



Máster en Investigación Química y Química Industrial (2019/2020)

Compuestos fenólicos en residuos agroforestales: Una revisión de técnicas de extracción y fuentes disponibles

Phenolic compounds in agroforestry wastes: A review of extraction techniques and sources available

Centro: Centro Tecnológico de Investigación Multidisciplinar (CETIM)

Alumno: David Rodríguez Rodríguez

Tutor Académico: Jesús José Fernández Sánchez

Tutor CETIM: Julio Fierro Fernández

Convocatoria: Septiembre de 2020

Agradecimientos

Probablemente, dadas las circunstancias actuales, este año los agradecimientos adquieran más sentido que nunca. Ha sido un año complicado, intenso y bastante atípico. ¿Quién nos diría en Septiembre que estaríamos viviendo una distopía digna de una película de Ridley Scott? ¿Quién podría haber previsto esta “nueva normalidad”?

Sin duda, han sido meses muy difíciles para todos, meses que han supuesto un desafío y un aprendizaje que esperamos que permanezca en las memorias y nos permita no cometer los mismos errores en un futuro cada vez más incierto. Y, sin embargo, también ha habido cosas buenas; hay que quedarse con lo positivo, a fin de cuentas.

Para hablar de cosas buenas, principalmente debería citar a mis compañeros de viaje a través de este inusual año académico; juntos y como una especie de familia disfuncional inesperada, hemos compartido probablemente uno de los años más extraños de nuestras vidas. Gracias a vosotros, también ha habido risas y experiencias que no se dejan empañar ni por el covid-19 ni por los 18 anteriores.

Ha sido un año atípico, pero sin duda lo habría sido más de no contar con la presencia de mis antiguos compañeros de faena. Gracias a la comisaria de fiestas, al nacional nacionalista y al mejor (dicen) camarero de Coruña (y ahora también alrededores), con vosotros, todo se hace más fácil.

Por segundo año consecutivo, toca reservar el lugar de honor para los de siempre, mis Zamtásticos y asociados. Para vuestra desgracia, ya son tantos años de historia que hemos visto como Barbé pasaba de tener melena a visitar Turquía. No te preocupes Carlos, para todo hay solución en esta vida (menos para el coronavirus, de momento, pero estamos trabajando en “eio”). Gracias por estar ahí siempre que se os necesita y esperamos que esto siga siendo así durante muchos años más.

Por último, y no por ello menos importante, agradecer a mi familia todo lo que me ha enseñado, prepandemia o postpandemia, el 90% de lo bueno que llevo dentro os lo debo a vosotros (lo malo también pero sólo lo comentaré en presencia de mi abogado). Y especialmente, gracias a mi madre, que me lleva sacando adelante un cuarto de siglo y sin la cual nada de esto habría sido posible.

Índice

1. Resumen/ Summary	1
2. Introducción.....	3
2.1. Compuestos fenólicos, ¿qué son?	3
2.2. Biosíntesis de Compuestos Fenólicos	4
2.3. Clasificación de los Compuestos Fenólicos	7
2.4. Propiedades de los Compuestos Fenólicos	13
2.5. Los Compuestos Fenólicos en la salud humana.....	16
3. Objetivos	17
4. Extracción de Compuestos fenólicos.....	18
4.1. Método Soxhlet	18
4.2. Extracción Asistida por Ultrasonidos.....	19
4.3. Extracción con Líquidos Eutécticos.....	20
4.4. Extracción con agua caliente a presión	20
4.5. Extracción Asistida por Microondas	21
5. Composición fenólica de los extractos de origen vegetal	23
5.1. Familia <i>Allium</i>	23
5.2. Familia <i>Pinaceae</i>	25
5.3. Familia <i>Vitis</i> / Residuos vitivinícolas	27
5.4. Residuos de alperujo de la industria del aceite de oliva.....	29
6. Modelo de aprovechamiento de residuos de origen vegetal.....	31
6.1. Compuestos fenólicos en residuos de especies de <i>Allium</i>	32
6.1.1. Compuestos Fenólicos Totales en desechos de puerro	32
6.1.2. Compuestos Fenólicos Totales en desechos de ajo.....	34
6.1.3. Compuestos fenólicos totales en desechos de cebolla	36
6.2. Compuestos fenólicos en residuos de especies pináceas.....	38
6.3. Compuestos fenólicos en residuos vinícolas (<i>Vitis vinífera</i>)	41
6.4. Compuestos fenólicos en residuos producidos en residuos de aceite de oliva.....	43
6.5. Comparativa final	46
7. Conclusiones/ Conclusions.....	48
8. Bibliografía	51
Anexo I: Técnicas de Determinación de Fenoles Totales y determinación de la capacidad antioxidante	65
Determinación de Compuestos Fenólicos Totales (TPC, <i>Total Phenolic Compounds</i>)....	65
Determinación de la Actividad Antioxidante de compuestos fenólicos	66

Índice de Ilustraciones

Ilustración 1. Relaciones entre los diferentes metabolitos de origen vegetal	4
Ilustración 2. Ruta del ácido shikímico	5
Ilustración 3. Primera fase de la ruta del acetato-malonato	6
Ilustración 4. Relaciones entre las rutas metabólicas de los vegetales	7
Ilustración 5. Clasificación de los compuestos fenólicos	8
Ilustración 6. Estructuras típicas de los flavonoides	9
Ilustración 7. Ejemplos de taninos condensados e hidrolizables	10
Ilustración 8. Estructuras de la chalcona y la cumarina	12
Ilustración 9. Estructura de un fenol simple	14
Ilustración 10. Formas resonantes tras la sustracción del -H del alcohol	14
Ilustración 11. Residuos de producción de vino	28
Ilustración 12. Producción de Hortalizas por tipo de Hortaliza en Europa, 2018	37
Ilustración 13. Superficies (ha) de formaciones arboladas (%) en España	39
Ilustración 14. Distribución de los productos obtenidos a partir de la aceituna en la temporada 2017-2018	45
Ilustración 15. TPC disponibles a nivel gallego.....	46
Ilustración 16. TPC disponibles a nivel Español.....	47
Ilustración 17. TPC disponibles a nivel Europeo.....	48

Índice de Tablas

Tabla 1. Contenido fenólico total en extractos de diferentes partes de la <i>Allium</i>	25
Tabla 2. Contenido fenólico en especies de la familia Pinaceae	26
Tabla 3. Contenido fenólico en muestras de origen vinícola (orujo de uva y lías de vino)	28
Tabla 4. TPC en extractos de alperujo	30
Tabla 5. TPC en residuos de puerro	34
Tabla 6. TPC en residuos de ajo	35
Tabla 7. TPC en residuos de cebolla	37
Tabla 8. Volumen maderable para las principales especies pináceas en España (m ³)	39
Tabla 9. Volumen maderable de <i>Pinus sylvestris</i> en Galicia	40
Tabla 10. Corteza residual en España y Galicia	41
Tabla 11. TPC en corteza de especies pináceas	41
Tabla 12. TPC extraíbles de residuos vinícolas	43
Tabla 13. TPC estimados a partir de residuos de Alperujo	45

1. Resumen/ Summary

Los compuestos fenólicos son un tipo de metabolito secundario producido en los tejidos de organismos vegetales superiores, en los que desempeñan tareas principalmente relacionadas con la protección de la planta frente a ambientes agresivos, el transporte de nutrientes a lo largo del organismo o funciones estructurales de todo tipo; estas funciones, fenólicos han estado relacionadas con la supervivencia de muchas especies vegetales a lo largo de eventos geológicos diversos que han tenido lugar en el planeta. La biosíntesis de este tipo de compuestos se realiza a través de dos rutas sintéticas principales, la ruta del ácido shikímico y la ruta del acetato-malonato.

Estos compuestos han sido objeto del interés del sector científico, especialmente por parte de las Industrias Médica y Farmacológica, puesto que poseen un fuerte carácter antioxidante, lo que posibilita su uso en el tratamiento de patologías diversas como las enfermedades cardíacas, VIH, tumores o problemas relacionados con la obesidad.

Esta aplicabilidad de parte de los compuestos fenólicos como compuestos fitosanitarios, hace que resulte especialmente interesante la posibilidad de obtener los mismos a partir de fuentes residuales como las que se recogen en esta memoria, a través de un procedimiento extractivo en el que pueden ser utilizadas diferentes técnicas, siendo la extracción Soxhlet la metodología de referencia, si bien la extracción empleando energía de Ultrasonidos es la que resulta más prometedora, puesto que proporciona unos resultados perfectamente comparables y unos requerimientos energéticos reducidos.

En base a todo lo anterior, se planteó un modelo de valorización de residuos de 4 tipos: Residuos de productos de huerta (cebollas, ajos y puerros), residuos de madera de especies pináceas, residuos de la industria del vino (lías y orujos) y residuos de la industria del aceite (alperujo), con la finalidad de analizar la distribución del contenido fenólico en cada uno de ellos y estimar la cantidad de este tipo de compuestos extraíble, en base a el volumen de residuos de cada tipo que se producidos anualmente a nivel nacional (también se ha estudiado a nivel gallego y europeo). Para los residuos generados en suelo español, se estimaron cantidades de 7.916, 22.949, 51.546 y 202.277 toneladas de compuestos fenólicos respectivamente para cada tipo de residuo.

Palabras clave: compuestos fenólicos, capacidad antioxidante, modelo de valorización, residuos agroforestales.

Phenolic compounds are a type of secondary metabolites produced in the tissues of higher plant organisms, in which they perform tasks mainly related to the protection of the plant against aggressive environments, the transport of nutrients throughout the body or structural functions. These phenolic functions have been related to the survival of many plant species throughout various geological events that have taken place on the planet. The biosynthesis of this type of compound is carried out through two main synthetic routes, the shikimic acid and the acetate-malonate pathway.

These compounds have been the object of interest for the scientific sector, especially for the Medical and Pharmacological Industries, because of their strong antioxidant character, which enables their use in the treatment of various pathologies such as heart disease, HIV, tumors or problems related to obesity.

This applicability of part of these phenolics as phytosanitary compounds makes the possibility of obtaining them from residual sources such as those listed in this study especially interesting, through an extractive procedure in which different techniques can be used. Soxhlet extraction is the reference methodology, although extraction using ultrasound energy is the most promising because it provides perfectly comparable results and reduced energy requirements.

A model for the recovery of 4 types of waste was proposed: Wastes from orchard, Wood waste from pinnaceous species (onion, garlic and leek), waste from the wine industry (lees and pomace), waste from the oil industry (alperujo), in order to analyze the phenolic content distribution in each one of them and estimate the amount of this type of extractable compounds, based on the volume of waste of each type that is produced annually in Spain (and in Galicia and Europe too). For the spanish wastes, amounts of 7,916 , 22,949 , 51,546 , and 202,277 tons of phenolic compounds had been estimated respectively for each type of waste.

Keywords: phenolic compounds, antioxidant capacity, residual valuation model, agroforestral wastes.

2. Introducción

2.1. Compuestos fenólicos, ¿qué son?

Los compuestos fenólicos engloban todas aquellas sustancias que integran en su estructura química algún grupo fenol (hidroxibenceno) unido a grupos aromáticos o alifáticos. La mayor parte de estos compuestos se clasificarían como polifenoles, a excepción de algunos de la familia de los ácidos carboxílicos, que se clasificarían como monofenoles. El origen de los mismos se da en el mundo vegetal, introduciéndose en el animal a través de la ingesta de frutas, legumbres y verduras ¹.

Existe un número ingente de especies producidas por plantas superiores, es decir, aquellas que poseen tejidos vasculares involucrados en una serie de funciones de gran importancia para el correcto funcionamiento del organismo vegetal, como podrían ser: funciones estructurales, funciones de protección de la superficie externa de la planta, funciones de conducción (tejidos vascularizados que permiten la distribución de los nutrientes), o, por último, en tejidos de almacenamiento en los cuáles se almacenan los alimentos o micronutrientes ². Estos compuestos de origen vegetal pueden ser divididos en metabolitos primarios y secundarios. Aquellas sustancias comunes entre todos los seres vivos y que son esenciales para el mantenimiento de la correcta actividad celular, son originadas a través del metabolismo primario, entre las que destacan las proteínas, los lípidos y los carbohidratos; por otra parte, las sustancias originadas a través de otras rutas biosintéticas y que están presentes en organismos determinados, para la realización de funciones concretas y no comunes a todo organismo vivo, se producen a través del metabolismo secundario. Los compuestos fenólicos representan un porcentaje muy importante dentro de este segundo grupo ³. En la Ilustración 1 se reflejan las relaciones entre los diferentes metabolitos de origen vegetal.

En ocasiones, muchos de los metabolitos secundarios que las plantas emplean para la realización de sus funciones, proceden de la duplicación y posterior especialización de metabolitos presentes en rutas metabólicas primarias ⁴. En los organismos vegetales presentan una actividad determinante a la hora de capacitar a la planta para llevar a cabo sus funciones vitales, por lo cual se produce la acumulación de este tipo de compuestos en los tejidos vegetales que intervienen en las mismas; además, estos metabolitos han permitido a un sinnúmero de organismos vegetales a sobrevivir a lo largo de la historia, enfrentándose y logrando sobrevivir a una cantidad enorme de procesos geológicos globales (glaciaciones, erupciones volcánicas o inundaciones, entre otros), dotando a

estes organismos de los medios para adaptarse a cambios en factores ambientales como la temperatura, la radiación UV-vis, las rachas de viento, el pH de los suelos o la humedad⁵.

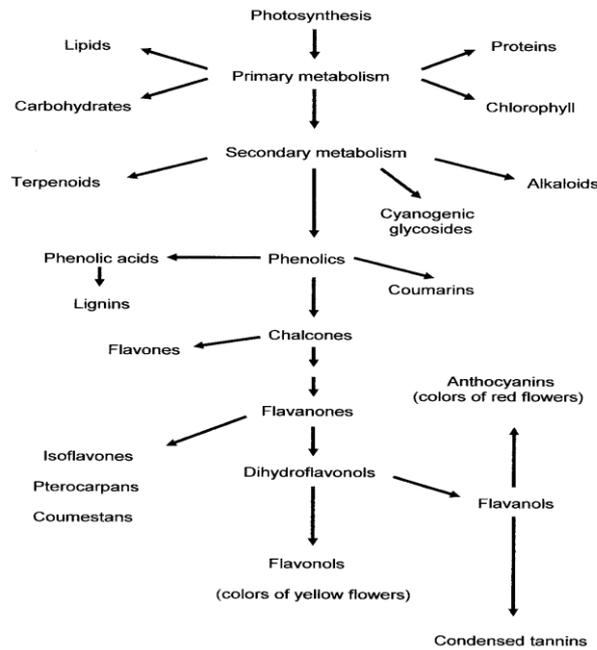


Ilustración 1. Relaciones entre los diferentes metabolitos de origen vegetal ⁴

2.2. Biosíntesis de Compuestos Fenólicos

Los cloroplastos son orgánulos celulares de las células eucariotas cuya función principal es permitir a los organismos autótrofos la realización de la fotosíntesis. El procedimiento es de sobra conocido; se absorbe luz solar y se produce energía almacenada como moléculas ATP o NADPH ⁶. Se emplea CO₂ (Dióxido de Carbono) para obtener gliceraldehído-3-fosfato, intermediario de gran importancia en la glucólisis y gluconeogénesis. Este compuesto se puede almacenar en moléculas glucídicas como la sacarosa o el almidón, las cuáles son posteriormente degradadas en caso de necesidad (vía glucólisis o vía ruta de las pentosas-fosfato), obteniendo moléculas más simples a partir de las cuáles las plantas sintetizarán gran parte de sus metabolitos (primarios o secundarios) y que intervienen en las rutas que se reflejarán a continuación ⁷.

La Biosíntesis de Compuestos Fenólicos (*Phenolic Compounds*, PC), transcurre principalmente a través de dos rutas:

- **Ruta del ácido shikímico:** La formación de los compuestos fenólicos se activa a través de factores externos como el pH del medio en el que se encuentra situada la planta, la temperatura, la naturaleza del suelo, etc. La ruta del ácido shikímico transcurre en siete pasos, comenzando con una condensación aldólica del ácido

fosfoenolpirúvico (*Phosphoenolpyruvic acid*, PEP) que iniciará el metabolismo glucolítico. Ésta, a su vez, conducirá a la obtención de una serie de aminoácidos, precursores de los diversos compuestos fenólicos ⁸.

Esta ruta provee de precursores de moléculas aromáticas a organismos como bacterias, hongos y, por supuesto, plantas (nunca en animales), sirviendo principalmente para relacionar los productos procedentes del metabolismo primario con los del metabolismo secundario ⁸. Uno de estos productos es la fenilalanina, de la cual derivan un gran número de fenoles.

La Ilustración 2 representa de forma esquemática las diferentes etapas de la ruta del ácido shikímico.

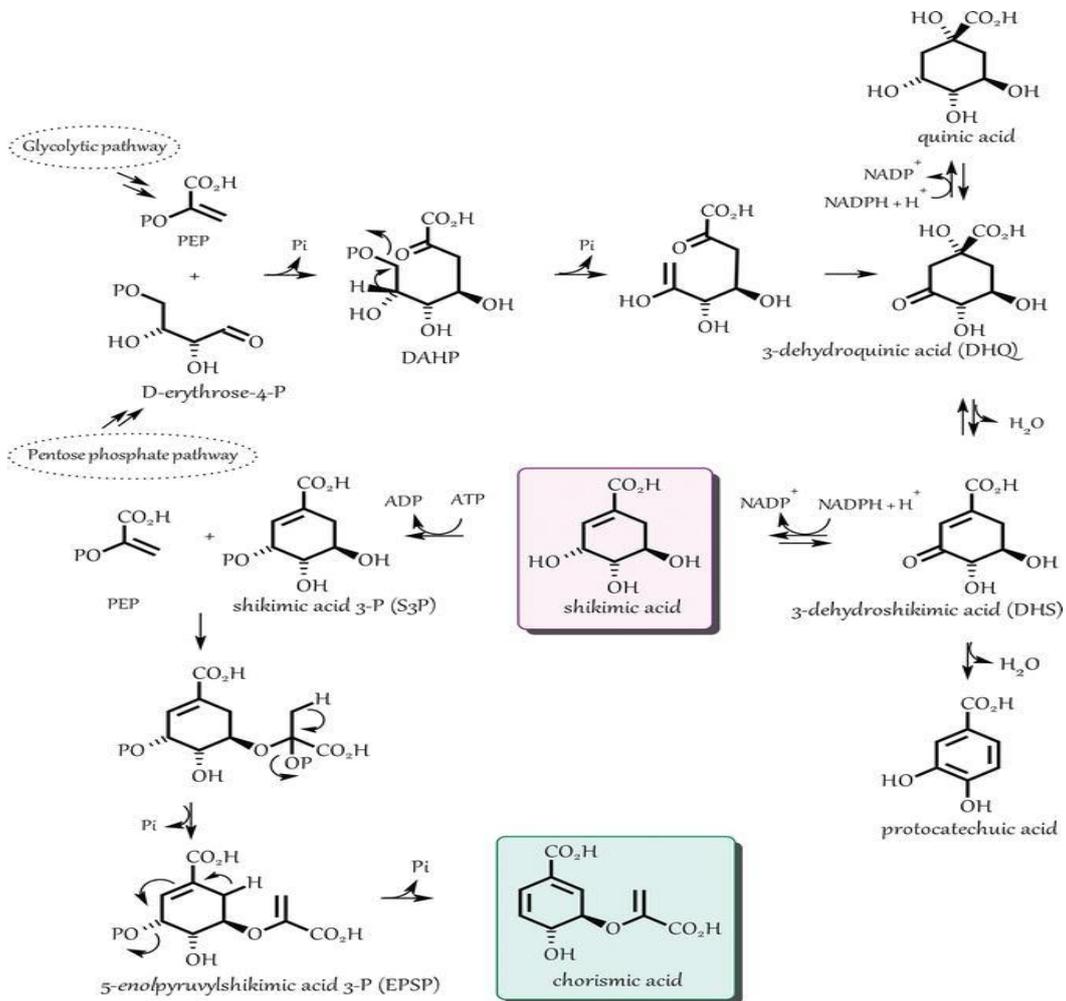


Ilustración 2. Ruta del ácido shikímico ^{9,10}

Tras la condensación del fosfoenolpiruvato (*phosphoenolpyruvate*) y la eritrosa-4-fosfato, a través de la ciclación de los productos obtenidos en las primeras etapas, se obtendrá el ácido shikímico y, a través de éste, el ácido corísmico (*chorismic acid*). La adición de la coenzima A (*CoA*) a estos sustratos, conduce a

la obtención de una gran variedad de compuestos fenólicos de diferentes naturalezas (ácidos carboxílicos, taninos...) ⁹.

- **Ruta del acetato/malonato:** Fuente de fenoles en hongos y también en algunas plantas, si bien en éstas últimas se encuentra menos extendida que la ruta del ácido shikímico. Los sustratos principales son el Acetil-CoA y el Malonil-CoA, los cuales se unen experimentando *a posteriori* reacciones de Reducción o Ciclación hasta obtener como productos compuestos fenólicos de índole diversa.

