

# XLIV JORNADAS DE VITICULTURA Y ENOLOGÍA TIERRA DE BARROS

IV Congreso Agroalimentario de Extremadura

CENTRO UNIVERSITARIO SANTA ANA ALMENDRALEJO



Del 3 al 6 de Mayo 2022

XLIV JORNADAS DE VITICULTURA Y ENOLOGÍA  
DE LA TIERRA DE BARROS  
IV CONGRESO AGROALIMENTARIO DE EXTREMADURA

**Edita:**

Centro Universitario Santa Ana  
C/ IX Marqués de la Encomienda, nº 2  
Almendralejo  
Tel. 924 661 689  
<http://www.univsantana.com>

**Colabora:** Cajalmendralejo

**Ilustración de portada:**

© ALBERTO CATILLO

**Diseño original:**

Tecnigraf S.A.

**Maquetación:** Virginia Pedrero

ISBN: 978-84-7930-112-0

D.L.:

Imprime: Impresal

# Empleo de disolventes eutécticos profundos como alternativas para la extracción de polifenoles presentes en la madera de poda de diferentes especies/subespecies de *Vitis*

ALIAÑO-GONZÁLEZ, M.J.<sup>1,2</sup>

DUARTE, H.<sup>1</sup>

SOARES GOMES, V.<sup>1</sup>

CANTOS-VILLAR, E.<sup>3</sup>

MEDRONHO, B.<sup>1,4</sup>

ROMANO, A.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> MED-Mediterranean Institute for Agriculture, Environment and Development, Universidade do Algarve, Faculdade de Ciências e Tecnologia, Campus de Gambelas, Ed. 8, 8005-139 Faro, Portugal.

<sup>2</sup> Departamento de Química Analítica, Facultad de Ciencias, Universidad de Cádiz, 11510 Cádiz, España.

<sup>3</sup> Instituto de Investigación y Formación Agraria y Pesquera (IFAPA), Rancho de la Merced, Junta de Andalucía, Ctra. Trebujena, Km 3.2, P.O. Box 589, Jerez de la Frontera 11471, Cádiz, España.

<sup>4</sup> FSCN, Surface and Colloid Engineering, Mid Sweden University, SE-851 70 Sundsvall, Sweden.

## RESUMEN

Los disolventes eutécticos profundos (DESs) se consideran una subclase de líquidos iónicos que comparten algunas de sus propiedades más importantes, como bajo punto de fusión y baja presión de vapor. Además, los sistemas DES son fáciles de preparar en un estado puro, no requieren la presencia de ningún solvente y no producen residuos. Este hecho acompañado de que muchos de los componentes empleados para la preparación de estos disolventes puedan ser obtenidos de fuentes naturales, como la biomasa, hacen de estos sistemas alternativas prometedoras como disolventes ecológicos.

La madera de poda es uno de los principales subproductos de la vid con una producción media de entre 2 y 5 toneladas por hectárea de viñedo y por año. Dicha madera a veces es empleada como compostaje y, a menudo, quemada de forma controlada, pero no se ha dado ningún valor añadido a la misma. En el presente trabajo se investiga el empleo de DESs como alternativas sostenibles a disolventes químicos para la extracción de polifenoles de la madera de poda con multitud de posteriores aplicaciones basadas en las beneficiosas propiedades de estos compuestos. En concreto se han evaluado tres mezclas de DESs centradas en el uso del ácido levulínico y comparado con el uso de metanol como disolvente estándar químico para la extracción de compuestos fenólicos de sarmientos de nueve especies/subespecies de *Vitis*. Además, se han aplicado y comparado dos técnicas de extracción: la extracción asistida por ultrasonidos y la extracción sólido-líquido.

Los resultados han demostrado un aumento en la concentración de los polifenoles totales extraídos al utilizar los DESs alcanzando la máxima concentración con diferencias significativas en la mezcla de ácido levulínico con ácido fórmico. Además se han observado diferencias significativas entre las diferentes especies/subespecies estudiadas demostrando la influencia genética en el contenido de polifenoles totales. Por último, la extracción asistida por ultrasonidos ha permitido alcanzar un mayor rendimiento en la extracción de compuestos fenólicos de la madera de poda. Se ha concluido que los DESs son alternativas prometedoras como disolventes ecológicos que pueden dar lugar a la extracción de polifenoles a partir de este subproducto favoreciendo la economía circular y disminuyendo notoriamente el impacto ambiental y económico del empleo de disolventes químicos así como la quema de estos subproductos.

**Palabras clave:** polifenoles; sarmientos; especies/subespecies; disolventes eutécticos profundos; alternativas ecológicas.

## ABSTRACT

Deep eutectic solvents (DESs) are considered a subclass of ionic liquids that share some of their most important properties, such as low melting points and low vapor pressure. Furthermore, DES systems are easy to prepare in a pure state, do not require the presence of any solvent, and do not produce residues. These characteristics, together with the fact that many of the components used for the preparation of these solvents can be obtained from natural sources such as biomass, make these systems promising alternatives as ecological solvents.

