversa Kinetex C18 (100 x 4.6 mm; 2.6 µm) (Phenomenex, Torrance, California, EE. UU.). Para la separación de compuestos la fase móvil estuvo formada por dos eluyentes utilizados a un flujo de trabajo de 0.8 mL/min: disolvente A (agua/ácido fórmico: 95/5) y B (metanol/ácido fórmico: 95/5). Se inyectaron 100 µL de cada extracto previamente filtrados (filtros de membrana de 0.45 µm) (Tecknokroma, Barcelona, España). El límite de detección fue de 0,1 mg/L. La detección se realizó mediante escaneo en el rango entre 500-600 nm. La cuantificación se realizó por comparación con un patrón externo a 525 nm y se expresó en función de la concentración de malvidina-3-*O*-glucósido (M3G) (Extrasynthèse, Genay, Francia). Las diferentes antocianinas se identificaron por su tiempo de retención con respecto a la antocianina mayoritaria M3G, y comparando los espectros UV-vis y de masas con la literatura (Monagas et al., 2003).

2.2.5.2 Capacidad antioxidante

El análisis de la capacidad antioxidante (CA) se realizó en base al ensayo DPPH (Floegel et al., 2011). Se preparó una solución de 50 mg/L de DPPH en metanol al 80% (v/v). Se utilizaron los extractos de ambas fracciones de hollejos (F y V). Cada extracto se diluyó con metanol al 80% (v/v) hasta 10 mL de la siguiente manera:

Tabla 2

Diluciones de extractos de fracciones de hollejos F y V.

<i>Dilución (mL extracto / mL metanol 80%)</i>	0.5/9.5	1.0/9.0	2.5/7.5	4.0/6.0	5.0/5.0
<i>Equivalente de hollejo deshidratado (g/L)</i>	1	2	5	8	10

Se mezclaron 100 µL de cada dilución con 1000 µL de solución de DPPH y se incubaron durante 30 min en oscuridad. Después de eso, se midió la absorbancia a 520 nm usando un espectrofotómetro UV-vis 8453 (Agilent Technologies, Palo Alto, California, EE. UU.).

La capacidad antioxidante (CA), es decir, la capacidad de los compuestos fenólicos para neutralizar/inhibir el radical oxidante DPPH, se expresó como el valor de la eficiencia antioxidante (Q) de cada extracto, según la ecuación 1 (Molyneux, 2004):

$$Q(\%) = 1 - \frac{A_{\text{muestra}}}{A_{\text{DPPH}}} \times 100 \quad (1)$$

Donde A_{muestra} es la muestra en contacto con DPPH, y A_{DPPH} es el agente DPPH puro.

2.2.5.3 Análisis de parámetros de color

Los parámetros de color determinados fueron intensidad colorante (IC) y tonalidad, en base al procedimiento de Glories (1984). Las absorbancias a 420, 520 y 620 nm fueron medidas con una celda de vidrio con una longitud de paso de luz de 1 mm usando un espectrofotómetro UV-vis 8453 (Agilent Technologies, Palo Alto, California, EE. UU.). Adicionalmente, los resultados se expresaron como porcentajes de las fracciones amarilla, roja y azul, de cada extracto (Morata et al., 2012).

2.2.6 Análisis estadístico

El análisis de varianza (ANOVA) y la prueba LSD (mínima diferencia significativa) de Fisher, a un nivel de significancia del 5% ($p < 0.05$), se realizaron utilizando el software IBM SPSS Statistics 25 (IBM Corp., Armonk, Nueva York, EE. UU.), con el fin de identificar diferencias significativas.

CAPÍTULO III. RESULTADOS Y DISCUSIONES

3.1. Análisis de antocianinas en los extractos de hollejos de uva tinta

En la Figura 3 se muestran los cromatogramas de los extractos obtenidos mediante HPLC, con mayor número de picos de retención en los extractos F40 y V40, correspondientes a los hollejos de uva deshidratados a 40 °C, mientras que en los extractos de hollejos de uva deshidratados a 150 °C (F150 y V150) se observa un menor número de picos, lo que indicaría una degradación de las antocianinas a alta temperatura (Garzón, 2008; Saucier, 2010).