La Ilustración 3 muestra el primer paso de la ruta del acetato malato, en la que una molécula de malonil coenzima A y una de acetil coenzima A se unen con pérdida de dióxido de carbono.

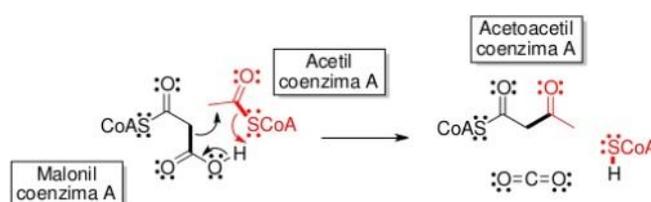


Ilustración 3. Primera fase de la ruta del acetato-malonato ¹¹

Progresivamente, se producirá la condensación de nuevas moléculas de malonil coenzima A ¹¹. La degradación de este tipo de moléculas conducirá a la obtención de los compuestos fenólicos. Esta ruta se encuentra más desarrollada en hongos y en bacterias que en plantas superiores.

La combinación de estas dos rutas descritas, junto con otras de menor relevancia, originará la gran diversidad de compuestos fenólicos existentes.

En la Ilustración 4 se presentan las relaciones que se establecen entre las diversas rutas metabólicas que tienen lugar en las plantas y organismos fúngicos, así como los productos derivados de las mismas. Los cloroplastos de las células vegetales integran el dióxido de carbono en el Ciclo de Calvin, a través del que obtiene gliceraldehído-3-fosfato. Ya se ha comentado en líneas anteriores la degradación que sufren las moléculas de almidón o sacarosa en la que este gliceraldehído se acumula, a través de la cual se obtienen moléculas intermedias más sencillas, que intervienen en las ya mencionadas rutas del ácido shikímico y del acetato/malato. De esta forma, estos intermediarios, como el malonil-CoA o la larga lista de precursores de fenilpropanoles (fenilalanina, ácido cumárico...)formados, reaccionan para originar compuestos fenólicos como taninos, flavonoides, u otros fenoles sencillos ⁷.

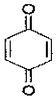
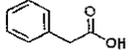
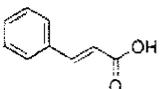
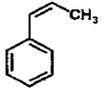
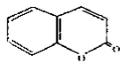
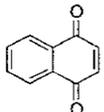
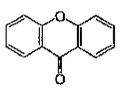
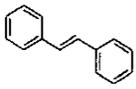
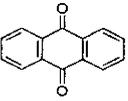
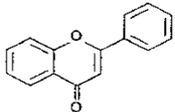
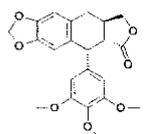
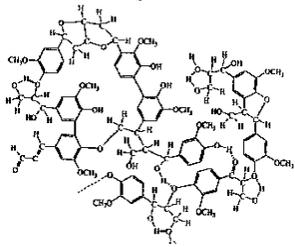
Class	Basic skeleton	Basic structure
Simple phenols	C ₆	
Benzoquinones	C ₆	
Phenolic acids	C ₆ -C ₁	
Acetophenones	C ₆ -C ₂	
Phenylacetic acids	C ₆ -C ₂	
Hydroxycinnamic acids	C ₆ -C ₃	
Phenylpropenes	C ₆ -C ₃	
Coumarins, isocoumarins	C ₆ -C ₃	
Chromones	C ₆ -C ₃	
Naphthoquinones	C ₆ -C ₄	
Xanthenes	C ₆ -C ₁ -C ₆	
Stilbenes	C ₆ -C ₂ -C ₆	
Anthraquinones	C ₆ -C ₂ -C ₆	
Flavonoids	C ₆ -C ₃ -C ₆	
Lignans and neolignans	(C ₆ -C ₃) ₂	
Lignins	(C ₆ -C ₃) _n	

Ilustración 5. Clasificación de los compuestos fenólicos ³

- **De acuerdo a su cadena:** Es la forma más común de clasificar este tipo de sustancias. De acuerdo a la cadena carbonatada que presentan, los compuestos fenólicos pueden ser divididos en dieciséis grupos principales, de los cuales los más importantes, por su carácter preponderante en la dieta humana, serían:
- Flavonoides: A su vez subdivididos en trece grupos adicionales de los cuáles los más importantes serían los flavonoles, flavanoles, flavones,

isoflavones y antocianinas, conforman el mayor grupo de compuestos fenólicos, representando casi 6.000 especies de las 8.000 conocidas.

A nivel estructural, suelen ser moléculas de peso molecular reducido de alrededor de quince átomos de carbono conformados como C₆-C₃-C₆, con dos anillos aromáticos (A y B, en la Ilustración 6) unidos por un anillo heterocíclico (C) ¹². La diversidad de compuestos pertenecientes a este grupo tiene su origen principalmente en el grado de saturación de los anillos aromáticos, así como los sustituyentes presentes en los mismos ¹³. Se encuentran almacenados en estructuras glucosídicas, puesto que en estado libre son inestables.

Su biosíntesis transcurre a través de la ruta del ácido shikímico, partiendo de precursores como la L-fenilalanina, a partir de la cual se produce 4-coumaril-CoA, que se somete a la acción de enzimas sintetas para generar estructuras de chalconas que actúan como estructura básica a partir de la cual se constituyen el resto de flavonoides ¹⁴.

En la Ilustración 6 se recoge la estructura de los flavonoides más característicos, observando que las divergencias entre unos y otros se debe principalmente a la posición del grupo hidroxilo ¹⁵.

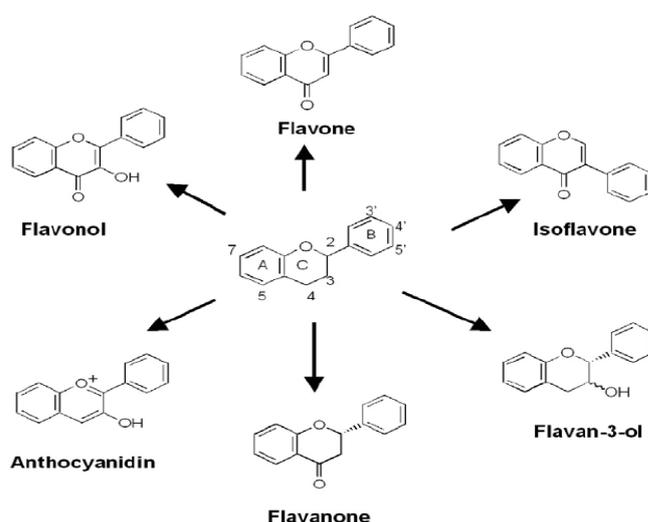


Ilustración 6. Estructuras típicas de los flavonoides ¹⁵

Constituyen los compuestos fenólicos con mayor presencia en la dieta humana. Sus aplicaciones farmacológicas en el tratamiento de patologías diversas derivan de su capacidad antioxidante. En la actualidad, se ha incrementado su uso como componente en cremas de protección solar y,

principalmente, en cremas de efecto antiinflamatorio, puesto que inhiben la acción de enzimas relacionadas con el deterioro de la piel ¹⁶.

- Taninos: Son compuestos de peso molecular relativamente elevado. Presentan estructuras químicas variadas, lo que provoca que sea complicado predecir sus efectos en organismos vivos.

La variabilidad estructural de la que hacen gala los dota de una gran reactividad química. Se encuentran enlazados a proteínas a través de puentes de hidrógeno cuya fortaleza está relacionada con el tamaño del tanino y su capacidad para estabilizar la carga asociada al enlace ¹⁷.

Dada su heterogeneidad, se clasifican en dos subgrupos principales: hidrolizables y no hidrolizables (o condensados) ¹⁸.

En la Ilustración 7 aparecen ejemplos de taninos condensados e hidrolizables. Atendiendo a la estructura de la procianidina, se puede sugerir que su dificultad para verse hidrolizado está relacionada con su elevada masa molecular y la extensa red que la forma ¹⁹.

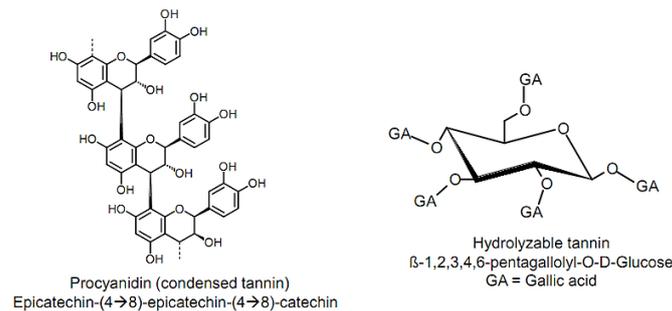


Ilustración 7. Ejemplos de taninos condensados e hidrolizables ²⁰

Los hidrolizables presentan un centro de glucosa o un polialcohol esterificado parcialmente con algún ácido carboxílico (generalmente, ácido gálico), lo que permite que sean fácilmente degradados en presencia de ácidos o enzimas. Se conforman a través de la ruta del ácido shikímico, siendo los ésteres de ácido gálico los compuestos precursores ¹⁷.

Los taninos condensados presentan una estructura más compleja que la de los hidrolizables, exhibiendo una gran variedad en términos estequiométricos, por su grado de polimerización o por la presencia de grupos hidroxilo, además de conformar redes más extensas, tal y como se ve en la Ilustración 7, si bien puede observarse que presentan la estructura básica de flavonoides unidos entre sí ^{21, 18}.

En la actualidad, los taninos son usados principalmente en el manufacturado del cuero, en el desarrollo de adhesivos para madera, como aditivo en bebidas alcohólicas o zumos de frutas y en el desarrollo de nuevos medicamentos ²¹.

- Chalconas y Cumarinas: Las chalconas (*trans-1,3-diaril-2-propenona*) son cetonas aromáticas, formadas por dos anillos aromáticos unidos entre sí por un sistema carbonílico $-\alpha,\beta-$ insaturado, el cuál puede ciclar fácilmente hasta generar un esqueleto cuya estructura se correspondería con la de los flavonoides habituales ²².

En la biosíntesis de las chalconas convergen dos rutas biosintéticas: el anillo A (Ilustración 8) se obtiene a partir de la ruta del acetato-malonato, mientras que el anillo B procede de la ruta del ácido shikímico (con el fenilpropanoide como precursor) ²³.

Entre sus usos principales destacan su aplicación en el desarrollo de antivirales, fungicidas y como herbicidas ²⁴. Además, son compuestos ampliamente utilizados en la química médica por su abanico de propiedades bioquímicas, que posibilita su uso en multitud de actividades relacionadas con el ámbito de la farmacología ²⁵.

(La Ilustración 8 incluye las estructuras más típicas para las cumarinas y las chalconas) ²⁶.

Por su parte, las cumarinas son compuestos químicos que presentan una serie de propiedades biológicas (fuente principal del interés de la química médica en estos compuestos) como serían: actividad antimicrobiana, antiviral, antiinflamatorio, antidiabética, etc.

Son lactonas que integran en su estructura grupos hidroxilo o metoxilo, responsables de las características anteriormente reflejadas.

La biosíntesis de las cumarinas se produce a partir del metabolismo de los fenilpropanoides. La fenilalanina producida vía ácido shikímico se transformará a través de diversas etapas metabólicas en ácido cumárico; éste último, sometido a la acción de enzimas ligasas, acabará transformándose hasta formar la estructura de la cumarina tal y como figura recogida en la Ilustración 8 ²⁷.

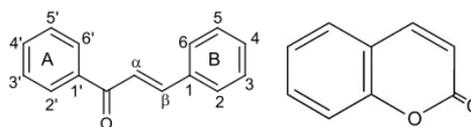


Ilustración 8. Estructuras de la chalcona y la cumarina ²⁶

A pesar de sus propiedades benignas, se ha demostrado que su exceso puede derivar en problemas hepáticos o incluso carcinógenos ²⁸; sin embargo, su capacidad antioxidante los convierte, al igual que sucede con el resto de compuestos fenólicos de los que se ha ido hablando a lo largo de este apartado, en sustancias de interés farmacológico, por sus propiedades antiinflamatorias y anticoagulantes ²⁹. Además, también se utiliza como marcador fluorescente en la investigación médica ³⁰.

- Ácidos Fenólicos: Se corresponden con uno de los tres tipos de compuestos fenólicos de mayor presencia en la dieta humana. Como su propio nombre indica, están caracterizados por la presencia de un grupo carboxílico en su estructura, el cual se haya directamente relacionado con sus fuertes propiedades antioxidantes. Estos compuestos se hayan, a su vez, subdivididos en dos grupos principales, los ácidos hidroxibenzoicos y los ácidos hidroxicinámicos en función de si su estructura deriva de la de los ácidos benzoico o cinámico, respectivamente. Los derivados del ácido benzoico presentan estructuras C₆-C₁ y suelen conformar agregados en los organismos de origen vegetal, si bien en frutas pueden aparecer como entidades independientes. Por su parte, los derivados del ácido cinámico tienen estructuras C₆-C₃, en la que resulta determinante la presencia de un doble enlace que provoca la existencia de isómeros *cis* o *trans*; su presencia en los alimentos frutales suele darse en forma de monómeros, dímeros o polímeros de tamaño reducido, si bien también pueden hallarse combinados con otro tipo de compuestos químicos, pero raramente se encuentran de manera individual ³¹.

Su síntesis se produce mayoritariamente a través de la ruta del ácido shikímico, en la que la fenilalanina y la tirosina actúan como molécula precursora ³². El proceso se inicia con la degradación de las moléculas hidrocarbonadas en fragmentos de glucosa de mayor tamaño, la cual a través de numerosas etapas metabólicas se convertirá en ácido shikímico; dicho ácido, sometido a acción enzimática, generará fenilalanina, la

molécula precursora que, tras perder su grupo amino, originará el resto de ácidos fenólicos ³³.

En el pasado los estudios referidos a este tipo de compuestos guardaban relación con sus posibles efectos perjudiciales, con el paso de los años se ha ido descubriendo su utilidad sintética o bioquímica, así como en la industria farmacológica, puesto que presentan, al igual que los tipos anteriores, una elevada capacidad antioxidante si bien lo más característico de estos compuestos es, sin embargo, su capacidad para ser digeridos por la acción de microorganismos bacterianos, lo que posibilita que puedan sustituir a otros compuestos más perjudiciales medioambientalmente ^{3, 33}.

- **Según su distribución en la naturaleza:** De acuerdo a este criterio, los compuestos fenólicos pueden ser subdivididos en dos grupos, aquellos compuestos que se encuentran ampliamente distribuidos en el medio natural o aquellos otros cuya distribución es reducida. Además, existiría un tercer grupo en el que se integran aquellos compuestos fenólicos presentes en las especies poliméricas (como por ejemplo, los taninos y las ligninas) ³.
- **Según la localización de dichos compuestos en la planta:** Pueden formar parte de la fracción soluble del contenido celular o de las paredes de la misma célula ³.
- **Según su solubilidad:** La estructura química determina la forma en la que estas sustancias se relacionan con el medio que las rodea. De esta forma, se distingue entre compuestos fenólicos *solubles* y compuestos fenólicos *insolubles*. Ejemplos del primer grupo serían los fenoles más sencillos o los flavonoides y taninos de bajo peso molecular. Por otra parte, ejemplos de los compuestos fenólicos insolubles serían todos aquellos constituidos esencialmente por taninos condensados, o compuestos de bajo peso molecular unidos a polisacáridos o proteínas que forman macrocomplejos estabilizados ³.

2.4. Propiedades de los Compuestos Fenólicos

Las propiedades químicas y físicas de los compuestos fenólicos son consecuencia directa de su estructura química, y de las reacciones de las que puede sufrir o en las que puede participar a través de la misma.

- **Propiedades químicas:** Dada la estructura fenólica (anillo aromático con un grupo alcohol como sustituyente sobre uno de los carbonos), que aparece

representada en la Ilustración 9, la reactividad química de los compuestos fenólicos estará marcada principalmente por la reactividad de dicho grupo fenol.

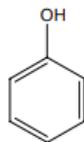


Ilustración 9. Estructura de un fenol simple ³⁴

En cuanto a su acidez, los fenoles se suelen comportar como ácidos débiles, si bien presenta una acidez superior a la de la mayoría de los alcoholes alifáticos monosustituídos. Esto se debe a la estabilidad del anión formado tras la extracción del protón del alcohol, a consecuencia de la capacidad de deslocalizar la carga negativa por toda la estructura del ciclo aromático en diferentes formas resonantes que se recogen en la Ilustración 10 ³⁴.

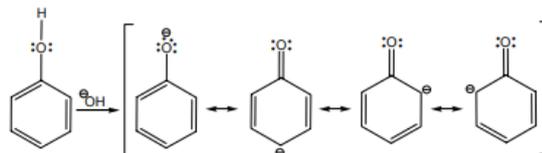


Ilustración 10. Formas resonantes tras la sustracción del -H del alcohol ³⁴

Por tanto, la acidez del compuesto fenólico dependerá de los sustituyentes del anillo aromático y la capacidad de éstos para estabilizar la carga negativa generada con la sustracción del protón. Estas sustituciones, como es lógico, provocarán variaciones del pK_a de los diversos compuestos fenólicos, lo cual supondrá un factor importante al llevar a cabo la extracción de estas sustancias (formación de sales para la separación de estos compuestos empleando carbonatos, por ejemplo)³⁴.

El Hidrógeno del grupo alcohol también puede intervenir en la formación de enlaces de hidrógeno intra e intermoleculares, que afectarán al punto de fusión de estos compuestos y a su visualización mediante técnicas espectroscópicas como el UV o el Raman ³⁴.

Por último, cabe señalar la capacidad de los compuestos fenólicos para formar complejos con iones metálicos de Hierro, Aluminio o Magnesio, entre otros; es decir, presentan capacidad para formar quelatos con iones trivalentes, o divalentes³⁵.

- **Actividad Antioxidante:** La actividad antioxidante de los compuestos fenólicos surge de su capacidad para eliminar radicales libres en el medio en el que se encuentran situados, previniendo el daño que éstos provocan en organismos vivos. Estos radicales libres son átomos o moléculas de gran reactividad que se producen a través de reacciones bioquímicas en los seres vivos y pueden provocar daños en partes de células, o afectando a biomoléculas como las proteínas o los ácidos nucleicos contenidos en la misma. Esto es debido a que afectan a la membrana celular mediante procesos de oxidación de la misma (“daño oxidativo”). Cuando se generan estas alteraciones estructurales en las paredes celulares, las células pierden su funcionabilidad, pudiendo llegar a morir ³⁶.

Debido a lo descrito en el párrafo anterior, la naturaleza antioxidante de los compuestos fenólicos ha despertado el interés de la comunidad científica en los últimos años. Recientemente, se ha descubierto el elevado contenido en fenoles en extractos procedentes de los un gran número de organismos vegetales (y también residuos forestales o de la industria vitivinícola), lo que ha motivado a una mejor gestión de dichos residuos y, a raíz de esto, una obtención de los compuestos fenólicos presentes en los mismos dado el interés que suscitan en el sector de la Industria Farmacéutica ³⁶.

- **Biodisponibilidad de los compuestos fenólicos:** La biodisponibilidad de compuestos bioactivos es el proceso de absorción de nutrientes que tiene lugar en el sistema digestivo y, posteriormente, en el circulatorio, tras la ingesta de alimentos. Los procesos de digestión de los macrocomplejos que integran los compuestos fenólicos están catalizados por enzimas; dependiendo de las condiciones en las que se produzca la digestión (acidez, temperatura...), la cantidad de compuestos fenólicos presentes en el organismo variará.

Finalizado el proceso digestivo, los compuestos fenólicos pueden seguir cuatro rutas distintas: expulsión a través de la excreción de residuos; absorción en el tránsito intestinal; liberación en la sangre y absorción por los tejidos corporales; excreción a través de la orina ³⁷.

Se encuentran ampliamente distribuidos en frutas y vegetales, así como también en bebidas como el café, el té o el vino. La cantidad de estas sustancias en la dieta humana varía en función de la persona sujeta a análisis o la población objetivo del mismo (el porcentaje varía entre Europa y Asia, por ejemplo), como consecuencia de la diversidad en los hábitos nutricionales de las diferentes sociedades (y dentro

de las mismas, los hábitos individuales de cada persona). De esta forma, el artículo brasileño “*Phenolic Compounds: Functional Properties, Impact, Processing and Bioavailability*” de Ferreira y colaboradores proporciona como valores para los fenoles ingeridos de manera diaria un rango que oscila entre los 6,4-1000 mg/día, mientras que en países asiáticos este intervalo varía entre 183-4854 mg/día. La variación entre un lugar y otro está, probablemente, asociada al elevado consumo por parte de la población asiática de legumbres y verduras ³⁷.

2.5. Los Compuestos Fenólicos en la salud humana

Si bien los compuestos fenólicos han sido considerados como antinutrientes debido al efecto de los taninos sobre la digestión de proteínas, en los últimos años han despertado el interés de la industria farmacológica, a consecuencia de sus propiedades antioxidantes. Gracias a éstas, este tipo de sustancias presentan una serie de efectos benignos que posibilitan su utilización en ámbitos como:

- **Prevención de enfermedades cardiovasculares:** Numerosos estudios han demostrado la capacidad de los fenoles y derivados para reducir los riesgos asociados a padecimientos cardiovasculares, previniendo la aparición de arterotrombosis, combatiendo el daño que sufren las paredes celulares ante la presencia de diferentes compuestos, reduciendo el daño oxidativo asociado a los mismos a la vez que promueven la formación de plaquetas ³⁸. Además, existen estudios que relacionan las dietas de alto contenido en flavonoides con la reducción de las tasas de colesterol.