Vine-shoots is one of the main by-products of the vine with an average production of ca. 2-5 tons per hectare of vineyard and per year. This wood is sometimes used as compost and often burned in a controlled way, but no added value has been given to it. In the present study, the use of DESs as alternatives to traditional chemical solvents for the extraction of polyphenols from vine-shoot is investigated, with many subsequent applications based on the beneficial properties of these compounds. Specifically, three mixtures of DESs focused on the use of levulinic acid and compared with the use of methanol as a standard chemical solvent for the extraction of phenolic compounds from vine-shoots of nine species/subspecies of *Vitis* have been evaluated. In addition, two extraction techniques have been applied: ultrasound-assisted extraction and solid-liquid extraction.

The results have shown an increase in the concentration of total polyphenols extracted when using DESs, reaching the maximum yield (with significant differences) for the mixture of levulinic acid with formic acid. In addition, significant differences have been observed between the different species/subspecies studied, demonstrating the genetic influence on the content of total polyphenols. Lastly, ultrasound-assisted extraction has made it possible to achieve higher yields in the extraction of phenolic compounds from pruning wood. It has been concluded that DESs are promising alternatives as ecological solvents that can lead to the extraction of polyphenols from this by-product, favoring the circular economy and significantly reducing the environmental and economic impact of the use of chemical solvents as well as adding value to these by-products.

## INTRODUCCIÓN

El vino es una de las bebidas alcohólicas consumidas más antiguas del mundo debido a su sabor y aroma. Durante los últimos años, muchos investigadores han estudiado el efecto del consumo de vino en la salud humana con resultados prometedores como “La paradoja francesa” [1], que ha demostrado efectos protectores del vino frente a importantes enfermedades cardiovasculares. Además, muchas de estas investigaciones han probado una importante actividad de los polifenoles del vino en la prevención de enfermedades neurológicas, cáncer y diabetes [2,3]. Sin duda, la producción de vino es una parte clave de la economía del sector primario y de la industria alimentaria de múltiples países. De hecho, España es el país con mayor superficie de viñedo, con un total de 966 mha en 2020 [4].

Sin embargo, la vinificación es también un proceso de múltiples etapas dónde se produce una gran cantidad de desechos, como es el caso de los sarmientos que cada año pueden alcanzar entre 2-5 t/ha de viñedo [5]. Durante muchos años estos residuos de madera se han empleado como compostaje debido a su alto contenido en compuestos de interés para la tierra como son los minerales o las proteínas [6]. Más recientemente, son muchos los agricultores que han optado por una quema controlada para evitar una posible contaminación por hongos, siendo en definitiva uno de los subproductos con menor valor añadido dentro de la industria del vino [7]. Estos hechos han impulsado a muchos investigadores a un estudio en mayor profundidad de estos sarmientos, su composición y su posible revaloración en aplicaciones alternativas. Los resultados obtenidos demostraron que los sarmientos no solo son ricos en minerales y proteínas sino que además presentan un interesante contenido en polifenoles.

Los polifenoles son compuestos bioactivos que han demostrado tener propiedades antioxidantes, antienvjecimiento, antiinflamatorias, antibacterianas y antifúngicas entre otras [3,8]. Desde su descubrimiento estos compuestos han sido aplicados en multitud de campos con muchos beneficios, desde la propia agricultura como antifúngicos o bioestimulantes hasta la medicina en la prevención de múltiples enfermedades [9,10]. Basados en sus propiedades beneficiosas, algunos investigadores han centrado sus estudios en la extracción de polifenoles de madera de poda.

Ferreyra et al., [11] simularon una digestión gastrointestinal *in vitro* en sarmientos de la variedad Malbec e identificaron las principales familias de

compuestos fenólicos como ácidos fenólicos, estilbenos, flavanoles, flavanonas y flavonoles. Técnicas como la extracción Soxhlet o la extracción asistida por ultrasonido (USE) se han utilizado comúnmente para estas investigaciones. Es por ejemplo el caso de Barros et al., que emplearon la USE para el análisis de la madera de poda de siete variedades portuguesas llegando a identificar una amplia variedad de compuestos de las familias de los flavanoles, flavonoles, ácidos hidroxicinámicos, antocianinas y estilbenos.