Al comparar los extractos de hollejos de uva deshidratados a 150 °C (F150 y V150), se observa mayor intensidad en los picos del extracto de hollejos de uva fermentados (V150), lo que indica una mayor estabilidad debido a la síntesis de derivados de las antocianinas, principalmente piranoantocianinas vinilfenólicas y vitisinas, que no se ven afectadas debido a la robustez del doble enlace en su anillo heteroaromático (Morata et al., 2015).

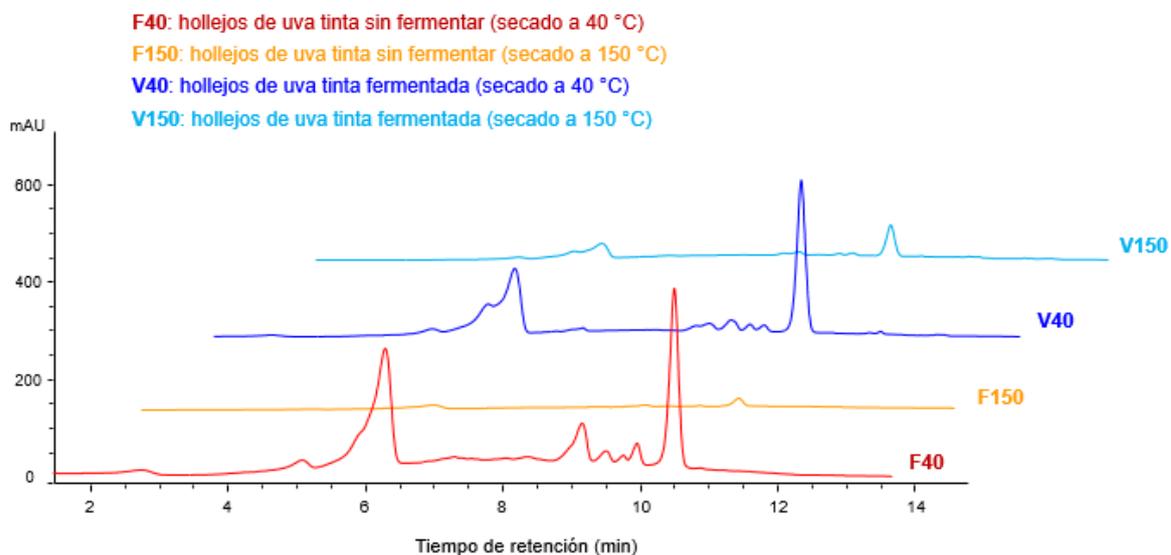


Figura 3. Cromatogramas HPLC para la separación de antocianinas en los extractos de las fracciones F y V de los hollejos de uva tinta.

La Tabla 3 muestra el contenido total de antocianinas (mg/L), con diferencias significativas entre todos los tratamientos (prueba LSD de Fisher, $p < 0.05$), con mayor contenido en el siguiente orden $F40 > V40 > V150 > F150$.

El extracto V40 tiene un contenido de antocianinas menor que el extracto F40, a pesar de que ambos tipos de hollejos de uva se deshidrataron a la misma temperatura (40 °C). El menor contenido de antocianinas en el extracto V40 puede ser consecuencia del proceso fermentativo, principalmente debido a la adsorción de antocianinas en las paredes celulares de la levadura (Loira et al., 2013), y a la expresión de la actividad enzimática antocianina- β -glucosidasa, que provoca la hidrólisis de las antocianinas, y por tanto su degradación (Wightman y Wrolstad, 1996).

Por el contrario, en el extracto de los hollejos de uva fermentada deshidratados a 150 °C (V150) se obtuvo un mayor contenido total de antocianinas (14.11 mg/L), en comparación con el extracto F150 (de hollejos de uva fresca sin fermentar deshidratados a 150 °C) (3.01 mg/L), en concordancia con los resultados de la Figura 3. Esto indica que en los hollejos de uva que han sido sometidos al proceso fermentativo (V150) se sintetizaron derivados de antocianinas, principalmente piranoantocianinas vinilfenólicas y vitisinas, con mayor estabilidad (Morata et al., 2015).