Por último, este tipo de compuestos poseen la capacidad de inhibir el funcionamiento normal de ciertas enzimas catalíticas cuya acción está relacionada con la aparición de trombos en el torrente sanguíneo ³⁵.

- **Prevención tumoral:** Tal y como se detalla en el artículo “*Use of advanced techniques for the extraction of phenolic compounds from Tunisian olive leaves: phenolic composition and cytotoxicity against human breast cancer cells*”, de Barrajón-Catlán, Taamalli y colaboradores, los compuestos fenólicos han demostrado su citotoxicidad frente a las células tumorales de cánceres como el de colon, la leucemia o el cáncer cerebral, además de reducir la resistencia del organismo a los medicamentos que se le administran. Las mayores citotoxicidades fueron halladas para compuestos ricos en flavones ³⁹.

- **Prevención de la obesidad:** La obesidad se caracteriza por un incremento del número de adipocitos en los tejidos corporales. Recientemente se ha descubierto que la ingesta de compuestos fenólicos reduce la generación de adipocitos y por tanto la lipogénesis. Esto se debe a que estos compuestos promueven la apoptosis (muerte celular programada) de intermediarios metabólicos necesarios para la formación de los adipocitos ⁴⁰.
- **VIH:** Por último, existen estudios que demuestran la capacidad de diferentes compuestos fenólicos para actuar como inhibidores del Virus de Inmunodeficiencia Humano (VIH), más conocido como sida. Esto se debe principalmente al efecto de los fenoles sobre determinadas células diana que impiden, a su vez, la formación de marcadores responsables de la replicación del virus ⁴¹.

3. Objetivos

Ante la crisis climática y medioambiental a la que nuestra sociedad se enfrenta en la actualidad, se han iniciado movimientos en pro de un futuro más “verde”, un futuro sostenible. De esta forma, en los países más desarrollados vieron la luz las estrategias de Sostenibilidad y Economía circular, destinadas a crear una conciencia generalizada sobre la necesidad de reducir el impacto medioambiental de las actividades humanas, enfocando su acción a la reducción de la contaminación y a la reutilización de los residuos, de forma que se forme una cadena continua que minimice el efecto de estas actividades sobre los ecosistemas cercanos.

El objetivo del Trabajo de Fin de Máster propuesto desde CETIM, y reflejado en esta memoria, se hace eco de ese compromiso con la Sostenibilidad y, principalmente, con la Economía Circular, planteando una metodología relacionada con la optimización de recursos y la gestión de los residuos. Se plantea el estudio bibliográfico de diversas fuentes de origen agrícola y forestal con la finalidad de evaluar la de compuestos fenólicos disponibles. Se propone, a su vez, un modelo de valorización de residuos, el cual ofrece una alternativa de reutilización que reduzca el impacto medioambiental de este tipo de residuos agroforestales, además de representar una oportunidad de economizar los gastos asociados al procesado de los mismos, lo cual permitiría a las empresas e industria asociadas rentabilizar y economizar sus pérdidas y, principalmente, diferenciarse de sus principales competidores en el sector.

Adicionalmente, se ofrece una revisión sobre las principales técnicas de extracción para este tipo de compuestos en muestras de origen vegetal. Posteriormente, en un breve anexo y a modo de curiosidad, se comentan los métodos que se habrían utilizado en el laboratorio para la determinación del contenido fenólico y de la capacidad antioxidante de estos fenoles, de no ser por la situación epidémica que ha tenido lugar durante el último año.

4. Extracción de Compuestos fenólicos

Por los motivos descritos en el apartado anterior, la obtención de los compuestos fenólicos resulta de gran interés por parte de la industria médica y farmacéutica, pues su actividad antioxidante ofrece un amplio abanico de posibles aplicaciones en el tratamiento de patologías diversas.

Existen numerosas técnicas que han probado su capacidad para realizar una extracción selectiva de este tipo de compuestos, existiendo abundantes diferencias entre ellas en lo que a consumo de reactivos, tiempos de extracción o disolventes (extractantes) empleados se refiere.

La comparativa entre los resultados proporcionados por las metodologías recogidas, es una actividad ardua y compleja, como consecuencia de la diversidad de parámetros que afectan a éstos. Además, las muestras de origen vegetal o forestal son muestras complejas, con una gran variedad de compuestos orgánicos que pueden actuar como interferentes en la medida de los fenólicos. Por otro lado, es evidente la diversidad de especies vegetales existentes, cada una de las cuales muestra un comportamiento ante las técnicas de extracción, debido principalmente a la variedad en su composición.

Por todo lo dicho anteriormente, una de las etapas críticas del proceso de extracción es la selección de los valores para aquellos parámetros que influyan notablemente en la concentración de compuestos fenólicos presente en el extracto final.

4.1. Método Soxhlet

Se trata de una metodología empleada especialmente para la extracción de compuestos bioactivos, generalmente de naturaleza lipídica. Es uno de los métodos más empleado en el ámbito de la ciencia medioambiental, tanto como técnica de extracción primaria, como para comparar sus resultados con los proporcionados por alguna otra técnica de interés (ya que es la técnica más convencional).

El funcionamiento de la técnica consiste en depositar la muestra en un cartucho poroso, el cual se va llenando progresivamente con disolvente fresco condensado en un matraz de destilación, una vez el líquido alcanza el límite del recipiente, un sifón aspira el contenido del cartucho para, acto seguido, descargarlo otra vez en el matraz de destilación, arrastrando los analitos de interés. La operación se repite hasta que el proceso extractivo se completa de manera satisfactoria ⁴².

La principal ventaja de esta metodología es su eficiencia; la existencia de una serie de ciclos continuos de extracción garantiza una extracción completa ⁴³. Pese a esto, el motivo por el que en ocasiones se evita el uso de esta metodología radica en dos importantes desventajas: La primera de ellas es la necesidad de tiempos de extracción largos, asociados a los numerosos ciclos de extracción del proceso; por último, la segunda sería la utilización de una elevada cantidad de disolvente ⁴⁴. Dicho esto, se trata de una metodología ampliamente contrastada, lo cual garantiza la obtención de resultados robustos y fácilmente comparables con los resultados proporcionados por otro tipo de experiencias.

4.2. Extracción Asistida por Ultrasonidos

Es una de las técnicas no convencionales que mayor interés suscita en los últimos años, como consecuencia de sus numerosas ventajas frente a metodologías más tradicionales. Esta técnica emplea ondas de elevada frecuencia (entre 20 kHz y 100 MHz) que se propagan por el medio de reacción, generando burbujas de cavitación. La formación de estas burbujas se debe a que el líquido (disolvente) en el que se produce la extracción, alcanza su presión de vapor, de manera que las moléculas que lo integran pasan a estado de vapor, originando las burbujas ya mencionadas. Estas burbujas viajan a través del líquido hacia zonas de mayor presión en las que se produce su colapso, el cual, a su vez, origina una serie de efectos químico-físicos. Cuando la implosión de las burbujas tiene lugar sobre la superficie de la muestra de interés, la presión que se forma contribuye a la destrucción de las membranas celulares, a través de cuyas fracturas el líquido extractante accede al interior de la propia célula. De esta forma, se produce un incremento de la superficie de contacto entre la muestra y el disolvente, que facilitará la extracción de los compuestos de interés, en este caso, compuestos fenólicos ⁴⁴.

Algunos de los parámetros que determinan la obtención de buenos resultados serían: la elección de un disolvente adecuado que favorezca el tratamiento con ultrasonidos; la temperatura (que también se relaciona con el comportamiento del disolvente durante el

proceso extractivo) y, por último, la matriz de la muestra, puesto que en función de la misma se realizarán una serie de pretratamientos que pueden tener efectos en la extracción subsiguiente ⁴⁵.

La extracción de compuestos fenólicos mediante energía de ultrasonidos ofrece una serie de ventajas, entre las que se podría destacar la utilización de condiciones de reacción relativamente suaves. Además, en comparación a metodologías tradicionales, emplea una cantidad de disolvente mucho menor (y de muestra, por tanto), junto con unos tiempos de extracción notablemente inferiores, lo que posibilita la realización de un mayor número de ensayos en menos tiempo y, a la vez, de un mayor número de muestras. La única problemática que enfrenta este tipo de metodología es la falta de uniformidad en el medio de reacción, una vez aplicados los ultrasonidos (y el descenso en el poder de estos con el tiempo).

4.3. Extracción con Líquidos Eutécticos

Se trata de mezclas que se obtienen al calentar sólidos previamente inmiscibles con una determinada proporción, que pasarán, a una temperatura determinada (o temperatura eutéctica) a comportarse como una disolución líquida homogénea ⁴⁶.

Algunas de las características más relevantes de estos líquidos son su baja toxicidad y su alta capacidad para biodegradarse. Además, durante su formación no se produce ningún tipo de subproducto, lo que reduce el impacto medioambiental. Por otra parte, la posibilidad de generar este tipo de líquidos a través de multitud de compuestos precursores posibilita que su polaridad pueda variar en un rango relativamente ancho, lo que posibilita el hallazgo de una mezcla concreta, útil para la aplicación prevista ⁴⁶.

Como principal desventaja, su densidad y viscosidad elevadas. Este aspecto es relevante para su aplicación a escala industrial, en flujos continuos, pero en la actualidad se ha ido corrigiendo mediante la creación de mezclas eutécticas de tres componentes, cuyo tercer componente corrija las características inadecuadas de los otros dos ⁴⁶.

La relevancia de estos compuestos se debe a su reducido impacto sobre el medioambiente, lo que los convierte en objeto de interés por parte de la industria, de cara a mejorar sus datos de impacto medioambiental y, a la vez, evitar la infracción de cualquier aspecto recogido en las cada vez más exigentes normativas medioambientales internacionales.

4.4. Extracción con agua caliente a presión

Esta metodología, al igual que otras que figurarán posteriormente en este apartado, surge de la necesidad de los laboratorios e industria químicas para de reducir los niveles de

disolventes orgánicos en sus procesos, como forma de adaptarse a la nueva realidad y políticas medioambientales (nacionales e internacionales).

El funcionamiento de esta técnica consiste en incrementar sustancialmente la temperatura del agua, manteniendo una presión suficiente como para que permita mantenerla en estado líquido, lo que genera un aumento sustancial de la capacidad extractiva del agua, la cual (para compuestos orgánicos) se encuentra limitada a consecuencia de su polaridad ⁴⁷. Este fenómeno se debe a la disminución de las interacciones electrostáticas entre las moléculas de agua y los iones y moléculas que las rodean, lo cual facilita la extracción de los compuestos menos polares ⁴⁸.

4.5. Extracción Asistida por Microondas

Esta metodología difiere de los métodos convencionales, puesto que la extracción ocurre como resultado de cambios en la estructura celular inducidos por ondas electromagnéticas.

Las microondas son ondas electromagnéticas no ionizantes ampliamente utilizados en el ámbito de las comunicaciones. A diferencia de en otras técnicas, el calentamiento por microondas minimiza la pérdida de calor, ya que ocurre en un sistema cerrado, por lo que dicho calentamiento será de mayor eficiencia y permitirá reducir la duración del mismo. El calentamiento focalizado ofrecido por esta metodología provoca que la humedad del interior de la célula se evapore, generando grandes presiones en el interior de la pared celular; finalmente, la pared se fractura, facilitando la salida, y, por tanto, la extracción de los compuestos de interés ⁴⁹.

En esta metodología, resulta crítica la selección de un disolvente adecuado, es decir, un disolvente que experimente un calentamiento eficaz cuando inciden las microondas sobre él, lo que conducirá a la transmisión de dicho calentamiento a la muestra y facilitará el proceso extractivo. A pesar de esto, el principal inconveniente de esta metodología es la necesidad de una inversión económica más elevada.

Existen numerosos estudios comparativos entre las diferentes técnicas, varios de los cuáles fueron consultados para la realización de esta memoria. En ellos se realiza una comparativa entre las eficiencias proporcionadas por diferentes metodologías (Soxhlet, US, Microondas...). Generalmente, si bien la metodología convencional, Soxhlet, es la que mayores rendimientos proporciona, el resto de nuevas metodologías, más

innovadoras, no se quedan muy atrás, en términos de rendimiento en la extracción de los fenoles, lo que ha ido incrementando su uso en los ensayos de laboratorio habituales.

Las metodologías más atractivas para la realización de este tipo de ensayos, atendiendo a los datos consultados serían la extracción de compuestos fenólicos asistida con energía de ultrasonidos y la extracción mediante líquidos eutécticos. Ésta última proporciona rendimientos similares a la primera, y, además, ofrece la posibilidad de trabajar con disolventes de reducido o nulo impacto ambiental, y perfectamente diseñables de acuerdo a las necesidades del proceso en cuestión; sin embargo, se trata de una técnica relativamente moderna e innovadora, por lo cual no está tan ampliamente contrastada como otras de las que se mencionan en este apartado. Además, la preparación de un disolvente adecuado puede resultar ardua y compleja, puesto que en muchas ocasiones éste debe comportarse de manera muy concreta cuando se le somete a las diversas condiciones analíticas. Por su parte, la extracción con ultrasonidos, está basada en una metodología bien conocida y ampliamente utilizada en los laboratorios de todo el mundo, lo que facilita la adaptación del personal al uso de la técnica y por tanto, una mayor eficiencia que conducirá a mejores resultados; atendiendo a criterios energéticos, permite la utilización de condiciones de reacción suaves y extracciones rápidas, lo que minimiza la demanda energética y el impacto del proceso, permitiendo del mismo modo el tratamiento de una mayor cantidad de muestras en un menor tiempo. Como es evidente, una reducción en la demanda energética conducirá también, a la reducción de los costes económicos asociados al proceso.

A tenor de lo que se ha comentado en el párrafo anterior, sin duda, la extracción asistida por energía de ultrasonidos será la metodología más interesante desde el punto de vista de la eficiencia energética, así como también atendiendo a factores como el consumo de disolvente y el tiempo de ensayo, además de, como ya se ha mencionado, ser una técnica ampliamente contrastada y conocida por los profesionales de laboratorio.

5. Composición fenólica de los extractos de origen vegetal

A lo largo de los apartados previos de esta memoria, se ha dado una visión global sobre los principales aspectos entorno a los compuestos fenólicos. En este apartado se pretende dar una visión más concreta sobre los extractos fenólicos procedentes de diferentes residuos vegetales, evaluando cómo se encuentran distribuidas estas sustancias en el reino vegetal, qué especies presentan las mayores concentraciones de fenoles y cuáles de esos fenoles son los mayoritarios.

Se han seleccionado cuatro fuentes principales de compuestos fenólicos en residuos de las industrias agrícola, forestal, vinícola y del aceite de oliva: Residuos de cultivos de la familia *Allium* (familia de los productos de huerta como el ajo, la cebolla y el puerro, principalmente), corteza de especies pináceas, residuos del vino producidos por la industria vinícola y residuos de alperujo producidos a partir del procesado de la oliva en la obtención de aceite.

La intención al presentar los datos sobre las especies seleccionadas, es ofrecer una visión de la gran diversidad de fuentes disponibles para la extracción de este tipo de compuestos, a menudo, incluso en desechos cotidianos como la piel de la cebolla, la cáscara del ajo, etc. Además, tanto la industria del vino como la del aceite de oliva tienen un peso tremendamente importante en nuestro país, con volúmenes de producción enormes a los que se asocia una gran cantidad de residuos con un elevado contenido fenólico; la reutilización de este tipo de residuos no sólo permitiría reducir el impacto ambiental de estas industrias, sino, desde el punto de vista económico, una oportunidad de valorización única para las entidades involucradas. Algo similar sucede con la corteza de las especies pináceas, presentes por los bosques de toda Europa y con una presencia notable en el territorio peninsular, y, cuyas cortezas, obtenidas a partir de las numerosas cortas anuales a las que se someten a este tipo de especies, suponen una fuente constante de estos compuestos fenólicos. Por estos motivos, todas estas fuentes constituyen recursos de interés para la obtención de compuestos químicos que, por sus características, son reclamados por la industria farmacéutica para el desarrollo de nuevos fármacos o medicamentos con potenciales aplicaciones en el tratamiento de patologías que afectan no sólo a la propia especie humana, sino también a otros seres vivos.

5.1. Familia *Allium*

La primera familia de vegetales evaluada ha sido la familia de los *Allium*, que incluye especies tan conocidas como el ajo, las cebollas, cebolletas, puerros...etc. Estas especies

presentan una gran variedad de compuestos en su composición, desde organosulfurados hasta compuestos fenólicos de índole diversa, carbohidratos solubles, vitaminas (C, A y B) o ácidos orgánicos. En los últimos 20 años, estas plantas han sido los vegetales más estudiados desde las industrias alimentaria y farmacéutica, a consecuencia de su elevada concentración de compuestos bioactivos ⁵⁰.

Quizás la característica más reseñable de los extractos procedentes de estas especies es su actividad antioxidante, asociada a la composición fenólica de los mismos y que ha sido corroborada por estudios como los de Navarro ⁵¹. Además, la actividad antioxidante parece relacionarse también con la presencia de dos compuestos la alicina y la *S*-alil-cisteína, tal y como recogen los estudios de López Luengo ⁵². La actividad antioxidante, depende, así mismo, del estado en el que se encuentre el ajo (el ajo frito tiene un mayor contenido fenólico que el ajo en estado normal) ⁵³.

Existen numerosos estudios a mayores de aquellos cuya finalidad es evaluar la actividad antioxidante de los extractos procedentes de las especies de la familia *Allium*; entre estos estudios, destacan aquellos que demuestran las propiedades de estas especies para reducir los niveles de colesterol en sangre ⁵⁴ (y por tanto el riesgo a padecer patologías cardíacas relacionadas), efecto antimicrobiano ⁵⁵, o efectos sobre las células tumorales ⁵⁶.

Cabe señalar que las propiedades previamente enumeradas no están únicamente relacionadas con la composición fenólica, si no con la presencia de diferentes compuestos: proteínas, hidrocarburos o los citados compuestos organosulfurados, por ejemplo.

Tanto el puerro como la cebolla y el ajo, se tratan de hortalizas ampliamente empleadas en los hogares españoles y europeos. Durante su procesamiento o incluso durante su uso en cocina, en el propio domicilio, parte importante de estas especies es desechada (hojas del puerro, cáscara del ajo, capas externas de la cebolla, raíces), lo que supone la pérdida de una fuente importante de sustancias fenólicas cuyos efectos beneficiosos se han comentado previamente; por ello, la oportunidad de reutilizar estos residuos para la extracción de compuestos químicos de interés, abre una vía de valorización en la que no sólo resulta determinante la colaboración de los proveedores agrícolas, si no la de la propia sociedad.

En la Tabla 1 se recogerán una serie de valores que se corresponden con la cantidad de compuestos fenólicos totales (TPC) por gramo de muestra, proporcionados por la bibliografía consultada. La finalidad de recoger estos datos es obtener una idea general de cómo se distribuyen los fenoles entre las distintas especies estudiadas, así como

también evaluar la cantidad de fenoles totales que podríamos obtener a partir de los residuos o cultivos agrícolas de diferentes áreas geográficas (niveles gallego, español o europeo). De esta forma, se presentan datos sobre las partes desechables de este tipo de compuestos. Los cálculos correspondientes a dichas cantidades se recogerán en el apartado 7 de esta misma memoria.

En dicha Tabla, además, figuran datos que se corresponden con diferentes especies del género *Allium*, como podrían ser los puerros, las cebollas o los ajos.

Tabla 1. Contenido fenólico total en extractos de diferentes partes de la *Allium*

Especie de <i>Allium</i>	TPC (mg GAE/g MS)	Fenoles mayoritarios	Ref
<i>Allium Porrum</i> (tallos)	0,50 - 13,96	Flavonoides	57, 58
<i>Allium Sativum</i> (cáscara)	28,35 - 29,83	-	59
<i>Allium Cepa</i> (capas externas)	74,10 - 79,82	Flavonoides (especialmente flavonoles)	60, 61, 62, 63,
	52,70		64

*MS=Muestra Seca

El contenido fenólico para este tipo de especies se encuentra entre los más elevados para productos de huertas e incluso muestra concentraciones superiores a las de bastantes muestras que se recogerán en apartados posteriores. Sin embargo, tal y como se reflejará en el siguiente apartado de esta memoria, la cantidad de residuos de estas especies, si bien elevada, no puede compararse a la que generan las grandes industrias del vino o del aceite. Con todo, no hay que menospreciar su contribución, puesto que en el peor de los casos estaríamos hablando de toneladas de productos de gran interés.

5.2. Familia *Pinaceae*

Las pináceas son plantas coníferas caracterizadas principalmente por la forma particular de sus hojas, que tienen la apariencia de agujas. Además, el nombre de conífera surge de la forma cónica que presentan las especies arbóreas pertenecientes a esta familia.