Los solventes eutécticos profundos (DES) se consideran una subclase de líquidos iónicos, ya que comparten algunas de sus propiedades más importantes, como su bajo punto de fusión y presión de vapor [13]. La mayoría de los compuestos utilizados para el desarrollo de estos solventes se pueden obtener de diferentes fuentes renovables, como la biomasa (por ejemplo, madera, almidón y desechos agrícolas), a través de diferentes tratamientos ácidos deshidratantes [14]. En este sentido, las mezclas de cationes y aniones naturales de origen biológico (DES natural, también conocidos como NADES), como los obtenidos a partir de ácidos orgánicos naturales, aminoácidos, edulcorantes no nutritivos o compuestos naturales, como la colina o la betaína, son candidatos prometedores para obtener disolventes totalmente “verdes”, favoreciendo así las estrategias sostenibles de la Unión Europea, como la economía circular o los objetivos de residuo cero. Estos solventes han sido empleados anteriormente con éxito para la extracción de compuestos bioactivos como la lignina desde madera de poda de diferentes árboles [15]. Sin embargo, para el mejor de los conocimientos de los autores nunca han sido empleados para la extracción de compuestos fenólicos de la madera de poda.

Por tanto, el principal objetivo de esta investigación es el estudio de alternativas sostenibles a los disolventes químicos clásicos para la extracción de polifenoles desde los residuos de madera de poda. Encontrar disolventes alternativos que faciliten la extracción de estos compuestos tiene un alto impacto a grandes niveles: (i) medioambiental: al proponer alternativas sostenibles a la quema de esta madera reduciendo el impacto medioambiental y los compuestos tóxicos liberados a la atmósfera así como la reducción parcial o total del uso de compuestos químicos empleados durante la extracción. Además, es importante recordar que el uso de ciertos compuestos químicos durante la extracción requiere de múltiples pasos de purificación posteriores cuando la aplicación de estos extractos enriquecidos en polife-

noles van a ser aplicados en nutrición, cosmética o medicina conllevando así un mayor gasto energético. (ii) económica: proponer métodos alternativos que permitan la extracción de polifenoles de los residuos de madera de poda da una segunda vida útil a estos subproductos de la vid favoreciendo la economía circular. Es importante recordar también que los DESs en su mayoría pueden ser obtenidos de otros subproductos renovables como la madera, almidón y desechos. (iii) investigación y desarrollo: el uso de químicos durante las extracciones limita en gran medida las aplicaciones de los extractos de polifenoles, por lo que el uso de disolventes sostenibles podría ampliar notoriamente los horizontes en las aplicaciones de estos compuestos. Igualmente el uso de disolventes obtenidos de subproductos que actualmente no tienen una aplicación real también reduciría su coste haciéndolos más asequibles. Por último, el empleo de métodos de extracción “sencillos” como la extracción sólido-líquido o baño de ultrasonidos facilita la extracción de dichos compuestos en grupos de investigación que no cuentan con un equipamiento complejo. Por este motivo, contar con disolventes alternativos para la extracción de polifenoles desde residuos de madera de poda supone un impacto sustancial en muchos niveles de la sociedad.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Reactivos

Para la extracción de polifenoles a partir de los residuos de madera de poda se emplearon los siguientes disolventes: metanol, cloruro de colina (ChCl) (Thermo Fisher Scientific, Massachusetts, Estados Unidos), ácido levulínico (LA) y ácido fórmico (FA) (Merck, Darmstadt, Alemania) todos de grado analítico. Cuando fue necesario, el agua empleada fue del grado destilada.

Los disolventes probados en esta investigación fueron: (i) una disolución de MeOH:H<sub>2</sub>O (70:30, % v/v) como disolvente estándar “químico”; (ii) una disolución de LA:H<sub>2</sub>O (30:60% v/v); (iii) una disolución LA:FA (70:30, % v/v) que posteriormente fue diluida en agua con el fin de rebajar su viscosidad y facilitar la extracción hasta obtener una disolución LA/FA:H<sub>2</sub>O (30:60, % v/v); y (iv) una disolución LA:ChCl (70:30, % v/v) que posteriormente fue diluida en agua hasta obtener una disolución LA/ChCl:H<sub>2</sub>O (30:60, % v/v).

## Muestras

Para esta investigación se seleccionaron un total de 9 especies de *Vitis* (entre paréntesis se muestra su producción media de peso fresco [fw: *fresh weight*] por vid): *V. arizona* (0.258 kg fw), *V. candicans* (2.090 kg fw), *Vx champinii* (0.657 kg fw), *V. cinerea* (0.295 kg fw), *V. coriacea* (0.458 kg fw), *V. cordifolia* (0.161 kg fw), *V. doaniana* (1.727 kg fw), *V. girdiana* (0.978 kg fw), y *V. rupestris* (1.045 kg fw). Estas plantas se cultivaron en la viña experimental del IFAPA “Rancho de La Merced” en Jerez de la Frontera (SW Spain, long. 06:00:58 W, lat. 36:45:29 N). La información genealógica sobre estas plantas y su distribución se encuentran en la Tabla 1. Se contó con siete especies y dos subespecies de diferente procedencia con la finalidad de mantener una amplia heterogeneidad.

Los residuos de madera de poda, también llamada sarmientos, de todas las especies seleccionadas se recolectaron en enero del 2017 en plantas que no presentasen visualmente ningún tipo de daño por ataque fúngico.

