



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

Dipartimento di Agronomia, Alimenti, Risorse naturali, Animale e Ambiente

Corso di Laurea triennale in
Scienze e Tecnologie Viticole ed Enologiche

POSSIBILI UTILIZZI DEI VINACCIOLI IN UN OTTICA DI ECONOMIA CIRCOLARE

Relatore

Prof. Simone Vincenzi

Laureanda/o

Alessandro Ros

Matricola n. 2007858

ANNO ACCADEMICO 2022/2023

INDICE

RIASSUNTO / ABSTRACT	3
INTRODUZIONE	4
OLIO DI VINACCIOLI	6
Costituenti idrofili dei semi d'uva	6
Costituenti lipofili dell'olio di semi d'uva	6
Capacità antioossidante dell'olio di vinaccioli	7
Effetto anti infiammatorio dei semi d'uva	8
ESTRAZIONE DI TANNINI	9
APPLICAZIONI FARMACEUTICHE	9
Composizione chimica dell'estratto dei semi d'uva	9
Attività farmacologica	9
Attività di guarigione delle ferite	10
Attività cardiovascolare	10
Attività antipertensiva	11
Effetti sull'apparato gastro-intestinale	11
Attività antitumorali	12
Attività antimicrobica	12
GSE nei prodotti cosmetici	12
APPLICAZIONI ENOLOGICHE DELL'ESTRATTO DI VINACCIOLI	13
TANNINI E CHIMICA DEL VINO	16
EFFETTI SENSORIALI DEI TANNINI	17
BIO-PLASTICHE	18
GRAPESEED POWDER	21
PROTEINE	23
CONCLUSIONE	26
REFERENZE	26

RIASSUNTO

Dal punto di vista dell'economia circolare, l'uso dei semi d'uva offre una notevole opportunità per ridurre gli sprechi e massimizzare l'efficienza delle risorse. Storicamente considerati un sottoprodotto della vinificazione o della produzione di succo d'uva, i vinaccioli vengono ora riconosciuti per le loro preziose proprietà e potenziali applicazioni.

L'olio di semi d'uva è ad oggi utilizzato come ingrediente versatile nell'industria cosmetica e della cura personale, promuovendo così un approccio salutistico e alla bellezza più sostenibile ed ecologico.

Soprattutto l'estrazione dei tannini ha guadagnato notevole attenzione, in quanto essi possono essere utilizzati come ingrediente versatile nell'industria farmaceutica, dei cosmetici e della cura personale ma anche reinseriti nel processo enologico.

Altre interessanti applicazioni dei semi d'uva risiedono nel loro utilizzo come biomassa, in particolare come fonte di energia rinnovabile, nella produzione di grapeseed powder, bio-plastiche e nella estrazione delle loro proteine, funzionali per i processi enologici oppure per l'industria alimentare. Questo utilizzo dei vinaccioli esemplifica i principi dell'economia circolare trasformando ciò che un tempo era considerato rifiuto in risorse preziose.

Sfruttare il loro potenziale ci consente di ridurre al minimo gli sprechi, conservare le risorse e promuovere un futuro più sostenibile e resiliente.

ABSTRACT

From a circular economy perspective, the use of grape seeds offers a significant opportunity to reduce waste and maximize resource efficiency. Historically considered a by-product of winemaking or grape juice production, grape seeds are now being recognized for their valuable properties and potential applications.

Grapeseed oil is now prominent as a versatile ingredient in the cosmetic and personal care industries, thus promoting a more sustainable and eco-friendly approach to health and beauty.

The extraction of the tannin content has gained attention as a versatile ingredient in the pharmaceutical, cosmetic and personal care industries but especially in the reintegration into the winemaking process.

Other exciting applications of grape seeds lie in their use as a feedstock for biomass, using grape seeds as a source of renewable energy, in the creation of grapeseed powder, bioplastics and in the extraction of their proteins, functional for oenological processes or for the food industry.

This use of grape seeds exemplify the principles of the circular economy by transforming what was once considered waste into valuable resources.

Harnessing their potential allows us to minimize waste, conserve resources and promote a more sustainable and resilient future.

INTRODUZIONE

La lavorazione degli alimenti genera elevate quantità di residui che, nella maggior parte dei casi, vengono eliminati direttamente come prodotti di scarto. Oggi c'è una crescente richiesta di un'industria alimentare sostenibile che riduca gli effetti di contaminazione dei propri scarti e ne aumenti il valore trasformandoli in utili prodotti secondari o in materie prime per altre industrie.

Per quanto riguarda l'industria vinicola europea, ogni anno si raccolgono 28 milioni di tonnellate di uva e nel processo di vinificazione si producono quasi 5,6 milioni di tonnellate di vinaccia come prodotto secondario. A causa di una disparità nella gestione di questi materiali a livello tecnico e normativo, circa il 60% di questi 5,6 milioni di tonnellate viene attualmente utilizzato per l'estrazione di alcol, olio di semi d'uva, energia, ecc. mentre la parte restante (40%) viene utilizzata come fertilizzante o combustibile (OIV 2019 Statistical report on World vitiviniculture). Per quanto riguarda la sua combustione, il vinacciolo ha un potere calorifico di 22,11 MJ/Kg (Università di Padova, Biofuel Tesaf, 2020).

Ciò significa che finora 2,2 milioni di tonnellate/anno di vinaccia sono state destinate a una fase di bassa gerarchia dei rifiuti, invece di essere reintrodotte nella catena del valore come prodotto ad alto valore, evitando l'uso di risorse primarie ed esogene, in linea con quanto previsto dal nuovo piano d'azione dell'UE per l'economia circolare e dalla strategia Farm-to-Fork.

L'Italia, rappresenta circa il 30% della produzione vinicola europea e con i suoi 46 milioni di ettolitri/anno di vino (media 2013-20), produce circa 1,7 milioni di tonnellate di vinacce.

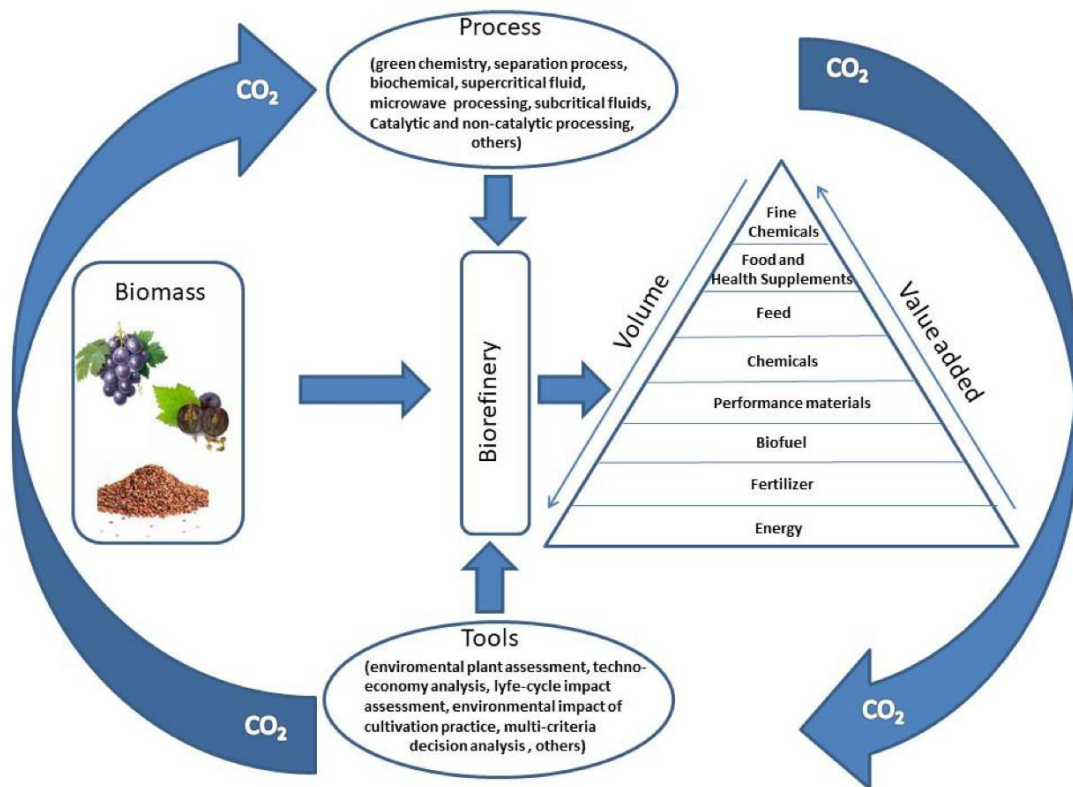


Figure 1. The biorefinery concept: a puzzle piece of circular bioeconomy.

La vinificazione produce una serie di sottoprodotti, facilmente sfruttabili per nuove produzioni e in varie filiere.

Durante il processo di vinificazione, la qualità e la quantità di questi sottoprodotti dipendono da una serie di cofattori, ma fondamentalmente dal tipo di vinificazione (Ruggeri et al., 2009; Mazza et al., 1993; Novello 2015). I vinaccioli rappresentano la parte del frutto con la più alta concentrazione di molecole bioattive; diversi studi hanno riportato che, tra le diverse parti dell'uva, i semi mostrano la più alta attività antiossidante, seguiti dalla buccia e dalla polpa (Pastrana-Bonilla et al., 2003; Chandra, et al., 2011).

I semi d'uva hanno quindi un grande potenziale biologico che potrebbe essere sfruttato estraendo composti bioattivi ad alto valore aggiunto prima di utilizzare la biomassa a fini energetici, per ottenere estratti e semilavorati utili per scopi agronomici, cosmetici, mangimistici, alimentari, nutraceutici e farmaceutici.

Pertanto, considerare i vinaccioli come rifiuti rappresenta una doppia perdita per l'industria alimentare, sia per i costi di smaltimento che per i mancati profitti derivanti dal loro riciclo e sfruttamento.

Lo smaltimento dei rifiuti e dei sottoprodotti comporta un forte impatto ambientale che può essere stimato attraverso la valutazione dell'impronta di carbonio che si sta lentamente diffondendo anche nel settore vitivinicolo: la metodologia più utilizzata è il Life Cycle Assessment (LCA) (Petti et al., 2010; Ardente et al., 2006; ISO 2006); a livello italiano, il calcolo dell'emissione di CO₂ equivalenti dovuta agli scarti di vinificazione del 2016 è stato calcolato sulla base dell'"International Wine Carbon Calculator" (International Wine Carbon Calculator, 2018) ed è risultato pari a 278.100 tonnellate da fecce, 834.300 tonnellate da vinacce e 185.400 tonnellate da raspi (Bevilacqua et al., 2017); in Italia, nella vendemmia 2016, sono state prodotte quindi 1300 tonnellate di CO₂, che potrebbero essere ridotte utilizzando questi sottoprodotti come materia prima per altre filiere produttive, come sottolineato da Bevilacqua e colleghi.

La creazione di un modello integrato con un approccio di bioraffineria applicato al settore enologico consentirebbe quindi di considerare gli scarti della vinificazione come coprodotti in un processo virtuoso di economia circolare allineato alla normativa europea sui rifiuti e in grado di raggiungere o superare gli obiettivi del protocollo di Kyoto (UNFCCC 1997).

OLIO DI VINACCIOLI

L'olio di vinaccioli è ricco di composti fenolici, acidi grassi e vitamine, con importanza economica per l'industria farmaceutica, cosmetica e alimentare, il suo uso come olio commestibile infatti è stato suggerito anche per le sue piacevoli caratteristiche sensoriali.

Questi effetti sono stati correlati ai suoi costituenti, principalmente tocoferolo, acido linolenico, resveratrolo, quercetina, procianidine, carotenoidi e fitosteroli.

Come già detto, i vinaccioli sono sottoprodotti del processo di vinificazione (Lutterodt et al., 2011, Shinagawa et al., 2015), e il loro olio è tradizionalmente estratto utilizzando un solvente organico o tecniche meccaniche (Duba et al., 2015); la pressatura è un metodo di estrazione dell'olio che non comporta alcun trattamento termico o chimico e quindi può mantenere più componenti benefici per la salute, anche se è una tecnica per prodotti di nicchia, poiché ha rese decisamente inferiori rispetto alla più largamente utilizzata estrazione tramite solvente (Parry et al., 2006).

Sebbene la resa sia inferiore, nella spremitura a freddo non vi è alcuna preoccupazione per i residui di solventi nell'olio, con la conseguenza di avere un prodotto più sicuro e desiderato dal consumatore (Shinagawa et al., 2015). Inoltre, con questa tecnica è minima l'estrazione di composti indesiderati (gomme, cere, ecc.), per la cui rimozione si renderebbe necessaria la raffinazione dell'olio, un processo deleterio che rimuove anche molti dei composti benefici dell'olio stesso (vitamine, polifenoli, ecc.).

I vinaccioli contengono 8%-20% di olio (su base secca) (Rombaut et al., 2015) e la resa dipende, oltre che dalla tecnica di estrazione, anche dal tipo di solvente e dalle condizioni operative impiegate, dalla cultivar e dai fattori ambientali durante l'anno di raccolta (Duba et al., 2015).