La familia incluye 11 géneros en los que se clasifican alrededor de 220 especies, entre las que destacarían el abeto, el pino o la cicuta. Todos los miembros de esta familia presentan estructuras reproductivas masculinas y femeninas en la misma planta. Una característica muy llamativa de las especies pertenecientes a esta familia es la reducida frondosidad de los árboles pináceos, pues presentan hojas más individualizadas, con forma de aguja, en ramas cortas y poco ramificadas ⁶⁵.

Se encuentran distribuidas por la América Central, Japón, China, Indonesia, Norte de África, principalmente, siendo la familia dominante en la vegetación de zonas boreales

de en las regiones del norte del Pacífico. Se utilizan principalmente en almacenes navales o para la extracción de aceites esenciales o productos de origen vegetal, si bien también existe un uso extendido como plantas ornamentales ⁶⁶.

Las muestras de este tipo de especies, como el pino, contienen una mezcla única de flavonoides (principalmente, monómeros de flavonoides y flavonoides condensados, o procianidinas compuestas por flavan-3-oles, catequina o epicatequina) ⁶⁷. Existen estudios que demuestran que los extractos de pino francés protegen las lipoproteínas de baja densidad en el plasma sanguíneo humano frente a la oxidación inducida por cobre o los daños inducidos por hierro en el ADN ⁶⁸. La capacidad de estos extractos para proteger las células humanas de procesos degradativos, está relacionada principalmente con el fomento de la actividad de las enzimas antioxidantes (reductasas y peroxidasas) ⁶⁹.

Por lo comentado anteriormente, las muestras de aguja de pino han demostrado tener efectos beneficiosos en la prevención patologías como la arterioesclerosis o por presentar efectos antiinflamatorios en general ⁷⁰. Esta parte de los pinos presentan una concentración especialmente elevada de ácido glutámico y sus extractos se han utilizado ampliamente en el desarrollo de aceites o perfumes, en tierras de Asia (Corea del Sur, China...). Así mismo, las propiedades beneficiosas de este tipo de especies vegetales son bien conocidos desde la antigüedad, puesto que crónicas budistas de siglos pasados recogen los usos medicinales de los extractos pináceos ⁷¹.

La corteza se obtiene en grandes cantidades en plantas que realizan el descortezado de las especies que llegan a fábrica, que luego son desechadas, junto con toda aquella corteza proveniente de las cortas periódicas a las que estas especies son sometidas anualmente en los minifundios de los montes en los que se encuentran distribuidas. Una forma de valorizar este tipo de residuos sería, como ya se ha comentado, plantear la extracción de los compuestos fenólicos presentes en los mismos. La Tabla 2 recoge un intervalo para los valores esperados de fenoles totales en muestras pertenecientes a especies pináceas.

Tabla 2. Contenido fenólico en especies de la familia *Pinaceae*

Especie de <i>Pinaceae</i>	TPC (mg GAE/g MS)	Fenoles mayoritarios	Ref
<i>Pinus morrisonicola</i>	8,16 - 40,46	Flavonoides	⁷⁰
<i>Pinus Sylvestris</i> (corteza)	5,80 - 12,33	Flavonoides, ácidos fenólicos, taninos	⁷²
<i>Pinus Pinaster</i> (corteza)	7,52 - 39,52	Flavonoides (taxifolina, catequina, epicatequina...)	⁷³
<i>Pinus Halepensis</i> (corteza)	48,87	Flavonoides	⁷⁴

Como se puede observar en la Tabla anterior, existe una cierta variedad entre los resultados que presentan los diferentes estudios para la concentración fenólica total. Estas variaciones no son únicamente debidas a las posibles diferencias entre las condiciones de extracción empleadas por los diferentes investigadores en cada uno de los estudios presentados, sino también por la propia especie *Pinaceae* o incluso la estación del año en la que sea llevado a cabo el experimento. El objetivo de presentar estos valores es obtener una idea aproximada de entre qué concentraciones oscila (en términos generales) el contenido fenólico total (TPC) en diferentes especies dentro de la familia de las Pináceas, cuyos miembros se encuentran distribuidos no sólo en diferentes zonas de España, sino también a lo largo y ancho del continente europeo.

5.3. Familia *Vitis*/ Residuos vitivinícolas

En los apartados anteriores se han presentado fuentes naturales de compuestos fenólicos, procedentes de especies vegetales como las pertenecientes a la familia del ajo (*Allium*) y a la familia del pino (*Pinaceae*), no obstante, si hay una fuente de compuestos fitoquímicos por excelencia, ésta es la industria alimentaria. Los compuestos obtenidos a partir de esta fuente tienen especial interés, pues suelen ser reaprovechados a partir de residuos resultantes del procesamiento de frutas, verduras u hortalizas; la posibilidad de utilizar dichos residuos conduce al desarrollo de modelos de aprovechamiento de recursos de gran importancia desde el enfoque económico de la empresa a cargo del procesamiento de la fuente vegetal ⁷⁵.

Sin embargo, a tenor de lo comentado, debe tenerse en cuenta que las sustancias fitoquímicas presentes en los residuos de la industria alimentaria pueden presentar modificaciones importantes en sus características (prestaciones, concentración, etc.) en función de los procesos previos a los que se vean sometidas las frutas, verduras u hortalizas de las que proceden, motivo por el cuál resulta importante realizar un estudio de la viabilidad de residuo como materia prima de compuestos fitoquímicos ⁷⁶.

Como fuente de compuestos fenólicos, destaca la industria vinícola. La uva es una de las frutas cuyo cultivo se encuentra más extendido a lo largo y ancho del globo, y alrededor del 80% de toda su cosecha se emplea en la elaboración del vino. Esta industria, además, proporciona una cantidad importante de residuos sólidos que representan alrededor del 20% del peso total de la uva utilizada, motivo por el cual la gestión de los residuos obtenidos resulta clave para las empresas ^{77, 78}

El bagazo, o sea, el residuo que queda una vez extraído el jugo de la uva, se utiliza como abono o alimento para los animales, si bien su principal uso es en la producción de licor de orujo. Los porcentajes de cada tipo de residuo producido en el procesado del vino se representan en la Ilustración 11 ⁷⁷.

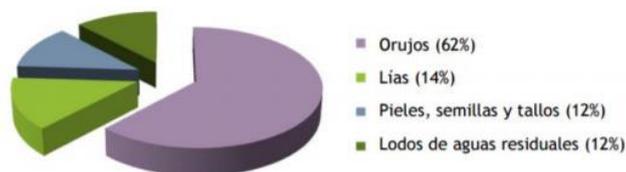


Ilustración 11. Residuos de producción de vino ⁷⁷

Entre los compuestos bioactivos que se pueden obtener de este bagazo se incluyen principalmente las antocianinas, los flavan-3-oles, flavonoles, estilbenos y ácidos fenólicos ⁷⁹. Estos compuestos no se encuentran distribuidos homogéneamente por toda la uva, si no que por ejemplo la piel es una fuente importante de antocianinas, mientras que las semillas tienen un fuerte contenido en procianidinas ⁷⁷.

Tabla 3. Contenido fenólico en muestras de origen vinícola (orujo de uva y lías de vino)

Especie		TPC (mg GAE/g MS)	Fenoles mayoritarios	Ref
Orujo de uva		55,50 - 153,80	Flavonoides (flavonoles, antocianinas, proantocianinas)	80
Orujo de uva		26,8 - 71,8	Flavonoides, ácido gálico, flavan-3-oles (catequinas y procianidinas), flavonoles (quercetina, kaempferol)	81
Lías de vino		44,00 - 59,00	Flavonoides (flavonoles, flavonoles, antocianinas), ácidos fenólicos, estilbenos.	82, 83
Lías de vino		26,00 - 254,00		84
Orujo de Uva	Uva Roja	53,50 - 55,80	Taninos condensados e hidrolizables	85
	Uva Blanca	49,68 - 60,95		

Nuevamente, al igual que en los apartados anteriores, pueden ser apreciadas diferencias notables entre los valores proporcionados por las diversas experiencias que se recogen en la Tabla. Estas diferencias, en el caso de productos de origen vinícola se deben principalmente a la variedad de uva estudiada y el proceso de vinificación utilizado, así como a las propias condiciones de extracción de los compuestos fenólicos.

5.4. Residuos de alperujo de la industria del aceite de oliva

Otra industria que, al igual que la vinícola, tiene una gran importancia en nuestro país por las elevadas tasas de producción anuales de las que hace gala es la industria del aceite de oliva. Como por todos es sabido, el aceite de oliva es un aceite vegetal obtenido a través de la aceituna de uso expandido por los hogares europeos y, principalmente, por los países del Mediterráneo, si bien el origen del árbol del olivo se remonta a tierras orientales ⁸⁶.

La obtención de los aceites a partir de la aceituna requiere de tratamientos mecánicos y físicos sujetos a condiciones bastante estrictas, principalmente condiciones de temperatura adecuadas, sin procesos adicionales paralelos ⁸⁷. Existen cuatro clases principales de aceite de oliva, cuya diferencia está marcada por su acidez, entendida ésta en términos de contenido de ácido oleico y cuyas especificaciones se encuentran reguladas a través de directivas europeas ⁸⁸.

La fama de este tipo de alimento se ha visto acrecentada desde finales del siglo pasado a consecuencia de su sabor y, especialmente, por sus beneficios sobre la salud humana. Uno de los efectos más notables es su capacidad antioxidante, íntimamente relacionada con los compuestos fenólicos presentes en su composición, principalmente ácidos fenólicos (ácidos vanílico, siríngico, cumárico, gálico...) o alcoholes fenólicos (flavonoles, lignanos...) ⁸⁹. Además, los fenoles presentes en el aceite, dotan a esta de otra serie de capacidades que ya se han señalado con anterioridad: Capacidad antitumoral, capacidad antiinflamatoria, en la prevención de patologías cardíacas, etc. Se ha observado que para individuos con una dieta rica en aceite vegetal, dichas patologías se daban en menor proporción, como consecuencia de la inhibición de la oxidación de las Lipoproteínas de Baja Densidad (*Low Density Lipoproteins*, LDL) ^{90, 91}.

Sin embargo, la presencia de este tipo de compuestos fenólicos no se limita exclusivamente al propio aceite de oliva en sí, sino también a los residuos que se producen durante el procesado de las aceitunas. El residuo más conocido es el alperujo, un residuo pastoso de elevada humedad, obtenido en toda almazara durante el proceso de extracción del aceite, a consecuencia de la utilización de metodologías de centrifugación en dos fases (se realiza la centrifugación y luego se separa el aceite y una mezcla de orujo con aguas de vegetación, responsables del tacto pastoso del alperujo) ⁹². Representa el 80% de la aceituna de entrada y, además, se emplea a su vez en la obtención de aceite de orujo o, en menor medida, a la generación de energía eléctrica y fabricación de compost. Sin embargo, dado su elevado contenido fenólico, resultaría interesante plantear la extracción

de compuestos fenólicos de interés para la Industria Farmacéutica a partir de este tipo de subproducto.

Los residuos producidos en almazaras representan una fuente de contaminación ambiental en zonas con un cultivo de olivo extendido. Esto es debido principalmente a los vertidos generados, que contienen productos de elevado poder antibacteriano, lo que dificulta su degradación y, por tanto, su eliminación del medio natural, generando grandes problemas de suciedad, mal olor, o incluso daños irreversibles en los ecosistemas contaminados. De esta forma, cualquier actividad que contribuya a la reutilización de los residuos generados por este tipo de industria, contribuirá de igual manera a la defensa del medioambiente y de los organismos vivos que lo habitan.

El TPC para diversos extractos de alperujo se recoge en la siguiente Tabla:

Tabla 4. TPC en extractos de alperujo

Muestra	TPC (mg GAE/g MS)	Fenoles mayoritarios	Ref
Alperujo (orujo de oliva)	156,30 - 275,00	Flavonoides, ácidos	⁹³
Alperujo (orujo de oliva)	36,00 - 207,35	fenólicos	⁹⁴

El contenido fenólico varía en función de la metodología extractiva empleada y, principalmente, en función del líquido extractante, siendo los disolventes alcohólicos los que mejores resultados proporcionan, debido a la afinidad entre ellos y los grupos fenólicos de este tipo de compuestos. Así, mismo, la variedad de oliva procesada también influirá en el contenido fenólico total; a consecuencia de la enorme variedad de aceitunas existentes tanto a nivel europeo como a nivel nacional, los datos de la Tabla 4 presentan un intervalo de valores en el que se ubica el contenido fenólico total en los diversos tipos de alperujo.

Se ha observado a través de la bibliografía consultada en este apartado, que la concentración fenólica de los extractos procedentes de diferentes especies vegetales, está fuertemente relacionado con el tiempo transcurrido entre la extracción y la determinación, así como con las condiciones de extracción y de almacenamiento ⁹⁵. Esto es debido a la oxidación o degradación que pueden sufrir los diferentes compuestos al ser sometidos a diferentes condiciones de temperatura o incluso por la acción de los rayos UV-Vis. La estabilidad de los compuestos fenólicos con el tiempo, está fuertemente relacionada con la estructura de los mismos, puesto que la presencia de determinados grupos químicos o de las diferentes cadenas y ramificaciones, los hace más propensos a ser oxidados o degradados.

6. Modelo de aprovechamiento de residuos de origen vegetal

Desde los años 70 del siglo pasado, ha ido medrando en la sociedad una profunda preocupación por la conservación del medio natural. Esta preocupación ha propiciado el desarrollo de una toma de conciencia colectiva respecto a materias como la contaminación, el calentamiento global, la protección de los ecosistemas naturales o el consumo desenfrenado (y en constante incremento). Estas inquietudes se han visto potenciadas por los diferentes contextos socioeconómicos de las décadas sucesivas que han transcurrido hasta el momento presente.

Asociada a las nuevas corrientes de pensamiento y movimientos sociales, como podría ser el movimiento ecologista, ha surgido la necesidad de promover modelos de consumo actualizados, en la búsqueda constante de reducir el impacto de las actividades productivas sobre el medio natural. Algunas estrategias empleadas para la consecución de estos objetivos medioambientales se integran en el campo conocido en la actualidad como “Sostenibilidad”. La Sostenibilidad se define como: “La capacidad de satisfacer las necesidades del presente sin comprometer la de futuras generaciones para satisfacer las suyas”⁹⁶.

El concepto de desarrollo sostenible ha sido acogido por un porcentaje elevado de sujetos internacionales, a través de planes de agenda a nivel estatal o a nivel internacional. En esa línea surgen planes como la Agenda 2030 de Naciones Unidas, que plantea objetivos para equilibrar la defensa del medioambiente con las necesidades económicas y sociales de la sociedad internacional⁹⁷.

Otras organizaciones como la Unión Europea, también se han sumado a estas iniciativas, manifestando su total apoyo a las directrices marcadas por la Agenda 2030 de la ONU, tal y como reflejan las acciones realizadas por la Comisión Europea desde noviembre del año 2016, destinadas a marcar los pasos hacia un “futuro europeo sostenible”⁹⁸. Cabe destacar el plan de acción de la Comisión Europea hacia una economía Circular, destinado al desarrollo económico sostenible y que integra más de cincuenta medidas, enfocadas a la reintegración de los residuos en la cadena productiva. Esta transición hacia la economía circular recibe apoyo financiero de los Fondos Estructurales y de Inversión Europeos, el Horizonte 2020 y el Fondo Europeo para las Inversiones Estratégicas; además, se promueve la cooperación total entre los Estados miembros de la UE tanto económicamente, como en investigación, etc⁹⁹. También destaca el llamado *Green Deal* una hoja de ruta que apunta al mismo objetivo, dotar a la Unión Europea de una economía

más sostenible, mediante oportunidades generadas a través de las crisis ambientales y climática. Ambas metodologías se sustentan sobre la idea de hacer un uso eficiente de los recursos, reducir la contaminación y conservar la biodiversidad, marcándose (en el caso del *Green Deal*) un objetivo climáticamente neutro en el año 2050 ¹⁰⁰.

Por último, a nivel estatal los países miembros de la UE han ido adaptando sus agendas para cumplir con las directrices europeas en materia medioambiental, tal y como demuestran en el caso de nuestro país no sólo las sucesivas leyes de defensa del medioambiente, sino también la propia formación de un ministerio para la Transición Ecológica y un ministerio de Asuntos Sociales y Agenda 2030, ambos creados durante la etapa de Pedro Sánchez en la presidencia del Gobierno.

Por todo lo descrito anteriormente, el principal objetivo de esta memoria es, como se ha mencionado con anterioridad, proponer un modelo de aprovechamiento de residuos de origen vegetal, de los cuales a través de diferentes técnicas extractivas, como las que se enumeraron en el cuarto apartado de esta misma memoria, se pueden obtener compuestos bioactivos de gran interés, como es el caso de los compuestos fenólicos. La capacidad de extraer este tipo de compuestos de residuos agrícolas, vinícolas o forestales, supone la oportunidad para valorizar dichos residuos.

6.1. Compuestos fenólicos en residuos de especies de *Allium*

Los métodos tradicionales de gestión de residuos agrícolas conllevaban, hasta finales de siglo pasado, la quema de los mismos. Sin embargo, actualmente este sistema se ha rechazado por el bajo poder calorífico de la mayoría de estos recursos y por su limitación estacional, es decir, que sólo podrían ser empleados como combustible cuando la época coincida con la época de cosecha. Los modelos de valorización de residuos han demostrado ser más interesantes no sólo desde el punto de vista medioambiental, si no también desde la perspectiva económica de las empresas, pudiendo reutilizar residuos sólidos o líquidos para extraer compuestos bioactivos con posibles aplicaciones fitosanitarias o como materias primas en el desarrollo de nuevos materiales, etc ¹⁰¹.

6.1.1. Compuestos Fenólicos Totales en desechos de puerro

El puerro se desarrolla preferiblemente en áreas con climas suaves y húmedos a temperaturas medias de entre 14 y 24 °C. Una vez realizada la siembra, la recolección tiene lugar a los 5 meses de realizarse la misma ¹⁰².

La morfología del puerro está caracterizada por tres partes diferenciadas: Las hojas (planas y alargadas), las flores y el bulbo (la parte comestible, blanca y alargada).

Se trata de un alimento cuyo consumo es mayoritario en los países del Norte de Europa. La producción anual aproximada en la Unión es de algo más de 800.000 toneladas (829.530 para el año 2017, según datos proporcionados por Eurostat). Los principales productores de esta hortaliza son Francia y Bélgica, seguidos por Holanda y Polonia, que compiten por el tercer puesto y, también, por España (cuya producción ha ido medrando progresivamente). Tan sólo en el mercado europeo, se movilizan casi 180.000 toneladas de puerro de manera anual, al igual que las exportaciones internacionales (175.000 toneladas, aproximadamente).

Los principales residuos sólidos procedentes del puerro los constituyen las hojas y las raíces, las cuáles representan el 47% en peso sobre el total recolectado, según datos de la Guía MTD de Transformados Vegetales, proporcionada por el Ministerio de Transición Ecológica y Reto Demográfico ¹⁰³.

Por otra parte, el Ministerio de Agricultura del Gobierno de España proporciona datos relativos a la superficie cultivable y producción total de puerro ¹⁰⁴:

La superficie total dedicada al cultivo de puerro en España supone un volumen de cerca de 3.000 hectáreas (3.089), siendo las Comunidades Autónomas de Castilla y León (con 964 hectáreas) y Andalucía (con 630 hectáreas) las áreas en las que se concentran las mayores superficies de cultivo, mientras que las Comunidades de Asturias, Cantabria y Madrid (con 8, 1 y 3 hectáreas respectivamente) son las que menos contribuyen a la producción total del puerro. El cultivo de puerro en Andalucía se concentra mayoritariamente en las áreas más meridionales de la región (provincias de Sevilla y Cádiz) ¹⁰⁵; en Castilla y León, la producción se da principalmente en las provincias de Valladolid y Segovia ¹⁰⁶. Galicia, por su parte, sostuvo una producción anual de 3.397 toneladas de puerro ¹⁰⁷.

La producción española de puerro anual fue, según los últimos datos publicados (fechados para el año 2017), de 95.248 toneladas totales, con rendimientos superiores en cultivos de regadío, frente a los cultivos de secano.

En la Tabla 1 se recogen valores de TPC (*Total Phenolic Compounds*) para las hojas y tallo de los puerros; asumiendo que las hojas representan la mitad de los desechos totales (ese 47% sobre la producción total, anteriormente citado), a través de los residuos sólidos procedentes del cultivo de puerro se podría obtener una cantidad de compuestos fenólicos de entre 678 y 150 toneladas de compuestos fenólicos, con una proporción mayoritaria de flavonoides, con potenciales aplicaciones biomédicas y farmacológicas derivadas de su ya expuesta capacidad como antioxidantes. Con vistas a no sobreestimar la

disponibilidad de los compuestos fenólicos, debe tenerse en cuenta el contenido de humedad de los residuos, que, en el caso del puerro, es similar al de otras especies de la misma familia, como la cebolla (13%). Los valores de compuestos fenólicos totales para residuos de puerro se recogen en la siguiente Tabla y se reflejarán exclusivamente los residuos obtenidos a partir de las diferentes producciones anuales (de España, Galicia y Europa) una vez aplicados los porcentajes de residuos y humedad (47 y 13 % respectivamente):

Tabla 5. TPC en residuos de puerro

Región	TPC (mg GAE/g MS)	Residuos SA (toneladas)	TPC estimados (Toneladas)
España	3,37 - 15,14	38.947	131 – 590
Galicia		1.389	5 - 21
Europa		339.195	1143 - 5135

*SA=sin agua

6.1.2. Compuestos Fenólicos Totales en desechos de ajo

Operando de manera similar a cómo se ha procedido en el caso del puerro, en este apartado se presentarán los datos referidos a la producción de ajo en España, Galicia y Europa.