## Tratamiento y extracción de muestras

Una vez recolectada la madera de poda de la vid de cada especie/subespecie se cortaron en piezas pequeñas y fueron secadas a 40 °C hasta la estabilización de su peso. Posteriormente, se molieron hasta polvo en un Molino de bolas (MM 400, Retsch, Alemania) a 30 Hz durante 3 minutos y se almacenaron en seco hasta su extracción.

Para la USE se empleó un baño de ultrasonidos Elmasonic S 100 H (220-240 V, 550 W) (Elma Hans Schmidbauer GmbH & Co. KG, Singen, Germany) con un baño de 9 L de agua con control de temperatura. Para la extracción 0.5 gr de muestra fueron pesados en un matraz Erlenmeyer, a los que se añadieron 10 mL del disolvente correspondiente para cada extracción. Las muestras fueron introducidas en el baño a 60 °C durante 30 min y a una frecuencia de 37 kHz. Todas las extracciones se llevaron a cabo por duplicado.

Para la extracción sólido-líquido (SLE) se utilizó un recipiente de teflón de 15 mL dentro de un recipiente de acero inoxidable de 3 mm de espesor. Para cada ensayo se introdujeron 0.5 gr de muestra y se agregaron 10 mL del disolvente correspondiente. Debido a la sencillez del reactor, no es posible medir ni controlar la presión que se genera en su interior. Sin embargo, el trabajo preliminar sugiere que un reactor no cerrado completamente maxi-

miza el rendimiento de polifenoles sin degradación del compuesto y, por lo tanto, esas condiciones se imitaron aquí. Finalmente, el recipiente se colocó en un horno a 60 °C durante 30 min. Todas las extracciones se realizaron por duplicado.

Posteriormente, los extractos obtenidos por ambas técnicas fueron filtrados a vacío con un embudo Buchner empleando filtros de membrana de 5 µm, y trasvasados a matraces aforados de 10 mL y enrasados con el disolvente correspondiente. Estos extractos fueron conservados en oscuridad y a 5 °C hasta su análisis.

### **Espectroscopia Ultravioleta-Visible (UV-Vis)**

Para la evaluación de la idoneidad de los disolventes alternativos así como los diferentes métodos de extracción en la obtención de extractos enriquecidos en polifenoles se empleó como variable respuesta el índice total de polifenoles (TPI). Para ello, los extractos fueron analizados mediante un espectrofotómetro Genesys 10uv (Thermo scientific, Massachusetts, Estados Unidos) en la longitud de onda de 280 nm. Se empleó como referencia una curva de calibrado de ácido gálico (Merck, Darmstadt, Alemania) entre 0 y 28 mg/L para obtener la concentración total de polifenoles en los extractos. Este rango fue seleccionado en base a las concentraciones normalmente encontradas en la bibliografía para la madera de poda [11,12] mainly phenolic compounds (PCs. Los datos de concentración recogidos durante este estudio han sido expresados como mg/g de peso seco (dw: *dry weight*).

### **Tratamiento de datos**

Con el objetivo de estudiar la influencia de los factores seleccionados (i.e., disolvente y técnica de extracción) se llevó a cabo un análisis de varianza (ANOVA) empleando para ello el software estadístico IBM SPSS versión 22.0 (Armonk, NY, USA). Se compararon las medias y se agruparon acorde a la diferencia menos significativa (LSD: *Least Significant Difference*) y al test de Fisher considerando una significancia del 95% ( $p$ -valor  $\leq 0.05$ ).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Extracción asistida por ultrasonidos

En primer lugar se llevó a cabo el análisis de los polifenoles totales extraídos de las 9 especies/subespecies de *Vitis* empleando la USE. Se calculó el promedio entre las dos réplicas extraídas en las mismas condiciones y se empleó el coeficiente de variación (C.V.) con el fin de asegurar una buena repetibilidad de los resultados. En todas las extracciones el C.V. fue menor del 10% asegurando así la buena calidad de los datos recogidos. El perfil de cada variedad en función del disolvente empleado puede ser encontrado en la Figura 1. Tal y como puede observarse, se detectaron diferencias en la concentración de polifenoles extraídos en función de la naturaleza del mismo. En todos los casos se demostró que el uso de disolventes sostenibles basados en LA incrementaba la concentración de compuestos fenólicos extraídos. Se observó que la combinación de LA con ChCl fue la que incrementó esta concentración en menor medida, seguida del LA puro y por último, la mezcla de LA con FA fue la que alcanzó al máxima concentración de polifenoles extraídos.

Con el fin de estudiar en mayor profundidad estos resultados se llevó a cabo un ANOVA de dos factores. En relación al disolvente empleado se obtuvieron diferencias significativas entre las cuatro posibilidades testadas, con un  $p$ -valor de  $9.01 \cdot 10^{-37}$  y un valor F de 625.85. Por tanto, se concluye que existen diferencias significativas en la concentración de polifenoles totales obtenidos en función del disolvente empleado y que los DESs representan alternativas prometedoras para la extracción de compuestos fenólicos de madera de poda empleando baños de ultrasonidos.