In uno studio condotto nello stato di Rio Grande do Sul, Brasile, sono state analizzate per il loro contenuto di olio tre varietà di *V. vinifera* (Moscatto Giallo, Merlot e Cabernet Sauvignon) e due di *V. labrusca* (Bordeaux e Isabel) raccolte tra il 2005 e il 2006. Il più alto contenuto di olio è stato ottenuto dalla varietà Bordeaux (15,4%) nel 2005 e dal Merlot (14,7%) nel 2006 (Agostini et al., 2012).

Costituenti idrofili dell'olio di semi d'uva

L'olio di vinaccioli contiene una discreta quantità di composti fenolici, tra cui flavonoidi, carotenoidi, acidi fenolici, tannini, e stilbeni (Duba et al., 2015), i valori sono compresi tra 59 e 360 mg/kg, i principali polifenoli identificati nell'olio sono catechina, epicatechina, trans-resveratrolo e procianidina B1 (Rombaut et al., 2014; Maier et al., 2009).

Tuttavia, confrontandolo con quello di altri prodotti di origine vegetale, il contenuto di polifenoli in questo olio è molto basso.

Componenti lipofili dell'olio di semi d'uva

L'olio di semi d'uva ha un alto contenuto di acidi grassi polinsaturi (PUFA), nell'intervallo 85% -90% (Shinagawa et al., 2015). Si trovano anche buone quantità di acido oleico, un acido grasso monoinsaturo (MUFA), mentre gli acidi grassi saturi (SFA) sono presenti in quantità inferiori.

Ogni varietà di uva e il suo olio hanno una diversa composizione di acidi grassi (FA) (Shinagawa et al., 2015; Lachman et al., 2015; Navas, 2009); la tabella sottostante mostra la composizione media in acidi grassi dell'olio di vinaccioli (*V. vinifera L.*) rispetto ad altri oli.

Table 1. Fatty acid compositions* of grape (*V. vinifera L.*) seed oil and other fats.¹⁸

FATTY ACIDS	GRAPE SEED OIL	OLIVE OIL	SUNFLOWER OIL	COCONUT OIL
C6:0	nd	nd	nd	0.52
C8:0	0.01	nd	nd	7.6
C10:0	nd	nd	nd	5.5
C12:0	0.01	nd	0.02	47.7
C14:0	0.05	nd	0.09	19.9
C15:0	0.01	nd	nd	nd
C16:0	6.6	16.5	6.2	nd
C17:0	0.06	nd	0.02	nd
C18:0	3.5	2.3	2.8	2.7
C20:0	0.16	0.43	0.21	nd
C22:0	nd	0.15	nd	nd
C16:1 (n-7)	0.08	1.8	0.12	nd
C17:1 (n-7)	nd	nd	nd	nd
C18:1 cis (n-9)	14.3	66.4	28.0	6.2
C18:1 trans (n-9)	nd	nd	nd	nd
C20:1 (n-9)	0.40	0.30	0.18	nd
C18:2 cis (n-6)	74.7	16.4	62.2	1.6
C18:3 (n-3)	0.15	1.6	0.16	nd
C18:3 (n-6)	nd	nd	nd	nd
SFAs	10.4	19.4	9.4	92.1
MUFAs	14.8	68.2	28.3	6.2
PUFAs	74.9	18.0	62.4	1.6
n-3 PUFAs	0.2	1.6	0.2	0.0
n-6 PUFAs	74.7	16.4	62.2	1.6

Note: *Data are expressed as percentages of total fatty acid methyl esters (FAMES).

Abbreviations: nd, not determined; SFAs, saturated fatty acids; MUFAs, monounsaturated fatty acids; PUFAs, polyunsaturated fatty acids.

Altri costituenti lipofili che si trovano in gran parte nell'olio di semi d'uva sono i fitosteroli, noti per avere diversi effetti salutistici, compresa attività antiinfiammatoria (Shinagawa et al., 2015; Vivancos e Moreno, 2008).

Capacità antiossidante dell'olio di semi d'uva

La proprietà bioattiva più nota dei composti fenolici è la loro capacità antiossidante. Questa proprietà è stata ampiamente studiata negli estratti di vinaccioli i cui composti sono in grado di eliminare le specie reattive dell'ossigeno (ROS) e inibire l'ossidazione dei lipidi (Freedman e Parker, 2009).

Xia e colleghi (2010), hanno confrontato la capacità antiossidante dell'uva e dei suoi sottoprodotti, tra cui foglie, buccia e semi.

La più alta capacità antiossidante è stata trovata nei semi (42,18 mmol di Trolox equivalente/g). Questa elevata capacità antiossidante è correlata all'alto contenuto di acido gallico, catechina, epicatechina, procianidine e proantocianidine presenti nei vinaccioli (Hernandez-Jimenez et al,

2009). Come detto, i composti fenolici che migrano effettivamente nell'olio, però, sono solo una piccola parte, in effetti le proprietà antiossidanti dell'olio di vinaccioli sono da attribuire piuttosto alla presenza di altri composti liposolubili.

L'olio di vinaccioli ha un caratteristico contenuto di α -, β -, γ -, e δ -tocoferolo (appartenenti al gruppo della vitamina E) e tocotrienoli (forme insature di vitamina E). All'interno dell'olio possiamo trovare un maggior numero di tocotrienoli che tocoferoli, tra cui γ -tocotrienolo è il più abbondante, seguito da α -tocotrienolo (Fernandes et al, 2013).

Da un punto di vista quantitativo il contenuto di vitamina E totale nell'olio di vinaccioli varia da 1 a 53 mg per 100 g di olio (Assumpção e Nunes, 2016; Shinagawa et al., 2015). Questa notevole variabilità dipende ovviamente dal tipo di processo che ha subito l'olio, ma se confrontato con altri alimenti, è evidente che l'olio di vinaccioli è potenzialmente una fonte importante di vitamina E nella dieta.

La vitamina E contribuisce agli effetti benefici dell'olio, grazie alla sua elevata attività antiossidante e alle proprietà neuroprotettive e antitumorali (Fernandes et al., 2013).

Il meccanismo biologico alla base della proprietà antiossidante è associato alla rimozione dei radicali liberi, principalmente radicale ossidrilico, e alla chelazione dei metalli, che influenzano la segnalazione cellulare e il funzionamento del sistema immunitario (Cetin et al., 2005).

PHYTOSTEROLS	mg/kg/OIL
Cholesterol	nd-0.10
Cholestanol	nd
Brassicasterol	0.6-0.9
2,4 methylenecholesterol	nd-0.18
Campesterol	0.1-9.3
Campestanol	-
Stigmasterol	10.2-10.8
Δ -7 campesterol	0.16-0.27
Δ -5 2,3 stigmastadienol	-
Clerosterol	0.90-0.94
β -sitosterol	66.6-67.4
Sitostanol	3.92-4.70
Δ -5 avenasterol	1.98-2.09
Δ -5 2,4 stigmastadienol	0.41-0.47
Δ -7 estigmastenol	1.99-2.30
Δ -7 avenasterol	0.98-1.10

Effetto anti-infiammatorio dell'olio di semi d'uva

Il consumo di nutrienti con capacità antinfiammatorie è in generale considerato utile nel trattamento di malattie croniche. Olas e colleghi (2012), hanno osservato che l'olio di vinaccioli diminuisce l'aderenza piastrinica *in vitro*, mostrando addirittura una maggiore efficacia del resveratrolo puro.

Questo risultato, insieme a quello riportato da Sano e colleghi (2007), che mostra, in 61 soggetti sani, un effetto dell'olio di vinaccioli sulla riduzione delle lipoproteine a bassa densità (LDL) ossidate,

suggerisce un potenziale effetto cardioprotettivo per questo prodotto. Questi effetti sono probabilmente da attribuire ai polifenoli presenti nell'olio, i quali sono in grado di inibire il rilascio di acido arachidonico (AA), responsabile della produzione di leucotrieni e prostaglandine, che a loro volta attivano la risposta infiammatoria (Santangelo et al., 2007).

ESTRAZIONE DI TANNINI

Come già detto in precedenza, i vinaccioli, tra tutti i tessuti dell'uva, sono quelli più ricchi di polifenoli, che in piccola parte vengono estratti anche nell'olio, conferendogli diverse proprietà benefiche.

Molto interessante, quindi, risulta l'estrazione dei polifenoli, ed in particolare dei tannini, dai vinaccioli: questi tannini possono avere molteplici utilizzi, in particolare nel mondo enologico, dove i tannini di uva sono utilizzati come coadiuvanti per diversi scopi, o in quello farmaceutico.

Attraverso diversi studi, è stato infatti dimostrato che l'estratto di semi d'uva, ricco di proantocianidine, apporta benefici contro molte malattie.

Pertanto, oltre a essere utilizzato come nutraceutico o cosmeceutico, può avere un potenziale per sostituire o integrare i farmaci attualmente utilizzati nel trattamento delle malattie.

APPLICAZIONI FARMACEUTICHE DEGLI ESTRATTI DI VINACCIOLI

Composizione chimica dell'estratto di semi d'uva (GSE)

I semi dell'uva essiccati contengono circa il 35% di fibre e il 29% di componenti estraibili, tra cui composti fenolici, proteine (11%), minerali (3%) e acqua (7%) (Matthaus, 2008).

Per ottenere il GSE, la polvere dei semi essiccati può essere macerata in etanolo al 70% per la durata di 3 giorni a temperatura ambiente e successivamente filtrata, quindi il filtrato viene essiccato a temperatura ambiente (circa 25 °C) per far evaporare l'etanolo e si ottiene un estratto in polvere (Badavi et al., 2013).

I polifenoli e i flavonoidi presenti nel GSE hanno dimostrato un notevole interesse in base a rapporti positivi sulle loro proprietà antiossidanti e sulla loro capacità di rimuovere i radicali liberi (Georgiev et al., 2014).

I polifenoli dei vinaccioli hanno un'attività antiossidante più elevata rispetto ad altri antiossidanti noti (come la vitamina C, la vitamina E e il β -carotene).

Attività farmacologica

Il GSE mostra un'attività antinfiammatoria, antiapoptotica, antinecrotica, cardiovascolare e anticancerogena e ha effetti benefici contro diverse malattie, tra cui l'invecchiamento della pelle (Farzaei et al., 2015).

Mostra anche un effetto positivo sulla guarigione delle ferite, inoltre la presenza di proprietà antiossidanti nel GSE ha dimostrato di esercitare un effetto molto più forte di rimozione dei radicali

liberi dell'ossigeno; infatti, i composti con proprietà antiossidanti sono in grado di proteggere le cellule dallo stress ossidativo (Matthaus, 2008).

La proprietà antiossidante delle proantocianidine è dovuta alla disponibilità degli idrogeni fenolici, può quindi agire come regolatore della reazione infiammatoria, legata allo stress ossidativo e riuscire di fatto a controllarlo (Gargari et al., 2011), l'uso di GSE infatti diminuisce lo stress ossidativo e aiuta a ridurre l'infiammazione (Hosseinzadeh, 2017).

Attività di guarigione delle ferite e potenziale antiossidante

Il GSE contiene bioflavonoidi polifenolici, proantocianidine che accelerano il processo di guarigione delle ferite (Soto et al., 2015).

I ricercatori dell'Istituto di ricerca sul cuore e sui polmoni dell'Università dell'Ohio hanno riferito che il GSE contribuisce alla guarigione delle ferite in due modi: (1) aiuta l'organismo a rigenerare i vasi sanguigni danneggiati e (2) aumenta la quantità di radicali liberi presenti nel sito della ferita (Khanna et al., 2002).

I radicali liberi contribuiscono all'eliminazione dei batteri patogeni e delle endotossine dal sito e aiutano a curare le ferite.

Le proprietà di guarigione delle ferite del GSE sono state valutate anche utilizzando un modello animale (ratto). La valutazione della guarigione della ferita è stata effettuata stimando il tasso di riduzione della ferita e il livello di contenuto di idrossiprolina nel sito della ferita.

Per il trattamento è stata utilizzata una dose di 100 mg/kg. Alla fine dello studio è stato dimostrato che il livello di idrossiprolina nel sito della ferita era più alto e la riduzione dell'area della ferita era maggiore rispetto allo standard (Nayak et al., 2011), ciò è stato attribuito in gran parte alla presenza di resveratrolo nel GSE (Khanna et al., 2002).

La proprietà bioattiva più citata attribuita ai composti fenolici è la loro capacità antiossidativa, che previene l'ossidazione delle lipoproteine a bassa densità, l'aggregazione piastrinica e il danneggiamento dei globuli rossi attraverso la rimozione dei radicali (Cheynier, 2005).

In molti dati è stato dimostrato che il GSE è in grado di migliorare le difese antiossidanti (Dai et al., 2014; Xu et al., 2015),

Questa elevata capacità antiossidante del GSE è probabilmente dovuta alla presenza di un'alta quantità di catechina, acido gallico, epicatechina, proantocianidine e procianidine (Hernandez Jimenez et al., 2009). L'attività antiossidante dei composti fenolici coinvolge principalmente tre meccanismi: le proprietà chelanti dei metalli, il loro effetto sulle vie di segnalazione e sull'espressione genica e la capacità di eliminare i radicali liberi (Soobrattee et al., 2005).