El cultivo de ajo no se muestra especialmente condicionado por los factores climáticos, si bien medra mejor en suelos con una humedad inferior a la capacidad de campo (cantidad máxima de agua absorbida por el suelo). La recogida de la cosecha de ajo se realiza a los 8 meses cuando la plantación se realiza en otoño y 4 meses cuando es realizada en períodos primaverales, siendo la sequedad de las hojas el mejor indicador de si la recogida debe ser realizada ¹⁰⁸.

Los países de la UE producen alrededor de 400.000 (398.130 según datos de Eurostat) toneladas anuales de ajo, una cantidad modesta, si la comparamos con los 28 millones de toneladas que se producen a nivel mundial anualmente (aproximadamente) ¹⁰⁹, siendo China el principal exportador a nivel internacional . Dentro de la UE, la mayor producción de ajo se da en España, cuya tasa de producción anual se reflejará en líneas posteriores.

En los últimos años, se ha producido una constante fluctuación de los precios del ajo, principalmente ligada a la presencia del ajo chino en el mercado. El incremento de precios del producto asiático ha motivado una mayor demanda de productos procedentes del mercado interior de la UE; no sólo eso, sino que las subidas arancelarias chinas, también han motivado que países procedentes de mercados latinoamericanos incrementen el volumen de ajos europeos importados, lo cual redundará en pingües beneficios económicos

en aquellos países como España, que acumulan las mayores tasas de producción. A pesar de esto, la producción de ajo de la UE no deja de ser modesta en comparación con la capacidad de producción de los países asiáticos, lo cual dificulta la perfecta competitividad ¹¹⁰.

En España el cultivo de ajo se realiza principalmente en las Comunidades de Castilla-La Mancha (con 17.201 hectáreas dedicadas al cultivo de este producto) y en Andalucía (5.779 hectáreas), mientras que cultivos minoritarios se realizan en la Comunidad Valenciana (15 hectáreas), Navarra (5 hectáreas), La Rioja (8 hectáreas) y el Principado de Asturias (8 hectáreas). En Castilla-La Mancha el cultivo se concentra en las provincias de Albacete, Cuenca y Ciudad Real, a lo largo de las cuencas del Guadalquivir, el Segura y el Júcar ¹⁰⁴; en Andalucía, por su parte, las mayores superficies de cultivo se ubican, siguiendo la cuenca del Guadalquivir, en las provincias de Sevilla y Córdoba. Por último, Galicia sostiene un cultivo minoritario de ajo, con 186 toneladas de producción anual para el año 2018 y con una superficie de cultivo de 41 hectáreas.

La Guía MTD recoge, en su capítulo tercero, el porcentaje de restos por materia prima procesada. Para los brotes de ajo, los desechos suponen un 17% del total de la producción. La producción anual de ajo según los últimos informes publicados por el Ministerio de Agricultura (año 2018), asciende a 274.712 toneladas. Según los valores recogidos en el estudio de Chouk y colaboradores, que estipulaban una cantidad de unos 29 mg GAE/ g de muestra seca para el TPC de muestras de cáscara (principal desecho) de ajo, la cantidad total que se podría obtener de los desechos de esta especie (el 17% de la producción total) alcanzaría las cantidades reflejadas en la siguiente Tabla. Los compuestos mayoritarios entre esos fenoles totales serían flavonoides (antocianinas, proantocianinas, flavanoles...) de gran utilidad fitosanitaria.

Los valores estimados se recogen en la Tabla 6; nuevamente, con vistas a no sobreestimar el contenido fenólico, la humedad de la muestra (2,69 %) debe ser tomada en cuenta:

Tabla 6. TPC en residuos de ajo

Región	TPC (mg GAE/g)	Residuos SA (toneladas)	TPC estimados (Toneladas)
España	29,00	45.445	1.318
Galicia		31	± 1
Europa		65.861	1.910

En función de los resultados obtenidos una vez estimados los residuos generados a partir de las distintas producciones por región evaluada, cabe señalar la ausencia de datos

exactos sobre las partes del ajo desechadas anualmente, lo cual sin duda debe estar relacionado con su forma de comercialización, que apenas requiere de operaciones previas que conlleven pérdidas a contabilizar.

6.1.3. Compuestos fenólicos totales en desechos de cebolla

De la misma forma que sucedía con el puerro y el ajo, el cultivo de cebolla puede realizarse a lo largo de varias etapas de un mismo año, si bien las mejores condiciones se dan en épocas con una gran tasa de horas de sol. Generalmente, la cebolla se desarrolla de invierno a verano, aprovechando el calor de la estación estival para las últimas fases de su crecimiento ¹¹¹.

Las cebollas constituyen el segundo cultivo de huerta más importante del mundo, con un incremento de producción constante hasta el 2018, especialmente en Europa, si bien es verdad que en el último año, las tasas de producción han sufrido un ligero descenso (experimentando, no obstante, un nuevo crecimiento significativo a lo largo del 2019). Los principales proveedores de esta hortaliza en la Unión Europea son España, Holanda y Reino Unido, tal y como se muestra en la Ilustración 12. Mención aparte a Turquía, cuya producción de cebolla es tremendamente elevada, pero que no acaba de formar parte de la Unión Europea ¹¹². La escasez de los últimos años ha producido un desarrollo de mercados como el chino o el chileno se desarrollen, incrementando sus exportaciones a Europa; sin embargo, la recuperación progresiva de ésta, ha devuelto la situación a como estaba antes de los períodos de escasez de los años 2018 y 2019 ¹¹³.

La producción europea de cebolla asciende, en total, a unas 5.909.360 toneladas (para el año 2017/2018), y, por otra parte, la generación de residuos asociada a dicha producción fue de alrededor de 500.000 toneladas, lo que, de forma aproximada, supone una tasa de residuos por cantidad de cebolla producida del 8,5% ¹¹⁴

En España, la producción de cebolla para el año 2018 fue, según datos proporcionados por el ministerio de agricultura, de 1.272.928 toneladas, siendo las comunidades de Andalucía, con 119.452 toneladas y Castilla-La Mancha, con 743.321 toneladas, las comunidades que concentran las mayores superficies y volumen de producción (especialmente, al igual que ocurría con el ajo, a lo largo de la cuenca del Guadalquivir), así como en Murcia y la provincia de Valencia ¹⁰⁴. Por su parte, la comunidad gallega produjo en el año 2018, 32.569 toneladas de cebolla.

Los desechos sólidos de cebolla están compuestos principalmente por las capas más externas de la misma, que suponen entre un 15 y un 25 % del peso total de la cebolla.

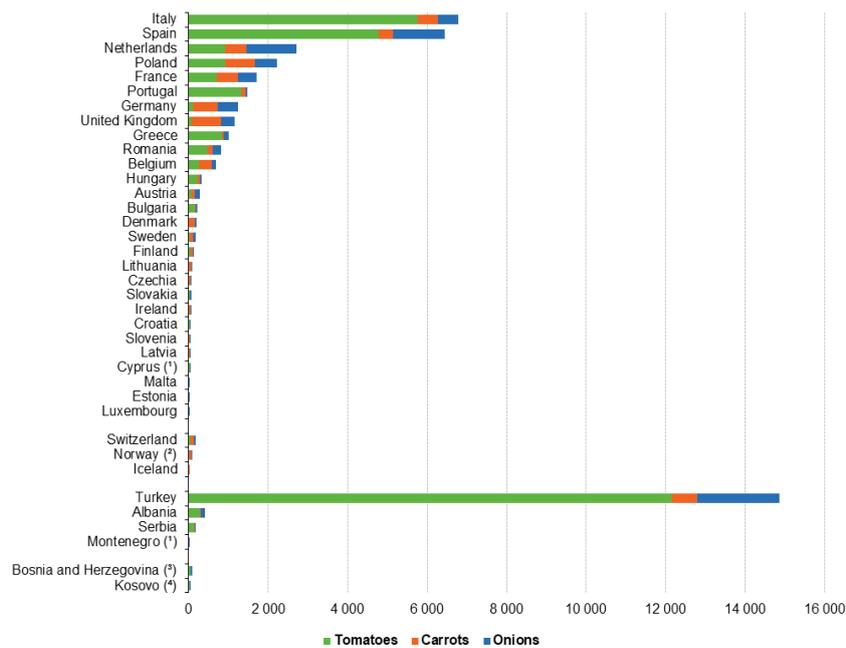


Ilustración 12. Producción de Hortalizas por tipo de Hortaliza en Europa, 2018

Según los datos presentados en la Tabla 1, la concentración de fenoles es superior en las capas externas (desechables), que en las capas más internas. Operando de la misma forma que en los casos anteriores, para la producción española anual (1.272.928 toneladas, para 2018), asumiendo que los productos de desecho suponen aproximadamente el 8,5% del total, obtendríamos una cantidad de residuos de 108.199 toneladas. De esos desechos, las capas externas representan más o menos entre un 15 y un 25%, es decir 21.640 toneladas, aproximadamente (se tomará un porcentaje del 20%, para los cálculos). A partir de los valores de TPCs para residuos de cebolla recogidos en la Tabla 1, podremos estimar el contenido fenólico total en los residuos de esta hortaliza para diferentes regiones (Galicia, España y Europa). La Tabla 7 recoge los valores estimados para TPCs en residuos de cebolla una vez tenido en cuenta el porcentaje de residuos sobre la producción total y la humedad de dichos residuos (8,5 y 13 % respectivamente).

Tabla 7. TPC en residuos de cebolla

Región	TPC (mg GAE/g)	Residuos SA (toneladas)	TPC estimados (Toneladas)
España	52,70 – 79,82	94.133	4.961 – 7.514
Galicia		2.408	144 – 192
Europa		436.997	23.029 – 34.881

Como se puede observar, la cantidad de fenoles disponibles en residuos de cebolla es (por norma general), muchísimo mayor que en el resto de productos de la familia *Allium*, a

consecuencia, no sólo de su más elevado contenido fenólico, sino, especialmente, de sus elevadas tasas de producción. Tan sólo en España, estaríamos hablando de miles de toneladas de compuestos fenólicos reutilizables, que, de otra forma, se desperdiciarían.

6.2. Compuestos fenólicos en residuos de especies pináceas

En los últimos años, el interés por la utilización de biomasa para la producción energética en los países desarrollados ha posibilitado la creación de grandes superficies de cultivos forestales cuya madera es utilizada como materia prima o como fuente de energía para el sector industrial. Las especies de la familia del pino son ampliamente utilizadas para este tipo de actividad, pues, a diferencia de otras especies como el eucalipto, su plantación no resulta tan agresiva con el suelo forestal ¹¹⁵. La disposición de las plantaciones pináceas varía en función de la finalidad de la madera de pino.

La producción de madera, a diferencia de lo que ocurre con el petróleo está sujeta a una gran multitud de productores, dueños de superficies forestales (como ocurre con los minifundios de los montes gallegos), lo que dificulta la obtención de datos respecto a las cantidades maderables, volúmenes de cortas, madera extraíble, etc. Se considera un recurso renovable, sin embargo, con el tiempo, el volumen de madera exigida por los mercados ha excedido la capacidad de renovación de las superficies forestales; tanto es así, que la FAO (*Food and Agriculture Organization*) de la ONU ha estimado para el futuro un déficit severo ¹¹⁶.

A través del estudio individualizado de las diversas especies presentes en cultivos forestales, se establecen unas estimaciones sobre las cantidades (en toneladas) de producción de biomasa asociadas a las mismas, así como a un análisis detallado de costes para su aprovechamiento, transporte, etc. Sin embargo, se podría establecer que su principal objetivo es evaluar la cantidad de residuos derivados de superficies de cultivo forestal, disponibles para la producción de bioenergía, tal y como establece la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) en su manual de Aprovechamiento Forestal ¹¹⁷.

Entre las entidades dedicadas al desarrollo de este tipo de proyectos, en nuestro país destaca el Instituto de Diversificación y Ahorro de la Energía, dependiente del Ministerio para la Transición Ecológica y el Reto Demográfico ¹¹⁸, el cual ha publicado estudios de valorización de recursos como la: “Evaluación del potencial de energía de la biomasa. Herramienta informática para la valoración de recursos”, que proporciona datos sobre la capacidad de aprovechamiento forestal en función de las especies existentes en las

diversas provincias de nuestro país. Las necesidades de conocer los volúmenes de madera producidos a partir de las múltiples plantaciones forestales conducen al desarrollo de los Anuarios Estadísticos Forestales, el último de los cuáles data del año 2017.

Las Comunidades Autónomas que acumulan mayores superficies forestales son Cataluña, Extremadura y Galicia, siendo mayoritarias las plantaciones privadas frente a las mancomunidades o a las de propiedad estatal (70% del total) ¹¹⁹. Entre esas tres, la comunidad gallega es la que presenta los mayores volúmenes maderables (es decir, la cantidad de madera extraíble del tronco del árbol sin contar las ramas), según los últimos datos del Inventario Nacional. En territorio nacional, las especies mayoritarias en cuanto a su volumen maderable son: *Pinus Pinaster* con 153.627.034 m³, *Pinus sylvestris* con 153.269.839 m³ y *Pinus halepensis* con 82.897.633 m³, tal y como se puede ver en la siguiente Ilustración ¹²⁰:

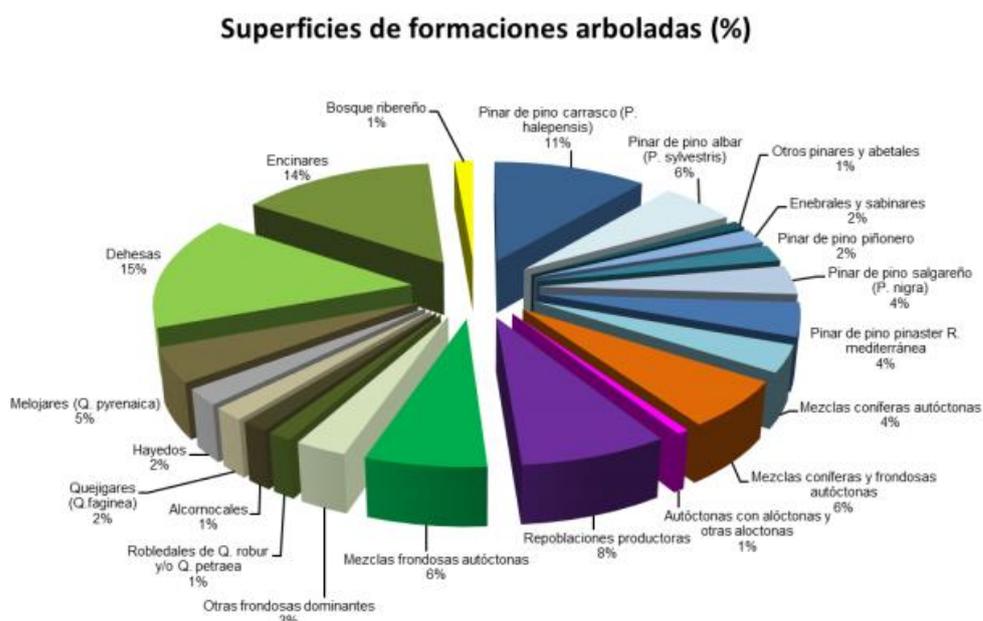


Ilustración 13. Superficies (ha) de formaciones arboladas (%) en España ¹²⁰

El mismo Inventario Forestal del año 2017 nos proporciona el volumen cortado para éstas especies, los cuáles se recogen en la siguiente Tabla:

Tabla 8. Volumen maderable para las principales especies pináceas en España (m³)

Especie	Volumen maderable con corteza (m ³)	Corteza extraíble España húmeda (toneladas)
<i>Pinus pinaster</i>	3.402.714	850.679
<i>Pinus sylvestris</i>	1.362.173	340.543
<i>Pinus halapensis</i>	259.821	64.955

Según un estudio de la Universidad Católica de Ávila, a partir de entre 16.000 y 20.000 m³ de madera, se podrían obtener unas 4.000 o 5.000 toneladas de corteza, existiendo variaciones importantes en función de las capacidades de los diversos aserraderos, la maquinaria utilizada, etc. De estos datos podemos suponer que por la relación corteza (toneladas)/ volumen (m³) es de un 25%, aproximadamente, dato que se utilizará en cálculos posteriores. En la Tabla 8 también se recoge la cantidad de corteza extraíble para dichos volúmenes, atendiendo a la proporción planteada por dicho estudio ¹²¹.

Galicia no posee un Anuario Forestal propio, similar al proporcionado por el Ministerio de Agricultura. Este mismo año, el presidente de la Xunta, Alberto Núñez Feijóo anunciaba que a partir de 2020 Galicia desarrollará su propio inventario forestal continuado (renovable anualmente), lo cual es sumamente importante dado el volumen de cortas que se producen en territorio gallego (60% del total nacional). Ante esta falta de datos, para conocer el volumen maderable gallego para las especies anteriormente citadas, debemos recurrir a una estimación a partir de la superficie forestal. Por ejemplo, gracias a los datos proporcionados por el Anuario Estadístico Forestal del Ministerio, podemos conocer el volumen maderable por especie, tal y como se ha expuesto previamente; por otra parte, el Ministerio de Agricultura, a través de su apartado “Bosques españoles y su evolución” ¹²², proporciona datos sobre la distribución porcentual de la superficie forestal dedicada a la especie *sylvestris*, ya que la *halapensis* no crece en los montes gallegos, y no publican datos para la *pinaster*, por lo que, relacionando el volumen maderable total con la superficie forestal podemos estimar cuánto volumen de madera se obtiene por hectárea y, a través de los datos porcentuales, por hectárea gallega. Operando de esta manera obtendremos los siguientes datos:

Tabla 9. Volumen maderable de *Pinus sylvestris* en Galicia

Especie	Volumen maderable con corteza (m³)	Superficie forestal (ha)	Relación (m³/ha)	Superficie Gallega (ha)	Volumen maderable en Galicia (m³)
<i>Pinus sylvestris</i>	1.362.173	1.035.558	1,32	38.521	50.671

Por otra parte, el estudio “Aplicaciones industriales de la madera de Pino Pináster”, experiencia llevada a cabo a través de la cooperación de la Xunta, XERA (Axencia da Industria Forestal) y CIS (Madeira), ofrece una serie de procedimientos para la transformación industrial de la madera y, además, proporciona información de interés

desde el punto de vista de esta memoria, proporcionándonos los valores aproximados de volumen maderable para la especie *Pinaster* en la región gallega (1.900.000 m³).

Al igual que en los casos anteriores, el contenido de humedad debe ser tenido en cuenta con vistas a no sobreestimar el contenido fenólico total. Dicha humedad, en el caso de las especies pináceas, suele mantenerse entre 10 y 15 % aproximadamente, según la bibliografía consultada.

A continuación, en la Tabla 10, se recoge la corteza residual seca (es decir, sin tener en cuenta el contenido de humedad) obtenida en bosques de Galicia y España para las especies de pino seleccionadas y a través de la cual se plantea la realización de la extracción fenólica:

Tabla 10. Corteza residual en España y Galicia

Especie	Humedad (%)	Corteza España seca (toneladas)	Corteza Galicia seca (toneladas)
<i>Pinus pinaster</i>	13	740.090	413.250
<i>Pinus sylvestris</i>	10	296.273	11.400
<i>Pinus halapensis</i>	10	58.451	-

La siguiente Tabla contiene los valores estimados para los TPCs en las muestras de especies pináceas, en función de los datos de residuos recogidos en la Tabla 10.

Tabla 11. TPC en corteza de especies pináceas

Especie		TPC (mg GAE/g MS)	Residuos (toneladas)	TPC totales (toneladas)
<i>Pinus pinaster</i>	España	7,52 - 39,52	740.090	5.565 – 29.248
	Galicia		413.250	3.108 – 16.332
<i>Pinus sylvestris</i>	España	5,80 - 12,33	296.273	1.718 – 3.653
	Galicia		11.400	66 – 141
<i>Pinus halpensis</i>	España	48,87	58.451	2.857
	Galicia		-	-

La mayor parte de estos fenoles pertenecen, en su mayoría al grupo de los flavonoides, además de taninos o ácidos fenólicos entre otros. En este caso no se han reflejado datos a nivel europeo, puesto que al igual que ocurre con Galicia, no existe un inventario forestal completamente desarrollado, al contrario que en el caso de España.

6.3. Compuestos fenólicos en residuos vinícolas (*Vitis vinífera*)

La industria vinícola tiene un peso elevado en la economía europea. La gran riqueza natural y las variedades climáticas proporcionan condiciones idóneas para el desarrollo

de un gran abanico de vinos de gran calidad con relevancia mundial. De hecho, Europa es la mayor exportadora de vinos de todo el Planeta.