Por otro lado, se detectó que la concentración obtenida variaba notoriamente en función de la especie/subespecie analizada. En este caso, la especie *V. candicans* alcanzó la mayor concentración de compuestos fenólicos (Figura 1) con una concentración promedio de  $6.20 \pm 0.01$  mg/g dw cuando LA/FA fue empleado. *V. rupestris* fue la especie con menor concentración de compuestos fenólicos, con un valor promedio de  $2.54 \pm 0.11$  mg/g dw cuando LA/FA fue empleado. Estos datos fueron también analizados mediante el ANOVA obteniendo un  $p$ -valor de  $1.70 \cdot 10^{-45}$  y un valor F de 512.13, demostrando así claramente la influencia del factor genético en la concentración de polifenoles totales obtenidos de cada especie/subespecie. Por

último, se analizaron ambas variables a través del ANOVA de dos factores obteniendo un  $p$ -valor de  $1.81 \cdot 10^{-5}$  y un valor F de 6.26, lo que demostró una clara interacción entre el disolvente empleado así como la especie/subespecie estudiada influyendo significativamente en la concentración de polifenoles totales extraídos de la madera de poda.

### Extracción sólido-líquido

De manera similar al enfoque utilizado anteriormente para la USE, los extractos también se obtuvieron a través del método SLE. Se calculó el promedio entre las réplicas y el C.V. obteniendo valores menores al 10% en todos los casos asegurando de nuevo la calidad de los datos. El perfil de los polifenoles totales promedios para cada especie puede ser encontrado en la Figura 1. Al igual que en la USE, las extracciones llevadas a cabo con DESs permitieron alcanzar un mayor rendimiento y concentración de polifenoles extraídos mediante SLE. Además, se observó que la combinación de LA/ChCl aumentó la concentración de polifenoles extraídos en comparación con el uso de disolventes “químicos” pero fue la que alcanzó el menor rendimiento de todos los DESs evaluados. La mezcla LA/FA de nuevo consiguió el máximo contenido de polifenoles totales extraídos en las 9 especies/subespecies estudiadas. Se llevó a cabo un ANOVA considerando los diferentes disolventes empleados para este estudio y se obtuvieron diferencias significativas entre los cuatro con un  $p$ -valor de  $7.03 \cdot 10^{-29}$  (notoriamente inferior a 0.05) y un valor F de 788.86. Se demostró así la influencia del disolvente en la extracción de los polifenoles empleado la SLE a partir de madera de poda, y como la mezcla entre LA/FA permitió alcanzar el máximo rendimiento.

En relación al efecto de las especies/subespecies estudiadas, de nuevo la *V. Candicans* alcanzó la máxima concentración de polifenoles totales con un contenido promedio de  $3.22 \pm 0.76$  mg/g dw. *V. rupestris* fue la especie con la menor concentración con un contenido promedio de  $0.91 \pm 0.47$  mg/g dw. Estos datos fueron analizados mediante una ANOVA obteniendo un  $p$ -valor de  $2.80 \cdot 10^{-31}$  y un valor F de 552.45, demostrando la influencia de la especie en la concentración de polifenoles totales. Por último, se llevó a cabo un ANOVA de dos factores con el fin de estudiar la posible interacción entre ambas variables en la SLE y su influencia en el contenido de los polifenoles extraídos de la madera de poda. Se obtuvo un  $p$ -valor de  $8.19 \cdot 10^{-3}$  demostrando así la influencia de esta interacción en la extracción

de los polifenoles de madera de poda y un valor F de 6.05. Por tanto, se concluyó que la SLE puede ser empleada para la extracción de compuestos fenólicos a partir de la madera de poda obteniendo extractos enriquecidos con concentraciones de hasta 3.22 mg/g dw, y que los DESs presentan una alternativa prometedora para este fin.

### **Comparativa de las técnicas de extracción**

Por último se llevó a cabo un análisis comparativo de ambas técnicas de extracción. Para ello se calculó el promedio de los polifenoles totales para todas las especies/subespecies en función del disolvente empleado, y procedió a compararse dicho promedio en función de la técnica de extracción seleccionada (Figura 2). Tal y como puede observarse existe una diferencia clara entre ambas técnicas alcanzando una concentración significativamente mayor cuando USE fue empleada en vez de SLE. En este caso la concentración máxima alcanzada por USE fue cuando se empleó la mezcla LA/FA con una concentración promedio de  $3.95 \pm 1.40$  mg/g dw. En el caso de la SLE para el mismo disolvente la concentración fue de  $2.60 \pm 0.85$  mg/g dw. Por tanto, puede concluirse que la USE es la mejor alternativa en combinación con los DESs para la obtención de extractos enriquecidos en polifenoles a partir de residuos de madera de poda.