Attività cardiovascolare

Sono stati condotti numerosi studi epidemiologici, i quali suggeriscono che il consumo di una dieta ricca di polifenoli riduca la mortalità cardiovascolare.

Esistono numerosi meccanismi attraverso i quali il GSE previene l'aterosclerosi, tra cui l'inibizione o la limitazione dell'ossidazione delle lipoproteine a bassa densità (LDL), l'abbassamento della

pressione sanguigna, la riduzione dell'infiammazione, l'inibizione dell'aggregazione piastrinica e l'attivazione di alcune proteine che prevengono la senescenza cellulare (Dohadwala e Vita, 2009). Gli studi *in vitro* e *in vivo* hanno dimostrato che esiste una relazione tra la presenza di fenoli antiossidanti e la riduzione delle particelle LDL ossidate e che il consumo di diete ricche di antiossidanti fenolici riduce il tasso di insorgenza di malattie cardiache (Kinsella et al., 1993).

Attività antipertensiva

È stata studiata l'attività antipertensiva del GSE, ed è emerso che è ricco di proantocianidine, le quali sono in grado di controllare l'ipertensione.

Il GSE esercita un'azione antipertensiva attraverso la soppressione dello stress ossidativo, l'inibizione dell'enzima di conversione dell'angiotensina (ACE) e la vasodilatazione mediata dall'ossido nitrico (Gonzalez et al., 2014).

È ben noto che lo stress ossidativo è ben implicato nella patogenesi dell'ipertensione. In questo contesto, gli agenti in grado di sopprimere lo stress ossidativo rappresentano un'opzione terapeutica efficace per la gestione e il trattamento dell'ipertensione. Un esperimento *in vitro* suggerisce che il GSE possa proteggere le cellule dal danno al DNA mediato dai ROS, grazie alla sua proprietà antiossidante (Li et al., 2010).

Effetti sull'apparato gastro-intestinale

È stato riportato che il GSE ricco di proantocianidine protegge contro il danno ossidativo gastrico, intestinale cronico e acuto (Bagchi et al., 1999).

Questo effetto gastroprotettivo del GSE potrebbe essere dovuto alla capacità delle procianidine di legare le proteine che ricoprono la mucosa dello stomaco (Saito et al., 1998).

Nel GSE è presente il resveratrolo, che è in grado di sopprimere direttamente la crescita dell'*Helicobacter pylori*, oltre che la secrezione di interleuchina-8 indotta dall'*H. pylori*, la generazione di ROS e i cambiamenti nella morfologia delle cellule epiteliali gastriche (Zaidi et al., 2009). Applicato da solo, a basse dosi (2 mg/kg) il resveratrolo mostra attività di guarigione dell'ulcera, mentre ad alte dosi (10 mg/kg) mostra al contrario attività ulcerogena.

Saito e colleghi (1998) hanno dimostrato che il GSE contenente proantocianidine possiede un effetto preventivo sulle lesioni gastriche indotte da cloridrato/etanolo.

Baydar NG et al, 2020, indicano che nel GSE la presenza di proantocianidine svolge un ruolo chiave per gli effetti benefici osservati nelle malattie infiammatorie intestinali.

Il ruolo protettivo del GSE nei confronti delle malattie intestinali è stato attribuito alla modulazione della microflora intestinale, alla diminuzione del *Faecalibacterium prausnitzii* nel lume intestinale e al blocco della risposta infiammatoria intestinale.

Attività antitumorali

I composti fenolici presenti nel GSE mostrano attività antitumorale e di modulazione del ciclo cellulare (Huang et al., 2012).

Questi composti fenolici mostrano un'attività citotossica contro le cellule tumorali senza influenzare le cellule sane (Engelbrecht et al., 2007). I meccanismi suggeriti per l'attività antitumorale sono stati attribuiti all'espressione di fattori proangiogenici, come le angiopoietine e il fattore di crescita endoteliale vascolare (Huang et al., 2012) e all'inattivazione della via di segnalazione fosfoinositide 3-chinasi (PI3K)/protein chinasi B (PKB) che porta all'induzione dell'apoptosi delle cellule tumorali (Engelbrecht et al., 2007).

Attività antimicrobica

I GSE hanno dimostrato un'efficace proprietà antimicrobica, sono stati utilizzati in modo efficiente sia contro i batteri Gram-positivi (*Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus coagulans* e *Bacillus subtilis*), ma soprattutto contro i batteri Gram-negativi come *Pseudomonas aeruginosa* o *Escherichia coli* (Jayaprakasha et al., 2003).

Anche in questo caso il resveratrolo sembra essere la componente chiave, infatti mostra un'attività antimicrobica positiva contro molti agenti patogeni, come *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* ed *Enterococcus faecalis* (Chan, 2002).

Quando viene applicato il resveratrolo per via topica, aumenta la produzione di catelicidina, che inibisce la crescita dello *Staphylococcus aureus* e induce peptidi antimicrobici (Park et al., 2013).

L'attività antimicrobica dimostrata dal resveratrolo comporta l'induzione di danni ossidativi alla membrana batterica, in particolare nell'*E. coli*, senza influenzare le cellule ospiti.

GSE nei prodotti cosmetici e nutraceutici

Il GSE può essere utilizzato in diversi prodotti cosmetici, grazie alla sua azione antiossidante che protegge la pelle dalle radiazioni UV nocive.

L'invecchiamento cutaneo è un processo naturale che si verifica a causa di fattori esterni e interni che coinvolgono fattori genetici, ormonali e ambientali. La diminuzione del collagene e dei suoi precursori, l'infiammazione e il disordine dei melanociti sono alcuni cambiamenti che si verificano nel fotoinvecchiamento.

Come è stato precedentemente evidenziato, l'estratto di vinaccioli esercita un potenziale beneficio per la salute contro numerose malattie, in particolare i disturbi cardiovascolari e sulla guarigione delle ferite. Pertanto, in futuro il GSE può essere utilizzato per isolare la forma pura di proantocianidina responsabile di molte attività farmacologiche, può inoltre fornire un trattamento sicuro, naturale ed economico e, oltre ai prodotti cosmetici e nutraceutici, può essere utilizzato anche nel trattamento delle malattie sviluppandolo in altre formulazioni farmaceutiche di successo per una migliore prospettiva futura.

APPLICAZIONI ENOLOGICHE DEGLI ESTRATTI DI VINACCIOLI

I tannini enologici sono prodotti naturali commerciali estratti da diverse fonti botaniche e sono autorizzati dall'Organizzazione Internazionale della Vigna e del Vino (OIV), per la chiarifica sia dei mosti che dei vini, grazie alla loro affinità a legare le proteine e a prevenire l'intorbidimento ferroso nei vini (Organizzazione Internazionale della Vigna e del Vino, 2012).

A questo proposito, i tannini commerciali agiscono come agenti di ammendamento e quindi dovrebbero essere considerati come coadiuvanti tecnologici. Secondo Galpin (2006), l'aggiunta di tannini è consentita nell'Unione Europea (UE), in Sudafrica, negli Stati Uniti, in Australia e in Nuova Zelanda, anche se con alcune differenze tra questi Paesi. In particolare, gli Stati Uniti consentono l'aggiunta di tannino sia per la chiarifica che per la regolazione del contenuto di tannino, con la restrizione di non aggiungere colore. In Sudafrica, la legislazione sull'aggiunta di tannino richiede che non sia "estraneo al vino". L'Australia e la Nuova Zelanda ammettono il tannino come additivo (la Nuova Zelanda ammette anche l'aggiunta di estratto di buccia d'uva), mentre l'UE ammette i tannini come coadiuvanti tecnologici nella chiarifica/affinamento di mosto e vino e per l'aggiunta al vino (Commissione europea 2009).

I tannini enologici sono ammessi nella vinificazione biologica anche in Australia (Australian Certified Organic Standard 2010) e nell'UE, con la raccomandazione che i tannini siano derivati da materie prime biologiche, se disponibili (European Commission 2012).

I tannini commerciali sono composti polifenolici estratti da una singola specie botanica o da miscele di più specie, tra cui uva, quebracho, quercia, castagno, tara e galla, che possono essere suddivisi in tannini condensati e idrolizzabili.

I tannini condensati, detti anche proantocianidine (PAC), come procianidine, prodelfinidine e profisetinidine, derivano dall'oligomerizzazione di unità di flavan-3-olo, come (epi)catechina, epigallocatechina e fisetinidolo (Haslam, 1998; Vivas et al., 2004).

Le procianidine sono oligomeri e polimeri derivati di flavan-3-oli contenenti subunità di (+)-catechina (C), (-)-epicatechina (EC), (-)-epigallocatechina (EGC) o (-)-epicatechina gallato e si trovano nella buccia e nei tessuti dei semi dell'uva.

Gli estratti di buccia sono caratterizzati da tannini contenenti EGC, con un grado medio di polimerizzazione (mDP) più elevato e con una minore proporzione di subunità galloilate (Souquet et al., 1996), mentre gli estratti di semi presentano tannini privi di subunità EGC, con un maggior numero di derivati galloilati, principalmente come unità di estensione, e contengono un livello più elevato di flavan-3-oli monomerici con un mDP inferiore (Prieur et al., 1994).

Questi oligomeri e polimeri hanno legami di carbonio C6-C3-C6, che non si idrolizzano facilmente come quelli dei tannini idrolizzabili (Puech et al., 1999).

I tannini idrolizzabili includono gallo- ed ellagitannini, che sono polimeri di D-glucosio e di acido gallico, e polimeri di glucosio e di acido ellagico, gallico e/o acidi esaidrossifenico (Hagerman, 2002).

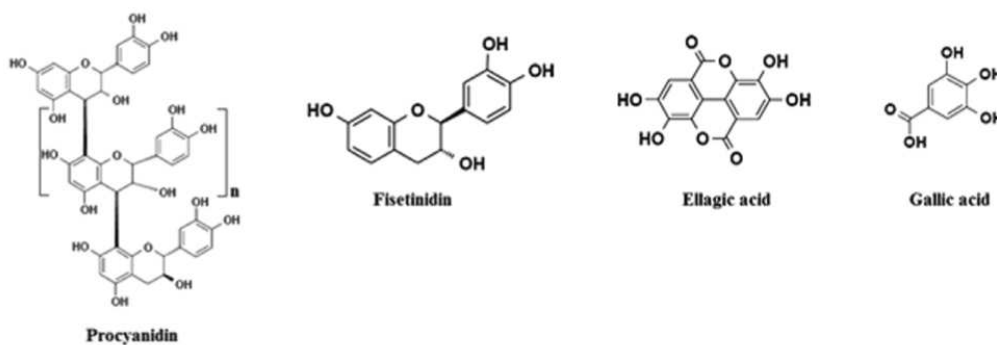
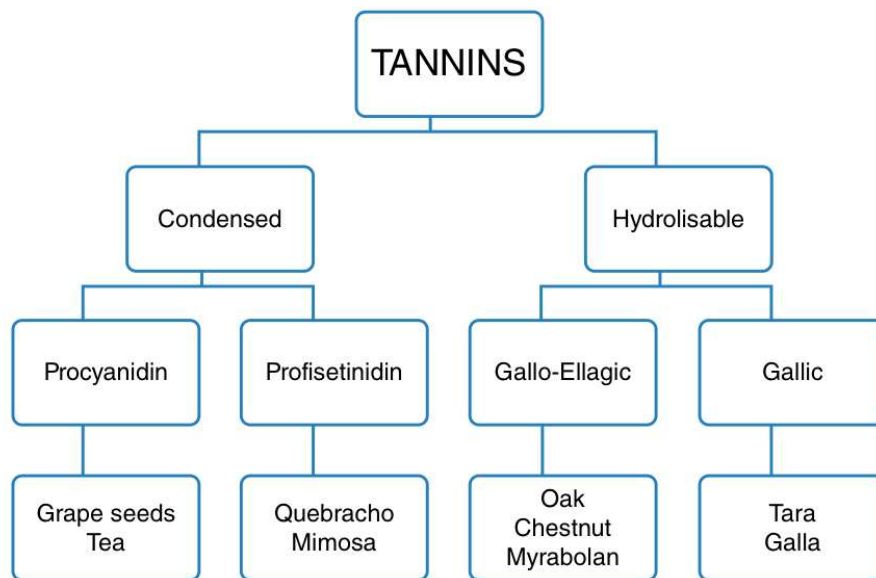


Figure 1. Main chemical structures and origin of the oenological tannins.

La fonte tradizionale di tannini idrolizzabili nel vino, tra cui la vescalagina e il suo epimero C-1 castalagina, è il legno durante l'invecchiamento del vino in botti di rovere (Jordão et al., 2005).

I tannini idrolizzabili non sono stabili in una soluzione idroalcolica e possono essere facilmente idrolizzati da acidi e basi o enzimaticamente per formare acido gallico o ellagico.

La distribuzione dell'acido gallico e dei suoi derivati ha permesso a Salagoity-Auguste et al. (1986) di distinguere i tannini enologici in base alla loro origine botanica: legno di quercia, legno di castagno, legno di quebracho, noce e frutti di mirabolano.