Se estima que la Unión Europea produce anualmente 189 millones de hectolitros al año (aproximadamente)¹²³. Teniendo en cuenta que se necesitan aproximadamente 9 kilos de uva para producir 4 litros de vino, podemos estimar que la cantidad de uva procesada anualmente en Europa es de aproximadamente 42.525 miles de millones de kilos de uva al año ¹²⁴.

La Unión Europea, además, cuenta con el 45% de la superficie dedicada a cultivo de vinos a nivel mundial y produce el 70% de las exportaciones internacionales. Debido a lo anterior, a lo largo de los últimos quince años, la UE ha llevado a cabo dos regulaciones de mercado con la finalidad de apoyar al sector vinícola, a través de la simplificación de la política agraria (2013) o el desarrollo de mecanismos para mejorar la competitividad y la reputación de los vinos europeos en los mercados exteriores (2008) ¹²⁵.

España se erige en la Unión como el principal exportador de vino a los mercados internacionales, si bien tanto Francia como Italia la superan en facturación por tasa de vino comercializada. Aun así, es indudable que la importancia del sector vinícola para el sector agroalimentario español es tremendamente significativa. El país cuenta con casi un millón de hectáreas ocupadas por viñedos (13% del total mundial), a partir de las que se generan alrededor de 40 millones de litros de producción media anual ¹²⁶.

Dada la tasa de producción de vinos en España, existe una gran cantidad de residuos procedentes de esta industria vinícola, los cuáles podrán ser reutilizados de acuerdo a los preceptos defendidos en las estrategias de sostenibilidad y economía circular.

Los principales residuos del vino los componen el bagazo de la uva y las lías de vino. El bagazo de uva es el residuo generado tras la extracción del líquido de la uva durante la obtención del vino, constituido principalmente por los tallos, la piel, pulpa y semillas restantes una vez realizado el prensado de la uva ¹²⁷. Por su parte, las lías del vino son los precipitados que se forman durante la elaboración de esta bebida, los posos, compuestas principalmente por ácidos grasos y polisacáridos ^{128, 83}.

Según las estimaciones proporcionadas por el proyecto HaproWINE, la industria del vino produce una gran cantidad de residuos. Hasta el 20% de las uvas procesadas se acaba convirtiendo en residuo, propenso a ser valorizado. Dicho estudio establece, además, que la industria española genera alrededor de dos o tres millones de toneladas anuales de residuos vinícolas. Estos residuos están conformados por diferentes subproductos, cuyas proporciones se establecen de manera gráfica en la Ilustración 11, del apartado 7.3.

Analizando dicha figura, podemos convenir en que el bagazo representa el 62% del total y las lías de vino el 14%.

De esta forma, sobre esos 2 o 3 millones de toneladas estimadas de residuos vinícolas, entre 1.860.000 y 1.240.000 toneladas se corresponderán con orujos y entre 420.000 y 280.000 toneladas serán las lías de vino precipitadas durante su producción ¹²⁹, en el caso de España. Galicia, por su parte, con casi 10.000 hectáreas destinadas a la producción vinícola, procesa anualmente 50.000 toneladas de uva, a partir de las que se generarán unas 10.000 toneladas de residuos totales ¹³⁰.

A partir de estos datos de residuos y los valores recogidos en la Tabla 3, que proporcionan los TPCs contenidos en extractos de orujo de uva y lías de vino, podemos estimar los compuestos fenólicos totales extraíbles, que se recogerán en la Tabla 12. Se tomará el valor medio para los TPC tanto de orujo como de lías, si bien debe ser tenido en cuenta el contenido de humedad de ambos productos (53% para las lías y 65% para el orujo).

Tabla 12. TPC extraíbles de residuos vinícolas

Residuo		TPC (mg GAE/g)	Toneladas de residuo seco anuales (medio)	TPC en residuo estimado (toneladas)
Orujo	España	46,37 - 85,59	542.500	25.156 – 46.433
	Galicia		2.170	101 – 186
	Europa		1.845.585	85.580 – 157.964
Lías	España	35,00 - 156,50	164.500	5.758 – 25.744
	Galicia		658	23 – 103
	Europa		559.629	19.587 – 87.582

La cantidad de residuos generados por la industria vitivinícola conlleva la necesidad inherente de tratarlos de forma que su impacto medioambiental y económico se reduzca al mínimo.

6.4. Compuestos fenólicos en residuos producidos en residuos de aceite de oliva

Al igual que la industria del vino, la industria del olivo, es decir, aquella industria dedicada a la producción de aceite de oliva o aceitunas moviliza una gran cantidad de recursos y maneja unas tasas de producción tremendamente elevadas. Paralelamente a estas tasas de producción, se generan enormes cantidades de residuos que deberán ser tratados de manera que se minimice su impacto ambiental. Cabe señalar, sin embargo,

que en relación a lo que ocurre con otro tipo de industrias, en el caso de la industria del olivo, los subproductos y residuos generados durante el proceso productivo son ampliamente reutilizados, bien para la obtención de otros productos para la nutrición animal o para la obtención de energía.

A nivel mundial, la Unión Europea es tanto el principal consumidor como el principal exportador de aceite de oliva, aglutinando alrededor del 70% de la producción, con 4 millones de hectáreas cultivadas dedicadas al olivo, principalmente en países del área mediterránea. Tanto Italia como España presentan elevadísimas tasas de consumo de este producto, con valores anuales superiores al medio millón de toneladas ¹³¹. La producción anual para la temporada 2017-2018 en Europa fue de 2.643.382 toneladas, a las que se asocia una cantidad de 7.276.770 toneladas de alperujo.

España ocupa el primer puesto en cuanto a nivel de exportación de aceite de oliva, con un sector valorado en casi dos mil millones de euros entre los años 2007 y 2012. Al igual que con la industria vinícola, el sector del olivo genera todos los años miles o incluso millones de puestos de trabajos relativos a las diferentes actividades asociadas a la siembra, recogida y procesado de la oliva. La producción española representa el 60% de la UE y el 45% de la mundial, con 2.584.564 hectáreas disponibles según datos del Ministerio de Agricultura ¹³². Las comunidades con mayores tasas de producción de aceite son Andalucía y Castilla-La Mancha (951.677 y 100.075 toneladas respectivamente); por su parte, Galicia acumula en su territorio una producción mínima de 13 toneladas, siendo la Comunidad con menores tasas de producción.

Según el estudio publicado por la Agencia de Gestión Agraria y Pesquera de Andalucía, dependiente de la Consejería de Agricultura, Pesca y Desarrollo Rural de dicha Comunidad, titulado “*Evaluación de la producción y usos de los subproductos de las agorindustrias del olivar en Andalucía*” ¹³³, la cantidad de alperujo que se produce en las almazaras españolas representa el 80% (en peso) de la aceituna de entrada. El Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación dispone de datos actualizados de la cantidad de subproductos obtenidos a través del cultivo de olivo, gracias a los cuáles podemos saber que en la temporada 2017/2018 se produjeron 1.238.629 toneladas de aceite de oliva (totales), frente a una cantidad de alperujo de 4.366.062 toneladas. Los porcentajes respecto al total de residuos de esta industria se recogen en la siguiente Ilustración:

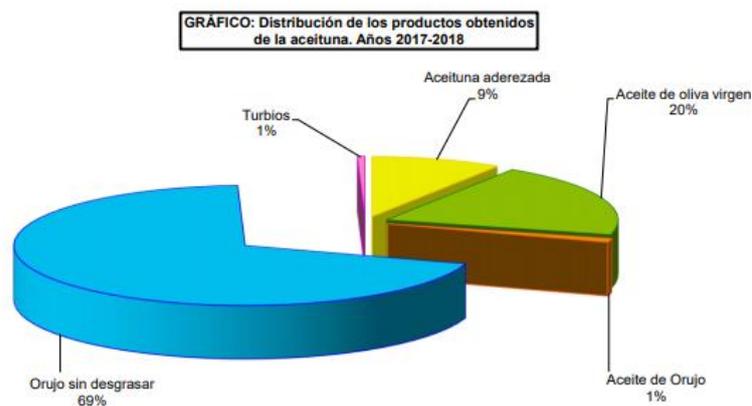


Ilustración 14. Distribución de los productos obtenidos a partir de la aceituna en la temporada 2017-2018

134

Conociendo el total de alperujo (u orujo) producido en España durante la temporada 2017-2018 ¹³⁴, junto a los datos de la Tabla 4, en las que se presentaba el TPC para muestras de alperujo, podemos estimar la cantidad de compuestos fenólicos disponible en este subproducto, el cual, si bien puede ser reutilizado en actividades que ya se han citado en líneas anteriores, debido a la enorme cantidad producida (y la consecuente cantidad de sustancias fitosanitarias disponibles), se podría pensar en preservar un porcentaje destinado a la extracción de este tipo de sustancias fenólicas.

La Tabla 13 recoge los valores para los TPC estimados a partir del alperujo residual, una vez despreciado el contenido de humedad, que en el caso de este tipo de muestras asciende al 70%.

Tabla 13. TPC estimados a partir de residuos de Alperujo

Región	TPC medio (mg GAE/g)	Toneladas de residuo	TPC en residuo estimados (toneladas)
España	36,00 - 275,00	1.300.819	46.829 – 357.725
Galicia		< 1	< 1
Europa		2.183.031	78.589 – 600.334

Se aprecia que la extensión de la industria del olivo por territorio europeo ofrece la posibilidad de rescatar cantidades elevadísimas de compuestos fenólicos, principalmente flavonoides (ácidos fenólicos). Al concentrar España las mayores superficies de cultivo de olivo, el aprovechamiento de residuos tan contaminantes como el alperujo resulta especialmente interesante, tanto para su valorización como para combatir la problemática medioambiental sobre la que se ha hablado en líneas anteriores.

6.5. Comparativa final

A tenor de los resultados expresados en los apartados anteriores, en este apartado se pretende ofrecer una comparativa entre los mismos y comentar brevemente las diferencias observadas en las cantidades de compuestos fenólicos disponibles para los distintos grupos de residuos recogidos, distribuidos territorialmente en los ámbitos de la comunidad gallega, España y Europa. Las gráficas integradas en este apartado representan la cantidad de compuestos fenólicos por tipo, es decir, agrupando productos de huerta (ajo, cebolla y puerro), especies pináceas (las tres especies consultadas) o residuos de la industria del vino (orujo y lías), conformando, junto a los residuos de alperujo de la industria del olivo, 4 tipos de residuos diferenciados. Los valores que figuran en dichas gráficas representan los valores medios en toneladas para cada tipo de residuo.

Tal y como se refleja en la Ilustración 15, la disponibilidad de compuestos fenólicos en los residuos estudiados a nivel gallego, es atípica, si se compara con los datos recogidos para el territorio nacional y europeo. La disponibilidad de fenoles es tremendamente superior en los residuos de especies pináceas, con una diferencia de miles de toneladas. Esto es debido principalmente a la orografía de la comunidad gallega, agreste, repleta de sierras y montes atravesados por numerosos ríos lo que, junto al clima oceánico presente en la mayor parte de la comunidad, dificulta la existencia de grandes superficies de cultivo dedicadas a la industria del vino o del aceite de oliva. Por el contrario, los mismos factores favorecen el desarrollo de las especies pináceas.

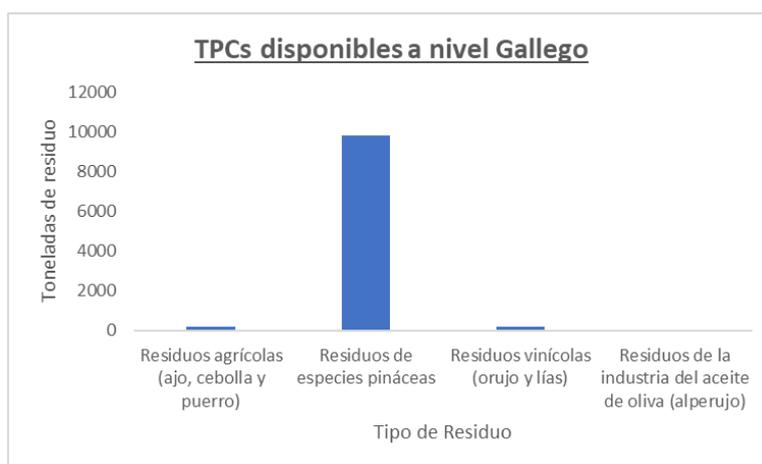


Ilustración 15. TPC disponibles a nivel gallego

En el caso de España y Europa, las gráficas presentan una mayor similitud entre sí. En el territorio nacional, tanto la industria del vino como la del aceite de oliva presentan una importancia significativa, recogiendo algunas de las mayores superficies de cultivo, para

la uva y el olivo de toda Europa. Debido a esto, la cantidad de residuos disponibles a partir de los subproductos de ambas industrias (alperujo para el olivo, orujo y lías para el vino), será mucho mayor que la de otro tipo de residuos como los forestales o agrícolas. Además, tal y como se ha reflejado en el sexto apartado de esta memoria, los fenoles disponibles en los residuos procedentes de las industrias del olivo y el vino presentan contenidos fenólicos más elevados.

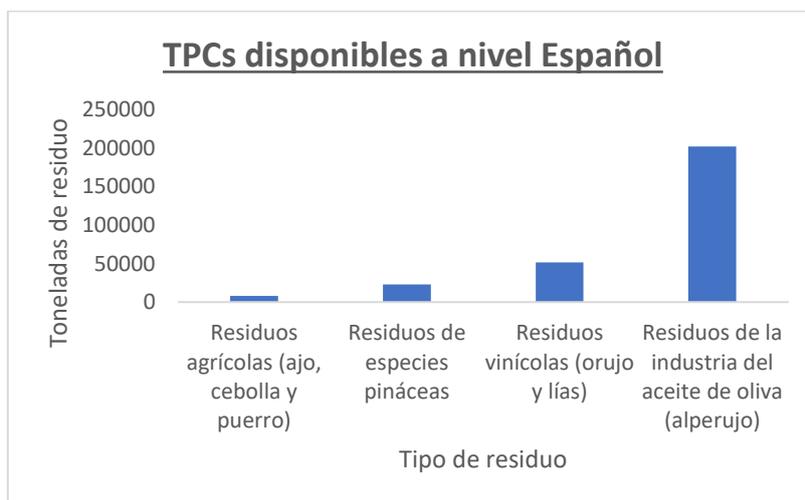


Ilustración 16. TPC disponibles a nivel Español

Algo similar ocurre a nivel Europeo, tal y como se refleja en la Ilustración 17. En este caso, la contribución de los residuos agrícolas es notablemente mayor, debido a países como los Países Bajos, con elevadas superficies de cultivo para hortalizas como la cebolla o en países como Francia, Italia o España, con una producción de ajo relativamente elevada. En el caso de los residuos de la industria del vino y la del aceite, la distribución es parecida a lo observado en el territorio nacional, ya que tanto España como Francia e Italia (nuevamente), se encuentran entre los mayores productores de vino y aceite de oliva, por lo que la producción de residuos asociada será igualmente elevada y, de esta forma, la disponibilidad de fenoles.

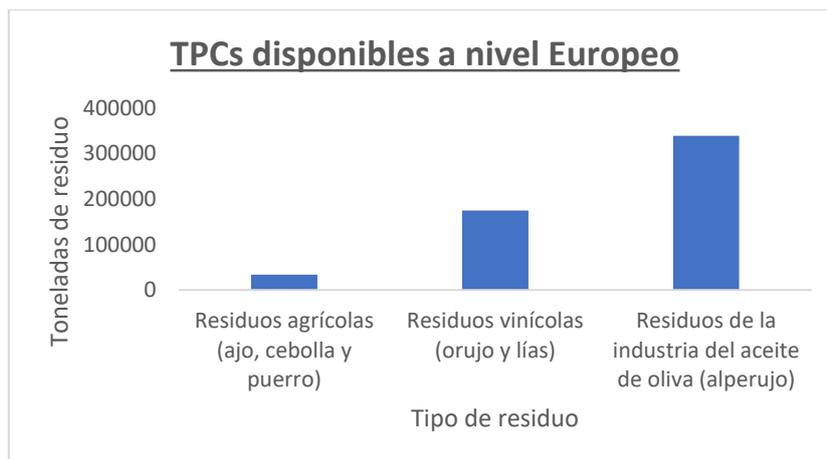


Ilustración 17. TPC disponibles a nivel Europeo

Como se ha podido observar, la cantidad de fenoles proporcionada por las industrias del vino y del aceite es tremendamente elevada, lo que los convierte en residuos de sumo interés sobre los que plantear modelos de valorización como el que se detalla en esta memoria, con la finalidad, no sólo de incrementar la rentabilidad económica del proceso u optimizar los recursos de las empresas que intervienen en la producción, sino también de reducir el impacto sobre el medioambiente de la actividad de estos sectores, algo importantísimo dada la situación ambiental global en la que nos encontramos hoy en día y la importancia de las estrategias de Sostenibilidad y Economía Circular.

7. Conclusiones/ Conclusions

A lo largo de esta memoria, se ha reflejado la naturaleza de los residuos agroforestales seleccionados como fuentes de compuestos fenólicos y, por ende, de compuestos con una posible aplicación fitosanitaria. Atendiendo a lo descrito anteriormente, a través de las fuentes que se han ido comentando, estaríamos hablando de centenares de miles de toneladas de compuestos fenólicos muchos de los cuáles podrían ser utilizados por parte de la industria Farmacéutica.

Dentro de los residuos tratados, sin duda cabe destacar las posibilidades ofrecidas por los procedentes de la industria del aceite de oliva y la industria vinícola, ambas con un peso elevadísimo en nuestro país y también a nivel europeo. Tanto el alperujo del aceite de oliva como los subproductos de la industria del vino, recogidos en apartados anteriores, presentan un contenido fenólico elevadísimo, comparado con otro tipo de residuos, como los forestales y los agrícolas. Concretamente, el alperujo es un tipo de residuo especialmente contaminante en el medio ambiente, por lo que la posibilidad de reintegrarlo en ciclos de economía circular, minimizará su impacto ambiental.

La implementación de este tipo de estrategias favorece el mantenimiento de los ecosistemas naturales, reduciendo la cantidad de productos residuales generados por los sectores industriales, lo que contribuye a la reducción de la contaminación global y favorece el cumplimiento de la legislación ambiental por parte de las diversas entidades que integran el sector.

Además, a través de la revisión de las técnicas de extracción se ha comentado que existen diversas posibilidades para llevar a cabo este tipo de procedimiento, por lo que, dependiendo de los recursos técnicos y económicos de la entidad o laboratorio en cuestión, se podrán seleccionar las condiciones operativas que mejor se adapten a sus capacidades. De entre todas las técnicas reflejadas, la que presenta, según los criterios tenidos en cuenta en la realización de esta memoria, unas mayores prestaciones es la extracción asistida por energía de Ultrasonidos. Si bien no se trata de la metodología convencional (ésta sería la extracción Soxhlet), proporciona resultados comparables a la misma, pero reduciendo notablemente el tiempo y la cantidad de muestra y disolventes empleados en la realización de los ensayos; este aspecto resulta fundamental, ya que reduce significativamente los costes asociados al procedimiento, gracias a la reducción del consumo energético y material del mismo. A diferencia de otras metodologías innovadoras (como podría ser la extracción mediante líquidos eutécticos), conlleva un procedimiento ampliamente contrastado y utilizado en laboratorios de todo el mundo, lo que facilita la adaptación de los especialistas y, gracias a eso, la optimización de los resultados.

La extracción de este tipo de compuestos supone una opción barata y sencilla de valorizar los residuos previamente presentados, de forma que se minimice su impacto ambiental y también su impacto económico sobre la actividad de la empresa o empresas encargadas de la gestión residual.

Throughout this report, the nature of agroforestry residues, selected as sources of phenolic compounds and, therefore, of compounds with a possible phytosanitary application has been reflected. Considering what has been described above, through the sources that have been discussed, we would be talking about tons of phenolic compounds, many of which could be used by the Pharmaceutical Industry.

Among the wastes that have been discussed in this report, we must stand out the possibilities offered by those from the olive oil and wine industry, both with a high impact in our country and also at European level. The alperujo of olive oil and the by-products of the wine industry, about we have discoursed in previous sections, have a high phenolic

content, compared to other types of residues, such as forestry and agricultural residues. In addition, alperujo is a type of waste that is especially polluting in the environment, so, the possibility of reintegrating it in circular economy circles, will minimize its environmental impact.

The implementation of this type of strategies favors the maintenance of natural ecosystems, reducing the amount of residual products generated by industrial sectors, which contributes to the reduction of global pollution and favors compliance with environmental legislation by the various entities that make up this sector.

Through the review of the extraction techniques it has been shown that there are various possibilities to carry out this type of procedure, so that, depending on the technical and economic resources of the entity or laboratory in question, they may be selected operating conditions that best suit your capabilities. Among all the techniques reflected, the one that presents, according to the criterion taken into account in the preparation of this report, the best performance is the Ultrasound-Assisted method. Although it is not the conventional methodology (this would be the Soxhlet extraction), it provides results comparable to it, but notably reducing the time and the amount of sample and solvents used in carrying out the tests. This aspect is essential, because it reduces the costs associated with the procedure, thanks to the reduction of energy and material consumption. In addition, unlike other innovative methodologies, it involves a widely proven procedure used in laboratories around the world, which facilitates the adaptation of specialists and, thanks to that, the optimization of the results.