### **CONCLUSIONES**

En la presente investigación se ha demostrado la idoneidad de los DESs como disolventes alternativos para la extracción de polifenoles de la madera de poda de vid. Aunque se ha visto que el uso de ácido levulínico contribuyó a aumentar la concentración de polifenoles extraídos tanto en la extracción asistida por ultrasonidos como en la extracción sólido-líquido, se observó que cuando este ácido se combinaba en pequeña proporción con ácido fórmico el rendimiento incrementaba considerablemente. Por tanto, se concluyó la posibilidad de utilizar estos disolventes de origen natural para la sustitución parcial o total de los sistemas agresivos tradicionales no sostenibles, permitiendo la obtención de extractos naturales que podrían valorizarse en multitud de campos. Teniendo en cuenta las características verdes de los sistemas basados en LA estudiados y el notable rendimiento de extracción de polifenoles, se puede considerar que los sistemas basados en ácido levulínico explorados en este trabajo son muy prometedores para

futuras aplicaciones a gran escala, contribuyendo así fuertemente a valorizar los residuos de poda en nuevos productos químicos de valor añadido o materiales de base biológica.

Además, se ha observado que existen diferencias significativas entre las especies estudiadas, siendo en todos los casos la *V. candicans* la que alcanzó una mayor concentración y la *V. rupestris* la de menor concentración, a la espera de la futura identificación de cada uno de los compuestos fenólicos extraídos para la evaluación de cómo los disolventes y/o técnicas de extracción pueden favorecer selectivamente la extracción de diferentes familias de compuestos.

Finalmente, se han observado diferencias significativas en cuanto a la técnica de extracción, siendo el proceso asistido por ultrasonidos el que resultó en un mayor rendimiento de compuestos fenólicos extraídos de los residuos de madera de poda.

En general, creemos que este trabajo contribuye a la valorización de los residuos de madera de poda a través de la obtención de compuestos de valor agregado (polifenoles) con impacto potencial en varias áreas utilizando enfoques de extracción más sostenibles y, por lo tanto, alineados con varios de los objetivos de sostenibilidad de la ONU.

## REFERENCIAS

1. Ferrières, J. The French Paradox: Lessons for Other Countries. *Heart*, 2004, 90, 107–111, doi:10.1136/heart.90.1.107.
2. Artero, A.; Artero, A.; Tarín, J.J.; Cano, A. The Impact of Moderate Wine Consumption on Health. *Maturitas*, 2015, 80, 3–13, doi:10.1016/j.maturitas.2014.09.007.
3. Vecchio, R.; Decordi, G.; Grésillon, L.; Gugenberger, C.; Mahéo, M.; Jourjon, F. European Consumers' Perception of Moderate Wine Consumption on Health. *Wine Economics and Policy*, 2017, 6, 14–22, doi:10.1016/j.wep.2017.04.001.
4. Actualidad-Oiv-de-La-Coyuntura-Del-Sector-Vitivin-Cola-Mundi. Pdf.
5. Arvanitoyannis, I.; Ladas, D.; Mavromatis, A. Potential Uses and Applications of Treated Wine Waste: A Review. *International Journal of Food Science & Technology*, 2006, 41, 475–487, doi:10.1111/j.1365-2621.2005.01111.x.
6. Jesus, M.S.; Genisheva, Z.; Romani, A.; Pereira, R.N.; Teixeira, J.A.; Domingues, L. Bioactive Compounds Recovery Optimization from Vine Pruning Residues Using Conventional Heating and Microwave-Assisted Extraction Methods. *Industrial Crops and Products*, 2019, 132, 99–110, doi:10.1016/j.indcrop.2019.01.070.
7. Çetin, E.S.; Altinöz, D.; Tarçan, E.; Göktürk Baydar, N. Chemical Composition of Grape Canes. *Industrial Crops and Products*, 2011, 34, 994–998, doi:10.1016/j.indcrop.2011.03.004.
8. Visioli, F.; Panaite, S.-A.; Tomé-Carneiro, J. Wine's Phenolic Compounds and Health: A Pythagorean View. *Molecules*, 2020, 25, 4105, doi:10.3390/molecules25184105.
9. Renaud, S.; Lorgeiril, M. de Wine, Alcohol, Platelets, and the French Paradox for Coronary Heart Disease. *The Lancet*, 1992, 339, 1523–1526, doi:10.1016/0140-6736(92)91277-F.