L'OIV (Organisation International de la Vigne et du Vin 2009) stabilisce che un prodotto tannico deve essere estratto da noce o da altri tipi di legno con un alto contenuto di tannini, tra cui castagno, quercia, legno esotico o semi d'uva. I prodotti a base di tannini esogeni devono inoltre rispettare determinate specifiche chimiche, come la concentrazione di fenoli totali e di metalli. Viene inoltre indicato un livello minimo per i contenuti di flavanolo totale, acido digallico e scopoletina, se i prodotti devono essere classificati rispettivamente come prodotti di uva, noce o quercia.

I tannini proantocianidici devono avere un equivalente in catechine di >10 mg/g, mentre i tannini ellagici idrolizzabili dovrebbero contenere almeno 20 mg/g di castalagina equivalente.

Sono previste per i tannini esogeni da aggiungere al vino delle limitazioni sulla concentrazione di metalli, come arsenico (<3 mg/kg), ferro (<50 mg/kg), mercurio (1 mg/kg) e piombo (<5 mg/kg), così come le specifiche del contenuto massimo di ceneri consentito (4% in peso).

L'etichettatura del prodotto dovrebbe indicare chiaramente l'origine botanica, il solvente di estrazione utilizzato e il contenuto totale approssimativo di fenoli.

I due gruppi di tannini, condensati e idrolizzabili, differiscono in quasi tutte le caratteristiche, a parte la capacità di interagire con le proteine, che è alla base della caratteristica astringenza, in quanto formano complessi solubili e insolubili con le proteine salivari (Makkar 1989).

Le interazioni tannino-proteina sono specifiche e dipendono da diversi fattori, tra cui la struttura della proteina e del tannino, il rapporto tannino-proteina e il pH. In particolare, le caratteristiche che favoriscono un forte legame sono: grandi dimensioni di proteine e tannini; strutture aperte e flessibili di proteine e tannini; ricchezza di prolina (Hagerman, 1989, McRae e Kennedy, 2011).

In generale, è stato riscontrato che la precipitazione dei complessi tannino-proteina dipende dal pH, con la maggiore precipitazione che si verifica in prossimità del punto isoelettrico della proteina (Hagerman e Butler, 1978).

Inoltre, la formazione dei complessi dipende dalla concentrazione dei polifenoli e della proteina (cioè dal rapporto proteina/polifenolo), con conseguenti stechiometrie diverse (McManus et al., 1985). In particolare, aumentando la concentrazione di proteine, l'interazione proteina-tannino mostra una tipica curva a campana determinata con nefelometria (de Freitas et al., 2003), che implica la formazione di piccole particelle che alla fine non precipitano (Siebert, 2006).

Si ritiene che i tannini idrolizzabili formino principalmente un rivestimento idrofobico sulla superficie della proteina, mentre i tannini condensati formino principalmente legami incrociati a idrogeno tra le molecole proteiche (Hagerman et al., 1998).

Il meccanismo di legame tannino-proteina, tuttavia, coinvolge molto probabilmente un equilibrio di interazioni idrofobiche e legami a idrogeno, anche a seconda del tipo di proteina (Butler et al., 1984; Haslam, 1996; Frazier et al., 2010). Ad esempio, l'acido tannico, un tannino idrolizzabile contenente otto gruppi galloilici, ha un'affinità di legame insolitamente elevata per le proteine (Hofmann et al., 2006) grazie al fatto che ogni gruppo galloilico fornisce tre gruppi idrossilici e un anello benzenico, che possono stabilire legami idrogeno e idrofobici con l'albumina del siero bovino (BSA) (Soares et al., 2007).

Sebbene tali interazioni proteina-tannino possano avvenire anche attraverso legami covalenti o ionici, al momento ci sono poche prove di legami incrociati covalenti tra proteine e ortoquinoni (Haslam et al., 1991), e la mancanza di interazione è stata osservata agli alti valori di pH a cui i gruppi idrossilici fenolici del tannino sarebbero ionizzati (Hagerman e Butler, 1978).

La misurazione del potenziale mediante "streaming current detector" ha confermato che i tannini isolati dai semi d'uva e le frazioni polifenoliche recuperate dal vino hanno una carica trascurabile a pH 3,5; pertanto, le interazioni elettrostatiche e ioniche giocano poco, se non nulla, ruolo nell'associazione di questi polifenoli con altri componenti (Vernhet et al., 1996).

TANNINI E CHIMICA DEL VINO

I tannini enologici commerciali possono differire in termini di diversi fattori, tra cui: fonte botanica, metodo di estrazione, lavorazione e purificazione e grado di polimerizzazione (DP).

La maggior parte dei tannini disponibili sul mercato sono estratti con acqua o vapore, essiccati e macinati. Diversi prodotti sono sottoposti a idrolisi, regolazione del pH e del colore, aggiunta di solfiti e possono essere finiti con sprayzzazione o con liofilizzazione (Zoecklein, 2007).

In particolare, alcune fasi di lavorazione termica nella produzione di tannini enologici possono indurre cambiamenti nella concentrazione del tannino. Ciò potrebbe essere dovuto a cambiamenti nella conformazione del tannino, complicandone così il rilevamento, o semplicemente alla sua degradazione (Serrano et al., 2009). Inoltre, non è ben noto come l'effetto della conservazione dei tannini enologici possa influenzare la loro concentrazione e le loro proprietà chimiche nel tempo.

L'ampia gamma di tannini commerciali disponibili per l'industria vinicola è accompagnata da numerose indicazioni, tra cui: miglioramento della sensazione in bocca e dell'aroma/sapore del vino; precipitazione delle proteine; inibizione dell'attività della laccasi; stabilizzazione del colore del vino rosso, migliorando così il potenziale di invecchiamento, eventualmente in combinazione con la micro-ossigenazione e la diminuzione degli off-flavours riduttivi (Bautista-Ortín et al., 2005, Obradovic et al., 2005).

In particolare, i prodotti che si formano dagli antociani nel corso dell'invecchiamento del vino sono stati descritti come pigmenti polimerici derivanti dalle reazioni degli antociani con i tannini (Fulcrand et al., 2006). Di conseguenza, gli enologi richiedono una conoscenza a priori dell'impatto dell'aggiunta di tannini ai vini. Rimane una notevole incertezza, per quanto riguarda i benefici dei tannini enologici sulla qualità del vino, in parte è dovuto alla diversità dei prodotti (cioè alla loro natura e struttura chimica), al momento dell'aggiunta, alla purezza e al dosaggio e, infine, alle poche informazioni disponibili sulla quantificazione dei prodotti di reazione e sulla loro cinetica, cioè la velocità di reazione.

Durante l'invecchiamento del vino rosso, gli antociani subiscono diverse reazioni che portano alla formazione di nuovi pigmenti più resistenti allo sbiancamento da SO₂ e alle variazioni di pH (Somers, 1971; Cheynier et al., 2006), tra cui:

- reazioni dirette tra antociani e tannini, cioè i prodotti A+ -T e T-A+ (Remy et al., 2000; Salas et al., 2003). Studi di competizione in soluzioni di vino modello dimostrano che per gli antociani monoglucosidici, le catechine non sono in competizione con il tannino nella formazione di un addotto antocianico, ma piuttosto che le catechine e i tannini reagiscono precocemente l'uno con l'altro in un processo dinamico di formazione e rottura di legami interflavanici (Thorngate e Singleton, 1994);
- reazioni di condensazione mediate da aldeidi tra antociani e tannini (Timberlake e Bridle, 1976).

La velocità di queste reazioni dovrebbe dipendere dal pH, mentre l'entità della polimerizzazione dipende dalla concentrazione dei reagenti.

È noto che i tannini condensati possono combinarsi con gli antociani direttamente o attraverso reazioni mediate dall'acetaldeide e stabilizzare il colore del vino (Cheynier et al., 2006), mentre i tannini idrolizzabili possono agire come copigmenti (Álvarez et al., 2009) e anche proteggere gli antociani del vino dall'ossidazione, perché possono regolare i fenomeni di ossidoriduzione. L'elevata

capacità ossidativa degli ellagitannini facilita l'idroperossidazione dei costituenti del vino che induce la condensazione tannino-antocianina attraverso l'acetaldeide (Vivas e Glories, 1996). Inoltre, gli ellagitannini possono combinarsi covalentemente con specie nucleofile derivate dall'uva, come flavanoli, antociani e tioli (Quideau et al., 2005).

EFFETTI SENSORIALI DEI TANNINI

I tannini condensati sono composti flavonoidi derivati dall'uva ben noti per le loro proprietà astringenti (Gawel, 1998) e amare (Hufnagel e Hofmann, 2008) e per i loro effetti salutari (Santos-Buelga e Scalbert, 2000). Il termine astringenza si riferisce alla sensazione di secchezza e di pizzicore in bocca (Lee e Lawless, 1991), apparentemente derivante dall'interazione delle proantocianidine del vino con le proteine salivari, che porta alla successiva aggregazione e precipitazione dei complessi proteina-tannino con una concomitante perdita di lubrificazione della bocca (Brossaud et al., 2001; Bennick, 2002). Come hanno sottolineato Thorngate e Noble (1995), la stimolazione dei meccanocettori potrebbe contribuire a questa sensazione.

Diversi fattori possono influenzare l'astringenza percettiva suscitata dai tannini del vino, tra cui la composizione delle subunità, le dimensioni (DP), l'entità della galloilazione, il tipo di legame interflavanico, l'ossidazione e la formazione di derivati pigmentati.

In generale, l'astringenza percepita aumenta con l'aumentare della concentrazione di tannini (Kennedy et al., 2006) e delle loro dimensioni (Peleg et al., 1999), con un limite massimo dovuto all'ostacolo sterico della struttura del tannino (Poncet-Legrand et al., 2007). Vidal et al. (2003) hanno riscontrato che maggiore è il DP delle diverse frazioni di PAC (fino a 20 mDP per i semi e 70 mDP per la mela), maggiore è l'astringenza complessiva in soluzioni simili al vino.

È stato riportato un maggiore legame con le proteine da parte di tannini più grandi e "flessibili" che contengono una maggiore proporzione di subunità catechiniche e una maggiore proporzione di legami interflavanici da C4-C8 a C4-C6 (Poncet-Legrand et al., 2003; Cheynier et al., 2006).

La concentrazione di soglia sensoriale per l'astringenza stimata nella soluzione modello del vino è di 50, 80 e 67 mg/L per quercia, castagno e galla (Vivas et al., 2002).

Al contrario, studi più recenti e approfonditi hanno riscontrato che il contenuto di vari monomeri di ellagitannini, come la castalagina, la vescalagina, la grandinina e la roburina E, nei vini rossi studiati superava la soglia di rilevazione e quindi può contribuire in qualche misura all'astringenza complessiva (Glabasnia e Hofmann 2006, 2007).

Ovviamente, oltre al tipo di tannini e alla quantità aggiunta, il livello originale di tannini già presente nei diversi tipi di vino è un buon indicatore dell'utilità o meno di un'aggiunta di tannini.

Aumentare la quantità di tannino aggiunto non è sempre una buona strategia. Secondo Díaz-Plaza et al. (2002), i vini rossi Monastrell contenenti solo tannini naturali (vino fiore e vino ottenuto dall'aggiunta di vino di pressa) invecchiati in rovere sono stati apprezzati al meglio, mentre l'aggiunta di tannini commerciali a 200 mg/L ha deprezzato il vino in termini di caratteristiche sensoriali, in particolare di apprezzamento olfattivo e armonia.

Analogamente, aggiungendo una quantità crescente di tannini enologici (fino a 800 mg/L) a un vino Cabernet Sauvignon durante l'affinamento in botte, Harbertson et al. (2012) hanno riscontrato che l'eccesso di tannini enologici potrebbe avere un impatto negativo sul carattere sensoriale del vino a

causa della diminuzione della dolcezza e della viscosità percepita dei vini e dell'aumento dei sapori terrosi e dell'amarezza.

Oltre al contributo diretto dei tannini al sapore del vino, i tannini possono anche modificare la volatilità dei composti aromatici, a seconda del livello di tannini e della loro origine, cioè semi o bucce. In particolare, la volatilità degli esteri in una soluzione di vino modello è stata generalmente aumentata con l'aggiunta di tannino di semi d'uva a una concentrazione inferiore a 5 g/L, mentre, con un'aggiunta di tannino più elevata (cioè 10 g/L di una miscela di semi e bucce, 4/1, p/p), la volatilità di etile ottanoato, etile decanoato, etile dodecanoato e linalolo è diminuita, molto probabilmente a causa della capacità dei tannini di formare particelle di dimensioni colloidali (Mitropoulou et al., 2011). Ovviamente, la dose di 5-10 g/L di tannini supera di molto la concentrazione effettiva utilizzata nella vinificazione.

Sono state esaminate la struttura e le proprietà chimiche e sensoriali dei tannini enologici commerciali. Le interazioni di questi tannini con i componenti del vino possono essere complesse e, sebbene vi sia un gran numero di tannini commerciali disponibili sul mercato, vi sono poche informazioni sulle loro proprietà, come la fonte botanica, la composizione, la purezza, la solubilità e la cinetica di reazione, e la loro influenza sulla qualità del vino è spesso incerta. Sono quindi necessarie ulteriori indagini sulla composizione e sulla caratterizzazione di questi tannini, e in particolare sul loro effetto sul colore, sul contenuto di tannini e sulla sensazione in bocca del vino rosso.