The extraction of this type of compound is a cheap and simple option to recover previously presented waste, so as to minimize its environmental impact and also its economic impact on the activity of the company or companies in charge of residual management.

8. Bibliografía

- (1) Creus, E. G. Compuestos fenólicos. Un análisis de sus beneficios para la salud. **2004**, 23, 5.
- (2) Higher plant <https://www.thefreedictionary.com/Higher+plant> (accessed Mar 17, 2020).
- (3) Giada, M. de L. R. Food Phenolic Compounds: Main Classes, Sources and Their Antioxidant Power. *Oxidative Stress and Chronic Degenerative Diseases - A Role for Antioxidants* **2013**. <https://doi.org/10.5772/51687>.
- (4) Lattanzio, V. Phenolic Compounds: Introduction. In *Natural Products: Phytochemistry, Botany and Metabolism of Alkaloids, Phenolics and Terpenes*; Ramawat, K. G., Mérillon, J.-M., Eds.; Springer: Berlin, Heidelberg, 2013; pp 1543–1580. https://doi.org/10.1007/978-3-642-22144-6_57.
- (5) Kulbat, K. The Role of Phenolic Compounds in Plant Resistance. *Biotechnology and Food Science* **2016**, Vol. 80 (nr 2).
- (6) Chloroplast <https://www.sciencedaily.com/terms/chloroplast.htm> (accessed Apr 21, 2020).
- (7) General Phenolic Biosynthesis Pathways | Natural Chemistry Research Group <https://naturalchemistry.utu.fi/research/tannin-and-polyphenol-chemistry/tannin-biosynthesis/general-phenolic-biosynthesis-pathways/> (accessed Sep 1, 2020).
- (8) Santos-Sánchez, N. F.; Salas-Coronado, R.; Hernández-Carlos, B.; Villanueva-Cañongo, C. Shikimic Acid Pathway in Biosynthesis of Phenolic Compounds. *Plant Physiological Aspects of Phenolic Compounds* **2019**. <https://doi.org/10.5772/intechopen.83815>.
- (9) Shikimic Acid Pathway - an overview | ScienceDirect Topics <https://www.sciencedirect.com/topics/biochemistry-genetics-and-molecular-biology/shikimic-acid-pathway> (accessed Apr 23, 2020).
- (10) Santos-Sánchez, N. F.; Salas-Coronado, R.; Hernández-Carlos, B.; Villanueva-Cañongo, C. Shikimic Acid Pathway in Biosynthesis of Phenolic Compounds. *Plant Physiological Aspects of Phenolic Compounds* **2019**. <https://doi.org/10.5772/intechopen.83815>.
- (11) Rodolfo Alvarez Manzo. Farma 4 <https://www.slideshare.net/xiuhts/farma-4> (accessed Sep 1, 2020).

- (12) Vuolo, M. M.; Lima, V. S.; Maróstica Junior, M. R. Phenolic Compounds: Structure, Classification, and Antioxidant Power. In *Bioactive Compounds*; Campos, M. R. S., Ed.; Woodhead Publishing, 2019; pp 33–50. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814774-0.00002-5>.
- (13) Menezes, J. C. J. M. D. S.; Orlikova, B.; Morceau, F.; Diederich, M. Natural and Synthetic Flavonoids: Structure–Activity Relationship and Chemotherapeutic Potential for the Treatment of Leukemia. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* **2016**, *56* (sup1), S4–S28. <https://doi.org/10.1080/10408398.2015.1074532>.
- (14) Martens, S.; Preuß, A.; Matern, U. Multifunctional Flavonoid Dioxygenases: Flavonol and Anthocyanin Biosynthesis in *Arabidopsis Thaliana* L. *Phytochemistry* **2010**, *71* (10), 1040–1049. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2010.04.016>.
- (15) Nishiumi, S.; Miyamoto, S.; Kawabata, K.; Ohnishi, K.; Mukai, R.; Murakami, A.; Ashida, H.; Terao, J. Dietary Flavonoids as Cancer-Preventive and Therapeutic Biofactors. *Frontiers in bioscience (Scholar edition)* **2011**, *3*, 1332–1362.
- (16) Ruiz-Cruz, S.; Chaparro-Hernández, S.; Hernández-Ruiz, K. L.; Cira-Chávez, L. A.; Estrada-Alvarado, M. I.; GassosOrtega, L. E.; Ornelas-Paz, J. de J.; Mata, M. A. L. Flavonoids: Important Biocompounds in Food. *Flavonoids - From Biosynthesis to Human Health* **2017**. <https://doi.org/10.5772/67864>.
- (17) Ferrer, J.-L.; Austin, M. B.; Stewart, C.; Noel, J. P. Structure and Function of Enzymes Involved in the Biosynthesis of Phenylpropanoids. *Plant Physiology and Biochemistry* **2008**, *46* (3), 356–370. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2007.12.009>.
- (18) Tannins - an overview | ScienceDirect Topics <https://www.sciencedirect.com/topics/biochemistry-genetics-and-molecular-biology/tannins> (accessed Mar 18, 2020).
- (19) Lamy, E.; Rawel, H.; Schweigert, F.; Capela e Silva, F.; Ferreira, A. G.; Costa, A.; Antunes, C.; Almeida, A.; Coelho, A.; Baptista, E. The Effect of Tannins on Mediterranean Ruminant Ingestive Behavior: The Role of the Oral Cavity. *Molecules (Basel, Switzerland)* **2011**, *16*, 2766–2784. <https://doi.org/10.3390/molecules16042766>.
- (20) M. Rawel, Harshadrai Lamy, Elsa; J. Schweigert, Florian. The Effect of Tannins on Mediterranean Ruminant Ingestive Behavior: The Role of the Oral Cavity. *Molecules*. 2011, pp 2767–2784.

- (21) Pizzi, A. Tannins: Prospectives and Actual Industrial Applications. *Biomolecules* **2019**, *9* (8), 344. <https://doi.org/10.3390/biom9080344>.
- (22) Rammohan, A.; Reddy, J. S.; Sravya, G.; Rao, C. N.; Zyryanov, G. V. Chalcone Synthesis, Properties and Medicinal Applications: A Review. *Environ Chem Lett* **2020**, *18* (2), 433–458. <https://doi.org/10.1007/s10311-019-00959-w>.
- (23) Mata, R. Flavonoids, Chemistry, Biochemistry and Applications By Ø. M. Andersen (University of Bergen) and K. R. Markham (Industrial Research Ltd.). CRC Press/Taylor & Francis, Boca Raton. 2006. Xiv + 1237 Pp. 7 × 101/4 in. \$249.95. ISBN 0-8493-2021-6. *J. Nat. Prod.* **2007**, *70* (1), 140–140. <https://doi.org/10.1021/np068246q>.
- (24) Díaz-Tielas, C.; Graña, E.; Reigosa, M. J.; Sánchez-Moreiras, A. M.; Díaz-Tielas, C.; Graña, E.; Reigosa, M. J.; Sánchez-Moreiras, A. M. BIOLOGICAL ACTIVITIES AND NOVEL APPLICATIONS OF CHALCONES. *Planta Daninha* **2016**, *34* (3), 607–616. <https://doi.org/10.1590/s0100-83582016340300022>.
- (25) Insuasty- Obando, B. Las chalconas y su uso como precursores en la síntesis de compuestos heterocíclicos nitrogenados. *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales* **2016**, *40* (155), 234. <https://doi.org/10.18257/raccefyn.309>.
- (26) Vazquez-Rodriguez, S.; Figueroa-Guñez, R.; Matos, M. J.; Santana, L.; Uriarte, E.; Lapier, M.; Maya, J. D.; Olea-Azar, C. Synthesis of Coumarin–Chalcone Hybrids and Evaluation of Their Antioxidant and Trypanocidal Properties. *Med. Chem. Commun.* **2013**, *4* (6), 993–1000. <https://doi.org/10.1039/C3MD00025G>.
- (27) Yao, R.; Zhao, Y.; Liu, T.; Huang, C.; Xu, S.; Sui, Z.; Luo, J.; Kong, L. Identification and Functional Characterization of a P-Coumaroyl CoA 2'-Hydroxylase Involved in the Biosynthesis of Coumarin Skeleton from *Peucedanum Praeruptorum* Dunn. *Plant Mol Biol* **2017**, *95* (1), 199–213. <https://doi.org/10.1007/s11103-017-0650-4>.
- (28) Coumarins - an overview | ScienceDirect Topics <https://www.sciencedirect.com/topics/neuroscience/coumarins> (accessed Mar 17, 2020).
- (29) Garg, S. S.; Gupta, J.; Sharma, S.; Sahu, D. An Insight into the Therapeutic Applications of Coumarin Compounds and Their Mechanisms of Action. *European Journal of Pharmaceutical Sciences* **2020**, *152*, 105424. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2020.105424>.

- (30) Pereira, A.; Martins, S.; Caldeira, A. T. Coumarins as Fluorescent Labels of Biomolecules. In Applications of Coumarin Derivatives <https://dspace.uevora.pt/rdpc/handle/10174/26674> (accessed Jul 7, 2020). <https://doi.org/10.5772/intechopen.85973>.
- (31) Composition of flavonols in red raspberry juice as influenced by cultivar, processing, and environmental factors | Journal of Agricultural and Food Chemistry <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf00035a025> (accessed Jul 6, 2020).
- (32) Williamson, G. The Role of Polyphenols in Modern Nutrition. *Nutrition Bulletin* **2017**, *42* (3), 226–235. <https://doi.org/10.1111/nbu.12278>.
- (33) Kumar, N.; Goel, N. Phenolic Acids: Natural Versatile Molecules with Promising Therapeutic Applications. *Biotechnology Reports* **2019**, *24*, e00370. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2019.e00370>.
- (34) Vermerris, W.; Nicholson, R. Chemical Properties of Phenolic Compounds. In *Phenolic Compound Biochemistry*; Vermerris, W., Nicholson, R., Eds.; Springer Netherlands: Dordrecht, 2006; pp 35–62. https://doi.org/10.1007/978-1-4020-5164-7_2.
- (35) Gimeno Creus, E. Compuestos fenólicos. Un análisis de sus beneficios para la salud. *Offarm* **2004**, *23* (6), 80–84.
- (36) About Free Radical Damage <https://hopes.stanford.edu/about-free-radical-damage/> (accessed Mar 18, 2020).
- (37) Minatel, I. O.; Borges, C.; Ferreira, M. I.; Gomez Gomez, H.; Chen, O.; Pace, G.; Lima, G. Phenolic Compounds: Functional Properties, Impact of Processing and Bioavailability; 2017.
- (38) Review: dietary phenolic compounds, health benefits and bioaccessibility <http://www.alanrevista.org/ediciones/2016/2/art-1/> (accessed Mar 18, 2020).
- (39) Taamalli, A.; Arráez-Román, D.; Barrajón-Catalán, E.; Ruiz-Torres, V.; Pérez-Sánchez, A.; Herrero, M.; Ibañez, E.; Micol, V.; Zarrouk, M.; Segura-Carretero, A.; Fernández-Gutiérrez, A. Use of Advanced Techniques for the Extraction of Phenolic Compounds from Tunisian Olive Leaves: Phenolic Composition and Cytotoxicity against Human Breast Cancer Cells. *Food and Chemical Toxicology* **2012**, *50* (6), 1817–1825. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2012.02.090>.
- (40) Hsu, C.-L.; Yen, G.-C. Phenolic Compounds: Evidence for Inhibitory Effects against Obesity and Their Underlying Molecular Signaling Mechanisms. *Molecular*

- Nutrition & Food Research* **2008**, *52* (1), 53–61.
<https://doi.org/10.1002/mnfr.200700393>.
- (41) Rashed, K.; Zhang, X.-J.; Luo, M.-T.; Zheng, Y.-T. Anti-HIV-1 Activity of Phenolic Compounds Isolated from Diospyros Lotus Fruits. *Phytopharmacology* **2012**, *3*, 199–207.
- (42) Soxhlet Extraction - an overview | ScienceDirect Topics <https://sci-hub.zone/https://www.sciencedirect.com/topics/biochemistry-genetics-and-molecular-biology/soxhlet-extraction> (accessed Mar 26, 2020).
- (43) What are the advantages of Soxhlet extraction and general soaking extraction - Hawach <https://hawachextractionthimble.com/what-are-the-advantages-of-soxhlet-extraction-and-general-soaking-extraction/> (accessed Sep 1, 2020).
- (44) Morata, A.; Loira, I. *Grape and Wine Biotechnology*; BoD – Books on Demand, 2016.
- (45) Chemat, F.; Rombaut, N.; Sicaire, A.-G.; Meullemiestre, A.; Fabiano-Tixier, A.-S.; Abert-Vian, M. Ultrasound Assisted Extraction of Food and Natural Products. Mechanisms, Techniques, Combinations, Protocols and Applications. A Review. *Ultrasonics Sonochemistry* **2017**, *34*, 540–560.
<https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2016.06.035>.
- (46) Cruz, R. C.; Alonso, D. A.; Baeza, A.; Gómez, C.; Guillena, G.; Maset, X.; Pastor, I. M.; Ramón, D. J.; Níguez, D. R.; Saavedra, B. Mezclas eutécticas como alternativa sostenible a los disolventes convencionales en Química Orgánica. *Anales de Química* **2018**, *114* (2), 79-87–87.
- (47) Ong, E. S.; Cheong, J. S. H.; Goh, D. Pressurized Hot Water Extraction of Bioactive or Marker Compounds in Botanicals and Medicinal Plant Materials. *Journal of Chromatography A* **2006**, *1112* (1), 92–102.
<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2005.12.052>.
- (48) Teo, C. C.; Tan, S. N.; Yong, J. W. H.; Hew, C. S.; Ong, E. S. Pressurized Hot Water Extraction (PHWE). *Journal of Chromatography A* **2010**, *1217* (16), 2484–2494.
<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2009.12.050>.
- (49) Mandal, V.; Mohan, Y.; Hemalatha, S. Microwave Assisted Extraction-An Innovative and Promising Extraction Tool for Medicinal Plant Research. *Pharmacognosy Reviews* **2007**, *1* (1).
- (50) Radovanović, B.; Mladenović, J.; Radovanović, A.; Pavlović, R.; Nikolić, V. Phenolic Composition, Antioxidant, Antimicrobial and Cytotoxic Activities of

- Allium Porrum* L. (Serbia) Extracts. *Journal of Food and Nutrition Research* **2015**, 3 (9), 564–569. <https://doi.org/10.12691/jfnr-3-9-1>.
- (51) Moll, M. C. N. Posibilidades terapéuticas del bulbo de ajo (*Allium sativum*). *Revista de fitoterapia* **2007**, 7 (2), 131–151.
- (52) Luengo, M. T. L. El ajo: propiedades farmacológicas e indicaciones terapéuticas. *Offarm: farmacia y sociedad* **2007**, 26 (1 (ENE)), 78–81.
- (53) Roemer, T.; Xu, D.; Singh, S. B.; Parish, C. A.; Harris, G.; Wang, H.; Davies, J. E.; Bills, G. F. Confronting the Challenges of Natural Product-Based Antifungal Discovery. *Chem. Biol.* **2011**, 18 (2), 148–164. <https://doi.org/10.1016/j.chembiol.2011.01.009>.
- (54) Kt, A. Hypocholesterolaemic Effect of Garlic, *Allium Sativum* Linn. *Indian J Exp Biol* **1977**, 15 (6), 489–490.
- (55) Antibacterial effect of *Allium sativum* cloves and *Zingiber officinale* rhizomes against multiple-drug resistant clinical pathogens <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3609356/> (accessed May 6, 2020).
- (56) Ross, S. A.; Finley, J. W.; Milner, J. A. Allyl Sulfur Compounds from Garlic Modulate Aberrant Crypt Formation. *J Nutr* **2006**, 136 (3), 852S–854S. <https://doi.org/10.1093/jn/136.3.852S>.
- (57) Bernaert, N.; De Paepe, D.; Bouten, C.; De Clercq, H.; Stewart, D.; Van Bockstaele, E.; De Loose, M.; Van Droogenbroeck, B. Antioxidant Capacity, Total Phenolic and Ascorbate Content as a Function of the Genetic Diversity of Leek (*Allium Ampeloprasum* Var. *Porrum*). *Food Chem* **2012**, 134 (2), 669–677. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.02.159>.
- (58) Kovarovič, J.; Bystrická, J.; Micová, M.; Harangozo, Ľ.; Miššík, J.; Hegedúsová, A. The influence of variety on the content of total polyphenols and antioxidant activity in leek (*allium porrum* l.). *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences* **2020**, 9 (5), 1072–1075.
- (59) Chhouk, K.; Uemori, C.; Wahyudiono; Kanda, H.; Goto, M. Extraction of Phenolic Compounds and Antioxidant Activity from Garlic Husk Using Carbon Dioxide Expanded Ethanol. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification* **2017**, 117, 113–119. <https://doi.org/10.1016/j.cep.2017.03.023>.
- (60) Gorinstein, S.; Park, Y.-S.; Heo, B.-G.; Namiesnik, J.; Leontowicz, H.; Leontowicz, M.; Ham, K.-S.; Cho, J.-Y.; Kang, S.-G. A Comparative Study of Phenolic Compounds and Antioxidant and Antiproliferative Activities in Frequently

- Consumed Raw Vegetables. *Eur Food Res Technol* **2009**, 228 (6), 903–911. <https://doi.org/10.1007/s00217-008-1003-y>.
- (61) Prakash, D.; Singh, B. N.; Upadhyay, G. Antioxidant and Free Radical Scavenging Activities of Phenols from Onion (*Allium Cepa*). *Food Chemistry* **2007**, 102 (4), 1389–1393. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.06.063>.
- (62) Kähkönen, M. P.; Hopia, A. I.; Vuorela, H. J.; Rauha, J.-P.; Pihlaja, K.; Kujala, T. S.; Heinonen, M. Antioxidant Activity of Plant Extracts Containing Phenolic Compounds. *J. Agric. Food Chem.* **1999**, 47 (10), 3954–3962. <https://doi.org/10.1021/jf990146l>.
- (63) Nuutila, A. M.; Puupponen-Pimiä, R.; Aarni, M.; Oksman-Caldentey, K.-M. Comparison of Antioxidant Activities of Onion and Garlic Extracts by Inhibition of Lipid Peroxidation and Radical Scavenging Activity. *Food Chemistry* **2003**, 81 (4), 485–493. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(02\)00476-4](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(02)00476-4).
- (64) Benítez, V.; Mollá, E.; Martin-Cabrejas, M.; Aguilera, Y.; López-Andréu, F.; Cools, K.; Terry, L.; Esteban, R. Characterization of Industrial Onion Wastes (*Allium Cepa* L.): Dietary Fibre and Bioactive Compounds. *Plant foods for human nutrition (Dordrecht, Netherlands)* **2011**, 66, 48–57. <https://doi.org/10.1007/s11130-011-0212-x>.
- (65) Pinaceae | tree family <https://www.britannica.com/plant/Pinaceae> (accessed May 11, 2020).
- (66) Pinaceae (Pine family, Pinacées, Kieferngewächse, Pináceas, Pináceas, 松科, マツ科) description - The Gymnosperm Database <https://www.conifers.org/pi/Pinaceae.php> (accessed May 12, 2020).
- (67) Rice-Evans, C. A.; Miller, N. J.; Paganga, G. Structure-Antioxidant Activity Relationships of Flavonoids and Phenolic Acids. *Free Radical Biology and Medicine* **1996**, 20 (7), 933–956. [https://doi.org/10.1016/0891-5849\(95\)02227-9](https://doi.org/10.1016/0891-5849(95)02227-9).
- (68) Nelson, A. B.; Lau, B. H. S.; Ide, N.; Rong, Y. Pycnogenol Inhibits Macrophage Oxidative Burst, Lipoprotein Oxidation, and Hydroxyl Radical-Induced DNA Damage. *Drug Development and Industrial Pharmacy* **1998**, 24 (2), 139–144. <https://doi.org/10.3109/03639049809085598>.
- (69) Pycnogenol protects vascular endothelial cells from t-butyl hydroperoxide induced oxidant injury. - Abstract - Europe PMC <https://europepmc.org/article/med/8608322> (accessed May 12, 2020).