3.2. Capacidad antioxidante de los extractos de hollejos de uva tinta

En la Tabla 4 se muestran los valores de capacidad antioxidante (CA), expresados como el porcentaje de inhibición (Q%) del radical oxidante DPPH (Molyneux, 2004), a diferentes concentraciones de cada extracto. El mayor valor de Q% se obtuvo con el extracto de hollejos frescos de uva sin fermentar deshidratados a 40 °C (F40), en el que 1.0 g de estos hollejos fue suficiente para neutralizar completamente el radical oxidante DPPH (Q = 100%). Mientras que el deshidratado de los mismos hollejos a 150 °C (F150) disminuyó su CA, siendo necesario 5.0 g para obtener el mismo efecto (Q = 100%), lo que indica la pérdida de CA a altas temperaturas (Garzón, 2008; Saucier, 2010), en concordancia con su menor contenido de antocianinas (Tabla 3).

Un comportamiento similar fue observado con los extractos de los hollejos de uva tras la fermentación, donde el proceso de deshidratado a 150 °C (V150) disminuyó su capacidad para inhibir el radical DPPH con respecto a los hollejos de uva deshidratados a 40 °C (V40).

Tabla 3

Contenido de antocianinas en los extractos de las fracciones F y V de hollejos de uva tinta, expresado como mg/L. Media \pm desviación estándar de tres repeticiones.

Antocianina (mg/L)	Tiempo de retención (min)	Hollejos de uva fresca sin fermentar		Hollejos de uva tras la fermentación	
		F40	F150	V40	V150
Delfinidina-3-O-glucósido (D3G)	2.73	1.33 \pm 0.03 a	-	0.48 \pm 0.08 b	0.18 \pm 0.02 c
Cianidina-3-O-glucósido (Cy3G)	5.07	2.16 \pm 0.07 a	-	0.71 \pm 0.06 b	0.33 \pm 0.06 c
Peonidina-3-O-glucósido (Pn3G)	5.90	5.16 \pm 0.14 b	-	5.54 \pm 0.08 a	1.32 \pm 0.04 c
Malvidina-3-O-glucósido (M3G)	6.28	40.49 \pm 0.47 a	0.91 \pm 0.09 d	20.75 \pm 1.08 b	5.10 \pm 0.10 c
Malvidina-3-O-glucósido-vinil aducto (vitisina B; VITB)	7.15	-	-	0.18 \pm 0.02 a	-
Malvidina-3-O-glucósido-piruvato (vitisina A; VITA)	7.23	-	-	0.14 \pm 0.04 a	-
Delfinidina-3-O-(6''-acetilglucósido) (D3G6Ac)	7.27	0.56 \pm 0.02 a	-	0.31 \pm 0.06 b	-
Petunidina-3-O-(6''-acetilglucósido) (Pt3G6Ac)	8.32	0.56 \pm 0.05 a	-	-	-
Peonidina-3-O-(6''-acetilglucósido) (Pn3G6Ac)	8.95	1.77 \pm 0.06 a	-	0.75 \pm 0.01 b	0.33 \pm 0.02 c
Malvidina-3-O-(6''-acetilglucósido) (M3G6Ac)	9.13	7.34 \pm 0.04 a	0.29 \pm 0.05 d	1.34 \pm 0.06 b	0.56 \pm 0.02 c
Cianidina-3-O-(6''-p-cumaroilglucósido) (Cy3GCm)	9.46	2.04 \pm 0.06 a	-	2.00 \pm 0.12 a	-
Petunidina-3-O-(6''-p-cumaroilglucósido) (Pt3GCm)	9.71	0.57 \pm 0.01 b	-	0.68 \pm 0.04 a	0.20 \pm 0.01 c
Ponidina-3-O-(6''-p-cumaroilglucósido) (Pn3GCm)	9.92	2.70 \pm 0.10 a	0.11 \pm 0.07 d	0.70 \pm 0.01 b	0.33 \pm 0.05 c
Malvidina-3-O-(6''-p-cumaroilglucósido) (M3GCm)	10.46	35.20 \pm 2.28 a	1.71 \pm 0.20 d	29.50 \pm 1.05 b	5.65 \pm 0.25 c
Malvidina-3-O-glucósido-4-vinilfenol (M3GVPh)	11.45	-	-	0.13 \pm 0.02 a	-
Malvidina-3-O-glucósido-4-vinilguayacol (M3GVG)	11.61	-	-	0.24 \pm 0.04 a	0.10 \pm 0.01 b
Total		99.86 \pm 2.34 a	3.01 \pm 0.11 d	63.45 \pm 1.93 b	14.11 \pm 0.24 c

Letras diferentes en la misma fila denotan diferencia significativa (prueba LSD de Fisher, $p < 0.05$).