BIO-PLASTICHE

Recentemente è emersa una domanda comune nella società: come vengono smaltite le materie plastiche al termine della loro vita utile. Il potenziale ambientale dei polimeri biodegradabili, compresi i poliidrossialcanoati (PHA), è enorme e l'interesse del pubblico e le richieste dell'industria sono in forte aumento (Kovalcik et al., 2019).

Tuttavia, la capacità produttiva dei polimeri biodegradabili non raggiunge il livello richiesto. I PHA sono poliesteri termoplastici con un'ampia gamma di proprietà; questi materiali sono accumulati intracellularmente da numerosi procarioti e fungono da materiali di stoccaggio che migliorano la robustezza complessiva delle cellule batteriche sotto stress (Obruca et al., 2018).

Dal punto di vista applicativo, i vantaggi più importanti sono l'origine biologica, la biocompatibilità e la biodegradabilità.

Le proprietà dei PHA dipendono fortemente dalla composizione del monomero, il quale è costituito da 3-5 atomi di carbonio, i cosiddetti PHA a catena corta (scl-PHA). Questi sono polimeri rigidi con un alto grado di cristallinità e una tipica fragilità, d'altro canto, i PHA costituiti da 6-14 carboni per unità, definiti PHA a catena media (mcl-PHA), rivelano un grado di cristallinità e duttilità molto più basso (Luo et al., 2006).

La produzione e l'applicazione industriale più massiccia di PHA sono limitate da diversi problemi, come gli alti costi di produzione, la complessità dei processi di fermentazione, l'elevata richiesta di un ambiente sterile, le ampie fluttuazioni dei rendimenti e delle proprietà dei polimeri e

l'impegnativo procedimento di isolamento (Koller, 2017, 2018; Meixner et al., 2020; Volova et al., 2019).

Si è ipotizzato che almeno il 25% delle spese operative totali della produzione di PHA sia attribuito alla fonte di carbonio (Salehizadeh e Van Loosdrecht, 2004). Pertanto, l'economia della produzione di PHA può essere migliorata utilizzando un substrato di carbonio a basso costo e selezionando un microrganismo di produzione di PHA adeguato (Koller et al., 2017).

Possibili fonti di carbonio per la sintesi di PHA potrebbero derivare dai vinaccioli.

Ad esempio, l'olio estratto dai semi d'uva può essere considerato un substrato molto promettente per la produzione di PHA, poiché può essere facilmente estratto da materiale presente in abbondanza e, quindi, non entra direttamente in competizione con il ciclo della catena alimentare umana.

La rilevanza dell'olio di semi d'uva come substrato di carbonio di acidi grassi a basso costo per la produzione di PHB (poli idrossi-butanoato) da parte di *C. necator* H16 è stata confrontata con altri oli di scarto/economici nella coltivazione eseguita in beute per 72 h.

I risultati degli esperimenti di coltivazione di *C. necator* H16 in terreni di coltura con olio di scarto di frittura, olio estratto da fondi di caffè esausti e olio di semi d'uva sono elencati nella tabella sottostante.

Tabella 4 - Coltivazione di <i>C. necator</i> H16 in terreni di coltura per 72 h con oli esausti.					
Fonte di carbonio	CDW(g l) ⁻¹	Contenuto di PHB (wt %)	PHB(g l) ⁻¹	Produttività volumetrica del PHB (g l ⁻¹ h) ⁻¹	Valore acido
Olio di semi d'uva purificato	8.3 ± 0.1	76.8 ± 5.8	6.4 ± 1.9	0.117	1.5
Olio di fondi di caffè esausto	10.0 ± 0.4	65.3 ± 1.0	6.5 ± 0.7	0.081	14.3
Olio di girasole fritto di scarto	8.6 ± 0.2	70.4 ± 2.4	6.1 ± 0.1	0.075	3.2
CDW - peso secco delle cellule.					

I valori degli acidi nell'ultima colonna corrispondono alla presenza di acidi grassi liberi nell'olio. I risultati indicano che la crescita della coltura batterica è parzialmente stimolata dalla presenza di acidi grassi liberi nei terreni di coltura, poiché il peso secco delle cellule (CDW) aumenta con il valore acido dell'olio, il che è in accordo con la letteratura poiché è stato riportato che gli acidi grassi liberi agiscono come emulsionanti e, quindi, aumentano la disponibilità di substrato lipidico per la coltura batterica (Obruca et al., 2014). Contemporaneamente, però, la resa di PHB per litro di coltura è stato paragonabile, indicando una maggiore produttività volumetrica utilizzando l'olio di vinaccioli come substrato.

In un altro esperimento, un estratto di zucchero d'uva ottenuto dall'idrolisi enzimatica della vinaccia senza semi è stato testato come fonte di carbonio per *C. necator*, *H. halophila* e *H. organivorans*.

L'estratto liofilizzato di zucchero d'uva conteneva il 33,2% di fruttosio, 28,4% di glucosio e 38,4% di altre sostanze, tra cui composti pectici, acidi organici e fenoli.

H. halophila e *H. organivorans* possono utilizzare saccarosio, fruttosio e glucosio come fonte di carbonio (Kucera et al., 2018). *Cupriavidus necator* H16 è in grado di metabolizzare il fruttosio come zucchero dominante presente nell'estratto di zucchero d'uva (Volodina et al., 2016), ma la sua capacità di utilizzare il glucosio è limitata, quindi risulta meno produttiva e richiede un adattamento a questo zucchero (Franz et al., 2012). L'estratto di zucchero d'uva è stato valutato al fine di riferire la crescita e l'accumulo di polimeri da parte dei ceppi batterici sopra citati (Tabella 5). In generale, quando è stato utilizzato l'estratto di zucchero d'uva per la coltivazione, i titoli finali di PHB sono stati circa il 46-65 % in meno rispetto all'utilizzo di zucchero puro. Il titolo PHB più alto è stato raggiunto quando sono stati utilizzati 50 g/L di estratto liofilizzato di zucchero d'uva.

Tabella 5 - Confronto della produzione di PHB utilizzando 20 g l⁻¹ di estratto di zucchero d'uva, glucosio o fruttosio da parte di diversi ceppi batterici.

Batteri	Fonte di carbonio	CDW(g l ⁻¹)	PHB (wt %)	PHB (g l ⁻¹)	Produttività volumetrica del PHB (g l ⁻¹ ora ⁻¹)
<i>H. halophila</i>	Glucosio	5.1 ± 3.1	72.5 ± 0.95	3.7 ± 0.61	0.051
	Estratto di zucchero d'uva	3.1	7.0 ± 1.0	0.6 ± 0.6	0.025
<i>H. organivorans</i>	Glucosio	6.0	66.0 ± 9.2	3.9 ± 8.2	0.054
	Estratto di zucchero d'uva	3.9	55.4 ± 1.4	2.1 ± 0.4	0.029
<i>C. necator</i>	Fruttosio	8.9	61.6 ± 1.2	5.5 ± 0.5	0.076
	Estratto di zucchero d'uva	4.1	47.2 ± 2.1	1.9 ± 1.5	0.026

Le cellule sono state coltivate in beute; la concentrazione della fonte di carbonio totale era di 20 g l⁻¹ a 30° C, 180 rpm, 72 h di coltivazione.

In questo studio, l'olio di vinaccioli e l'estratto di zucchero d'uva liofilizzato sono stati utilizzati come fonti di carbonio per minimizzare i costi di produzione del PHB.

Sono stati testati diversi ceppi batterici in grado di utilizzare gli zuccheri fermentabili derivati da materiali lignocellulosici.

Sono stati osservati ottimi risultati nel caso di *C. necator*. Nelle fermentazioni con *C. necator* effettuate in beuta e in bioreattore utilizzando olio d'uva ed estratto di zucchero d'uva come fonte di carbonio, sono stati ottenuti il 76,8% e il 28,9- 71,5% di PHB su base secca.

La concentrazione della fonte di carbonio e il suo mantenimento durante la fermentazione è essenziale per l'accumulo di PHB.

Il tipo e la quantità di fonte di carbonio influenzano anche il peso molecolare medio del polimero prodotto. L'uso di 40 g/L di estratto di zucchero d'uva dovrebbe essere preso in considerazione se si vuole ottenere un PHB ad alto peso molecolare.

L'uso di materiali di scarto come la vinaccia come fonte di carbonio è essenziale non solo per ridurre i costi di produzione del PHB, ma anche per implementare l'economia del riciclo nella produzione di vino e nelle sintesi di biopolimeri e per ridurre l'anidride carbonica nell'atmosfera. Oltre al PHB, esistono altri preziosi sottoprodotti del processo di valorizzazione della vinaccia - fenoli, lignina e cellulosa - che potrebbero essere utilizzati in sinergia con la produzione di PHB in quantità sostanziali.

Sempre nell'ambito delle plastiche biodegradabili, una delle problematiche riscontrate, come descritto in precedenza, è la loro cristallinità e conseguente fragilità. Ad esempio, per i prodotti che richiedono elevata flessibilità, l'uso del PHB è inappropriato. Inoltre è stato riscontrato che la fragilità

dei prodotti PHB aumenta nel tempo a causa della cristallizzazione secondaria e dell'invecchiamento fisico.

In uno studio è sono state valutate le proprietà termiche, le proprietà meccaniche e la permeabilità ai gas di PHB ad alta cristallinità, miscelato con PHA amorfo, valutando anche l'effetto dell'incorporazione di lignina di semi d'uva sulle proprietà meccaniche e sull'effetto antiossidante.

In particolare questa ultima proprietà sarebbe utile per le applicazioni di confezionamento alimentare (Wada et al., 2007), ma non solo. Infatti i materiali polimerici sono suscettibili all'attacco dell'ossigeno molecolare attraverso reazioni radicaliche, e per limitare la degradazione da ossidazione, per i materiali di imballaggio in plastica si utilizzano già vari antiossidanti, ad esempio i fenoli inibiti (Pospisil, 1988).

Le lignine sono biopolimeri naturalmente presenti nei tessuti vegetali e di carattere fenolico. Aiutano le piante a combattere diversi stress chimici, biologici e meccanici, soprattutto attraverso la rimozione delle specie radicali.

I film di PHB/PHA sono stati preparati mediante colata in soluzione in cloroformio. La duttilità del poli(3-idrossibutirrato) è stata nettamente migliorata dalla miscelazione con il poli-idrossialcanoato amorfo. Tuttavia, la stabilità termica della miscela PHB/PHA rispetto al PHB puro è diminuita. Al contrario, l'aggiunta di lignina di semi d'uva ha migliorato sensibilmente la stabilità termica della miscela PHB/PHA.

La lignina dei semi d'uva si è dimostrata un efficace antiossidante anche dopo l'aggiunta al film di PHB/PHA, inoltre, ha agito come agente nucleante. Pertanto, da un lato, ha aumentato il grado di cristallinità e rigidità del film e, d'altro canto, ha contribuito a ridurre la permeabilità all'ossigeno e all'anidride carbonica dei film.

È stata confermata la capacità dei film PHB/PHA contenenti lignina di degradarsi nel compost, anzi, è stato riscontrato che la biomassa ottenuta al termine del periodo di compostaggio era in grado di stimolare la germinazione della senape bianca (*Sinapis alba* L.).

GRAPSEED POWDER

Un vino limpido e stabile è un requisito importante per l'industria vinicola. Il vino torbido non è generalmente accettato dai consumatori ed è spesso considerato difettoso, per cui la formazione di torbidità può rappresentare un rischio per la vendita del prodotto.

La torbidità può essere causata da proteine correlate alla patogenesi dell'uva (PR), in particolare proteine taumatina-simili (TLP) e chitinasi (CHI) (Falconer et al., 2010). In condizioni simili a quelle del vino, a basso pH, queste proteine si dispiegano e si aggregano, formando particelle che possono raggiungere dimensioni $\geq 1 \mu\text{m}$. I fenomeni di diffusione della luce che ne derivano fanno apparire il vino torbido (Van Sluyter et al., 2015).

Per prevenire la formazione di torbidità proteica, i vinificatori aggiungono comunemente al vino la bentonite, un'argilla che si carica negativamente al pH del vino. La bentonite si lega alle proteine PR caricate positivamente e si deposita sul fondo del serbatoio, rimuovendo idealmente una quantità di proteine sufficiente a prevenire la formazione di torbidità (Dordoni, Colangelo et al., 2015).

La bentonite è un efficace agente di chiarifica, ma la sua applicazione ha mostrato diversi inconvenienti che, secondo le stime, costano ai produttori di vino circa 1 miliardo di dollari all'anno in tutto il mondo (Majewski et al., 2011).