10. Grønbaek, M.; Becker, U.; Johansen, D.; Gottschau, A.; Schnohr, P.; Hein, H.O.; Jensen, G.; Sørensen, T.I.A. Type of Alcohol Consumed and Mortality from All Causes, Coronary Heart Disease, and Cancer. *Ann Intern Med*, 2000, 133, 411–419, doi:10.7326/0003-4819-133-6-200009190-00008.
11. Ferreyra, S.; Torres-Palazzolo, C.; Bottini, R.; Camargo, A.; Fontana, A. Assessment of In-Vitro Bioaccessibility and Antioxidant Capacity of Phenolic Compounds Extracts Recovered from Grapevine Bunch Stem and Cane by-Products. *Food Chem.*, 2021, 348, 129063, doi:10.1016/j.foodchem.2021.129063.
12. Barros, A.; Gironés-Vilaplana, A.; Teixeira, A.; Collado-González, J.; Moreno, D.A.; Gil-Izquierdo, A.; Rosa, E.; Domínguez-Perles, R. Evaluation of Grape (*Vitis Vinifera* L.) Stems from Portuguese Varieties as a Resource of (Poly)Phenolic Compounds: A Comparative Study. *Food Res. Int.*, 2014, 65, 375–384, doi:10.1016/j.foodres.2014.07.021.
13. Melro, E.; Filipe, A.; Valente, A.J.M.; Antunes, F.E.; Romano, A.; Norgren, M.; Medronho, B. Levulinic Acid: A Novel Sustainable Solvent for Lignin Dissolution. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2020, 164, 3454–3461, doi:10.1016/j.ijbiomac.2020.08.128.
14. Magalhães, S.; Filipe, A.; Melro, E.; Fernandes, C.; Vitorino, C.; Alves, L.; Romano, A.; Rasteiro, M.G.; Medronho, B. Lignin Extraction from Waste Pine Sawdust Using a Biomass Derived Binary Solvent System. *Polymers*, 2021, 13, 1090, doi:10.3390/polym13071090.
15. Fernandes, C.; Melro, E.; Magalhães, S.; Alves, L.; Craveiro, R.; Filipe, A.; Valente, A.J.M.; Martins, G.; Antunes, F.E.; Romano, A.; et al., New Deep Eutectic Solvent Assisted Extraction of Highly Pure Lignin from Maritime Pine Sawdust (*Pinus Pinaster* Ait.). *International Journal of Biological Macromolecules*, 2021, 177, 294–305, doi:10.1016/j.ijbiomac.2021.02.088.

## FIGURAS Y TABLAS

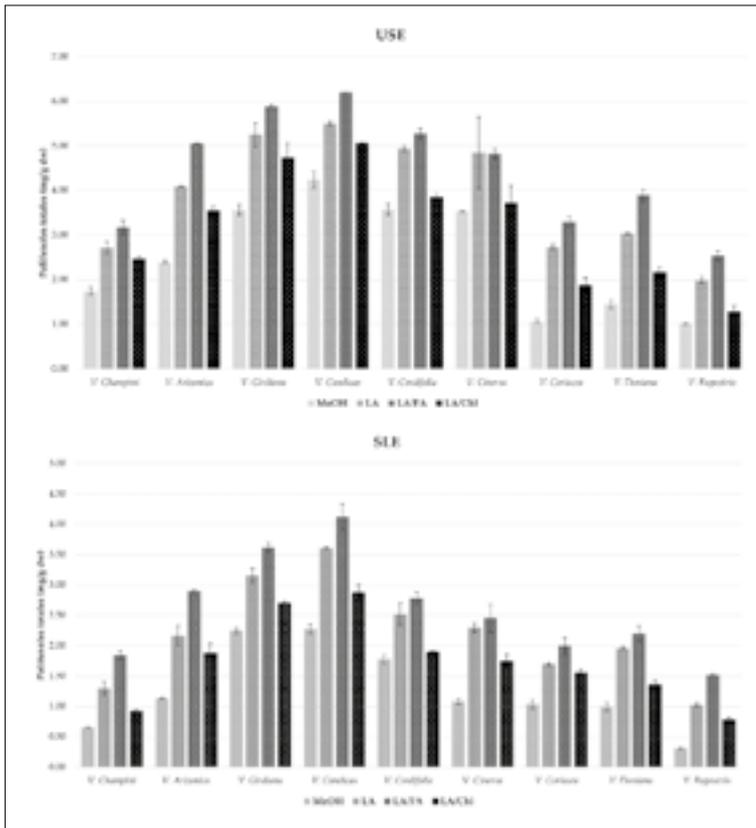
**Tabla 1.** Nombre de cada una de las especies/subespecies seleccionadas para este estudio e información sobre su origen y distribución.