F40: hollejos de uva fresca sin fermentar (deshidratados a 40 °C). F150: hollejos de uva fresca sin fermentar (deshidratados a 150 °C). V40: hollejos de uva fermentada (deshidratados a 40 °C). V150: hollejos de uva fermentada (deshidratados a 150 °C).

Al comparar los extractos de hollejos de uva deshidratados a 40 °C, serían necesarios 2.0 g de hollejos V40 para inhibir totalmente el radical DPPH (Q = 100%), frente a 1.0 g requerido de los hollejos de uva F40. Esto indica un menor contenido de antocianinas en los hollejos de la uva V40 (Tabla 4), debido a que parte de las antocianinas se han transferido al mosto/vino desde el hollejo durante el proceso fermentativo (Morata et al., 2015; Romero, 2008).

Tabla 4

Inhibición del radical oxidante DPPH por los extractos de las fracciones F y V, expresada como porcentaje de inhibición (Q%).

Equivalente de hollejo deshidratado (g/L)	Hollejos de uva fresca sin fermentar		Hollejos de uva después de la fermentación	
	F40	F150	V40	V150
1	100.00	46.01	37.89	37.89
2	100.00	85.39	100.00	71.18
5	100.00	100.00	100.00	100.00
8	100.00	100.00	100.00	100.00
10	100.00	100.00	100.00	100.00

3.3. Parámetros de color en los extractos de hollejos de uva tinta

Los parámetros de color representan el contenido de materia colorante en la muestra. El extracto de hollejos frescos sin fermentar deshidratados a 40 °C (F40) presentó la mayor intensidad de color (IC = 1.21), además de un alto porcentaje de rojo (56%) (Figura 4), que es el componente característico del catión flavilio, la forma más coloreada de las antocianinas (Giusti & Wrolstad, 2001), en concordancia con su alto contenido en antocianinas (Tabla 3).

Por el contrario, el extracto F150 mostró el menor valor de IC (0.40) y el menor porcentaje de rojo (20%) y azul (4%). Este extracto también mostró el menor contenido de antocianinas (Tabla 3). Además, el extracto F150 presentó el mayor porcentaje de amarillo (76%), en concordancia con su mayor valor de tonalidad (3.82). La tonalidad representa la relación de

los pigmentos amarillentos sobre los rojos, por lo que su valor tiene relación directa con el porcentaje de amarillo (Figura 4).

El alto porcentaje de amarillo en los extractos F150 y V150 (Figura 4: 76% y 51%, respectivamente) está relacionado con la degradación de las antocianinas, como consecuencia de la pérdida del azúcar glucosidante unido en la posición 3 de la molécula de antocianidina, produciendo la apertura del anillo, con la consiguiente conversión a sus formas incoloras (Garzón, 2008).

Adicionalmente, el alto porcentaje de amarillo indica la presencia de pigmentos derivados de la degradación térmica de componentes del hollejo de uva, principalmente de compuestos fenólicos y de material lignocelulósico. Cuando el material lignocelulósico se degrada a altas temperaturas, se liberan varios compuestos, por ejemplo, compuestos furánicos (Vejarano et al., 2013). Estos compuestos reaccionan con la malvidina-3-*O*-glucósido (M3G), dando como resultado la formación de M3G-furfural, M3G-metilfurfural, entre otros derivados de antocianina-aldehído furánico (Sousa et al., 2010). Estos compuestos contribuyen al aspecto amarillento de las muestras.