Questi inconvenienti includono la perdita di vino dovuta alla scarsa sedimentazione e al relativo smaltimento (Waters et al., 2005; Van Sluyter et al., 2015) insieme alla perdita di composti fenolici (Dordoni et al., 2015), aromi e sapori (Colangelo et al., 2019; Lambri et al., 2013). Pertanto, per i produttori di vino è vantaggioso dal punto di vista economico e ambientale utilizzare la quantità minima di bentonite che garantisca la stabilità delle proteine e, allo stesso tempo, preservare la qualità del vino (Dordoni et al., 2015; Lambri et al., 2012).

Queste ragioni hanno anche portato a una consistente ricerca di alternative alla bentonite, tra cui l'uso di enzimi (Benucci et al., 2014), carragenine (Ratnayake et al., 2019), chitosano fungino (Colangelo et al., 2018) e zeoliti (Mierczynska-Vasilev et al., 2019). Nonostante queste alternative abbiano dimostrato una certa efficacia nella stabilizzazione del vino, presentano a loro volta degli svantaggi, tra cui il costo elevato, la disponibilità limitata e/o la scarsa scalabilità.

I semi d'uva prodotti come sottoprodotto della vinificazione hanno dimostrato di essere un'alternativa efficace alla bentonite su scala di laboratorio dopo la macinazione e il trattamento termico (Romanini et al., 2020).

L'uso dei vinaccioli è un'alternativa alla bentonite rinnovabile e facilmente disponibile, che può essere raccolta dalle aziende vinicole a ogni vendemmia e migliorare la sostenibilità della vinificazione.

Come già detto in precedenza, i semi d'uva contengono quantità significative di tannini condensati, pari al 60-70% dei fenoli totali estraibili dell'uva (Shi et al., 2003).

Considerando che i tannini dei semi sono più difficili da estrarre rispetto a quelli della buccia e vengono solubilizzati solo con macerazioni prolungate, i semi provenienti dalla vinificazione in bianco conservano la maggior parte dei tannini condensati, tanto da poter essere utilizzati come polvere di semi d'uva (SPG) per la rimozione delle proteine PR dai vini instabili.

Lo scopo dello studio è stato quello di valutare la fattibilità della SPG come alternativa alla bentonite in una vinificazione in bianco su piccola scala.

I risultati hanno evidenziato come tale trattamento sia in grado di ridurre di almeno il 75% la produzione di torbidità dopo un test al calore, indicando che le SPG possono ridurre o eliminare la necessità di una successiva aggiunta di bentonite, con conseguente riduzione del tempo prima del travaso e della filtrazione. Le proteine residue nei vini Semillon (SEM) e Sauvignon Blanc (SAB) dopo il trattamento con una dose elevata di SPG erano tuttavia sufficienti a generare una torbidità visibile oltre la soglia di 2,0 NTU. La bentonite si è dimostrata efficace nel rimuovere le proteine PR.

Le differenze compositive tra i vini SEM e SAB hanno influenzato l'efficacia dell'SPG nel rimuovere le proteine del vino e ridurre la torbidità. Il profilo proteico del SEM presentava una maggiore concentrazione di chitinasi rispetto al SAB, il che potrebbe contribuire alla piccola ma significativa differenza di torbidità sviluppata dai due vini.

I risultati di questa ricerca su piccola scala con SPG confermano che questo coadiuvante può contribuire a ridurre la torbidità anche se rilascia una certa quantità di composti fenolici che possono avere effetto sul gusto e sul colore (Romanini et al., 2020).

L'impatto dell'SPG sulla consistenza in bocca e sul colore del vino suggerisce che l'uso dell'SPG può essere più adatto ai vini che richiedono dosi ridotte di bentonite.

PROTEINE

Le proteine estratte dai vinaccioli potrebbero essere utilizzate in una delle fasi chiave del complesso processo di vinificazione, ovvero la fase di chiarifica, che consiste nel trattamento di stabilizzazione a cui vengono sottoposti i mosti e i vini per privarli di varie sostanze in sospensione e portarli alla limpidezza.

Ad oggi, la soluzione tecnologica più utilizzata per la fase di chiarifica è il cosiddetto collaggio che si basa sull'uso di proteine che permettono di far precipitare le particelle che intorbidiscono il vino.

Le proteine tradizionalmente utilizzate in enologia sono: albumina, gelatina di pesce, gelatina, caseina (proteine di origine animale). Negli ultimi anni, a causa di un cambiamento negli stili dei consumatori, si stanno affermando come coadiuvanti nel processo di chiarifica del vino anche le proteine di origine vegetale (derivate da cereali, legumi e patate), anche se presentano problemi legati al contenuto di glutine (allergene) e fattori antinutrizionali (solanina nella patata) e sono caratterizzate da una questione etica intrinseca (alimento utilizzato come elemento di trasformazione anziché a scopo nutrizionale).

Considerando che nella stabilizzazione attraverso la chiarifica si utilizzano in media 15 g di proteine per ettolitro e che in Italia si stabilizzano circa 38.000.000 di ettolitri di vino all'anno, il fabbisogno proteico per la chiarifica è in media di 570.000 kg/anno, che rappresentano il 23% del potenziale a livello europeo (2.325 tonnellate/anno).

Tuttavia, va considerato che il settore del vino non è l'unico a utilizzare le proteine a scopo di chiarifica. Infatti, anche i settori della birra, del sidro e dei succhi di frutta utilizzano questo tipo di coadiuvante nella fase di lavorazione. Quindi, se si considera l'attività di chiarifica nel processo di produzione del sidro e nei processi di produzione della birra e dei succhi, il fabbisogno potenziale passa a circa 2.175.000 kg/anno. Infatti, la produzione di sidro nell'UE è di circa 16 Mhl, il totale nel mondo di 26 Mhl (dosaggio medio di proteine 20-30 g/hl, che corrisponde a un fabbisogno proteico a livello europeo di 320 tonnellate; 650.000 Kg di proteine nel mondo (European Cider & Fruit Wine Association - European Cider Trends 2020).

Date queste premesse, l'utilizzo delle proteine dei semi d'uva potrebbe acquisire grande importanza nell'industria enologica: da un lato, dopo la lavorazione dell'uva, vengono prodotte grandi quantità di semi come sottoprodotto, dall'altro, le proteine potrebbero essere estratte e rivalorizzate dall'industria alimentare e da quella vinicola in particolare, grazie al loro alto valore tecno-funzionale per modulare caratteristiche qualitative come l'aspetto, la stabilità e la riduzione del gusto di astringenza dei vini rossi.

Le proteine dei semi d'uva inoltre possono rappresentare una nuova alternativa all'uso di altri stabilizzanti, anch'essi proteici, ma sottoposti a restrizioni legali, in quanto estratti da matrici alimentari allergeniche.

L'introduzione nel processo di vinificazione di questo cambiamento di prospettiva, basato sul paradigma della circolarità, può avere un impatto rivoluzionario per l'intero settore, in quanto riduce significativamente l'uso di materie prime primarie e ha un chiaro valore ambientale.

In effetti, i benefici generati dall'uso dell'estratto proteico di semi d'uva (EPV) come alternativa alle proteine animali tradizionali sono riassunti di seguito:

- è più sostenibile perché il suo processo di estrazione ha un impatto ambientale minore rispetto alle proteine attualmente utilizzate;
- permettere alle industrie vinicole di implementare un processo di economia circolare nella propria azienda (riutilizzo dei prodotti secondari all'interno dello stesso processo produttivo), con esternalità ambientali quasi nulle dovute alla logistica e alla catena di approvvigionamento;
- previene la contaminazione alimentare, in quanto garantisce che il prodotto vinicolo non sia contaminato da materie prime esogene derivanti da filiere diverse da quella vitivinicola (es. proteine di origine animale e/o proteine di origine vegetale derivate da piselli e patate);
- è in linea con le aspettative delle aziende e dei consumatori, sempre più attenti ai prodotti a minor impatto ambientale.
- risponde alle scelte e/o alle esigenze di consumo della popolazione, con particolare riferimento ai vegani e ai vegetariani (nessuna contaminazione del vino con prodotti di origine animale) e alle persone con intolleranze alimentari (le proteine dell'EPV sono un'alternativa all'uso di altre proteine vegetali, per cui il vino che ne deriva è un prodotto 100% gluten free).
- permette alla filiera del vino di non subire contaminazioni da coadiuvanti di altra origine.

In un contesto globale di crescente preoccupazione per la sicurezza alimentare e la tutela dell'ambiente, rappresenta una sfida la selezione di prodotti alimentari che da una parte hanno un maggiore contenuto proteico ma che dall'altra garantiscono un minore impatto ambientale.


Il progetto LIFE-SEEDSPRO2WINE, propone un'estrazione alternativa e circolare di proteine dai semi d'uva per il processo di vinificazione, e fornisce un contributo significativo per migliorare l'impronta ambientale del processo di vinificazione.

Come già accennato, ad oggi per la fase di chiarificazione del vino le proteine utilizzate provengono da origine animale ad alto impatto ambientale (allevamento zootecnico) o da origine vegetale, ma da materie prime che vengono sottratte al consumo alimentare per essere destinate a processi industriali.

Pertanto, il passaggio dai comuni agenti di chiarificazione a base di proteine animali (come albume d'uovo, gelatina animale e caseinato) o vegetali alle proteine dell'uva da semi può ridurre drasticamente l'impronta ambientale del processo di vinificazione, in quanto utilizza proteine alternative con un grado di lavorazione inferiore e quindi con un'impronta ambientale globale più bassa.

Inoltre dall'introduzione nel settore vitivinicolo della normativa sugli "allergeni" (Reg. UE n. 1266/2010 (dir. 2007/68 / CE)), è cresciuta l'attenzione verso l'utilizzo di proteine alternative a quelle di origine animale tradizionalmente utilizzate per la chiarifica dei vini (proteine dell'uovo e del latte) e, in misura minore, a quelle legate alla chiarifica dei mosti (gelatina suina e colla di pesce). L'autorizzazione all'uso di proteine alternative come l'estratto proteico di patata, di pisello, di lievito, oltre al chitino-glucano e al chitosano, ha avviato un graduale processo di sostituzione anche nelle applicazioni più difficili, in funzione della crescente sensibilità verso sistemi di alimentazione diversi (vegan-friendly).

La transizione dalle proteine animali a quelle vegetali è ancora in corso ed è evidente che il mercato si sta orientando verso soluzioni considerate più "qualitative" (patata e chitosano), con l'accettazione di un prezzo di mercato notevolmente superiore a quello dei prodotti di origine animale (Programme for the Environment and Climate Action (LIFE)2021).

	 SEMESPRO2VINO	Mercato di riferimento	
	1 kg di produzione di proteine dai semi d'uva (EPV)	1 kg di produzione di proteine animali (maiale): gamma	1 kg di proteine vegetali già presenti sul mercato: gamma
GWP	3,8 kg CO2 eq/kg	20-55 kg CO2 eq./kg (mediana: 37 CO2 eq/kg)	4 e 10 kg di CO2 eq/kg (mediana: 7 CO2 eq/kg)
Variazione	-45,71% rispetto alle proteine vegetali (in base al valore mediano) -89,87% rispetto alle proteine animali (in base alla mediana v)		

Prodotto	Dosaggio medio	Critico	Prezzo di mercato
Gelatina di pelle di maiale	10 g/hl	Origine animale Bassa solubilità Odore forte	8-10 €/kg
Albumina d'uovo	20 g/hl	Origine animale Allergene	18-20 €/kg
Isinglass	5 g/hl	Origine animale Bassa solubilità	60-70 €/kg
Caseinato	25 g/hl	Origine animale Allergene	23-26 €/kg
Proteina di pisello	20 g/hl	Bassa efficacia Interferenza organolettica	9-11 €/kg
Proteine della patata	15 g/hl	Bassa efficacia Interferenza organolettica Allergene	38-42 €/kg

Molti studi si sono concentrati sui polifenoli dell'uva ma decisamente meno sugli altri componenti, come le proteine, che stanno acquisendo una grande importanza: potrebbero essere estratte e rivalutate dall'industria alimentare e da quella vitivinicola in particolare per il loro alto valore tecnologico nel modulare caratteristiche qualitative come l'aspetto, il colore e la stabilità dei vini rossi. Il potenziale di mercato è enorme, inoltre, i benefici ambientali generati dal passaggio dalle proteine endogene di origine animale e/o vegetale alle EPV esogene sono significativi.

CONCLUSIONE

Oggi, più che mai, la nostra società chiede dei prodotti alimentari che puntino alla sostenibilità, cercando di ridurre al massimo gli sprechi.

Grazie a questa ricerca si evince come i vinaccioli possano essere inseriti in un contesto di economia circolare.

In passato questi venivano considerati un materiale di scarto, ad oggi invece possiamo affermare che sono una ricca di fonte per il settore enologico e salutistico.

Come si evince nella seguente ricerca i vinaccioli possono subire diverse trasformazioni e destinaizoni. L'olio di vinaccioli essendo ricco di composti fenolici, acidi grassi e vitamine ha preso importanza economica per l'industria farmaceutica, cosmetica e alimentare. L'estrazione di tannini ha permesso di poter reinserire i vinaccioli nel contesto enologico, dove vengono utilizzati come coadiuvanti per diversi scopi, o in quello farmaceutico, poiché è stato dimostrato che l'estratto di semi d'uva, ricco di proantocianidine, apporta benefici contro molte malattie.