<i>Vitis</i>	Información adicional	Distribución
<i>V. arizonica</i>	Especie europea-asiática	California, Arizona, Nevada, Nuevo México, suroeste de Texas, sur de Utah, Sonora, Chihuahua, Coahuila, Durango, y Tamaulipas
<i>V. candicans</i> o <i>V. mustangensis</i>	Especie americana	Mississippi, Alabama, Louisiana, Texas y Oklahoma
<i>Vx champinii</i>	Subespecie americana ( <i>V. candicans</i> X <i>V. rupestris</i> )	Texas
<i>V. cinereal</i>	Especie americana	Missouri, Louisiana, Texas, Illinois, y Florida
<i>V. coriacea</i>	Especie americana	Alabama
<i>V. cordifolia</i>	Especie americana	Estados Unidos y Ontario (Canadá)
<i>Vx doaniana</i>	Subespecie americana ( <i>V. mustangensis</i> X <i>V. acerifolia</i> )	Oklahoma, Colorado, Texas, y Nuevo México
<i>V. girdiana</i>	Especie americana	California y México
<i>V. rupestris</i>	Especie americana	Missouri, Arkansas, Pennsylvania, Oklahoma, San Francisco y Texas.

**Tabla 2.** Concentración promedio  $\pm$  desviación estándar de los polifenoles totales (mg/g dw) obtenida para cada especie y para cada uno de los disolventes testados para la extracción en baño de ultrasonidos y extracción sólido-líquido. Resultados del ANOVA; los datos dentro de la misma fila con letras (a-h) en superíndice diferentes indican una diferencia con un nivel de significancia del 95%.

Extracción por ultrasonidos											
Especie / Subespecie	<i>V. Champini</i>	<i>V. Arizonica</i>	<i>V. Giradiana</i>	<i>V. Candicans</i>	<i>V. Cordifolia</i>	<i>V. Cinerea</i>	<i>V. Coriacea</i>	<i>V. Doniana</i>	<i>V. Rupestris</i>	<i>p</i> -value	F
Polifenoles totales (mg/g dw)	2.52 $\pm$ 0.56 <sup>de</sup>	3.77 $\pm$ 1.03 <sup>f</sup>	4.86 $\pm$ 0.93 <sup>h</sup>	5.21 $\pm$ 0.82 <sup>i</sup>	4.41 $\pm$ 0.77 <sup>g</sup>	4.23 $\pm$ 0.73 <sup>g</sup>	2.24 $\pm$ 0.91 <sup>c</sup>	2.64 $\pm$ 0.98 <sup>e</sup>	1.71 $\pm$ 0.64 <sup>b</sup>	1.70 $\cdot 10^{-45}$	512.13
Disolvente	MeOH		LA		LA/FA		LA/ChCl		<i>p</i> -value	F	
Polifenoles totales (mg/g dw)	2.13 $\pm$ 1.18 <sup>a</sup>		3.38 $\pm$ 1.37 <sup>c</sup>		3.95 $\pm$ 1.40 <sup>d</sup>		2.79 $\pm$ 1.27 <sup>b</sup>		9.01 $\cdot 10^{-37}$	625.85	
Especie * Disolvente										1.81 $\cdot 10^{-5}$	6.26
Extracción sólido-líquido											
Especie / Subespecie	<i>V. Champini</i>	<i>V. Arizonica</i>	<i>V. Giradiana</i>	<i>V. Candicans</i>	<i>V. Cordifolia</i>	<i>V. Cinerea</i>	<i>V. Coriacea</i>	<i>V. Doniana</i>	<i>V. Rupestris</i>	<i>p</i> -value	F
Polifenoles totales (mg/g dw)	1.18 $\pm$ 0.48 <sup>b</sup>	2.02 $\pm$ 0.68 <sup>e</sup>	2.96 $\pm$ 0.59 <sup>g</sup>	3.22 $\pm$ 0.76 <sup>h</sup>	2.25 $\pm$ 0.46 <sup>f</sup>	1.92 $\pm$ 0.61 <sup>de</sup>	1.86 $\pm$ 0.54 <sup>d</sup>	1.63 $\pm$ 0.51 <sup>c</sup>	0.91 $\pm$ 0.47 <sup>a</sup>	2.80 $\cdot 10^{-31}$	552.45
Disolvente	MeOH		LA		LA/FA		LA/ChCl		<i>p</i> -value	F	
Polifenoles totales (mg/g dw)	1.28 $\pm$ 0.68 <sup>a</sup>		2.19 $\pm$ 0.83 <sup>c</sup>		2.60 $\pm$ 0.85 <sup>d</sup>		1.75 $\pm$ 0.71 <sup>b</sup>		7.03 $\cdot 10^{-29}$	788.86	
Especie * Disolvente										8.19 $\cdot 10^{-3}$	6.05

**Figura 1.** Concentración promedio de los polifenoles totales extraídos de la madera de poda de cada una de las especies/subespecies de *Vitis* para la extracción asistida por ultrasonido (USE) y la extracción sólido-líquido (SLE). La desviación típica para las dos réplicas de cada uno de los experimentos se expresó en forma de barras de error.



**Figura 2.** Concentración promedio de los polifenoles totales extraídos en función del disolvente y la técnica de extracción empleada. La desviación típica del promedio de todas las especies/subespecies se expresó en forma de barras de error.