En cuanto al efecto de la alta temperatura sobre los parámetros de color, el extracto V150 presentó una IC mayor que el extracto F150 (0.48 y 0.40, respectivamente), lo que también se reflejó en el mayor porcentaje de rojo (43% y 20%, respectivamente) y azul (7% y 4%, respectivamente). Estos resultados concuerdan con el mayor contenido de antocianinas en el extracto V150 (Tabla 3), es decir, la presencia de derivados antociánicos más estables, producidos durante el proceso fermentativo, que confieren al extracto una mayor protección frente a la degradación (Morata et al., 2015).

A

	IC	Tonalidad
F40	1.21 ± 0.00 a	0.69 ± 0.00 c
F150	0.40 ± 0.00 d	3.82 ± 0.01 a
V40	0.57 ± 0.00 b	0.56 ± 0.00 d
V150	0.48 ± 0.00 c	1.18 ± 0.00 b

B

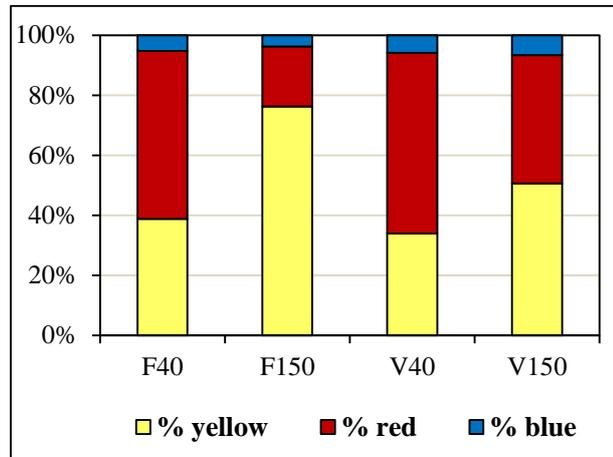


Figura 4. Parámetros de color mediante espectrofotometría UV-vis en los extractos de las fracciones F y V de hollejos de uva tinta: **A** Intensidad de color (CI) y tonalidad. **B** Porcentaje de amarillo, rojo y azul. Letras diferentes en la misma columna denotan diferencia significativa (prueba LSD de Fisher, $p < 0,05$).

CAPÍTULO IV. CONCLUSIONES

Se estudió la estabilidad de las antocianinas en extractos de hollejos de uva tinta después de aplicar temperaturas de deshidratado de 40 °C y 150 °C. A la vista de los resultados, las antocianinas de los hollejos de uva deshidratados a 40 °C mostraron mayor estabilidad, con un contenido total de antocianinas de hasta 99.86 mg/L y la mayor capacidad antioxidante (hasta el 100% de inhibición del radical DPPH), así como los mejores parámetros de color. Asimismo, las antocianinas de los hollejos de uva tras la fermentación (residuos de vino tinto) deshidratados a 150 °C mostraron mayor estabilidad que los hollejos de uva fresca sin fermentar deshidratados a la misma temperatura, lo que indica la síntesis de derivados antociánicos más estables durante el proceso fermentativo, que confieren una mayor protección frente a la degradación. Finalmente, nuestros resultados sugieren el potencial de los residuos de uva tinta como fuente de antocianinas, con potencial aplicación en el desarrollo de nuevos productos alimenticios con carácter funcional, contribuyendo al mismo tiempo a reutilizar y/o valorizar estos residuos agroalimentarios.