REFERENZE

- Adams, D.O. and Harbertson, J.F. (1999) Use of alkaline phosphatase for the analysis of tannins in grapes and red wines. *American Journal of Enology and Viticulture* 50, 247–252.
- Agostini F, Bertussi RA, Agostini G, Atti Dos Santos AC, Rossato M, Vanderlinde R. Supercritical extraction from vinification residues: fatty acids, α -tocopherol, and phenolic compounds in the oil seeds from different varieties of grape. *Scientific World Journal*. 2012;2012:790486.
- Álvarez, I., Aleixandre, J.L., García, M.J., Lizama, V. and Aleixandre-Tudó, J.L. (2009) Effect of the prefermentative addition of copigments on the polyphenolic composition of Tempranillo wines after malolactic fermentation. *European Food Research and Technology* 228, 501–510.
- Álvarez, J.M. (2007) Tanino: la revolución enológica mito o realidad. *Revista Enología* 2, 1–15. and *Wine Research*, 25(4), 439–450.
- Ardente, F.; Beccali, G.; Cellura, M.; Marvuglia, A. A Case Study of an Italian Wine-Producing. *Environ. Manag.* 2006, 38, 350–364. [CrossRef] [PubMed]
- Assumpção CF, Nunes IL, Mendonça TA, et al. Bioactive compounds and stability of organic and conventional *Vitis labrusca* grape seed oils. *J Am Oil Chem Soc.* 2016;93:115–124.
- Australian Certified Organic Standard (2010) Biological Farmers of Australia Ltd. website. http://www.bfa.com.au/Portals/0/ACO_2010_Standard_full.pdf [accessed 02/11/12].
- Bate-Smith, E.C. (1954) Leucoanthocyanins. I. Detection and identification of anthocyanin formed from leucoanthocyanins in plant tissues. *Biochemistry Journal* 58, 122–125.
- Bautista-Ortín, A.B., Martínez-Cutillas, A., Ros-García, J.M., López-Roca, J.M. and Gómez-Plaza, E. (2005) Improving colour extraction and stability in red wines: the use of maceration enzymes and enological tannins. *International Journal of Food Science and Technology* 40, 867–878.
- Baydar NG, Sagdic O, Ozkan G, et al. Determination of antibacterial effects and total phenolic contents of grape (*Vitis vinifera* L.) seed extracts. *Int J Food Sci.* 2006;41(7):799–804.

- Bennick, A. (2002) Interaction of plant polyphenols with salivary proteins. *Critical Reviews in Oral Biology and Medicine* 13, 184–196
- Benucci, I., Esti, M., & Liburdi, K. (2014). Effect of free and immobilised stem bromelain on protein haze in white wine. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 20(3), 347–352.
- Berta Baca-Bocanegra, Julio Nogales-Bueno, José Miguel Hernández-Hierro and Francisco José Heredia, Optimization of Protein Extraction of Oenological Interest from Grape Seed Meal Using Design of Experiments and Response Surface Methodology
- Bevilacqua, N.; Morassut, M.; Serra, M.C.; Cecchini, F. Determinazione dell'impronta carbonica dei sottoprodotti della vinificazione e loro valenza biologica. *Ingegneria dell'Ambiente* 2017, 4, 277–285. [CrossRef]
- Brossaud, F., Cheynier, V. and Noble, A.C. (2001) Bitterness and astringency of grape and wine polyphenols. *Australian Journal of Grape and Wine Research* 7, 33–39.
- Butler, L.G., Riedl, D.G., Lebryk, D.G. and Blytt, H.J. (1984) Interaction of proteins with sorghum tannin: mechanism, specificity and significance. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 61, 916–920.
- Callemien, D. and Collin, S. (2009) Structure, organoleptic properties, quantification methods, and stability of phenolic compounds in beer – a review. *Food Reviews International* 26, 1–84.
- Chagas, R., Laia, C. A., Ferreira, R. B., & Ferreira, L. M. (2018). Sulfur dioxide induced aggregation of wine thaumatin-like proteins: Role of disulfide bonds. *Food Chemistry*, 259, 166–174.
- Chatonnet, P., Dubourdieu, D. and Boidron, J.N. (1998) Comparative study of the characteristics of American white oak (*Quercus alba*) and European oak (*Quercus petraea* and *Q. robur*) for production of barrels used in barrel aging of wines. *American Journal of Enology and Viticulture* 49, 79–85.
- Cheah KY, Howarth GS, Bindon KA, Kennedy JA, Bastian SE. Low molecular weight procyanidins from grape seeds enhance the impact of 5-Fluorouracil chemotherapy on Caco-2 human colon cancer cells. *PLoS One*. 2014;9(6):e98921.
- Cheynier, V., Dueñas-Paton, M., Salas, E., Maury, C., Souquet, J.-M., Sarni- Manchado, P. and Fulcrand, H. (2006) Structure and properties of wine pigments and tannins. *American Journal of Enology and Viticulture* 57, 298–305.
- Cheynier, V., Dueñas-Paton, M., Salas, E., Maury, C., Souquet, J.-M., Sarni- Manchado, P. and Fulcrand, H. (2006) Structure and properties of wine pigments and tannins. *American Journal of Enology and Viticulture* 57, 298–305.
- Cheynier, V., Dueñas-Paton, M., Salas, E., Maury, C., Souquet, J.-M., Sarni- Manchado, P. and Fulcrand, H. (2006) Structure and properties of wine pigments and tannins. *American Journal of Enology and Viticulture* 57, 298–305.
- Circular-based alternative protein extraction from grape seeds for wine-making process - LIFE-SEEDSPRO2WINE
- Colangelo, D., Torchio, F., De Faveri, D. M., & Lambri, M. (2018). The use of chitosan as alternative to bentonite for wine fining: Effects on heat-stability, proteins, organic acids, colour, and volatile compounds in an aromatic white wine. *Food Chemistry*, 264, 301–309.

Colangelo, D., Torchio, F., Rolle, L., Gerbi, V., De Faveri, D. M., & Lambri, M. (2019). Modelling by Response Surface Methodology of the clarifying process of Muscat blanc must for the production of a sweet sparkling wine. *American Journal of Enology and Viticulture*, 70(1), 42–49.

Chandra, H.M.; Ramalingam, S. Antioxidant potential of skin, pulp, and seed fractions of commercially

important tomato cultivars. *Food Sci. Biotechnol.* 2011, 20, 15–21. [CrossRef]

de Freitas, V., Carvalho, E. and Mateus, N. (2003) Study of carbohydrate influence on protein-tannin aggregation by nephelometry. *Food Chemis-* try 81, 503–509.

Díaz-Plaza, E.M., Ramonä Reyerö, J., Pardo, F., Alonso, G.L. and Salinas, M.R. (2002) Influence of oak wood on the aromatic composition and quality of wines with different tannin contents. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50, 2622–2626.

Dordoni, R., Colangelo, D., Giribaldi, M., Giuffrida, G., De Faveri, D. M., & Lambri, M.

Dordoni, R., Galasi, R., Colangelo, D., De Faveri, D. M., & Lambri, M. (2015). Effects of fining with different bentonite labels and doses on colloidal stability and colour of a Valpolicella red wine. *International Journal of Food Science and Technology*, 50(10), 2246–2254.

Duba KS, Fiori L. Supercritical CO extraction of grape seed oil: effect of process parameters on the extraction kinetics. *J Supercrit Fluids.* 2015;98:33–43.

Dufrechou, M., Poncet-Legrand, C., Sauvage, F. X., & Vernhet, A. (2012). Stability of white wine proteins: Combined effect of pH, ionic strength, and temperature on their aggregation. *Journal of agricultural and food chemistry*, 60(5), 1308–1319.

Dupin, I. V., McKinnon, B. M., Ryan, C., Boulay, M., Markides, A. J., Jones, G. P., ... Waters, E. J. (2000). Saccharomyces cerevisiae mannoproteins that protect wine from protein haze: Their release during fermentation and lees contact and a proposal for their mechanism of action. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(8), 3098–3105.

Engelbrecht AM, Mattheyse M, Ellis B, et al. Proanthocyanidin from grape seeds inactivates the PI3 kinase/PKB pathway and induces apoptosis in a colon cancer cell line. *Cancer Lett.* 2007;258(1):144–153.

enology/EN/128.html

Esteruelas, M., Kontoudakis, N., Gil, M., Fort, M. F., Canals, J. M., & Zamora, F. (2011). Phenolic compounds present in natural haze protein of Sauvignon white wine. *Food Research International*, 44(1), 77–83.

European Cider & Fruit Wine Association - European Cider Trends 2020

European Commission (2009) Commission Regulation (EC) No 606/2009 of 10 July 2009 laying down certain detailed rules for implementing Council Regulation (EC) No 479/2008 as regards the categories of grapevine products, oenological practices and the applicable restrictions. *Official Journal of the European Union L 193*, 24 July 2009, 1–59.

European Commission (2012) Commission Implementing Regulation (EU) No 203/2012 of 8 March 2012 amending Regulation (EC) No 889/2008 laying down detailed rules for the implementation of Council Regulation (EC) No 834/2007, as regards detailed rules on organic wine. *Official Journal of the European Union L 71*, 9 March 2012, 42–47.

Falconer, R. J., Marangon, M., Van Sluyter, S. C., Neilson, K. A., Chan, C., & Waters, E. J. (2010). Thermal stability of thaumatin-like protein, chitinase, and invertase isolated from Sauvignon blanc and Semillon juice and their role in haze formation in wine. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 58(2), 975–980.

Falconer, R. J., Marangon, M., Van Sluyter, S. C., Neilson, K. A., Chan, C., & Waters, E. J. (2010). Thermal stability of thaumatin-like protein, chitinase, and invertase isolated from Sauvignon blanc and Semillon juice and their role in haze formation in wine. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 58(2), 975–980.

Fernandes L, Casal S, Cruz R, et al. Seed oils of ten traditional Portuguese grape varieties with interesting chemical and antioxidant properties. *Food Res Intern*. 2013;50(1):161–166.

Folin, O. and Ciocalteu, V. (1927) On tyrosine and tryptophane determination in protein. *The Journal of Biological Chemistry* 73, 424–427.

Franz, A., Rehner, R., Kienle, A., Grammel, H., 2012. Rapid selection of glucose-utilizing variants of the polyhydroxyalkanoate producer *Ralstonia eutropha* H16 by incubation with high substrate levels. *Lett. Appl. Microbiol.* 54, 45–51.

Frazier, R.A., Deaville, E.R., Green, R.J., Stringano, E., Willoughby, I., Plant, J. and Mueller-Harvey, I. (2010) Interactions of tea tannins and condensed tannins with proteins. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 51, 490–495.

Freedman JE, Parker C III, Li L, et al. Select flavonoids and whole juice from purple grapes inhibit platelet function and enhance nitric oxide release. *Circulation*. 2001;103(23):2792–2798.

Fulcrand, H., Dueñas, M., Salas, E. and Cheynier, V. (2006) Phenolic reactions during winemaking and aging. *American Journal of Enology and Viticulture* 57, 289–297.

Galpin, V.C. (2006) A comparison of legislation about winemaking: additives and processes. Thesis Cape Wine Master Diploma, Cape Wine academy.

Gawel, R. (1998) Red wine astringency: a review. *Australian Journal of*

Gawel, R. (1998) Red wine astringency: a review. *Australian Journal of Grape and Wine Research* 4, 73–95.

Gawel, R., Schulkin, A., Smith, P., Kassara, S., Francis, L., Herderich, M., & Johnson, D. (2018). Influence of wine polysaccharides on white and red wine mouthfeel. *Wine & Viticulture Journal*, 33(1), 34.

Gazzola, D., Van Sluyter, S. C., Curioni, A., Waters, E. J., & Marangon, M. (2012). Roles of proteins, polysaccharides, and phenolics in haze formation in white wine via re-constitution experiments. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(42), 10666–10673.

Glabasnia, A. and Hofmann, T. (2006) Sensory-directed identification of

Glabasnia, A. and Hofmann, T. (2007) Identification and sensory evaluation of dehydro- and deoxyellagitannins formed upon toasting of oak wood (*Quercus alba* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55, 4109– 4118.

Grape and Wine Research 4, 73–95.

Hagerman, A. E., & Butler, L. G. (1978). Protein precipitation method for the quantitative determination of tannins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 26(4), 809–812.

Hagerman, A.E. (1989) Chemistry of tannin-protein complexation. In: Chemistry and significance of condensed tannins. Eds. R.W. Hemingway and J.J. Karchesy (Plenum Press: New York, London) pp. 323–333.

Hagerman, A.E. (2002) Tannin chemistry. <http://www.users.muohio.edu/hagermae>

Hagerman, A.E. and Butler, L.G. (1978) Protein precipitation method for the quantitative determination of tannins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 26, 809–812.

Hagerman, A.E., Rice, M.E. and Ritchard, N.T. (1998) Mechanisms of protein for two tannins, pentagalloyl glucose and epicatechin-6-O-gallate (4→8) catechin (procyanidin). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 46, 2590–2595.