- (70) Chiang, P.-S.; Lee, D.-J.; Whiteley, C. G.; Huang, C.-Y. Extracting Antioxidant Phenolic Compounds from Compressional-Puffing Pretreated *Pinus Morrisonicola*: Effects of Operational Parameters, Kinetics and Characterization. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers* **2017**, *75*, 70–76. <https://doi.org/10.1016/j.jtice.2017.03.041>.
- (71) Park, Y. S.; Jeon, M. H.; Hwang, H. J.; Park, M. R.; Lee, S.-H.; Kim, S. G.; Kim, M. Antioxidant Activity and Analysis of Proanthocyanidins from Pine (*Pinus densiflora*) Needles. *Nutr Res Pract* **2011**, *5* (4), 281. <https://doi.org/10.4162/nrp.2011.5.4.281>.
- (72) Skrypnik, L.; Grigorev, N.; Michailov, D.; Antipina, M.; Danilova, M.; Pungin, A. Comparative Study on Radical Scavenging Activity and Phenolic Compounds Content in Water Bark Extracts of Alder (*Alnus Glutinosa* (L.) Gaertn.), Oak (*Quercus Robur* L.) and Pine (*Pinus Sylvestris* L.). *Eur. J. Wood Prod.* **2019**, *77* (5), 879–890. <https://doi.org/10.1007/s00107-019-01446-3>.
- (73) Ferreira-Santos, P.; Genisheva, Z.; Pereira, R. N.; Teixeira, J. A.; Rocha, C. M. R. Moderate Electric Fields as a Potential Tool for Sustainable Recovery of Phenolic Compounds from *Pinus Pinaster* Bark. *ACS Sustainable Chem. Eng.* **2019**, *7* (9), 8816–8826. <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.9b00780>.
- (74) Abdalla, S.; Pizzi, A.; Ayed, N.; Charrier-El Bouthoury, F.; Charrier, B.; Bahabri, F.; Ganash, A. MALDI-TOF Analysis of Aleppo Pine (*Pinus Halepensis*) Bark Tannin. *Bioresources* **2014**, *9* (2), 3396–3406. <https://doi.org/10.15376/biores.9.2.3396-3406>.
- (75) Ribeiro da Silva, L. M.; Teixeira de Figueiredo, E. A.; Silva Ricardo, N. M. P.; Pinto Vieira, I. G.; Wilane de Figueiredo, R.; Brasil, I. M.; Gomes, C. L. Quantification of Bioactive Compounds in Pulps and By-Products of Tropical Fruits from Brazil. *Food Chem* **2014**, *143*, 398–404. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.08.001>.
- (76) Ruales, A.; Rojas González, A.; Cardona, C. A. Obtención de Compuestos Fenólicos a Partir de Residuos de Uva Isabella (*Vitis Labrusca*). *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial* **2017**, *15*, 72. [https://doi.org/10.18684/bsaa\(15\).2004](https://doi.org/10.18684/bsaa(15).2004).
- (77) Soler Fernández, L. Valorización de los residuos procedentes de una producción vitivinícola, 2017.

- (78) Yumpu.com. [manual-de-compuestos-bioactivos-a-partir-ainia](https://www.yumpu.com/es/document/view/38540881/manual-de-compuestos-bioactivos-a-partir-ainia)
<https://www.yumpu.com/es/document/view/38540881/manual-de-compuestos-bioactivos-a-partir-ainia> (accessed Sep 9, 2020).
- (79) Alternativas para aprovechar residuos de uva de la industria vinícola
<https://www.residuosprofesional.com/alternativas-aprovechar-residuos-uva/>
 (accessed May 14, 2020).
- (80) Maicas, S.; Juan Mateo, J. Sustainability of Wine Production. *Sustainability* **2020**, *12* (2), 559. <https://doi.org/10.3390/su12020559>.
- (81) Ayuda-Durán, B.; González-Manzano, S.; Gil-Sánchez, I.; Moreno-Arribas, M. V.; Bartolomé, B.; Sanz-Buenhombre, M.; Guadarrama, A.; Santos-Buelga, C.; González-Paramás, A. M. Antioxidant Characterization and Biological Effects of Grape Pomace Extracts Supplementation in *Caenorhabditis Elegans*. *Foods* **2019**, *8* (2), 75. <https://doi.org/10.3390/foods8020075>.
- (82) Tao, Y.; Wu, D.; Zhang, Q.-A.; Sun, D.-W. Ultrasound-Assisted Extraction of Phenolics from Wine Lees: Modeling, Optimization and Stability of Extracts during Storage. *Ultrasonics Sonochemistry* **2014**, *21* (2), 706–715. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2013.09.005>.
- (83) Jara-Palacios, M. J. Wine Lees as a Source of Antioxidant Compounds. *Antioxidants* **2019**, *8* (2), 45. <https://doi.org/10.3390/antiox8020045>.
- (84) Romero-Díez, R.; Rodríguez-Rojo, S.; Cocero, M. J.; Duarte, C. M. M.; Matias, A. A.; Bronze, M. R. Phenolic Characterization of Aging Wine Lees: Correlation with Antioxidant Activities. *Food Chemistry* **2018**, *259*, 188–195. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.03.119>.
- (85) Solari-Godiño, A.; Lindo-Rojas, I.; Pandia-Estrada, S. Determination of Phenolic Compounds and Evaluation of Antioxidant Capacity of Two Grapes Residues (*Vitis Vinifera*) of Varieties Dried: Quebranta (Red) and Torontel (White). *Cogent Food & Agriculture* **2017**, *3* (1), 1361599. <https://doi.org/10.1080/23311932.2017.1361599>.
- (86) The Olive Tree <https://www.internationaloliveoil.org/olive-world/olive-tree/>
 (accessed Jun 7, 2020).
- (87) Olive Oil <https://www.internationaloliveoil.org/olive-world/olive-oil/> (accessed Jun 7, 2020).

- (88) BOE.es - Documento DOUE-L-2015-82575
<https://www.boe.es/buscar/doc.php?id=DOUE-L-2015-82575> (accessed Jun 7, 2020).
- (89) Servili, M.; Sordini, B.; Esposito, S.; Urbani, S.; Veneziani, G.; Maio, I. D.; Selvaggini, R.; Taticchi, A. Biological Activities of Phenolic Compounds of Extra Virgin Olive Oil. *Antioxidants (Basel)* **2013**, *3* (1), 1–23.
<https://doi.org/10.3390/antiox3010001>.
- (90) Berliner, J. A.; Navab, M.; Fogelman, A. M.; Frank, J. S.; Demer, L. L.; Edwards, P. A.; Watson, A. D.; Lusis, A. J. Atherosclerosis: Basic Mechanisms. Oxidation, Inflammation, and Genetics. *Circulation* **1995**, *91* (9), 2488–2496.
<https://doi.org/10.1161/01.cir.91.9.2488>.
- (91) Nakae, D.; Kobayashi, Y.; Akai, H.; Andoh, N.; Satoh, H.; Ohashi, K.; Tsutsumi, M.; Konishi, Y. Involvement of 8-Hydroxyguanine Formation in the Initiation of Rat Liver Carcinogenesis by Low Dose Levels of N-Nitrosodiethylamine. *Cancer Res.* **1997**, *57* (7), 1281–1287.
- (92) admin. La separación del aceite de oliva y el alperujo. El decanter – Molí de la Vall Major <https://www.molidelavallmajor.es/es/la-almazara/obtencion-en-frio-del-aceite-de-oliva-virgen-extra/separacion-del-aceite-de-oliva-y-el-alperujo.-el-decanter> (accessed Jun 7, 2020).
- (93) Phenolic Compound Identification and Antioxidant Capacity of Alperujo Extracts from Region del Maule, Chile <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/10942912.2015.1092162> (accessed Jun 7, 2020).
- (94) Mahmoud, A. E.; Fathy, S. A.; Ali, M. M.; Ezz, M. K.; Mohammed, A. T. Antioxidant and Anticancer Efficacy of Therapeutic Bioactive Compounds from Fermented Olive Waste. *Grasas y Aceites* **2018**, *69* (3), 266.
<https://doi.org/10.3989/gya.0230181>.
- (95) Efecto del tiempo de almacenamiento y tipo de procesamiento en los antioxidantes de nopal. *TSIA*, 2017.
- (96) Sustainability <https://academicimpact.un.org/content/sustainability> (accessed Sep 1, 2020).
- (97) About the Sustainable Development Goals – United Nations Sustainable Development <https://www.un.org/sustainabledevelopment/sustainable-development-goals/> (accessed May 26, 2020).

- (98) EUR-Lex - 52016DC0739 - EN - EUR-Lex <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/ES/TXT/?uri=COM%3A2016%3A739%3AFIN> (accessed May 26, 2020).
- (99) Hacia una economía circular https://ec.europa.eu/commission/priorities/jobs-growth-and-investment/towards-circular-economy_es (accessed Jun 10, 2020).
- (100) Un Pacto Verde Europeo https://ec.europa.eu/info/strategy/priorities-2019-2024/european-green-deal_es (accessed Jun 10, 2020).
- (101) Castells, X. E. *tratamiento y valorización energética de residuos*; Ediciones Díaz de Santos, 2012.
- (102) Agricultura. El cultivo del ajo. <https://www.infoagro.com/hortalizas/ajo.htm> (accessed May 25, 2020).
- (103) PRTR España | Registro Estatal de Emisiones y Fuentes Contaminantes (PRTR-España) <http://www.prtr-es.es/> (accessed May 27, 2020).
- (104) Anuario <https://www.mapa.gob.es/es/estadistica/temas/publicaciones/anuario-de-estadistica/2018/default.aspx> (accessed May 26, 2020).
- (105) Instituto de Estadística y Cartografía de Andalucía <http://www.juntadeandalucia.es/institutodeestadisticaycartografia/iea/resultadosConsulta.jsp?CodOper=104&codConsulta=66198> (accessed May 27, 2020).
- (106) León, J. de C. y. El cultivo del puerro <https://agriculturaganaderia.jcyl.es/web/jcyl/AgriculturaGanaderia/es/Plantilla100Detalle/1284253235337/1284253235337/1284248418949/Redaccion> (accessed May 27, 2020).
- (107) Anuario <https://www.mapa.gob.es/es/estadistica/temas/publicaciones/anuario-de-estadistica/2018/default.aspx?parte=3&capitulo=07&grupo=6&seccion=36> (accessed Jun 11, 2020).
- (108) Agricultura. El cultivo del ajo. <https://www.infoagro.com/hortalizas/ajo.htm> (accessed May 27, 2020).
- (109) Garlic https://ec.europa.eu/info/food-farming-fisheries/plants-and-plant-products/fruits-and-vegetables/garlic_en (accessed Jun 11, 2020).
- (110) Resumen del mercado global del ajo <http://www.agrositio.com.ar/noticia/208092-resumen-del-mercado-global-del-ajo> (accessed Jun 11, 2020).
- (111) Agricultura. El cultivo de la cebolla. <https://www.infoagro.com/hortalizas/cebolla.htm> (accessed Jun 4, 2020).
- (112) Producción agrícola - cultivos - Estadísticas explicadas <https://ec.europa.eu/eurostat/statistics->

- explained/index.php/Agricultural_production_-_crops#Vegetables (accessed Jun 4, 2020).
- (113) Resumen del mercado global de la cebolla <https://www.freshplaza.es/article/9145309/resumen-del-mercado-global-de-la-cebolla/> (accessed Jun 12, 2020).
- (114) “Valorization of European onion waste by-products into dietary fibre-based formula with hypocholesterolemic, hypoglycemic, and antioxidant effects” | FIBRACEP Project | H2020 <https://cordis.europa.eu/project/id/782061/es> (accessed Jun 4, 2020).
- (115) Evaluación del potencial de energía de la biomasa. Herramienta informática para la valoración de recursos | IDAE <https://www.idae.es/publicaciones/evaluacion-del-potencial-de-energia-de-la-biomasa-herramienta-informatica-para-la> (accessed Jun 4, 2020).
- (116) Mercado de la madera | Ecobosques <http://www.ecobosques.com/mercado-madera/> (accessed Jun 12, 2020).
- (117) Inicio | Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura <http://www.fao.org/home/es/> (accessed Jun 4, 2020).
- (118) Inicio | IDAE <https://www.idae.es/> (accessed Jun 4, 2020).
- (119) Segundo Inventario Forestal Nacional: Existencias por cada concepto de clasificación https://www.mapa.gob.es/es/desarrollo-rural/temas/politica-forestal/inventario-cartografia/inventario-forestal-nacional/existencia_por_concepto.aspx (accessed Jun 6, 2020).
- (120) Anuario de Estadística Forestal 2017 https://www.mapa.gob.es/es/desarrollo-rural/estadisticas/forestal_anuario_2017.aspx (accessed Jun 6, 2020).
- (121) Gutiérrez, J. Caracterización de La Corteza de Pinus Pinaster Ait. Generada En Los Aserraderos de La Provincia de Ávila Para Su Uso Energético Como Biomasa; 2010.
- (122) Bosques españoles y su evolución <https://www.mapa.gob.es/es/desarrollo-rural/temas/politica-forestal/inventario-cartografia/inventario-forestal-nacional/index.aspx> (accessed Jun 11, 2020).
- (123) Karlsson, P. World Wine Production Reaches Record Level in 2018, Consumption Is Stable | BKWine Magazine | *BKWine Magazine*, 2019.

- (124) vinetur.com. 8 pasos para comenzar un negocio con tu propio viñedo <https://www.vinetur.com/2017053028355/8-pasos-para-comenzar-un-negocio-con-tu-propio-vinedo.html> (accessed Jun 12, 2020).
- (125) Wine https://ec.europa.eu/info/food-farming-fisheries/plants-and-plant-products/plant-products/wine_en (accessed Jun 6, 2020).
- (126) El Sector del Vino en cifras <http://www.fev.es/sector-cifras/> (accessed Jun 6, 2020).
- (127) Bagazo de uva | FEDNA http://www.fundacionfedna.org/subproductos_fibrosos_humedos/bagazo-de-uva (accessed Jun 6, 2020).
- (128) Wine Lees <https://www.kenswineguide.com/wine.php?word=66> (accessed Jun 6, 2020).
- (129) HAPROWINE.EU <http://www.haprowine.eu/proyecto.html> (accessed Jun 6, 2020).
- (130) Galicia Calidade <https://www.galiciacalidade.gal/es/certificacion/vinos> (accessed Jun 12, 2020).
- (131) Olive oil https://ec.europa.eu/info/food-farming-fisheries/plants-and-plant-products/plant-products/olive-oil_en (accessed Jun 7, 2020).
- (132) Aceite de oliva <https://www.mapa.gob.es/es/agricultura/temas/producciones-agricolas/aceite-oliva-y-aceituna-mesa/aceite.aspx> (accessed Jun 7, 2020).
- (133) López, J. A.; Heras Parra, T. *Evaluación de La Producción y Usos de Los Subproductos de Las Agroindustrias Del Olivar En Andalucía*; Consejería de Agricultura, Pesca y Desarrollo, 2015. <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.14921.39520>.
- (134) Anuario <https://www.mapa.gob.es/es/estadistica/temas/publicaciones/anuario-de-estadistica/2019/default.aspx?parte=3&capitulo=07&grupo=12&seccion=1> (accessed Jun 7, 2020).
- (135) Baydar, N. G.; Sagdic, O.; Ozkan, G.; Cetin, S. Determination of Antibacterial Effects and Total Phenolic Contents of Grape (*Vitis Vinifera* L.) Seed Extracts. *International Journal of Food Science & Technology* **2006**, *41* (7), 799–804. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2005.01095.x>.
- (136) Özkan, G.; Sagdiç, O.; Baydar, N. G.; Kurumahmutoglu, Z. Antibacterial Activities and Total Phenolic Contents of Grape Pomace Extracts. *Journal of the*

- Science of Food and Agriculture* **2004**, *84* (14), 1807–1811.
<https://doi.org/10.1002/jsfa.1901>.
- (137) Colorimetric Analysis - an overview | ScienceDirect Topics
<https://www.sciencedirect.com/topics/chemistry/colorimetric-analysis> (accessed Apr 13, 2020).
- (138) Estimation of total phenolic content and other oxidation substrates in plant tissues using Folin–Ciocalteu reagent | Nature Protocols
<https://www.nature.com/articles/nprot.2007.102/> (accessed Apr 13, 2020).
- (139) Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents | American Journal of Enology and Viticulture
<https://www.ajevonline.org/content/16/3/144.short> (accessed Apr 13, 2020).
- (140) Singleton, V. L.; Orthofer, R.; Lamuela-Raventós, R. M. [14] Analysis of Total Phenols and Other Oxidation Substrates and Antioxidants by Means of Folin-Ciocalteu Reagent. In *Methods in Enzymology; Oxidants and Antioxidants Part A*; Academic Press, 1999; Vol. 299, pp 152–178. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(99\)99017-1](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99017-1).
- (141) Dejian Huang, *; Boxin Ou, § and; Prior#, R. L. The Chemistry behind Antioxidant Capacity Assays <https://pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/jf030723c> (accessed Aug 25, 2020). <https://doi.org/10.1021/jf030723c>.
- (142) Villaño, D.; Fernández-Pachón, M. S.; Moyá, M. L.; Troncoso, A. M.; García-Parrilla, M. C. Radical Scavenging Ability of Polyphenolic Compounds towards DPPH Free Radical. *Talanta* **2007**, *71* (1), 230–235.
<https://doi.org/10.1016/j.talanta.2006.03.050>.
- (143) Rockenbach, I. I.; Rodrigues, E.; Gonzaga, L. V.; Caliar, V.; Genovese, M. I.; Gonçalves, A. E. de S. S.; Fett, R. Phenolic Compounds Content and Antioxidant Activity in Pomace from Selected Red Grapes (*Vitis Vinifera* L. and *Vitis Labrusca* L.) Widely Produced in Brazil. *Food Chemistry* **2011**, *127* (1), 174–179.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.12.137>.
- (144) Brand-Williams, W.; Cuvelier, M. E.; Berset, C. Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. *LWT - Food Science and Technology* **1995**, *28* (1), 25–30. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5).

Anexo I: Técnicas de Determinación de Fenoles Totales y determinación de la capacidad antioxidante

A lo largo de esta memoria se ha hablado en profundidad sobre la naturaleza de los compuestos fenólicos.

Como se ha recogido en apartados anteriores, los efectos de este tipo de compuestos son múltiples y diversos, provocando alteraciones a escala celular que posteriormente se manifiestan en la reducción de patologías cardíacas, respiratorias o tumorales, entre otras ^{135, 136}.

En los últimos años, se han ido desarrollando cada vez un mayor número de investigaciones sobre los beneficios de los extractos fenólicos, concretamente los procedentes de esta industria vinícola. Estos estudios a menudo tienen como uno de sus objetivos principales relacionar el contenido fenólico total (TPC) con la naturaleza beneficiosa del extracto (capacidades antioxidantes, antimicrobianas, antibacteriana, etc.).

En el análisis de los Compuestos Fenólicos, resultan clave dos metodologías bien diferenciadas: la metodología de determinación de este tipo de compuestos mediante el reactivo de Folin y la metodología de determinación de la capacidad antioxidante de los mismos (motivo principal del interés que suscitan).

Determinación de Compuestos Fenólicos Totales (TPC, *Total Phenolic Compounds*)

La determinación del contenido fenólico total en extractos de muestras de origen vinícola se realiza mediante métodos colorimétricos. Estos métodos permiten la cuantificación de los analitos a través la ayuda de un reactivo coloreado; posteriormente se evalúan los cambios producidos en la absorbancia de la solución a través de la técnica espectroscópica UV-Vis ¹³⁷.

Concretamente, la metodología colorimétrica seguida en este tipo de análisis es el llamado ensayo de Folin-Ciocalteu, el cuál también ha sido propuesto como método estandarizado para análisis rutinarios de determinación de la capacidad antioxidante en alimentos o suplementos dietéticos. El fundamento de la técnica radica en la transferencia de electrones en un medio alcalino, desde los compuestos fenólicos hasta complejos de ácido fosfomolibdénico o ácido fosfotúngstico, los cuáles forman complejos coloreados que pueden determinarse espectroscópicamente a longitudes de onda de alrededor de 760 nm ^{138, 139, 140}.

Sin embargo, los ensayos de Folin-Ciocalteu presentan una problemática importante, su naturaleza no específica. Esto quiere decir que la oxidación de las sustancias fenólicas puede competir con la de otras sustancias, lo que produce inhibición de las primeras y, por tanto, resultados equívocos y, además, pueden darse efectos aditivos como consecuencia de sustancias como las aminas, los compuestos aromáticos o la presencia de azúcares en el extracto de partida ^{138, 141}. Una forma de prevenir este tipo de eventualidades es añadir primero el reactivo de Folin, previamente a la base que proporcione el medio alcalino; otra forma de prevención es medir la cantidad de sustancias interferentes mediante métodos específicos para las mismas, antes de generar el medio básico y, al final, restar los valores obtenidos al valor proporcionado por Folin-Ciocalteu.

Con todo, el ensayo de Folin-Ciocalteu se utiliza ampliamente en laboratorios, principalmente a pequeña escala, puesto que proporciona datos reproducibles de manera rápida.

Determinación de la Actividad Antioxidante de compuestos fenólicos

Ya ha sido comentado la capacidad antioxidante de la que hacen gala un gran número de compuestos fenólicos ¹⁴². La actividad antioxidante de los mismos varía sustancialmente de unos a otros, siendo los flavonoides y los ácidos fenólicos los que presentan las tasas más elevadas.

El método utilizado para la determinación de la actividad antirradicalaria o antioxidante, es el método DPPH, principalmente utilizado para los compuestos fenólicos de origen vinícola ¹⁴³. Se trata de una espectrofotometría que utiliza el reactivo conocida como DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl* / *-2,2-diphenyl-picrylhydrazyl*), el cual presenta facilidad para convertirse en un radical libre, a lo que se asocia un pico máximo de absorbancia a longitudes de onda cercanas a 515 nm, empleando metanol como eluyente. La adición del extracto fenólico, rico en compuestos antioxidantes, sobre la disolución de DPPH en metanol, provoca la disminución de la absorbancia observada en una cantidad proporcional a la concentración fenólica en el extracto añadido ¹⁴⁴.