REFERENCIAS

- Aguilera, M., Reza, M., Chew, R. & Meza, J. (2011). Propiedades funcionales de las antocianinas. *BIOtecnia*, XIII(2), 16-22.
- Arvanitoyannis, I.S., Ladas, D., & Mavromatis, A. (2006). Potential uses and applications of treated wine waste: A review. *International Journal of Food Science and Technology*, 41(5), 475–487. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2005.01111.x>
- Bender, A.B.B., De Mello Luvielmo, M., Loureiro, B.B., Speroni, C.S., Boligon, A.A., Da Silva, L.P., & Penna, N.G. (2016). Obtention and characterization of grape skin flour and its use in an extruded snack. *Brazilian Journal of Food Technology*, 19, e2016010. <https://doi.org/10.1590/1981-6723.1016>
- Bordignon, C.Jr, Francescatto, V., Nienow, A., Calvete, E. & Reginatto, F. (2009). Influence of the extraction solution pH on the content of anthocyanins in strawberry fruits. *Food Science and Technology*, 29(1), 183-188. <http://dx.doi.org/10.1590/S0101-20612009000100028>
- Castañeda-Ovando, A., Pacheco-Hernández, M., Páez-Hernández, M., Rodríguez, J. & Galán-Vidal, C. (2009). Chemical studies of anthocyanins. *Food Chemistry*, 113(4), 859–871. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.09.001>
- Castro-López, C., Rojas, R., Sánchez-Alejo, E.J., Niño-Medina, G., & Martínez-Ávila, G.C.G. (2016). Phenolic compound recovery from grape fruit and by-products: An overview of extraction methods. In A. Morata & I. Loira (Eds.), *Grape and Wine Biotechnology*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/64821>
- Ciappini, M., Stoppani, F., Martinet, R. & Alvarez, M. (2013). Actividad antioxidante y contenido de compuestos fenólicos y flavonoides en mieles de tréboles, eucalipto y alfalfa. *Revista de Ciencia y Tecnología*, 19(1), 45-51.
- Da Silva, J.K., Batista, Â.G., Cazarin, C.B.B., Dionisio, A.P., Brito, E.S., & Marostica-Junior, M.R. (2015). A new functional tea from Brazilian berry: bioactive profile of extract aqueous of jaboticaba peel. *Anais Do Simpósio Latino Americano de Ciências de Alimentos*, 35482. <https://proceedings.science/slaca/slaca-2015/papers/a-new-functional-tea-from-brazilian-berry--bioactive-profile-of-extract-aqueous-of-jaboticaba-peel>
- Del Fresno, J.M., Morata, A., Loira, I., Escott, C., & Suárez Lepe, J.A. (2020). Evolution of the phenolic fraction and aromatic profile of red wines aged in oak barrels. *ACS Omega*, 5(13), 7235–7243. <https://doi.org/10.1021/acsomega.9b03854>

- Díaz, A.B., De Ory, I., Caro, I., & Blandino, A. (2009). Production of hydrolytic enzymes from grape pomace and orange peels mixed substrate fermentation by *Aspergillus awamori*. *Chemical Engineering Transactions*, 17, 1143–1148. <https://doi.org/10.3303/CET0917191>
- Fiori, L. (2007). Grape seed oil supercritical extraction kinetic and solubility data: Critical approach and modeling. *Journal of Supercritical Fluids*, 43(1), 43–54. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2007.04.009>
- Floegel, A., Kim, D.O., Chung, S.J., Koo, S.I., & Chun, O.K. (2011). Comparison of ABTS/DPPH assays to measure antioxidant capacity in popular antioxidant-rich US foods. *Journal of Food Composition and Analysis*, 24(7), 1043–1048. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2011.01.008>
- Garzón, G.A. (2008). Anthocyanins as natural colorants and bioactive compounds. A review. *Acta Biologica Colombiana*, 13(3), 27–36.
- Giusti, M.M., & Wrolstad, R.E. (2001). Characterization and measurement of anthocyanins by UV-visible spectroscopy. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*, 00(1), F1.2.1-F1.2.13. <https://doi.org/10.1002/0471142913.faf0102s00>
- Glories, Y. (1984). La couleur des vins rouges. 2e partie: mesure, origine et interprétation. *OENO One*, 18(4), 253–271. <https://doi.org/10.20870/oenone.1984.18.4.1744>
- Hidalgo, M. (2013). *Antocianos: Metabolismo y Actividad Biológica*. (Tesis Doctoral). Universidad Complutense de Madrid, España. <http://eprints.ucm.es/20093/1/T34345.pdf>
- Jin, B., & Kelly, J.M. (2009). Wine industry residues. In P. Singh nee Nigam & A. Pandey (Eds.), *Biotechnology for agro-industrial residues utilisation: Utilisation of agro-residues* (pp. 293–311). Springer. https://doi.org/10.1007/978-1-4020-9942-7_15
- Kopjar, M. & Piližota, V. (2009). Copigmentation effect of phenolic compounds on red currant juice anthocyanins during storage. *Croatian Journal of Food Science and Technology*, 1(2), 16-20.
- Kopjar, M. Bilić, B. Piližota, V. (2011). Influence of different extracts addition on total phenols, anthocyanin content and antioxidant activity of blackberry juice during storage. *Croatian Journal of Food Science and Technology*, 3, 9-15.
- Li, C., Rodríguez, L.F., Khanna, M., Spaulding, A.D., Lin, T., & Eckhoff, S.R. (2010). An engineering and economic evaluation of quick germ-quick fiber process for dry-grind ethanol facilities: Model description and documentation. *Bioresource Technology*,

- 101(14), 5275–5281. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.01.139>
- Loira, I., Vejarano, R., Morata, A., Ricardo-Da-Silva, J.M., Laureano, O., González, M.C., & Suárez-Lepe, J.A. (2013). Effect of *Saccharomyces* strains on the quality of red wines aged on lees. *Food Chemistry*, 139(1–4), 1044–1051. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.01.020>
- Mazza G. & Francis F.J. (1995). Anthocyanins in grapes and grape products. *Critical Review in Food Science and Nutrition*, 35(4), 341–371. <https://doi.org/10.1080/10408399509527704>
- Min-Sheng, S. & Po-Jung, Ch. (2007). Antioxidant activity, anthocyanins, and phenolics of rabbiteye blueberry (*Vaccinium ashei*) fluid products as affected by fermentation. *Food Chemistry* 104, 182–187.
- Moldovan, B., David, L., Chişbora, C. & Cimpoi, C. (2012). Degradation kinetics of anthocyanins from european cranberrybush (*Viburnum opulus* L.) fruit extracts. Effects of temperature, pH and storage solvent. *Molecules*, 17: 11655–11666.
- Molyneux, P. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, 26(2), 211–219. <https://doi.org/10.1287/isre.6.2.144>
- Monagas, M., Núñez, V., Bartolomé, B., & Gómez-Cordovés, C. (2003). Anthocyanin-derived pigments in Graciano, Tempranillo, and Cabernet Sauvignon wines produced in Spain. *American Journal of Enology and Viticulture*, 54(3), 163–169.
- Morata, A. (2004). *Influencia de la maduración antociánica de la uva y de la biotecnología fermentativa en color, aroma y estructura de los vinos tintos*. (Tesis doctoral). Universidad Politécnica de Madrid, España. <http://oa.upm.es/28/>
- Morata, A., Bañuelos, M.A., Tesfaye, W., Loira, I., Palomero, F., Benito, S., Callejo, M.J., Villa, A., González, M.C., & Suárez-Lepe, J.A. (2015). Electron beam irradiation of wine grapes: Effect on microbial populations, phenol extraction and wine quality. *Food and Bioprocess Technology*, 8(9), 1845–1853. <https://doi.org/10.1007/s11947-015-1540-x>
- Morata, A., Benito, S., Loira, I., Palomero, F., González, M.C., & Suárez-Lepe, J.A. (2012). Formation of pyranoanthocyanins by *Schizosaccharomyces pombe* during the fermentation of red must. *International Journal of Food Microbiology*, 159(1), 47–53. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2012.08.007>
- Morata, A., Loira, I., Vejarano, R., Bañuelos, M.A., Sanz, P.D., Otero, L., & Suárez-Lepe,

- J.A. (2015). Grape processing by high hydrostatic pressure: Effect on microbial populations, phenol extraction and wine quality. *Food and Bioprocess Technology*, 8(2), 277–286. <https://doi.org/10.1007/s11947-014-1405-8>
- OIV. (2020). *Estadísticas de consumo per cápita de vino en Perú*. <http://www.oiv.int/es/statistiques/?year=2016&countryCode=PER>
- Paulino, C., Kessler, A., Ochoa, M. & De Michelis, A. (2013). *Compuestos bioactivos en frutas pequeñas de la Patagonia Argentina: Efecto del solvente de extracción en su determinación cuantitativa*. *ReCiTeIA*, 12(2), 9-21.
- Peng, Y., Zhang, H., Liu, R., Mine, Y., McCallum, J., Kirby, C., & Tsao, R. (2016). Antioxidant and anti-inflammatory activities of pyranoanthocyanins and other polyphenols from staghorn sumac (*Rhus hirta* L.) in Caco-2 cell models. *Journal of Functional Foods*, 20, 139–147. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.10.026>
- Pereira, C. Ramos, P. Zapata, C. Tessaro, I. Ferreira, L. (2010). Degradation kinetics of anthocyanin in blueberry juice during thermal treatment. *Food Science*, 75, 173-176. <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1750-3841.2009.01479.x/abstract>
- Rein M. (2005). *Copigmentation reactions and color stability of berry anthocyanins*. (Thesis). University of Helsinki, Finland. <https://helda.helsinki.fi/bitstream/handle/10138/20822/copigmen.pdf?sequence=1>
- Romero, I. (2008). *Extracción de compuestos fenólicos de la uva al vino. Papel de las enzimas de maceración* [Universidad de Murcia, España]. <https://digitum.um.es/digitum/bitstream/10201/2117/1/RomeroCascales.pdf>
- Sari P, Wijaya, C.W., Sajuthi, D., Supratman, U. (2012). Colour properties, stability, and free radical scavenging activity of jambolan (*Syzygium cumini*) fruit anthocyanins in a beverage model system: Natural and copigmented anthocyanins. *Food Chemistry*, 132, 1908–1914. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.12.025>
- Saucier, C. (2010). How do wine polyphenols evolve during wine ageing? *Cerevisia*, 35(1), 11–15. <https://doi.org/10.1016/j.cervis.2010.05.002>
- Sette, P., Fernandez, A., Soria, J., Rodriguez, R., Salvatori, D., & Mazza, G. (2020). Integral valorization of fruit waste from wine and cider industries. *Journal of Cleaner Production*, 242, 118486. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2019.118486>
- Sousa, A., Mateus, N., Silva, A.M.S., Nonier, M.F., Pianet, I., & De Freitas, V. (2010). Insolation and structural characterization of anthocyanin-furfuryl pigments. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(9), 5664–5669. <http://doi.org/10.1021/jf1000327>

- Taurino, R., Ferretti, D., Cattani, L., Bozzoli, F. (2019). Lightweight clay bricks manufactured by using locally available wineindustry waste. *Journal of Building Engineering*, 26, 100892. <http://doi.org/10.1016/j.jobbe.2019.100892>
- USDA. (2015). *Basics about functional food*. <http://www.ars.usda.gov/SP2UserFiles/Place/00000000/NPS/FinalFunctionalFoodsPDFReadVersion6-25-10.pdf>
- Vejarano, R., Gil-Calderón, A., Díaz-Silva, V., & León-Vargas, J. (2019). Improvement of the bioactive profile in wines and its incidence on human health: Technological strategies. In A. Morata & I. Loira (Eds.), *Advances in Grape and Wine Biotechnology*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.85861>
- Vejarano, R., Morata, A., Loira, I., González, M.C., & Suárez-Lepe, J.A. (2013). Theoretical considerations about usage of metabolic inhibitors as possible alternative to reduce alcohol content of wines from hot areas. *European Food Research and Technology*, 237(3), 281–290. <https://doi.org/10.1007/s00217-013-1992-z>
- Wang, W.D. & Xu, S.Y. (2007). Degradation kinetics of anthocyanins in blackberry juice and concentrate. *Journal of Food Engineering*, 82(3), 271-275. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2007.01.018>
- Waterhouse, A.L. (2002). Wine phenolics. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 957, 21–36. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2002.tb02903.x>
- Wightman, J.D., & Wrolstad, R.E. (1996). β -glucosidase activity in juice-processing enzymes based on anthocyanin analysis. *Journal of Food Science*, 61(3), 544–548. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1996.tb13153.x>
- Yalcin, D., Ozcalik, O., Altioik, E., & Bayraktar, O. (2008). Characterization and recovery of tartaric acid from wastes of wine and grape juice industries. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 94(3), 767–771. <https://doi.org/10.1007/s10973-008-9345-z>
- Zamora, J. (2007). Antioxidantes: Micronutrientes en lucha por la salud. *Revista Chilena de Nutrición*, 34(1), 17-26. <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-75182007000100002>