Harbertson, J.F., Kennedy, J.A. and Adams, D.O. (2002) Tannin in skins and seeds of Cabernet Sauvignon, Syrah, and Pinot Noir berries during ripening. *American Journal of Enology and Viticulture* 53, 54–59.

Harbertson, J.F., Parpinello, G.P., Heymann, H. and Downey, M.O. (2012) Impact of exogenous tannin additions on wine chemistry and wine sensory character. *Food Chemistry* 131, 999–1008.

Haslam, E. (1996) Natural polyphenols (vegetable tannins) as drugs: possible modes of action. *Journal of Natural Products* 59, 205–215.

Haslam, E. (1998) Practical polyphenolics – from structure to molecular recognition and physiological action (Cambridge University Press: Cambridge, UK).

Hernández-Jiménez A, Gómez-Plaza E, Martínez-Cutillas A, Kennedy JA. Grape skin and seed proanthocyanidins from Monastrell x Syrah grapes. *J Agric Food Chem.* 2009;57(22):10798–10803.

Hofmann, T., Glabasnia, A., Schwarz, B., Wisman, K.N., Gangwer, K.A. and Hagerman, A.E. (2006) Protein binding and astringent taste of a polymeric procyanidin, 1,2,3,4,6-penta-O-galloyl- α -D-glucopyranose, castalagin, and grandinin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54, 9503–9509.

Hofmann, T., Glabasnia, A., Schwarz, B., Wisman, K.N., Gangwer, K.A. and Hagerman, A.E. (2006) Protein binding and astringent taste of a polymeric procyanidin, 1,2,3,4,6-penta-O-galloyl- α -D-glucopyranose, castalagin, and grandinin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54, 9503–9509.

Hofmann, T., Glabasnia, A., Schwarz, B., Wisman, K.N., Gangwer, K.A. and Hagerman, A.E. (2006) Protein binding and astringent taste of a polymeric procyanidin, 1,2,3,4,6-penta-O-galloyl- α -D-glucopyranose, castalagin, and grandinin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54, 9503–9509.

Huang S, Yang N, Liu Y, et al. Grape seed proanthocyanidins inhibit colon cancer-induced angiogenesis through suppressing the expression of VEGF and Ang1. *Int J Mol Med.* 2012;30(6):1410–1416.

Hufnagel, J.C. and Hofmann, T. (2008) Orosensory directed identification of astringent mouthfeel and bitter-tasting compounds in red wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56, 1376–1386.

I.Marova, R. Pavelkova, V. Kundrat, P. Matouskova, A. Kovalcik and J. Bokrova, J. *Biotechnol.*, 2019, 305, S5.

interactions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44(1), 80–85.

ISO (International Organization for Standardization). ISO 14040: Environmental Management—Life Cycle

Assessment—Principles and Framework; EN ISO 14040; International Organization for Standardization: Geneva, Switzerland, 2006.

J. Poole, Packaging trends, <http://www.packaginginsights.com>.

Jensen, J.S., Malmborg Werge, H.H., Egebo, M. and Meyer, S.S. (2008b) Effect of wine dilution on the reliability of tannin analysis by protein precipitation. *American Journal of Enology and Viticulture* 59, 103–105.

Jones, P. (2005). Preventing protein haze in bottled white wine. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 11(2), 215–225. (2015). Effect of bentonite characteristics on wine proteins, polyphenols, and metals under different pH conditions. *American Journal of Enology and Viticulture*, 66(4), 518–530.

Jordão, A.M., Ricardo-da-Silva, J.M. and Laureano, O. (2005) Extraction of some ellagic tannins and ellagic acid from oak wood chips (*Quercus pyrenaica* L.) in model wine solutions: effect of time, pH, temperature and alcoholic content. *South African Journal of Enology and Viticulture* 26, 83–89.

Kennedy, J.A. and Jones, G.P. (2001) Analysis of proanthocyanidin cleavage products following acid-catalysis in the presence of excess phloroglucinol. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49, 1740–1746.

Kennedy, J.A., Ferrier, J., Harbertson, J.F. and Gachons, C. (2006) Analysis of tannins in red wine using multiple methods: correlation with perceived astringency. *American Journal of Enology and Viticulture* 57, 481–485.

Khurana S, Venkataraman K, Hollingsworth A, Piche M, Tai TC. Polyphenols: benefits to the cardiovascular system in health and in aging. *Nutrients*. 2013; 5(10):3779–3827.

Koller, M., 2017. Advances in polyhydroxyalkanoate (PHA) production. *Bioengineering* 4 (4).

Koller, M., 2018. A review on established and emerging fermentation schemes for microbial production of Polyhydroxyalkanoate (PHA) biopolyesters. *Fermentation* 4, 30.

Koller, M., Marsalek, L., Miranda de Sousa Dias, M., Braunegg, G., 2017. Producing microbial polyhydroxyalkanoate (PHA) biopolyesters in a sustainable manner. *New Biotechnol.* 37, 24–38.

Kovalcik, A., Obruca, S., Fritz, I., Marova, I., 2019. Polyhydroxyalkanoates: their importance and future. *BioResources* 14, 2468–2471.

Kucera, D., Pernicova, I., Kovalcik, A., Koller, M., Mullerova, L., Sedlacek, P., Mravec, F., Nebesarova, J., Kalina, M., Marova, I., Krzyzanek, V., Obruca, S., 2018. Characterization of the promising poly(3-hydroxybutyrate) producing halophilic bacterium *Halomonas halophila*. *Bioresour. Technol.* 256, 552–556.

Lachman J, Hejtmánková A, Taborsky J, et al. Evaluation of oil content and fatty acid composition in the seed of grapevine varieties. *Food Sci Technol.* 2015;63:620–625.

Laghi, L., Parpinello, G.P., Del Rio, D., Calani, L., Mattioli, A.U. and Versari, A. (2010) Fingerprint of enological tannins by multiple techniques approach. *Food Chemistry* 121, 783–788.

Lambri, M., Dordoni, R., Silva, A., & De Faveri, D. M. (2013). Odor-active compound adsorption onto bentonite in a model white wine solution. *Chemical Engineering Transactions*, 32, 1741–1746.

Lee, C.B. and Lawless, H.T. (1991) Time-course of astringent sensations. *Chemical Senses* 16, 225–238.

Li AN, Li S, Zhang YJ, Xu XR, Chen YM, Li HB. Resources and biological activities of natural polyphenols. *Nutrients*. 2014;6(12):6020–6047.

Luo, R., Chen, J., Zhang, L., Chen, G., 2006. Polyhydroxyalkanoate copolyesters produced by *Ralstonia eutropha* PHB-4 harboring a low-substrate-specificity PHA synthase PhaC2Ps from *Pseudomonas stutzeri* 1317. *Biochem. Eng. J.* 32, 218–225.

Lutterodt H, Slavin M, Whent M, Turner E, Yu LL. Fatty acid composition, oxidative stability, antioxidant and antiproliferative properties of selected cold- pressed grape seed oils and flours. *Food Chem.* 2011;128(2):391–399.

M. Koller, A. Salerno and G. Braunegg, in *Bio-based plastics: materials and applications*, ed. S. Kabasci, John Wiley & Sons, 2013, pp. 137–169.

M. Koller, *Molecules*, 2018, 23, 362.

M. Wada, H. Kido, K. Ohyama, T. Ichibangase, N. Kishikawa, Y. Ohba, M. N. Nakashima, N. Kuroda and K. Nakashima, *Food Chem.*, 2007, 101, 980–986.

Maier T, Schieder A, Kammerer DR, et al. Residues of grape (*Vitis vinifera* L.) seed oil production as a valuable source of phenolic antioxidants. *Food Chem.* 2009;112:551–559.

Majewski, P., Barbalet, A., & Waters, E. J. (2011). \$1 billion hidden cost of bentonite fining. *Australian and New Zealand Grapegrower and Winemaker*, 569, 58–62.

Makkar, H.P.S. (1989) Protein precipitation methods for quantitation of tannins: a review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 37, 1197– 1202.

Marangon, M., Vincenzi, S., Lucchetta, M., & Curioni, A. (2010). Heating and reduction affect the reaction with tannins of wine protein fractions differing in hydrophobicity. *Analytica Chimica Acta*, 660(1–2), 110–118.

Mazza, G.; Miniati, E. *Grapes*. In *Anthocyanins in Fruits, Vegetables and Grains*; CRC Press: Boca Raton, FL, USA; Ann Harbor, MI, USA; London, UK; Tokyo, Japan, 1993; pp. 149–199.

McManus, J.P., Davis, K.D., Beart, J.E., Gaffney, S.H., Lilley, T.H. and Haslam, E. (1985) Polyphenol interactions. Part 1. Introduction: some observations on the reversible complexation of polyphenols with proteins and polysaccharides. *Journal of the Chemical Society Perkin Transactions II* 9, 1429–1438.

McMurrough, I. and McDowell, J. (1978) Chromatographic separation and automated analysis of flavanols. *Analytical Biochemistry* 91, 92–100.

McRae, J.M. and Kennedy, J.A. (2011) Wine and grape tannin interactions with salivary proteins and their impact on astringency: a review of current research. *Molecules* 16, 2348–2364.

Mitropoulou, A., Hatzidimitriou, E. and Paraskevopoulou, A. (2011) Aroma release of a model wine solution as influenced by the presence of non- volatile components. Effect of commercial tannin extracts, polysaccharides and artificial saliva. *Food Research International* 44, 1561–1570.

Mitsunaga, T., Doi, T., Kondo, Y. and Abe, I. (1998) Color development of proanthocyanidins in vanillin-hydrochloric acid reaction. *Journal of Wood Science* 44, 125–130.

Mulkay, P., & Jerumanis, J. (1983). Influence of the molecular weight and the hydroxyl groups in proanthocyanidins on the colloidal stability of beer [chill haze; alcohol chill method of Chapon and EBC method; classification of proanthocyanidins]. *Cerevisia*.

Navas PB. Chemical composition of the virgin oil obtained by mechanical pressing from several grape seed varieties (*Vitis vinifera* L.) with emphasis on minor constituents. *Arch Latinoam Nutr.* 2009;59(2):214–219.

Novello, V. Filiera vitivinicola: Valorizzare residui e sottoprodotti. *Informatore Agrario* 2015, 33, 61–63.

Obradovic, D., Schulz, M. and Oatey, M. (2005) Addition of natural grape tannins to enhance the quality of red wine. *The Australian & New Zealand Grapegrower & Winemaker* 2, 52–54.

Obreque-Slíer, E., Peña-Neira, Á. and López-Solís, R. (2012) Interactions of enological tannins with the protein fraction of saliva and astringency perception are affected by pH. *LWT – Food Science and Technology* 45, 88–93.

Obruca, S., Petrik, S., Benesova, P., Svoboda, Z., Eremka, L., Marova, I., 2014. Utilization of oil extracted from spent coffee grounds for sustainable production of polyhydroxyalkanoates. *Appl. Microbiol. Biot.* 98, 5883–5890.

Obruca, S., Sedlacek, P., Koller, M., Kucera, D., Pernicova, I., 2018. Involvement of polyhydroxyalkanoates in stress resistance of microbial cells: biotechnological consequences and applications. *Biotechnol. Adv.* 36, 856–870.

Oh, H. I., Hoff, J. E., Armstrong, G. S., & Haff, L. A. (1980). Hydrophobic interaction in tannin-protein complexes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 28(2), 394–398.

Olas B, Wachowicz B, Stochmal A, Oleszek W. The polyphenol-rich extract from grape seeds inhibits platelet signaling pathways triggered by both proteolytic and non-proteolytic agonists. *Platelets.* 2012;23(4):282–289.

Organisation Internationale de la Vigne et du Vin (2009) International oenological codex oenological tannins COEI-1-tannins, INS N°: 181, 1–25 (Organisation Internationale de La Vigne et du Vin: Paris, France).

Organisation Internationale de la Vigne et du Vin (2012) International code of oenological practices, part II.3.2–1, 3. Wines, 3.2 clarification of wine (OIV: Paris, France).

Parry J, Hao Z, Luther M, et al. Characterization of cold-pressed onion, parsley, cardamom, mullein, roasted pumpkin, and milk thistle seed oils. *J Am Oil Chem Soc.* 2006;83:847–854.

Pastrana-Bonilla, E.; Akoh, C.C.; Sellappan, S.; Krewer, G. Phenolic content and antioxidant capacity of muscadine grapes. *J. Agric. Food Chem.* 2003, 5, 5497–5503. [CrossRef] [PubMed]

Peleg, H., Gacon, K., Schlich, P. and Noble, A.C. (1999) Bitterness and astringency of flavan-3-ol monomers, dimers and trimers. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 79, 1123–1128.

Petti, L.; Ardente, F.; Bosco, S.; De Camillis, C.; Masotti, P.; Pattara, C.; Raggi, A.; Tasselli, G. Stato dell'arte della Life Cycle Assessment (LCA) nel comparto vitivinicolo. In *La Metodologia LCA: Approccio Proattivo per le Tecnologie Ambientali. Casi Studio ed Esperienze Applicative*; Cappellaro, F., Scalbi, S., Eds.; Atti Convegno Scientifico della Rete Italiana LCA: Padova, Italy, 22 April 2010; pp. 221–228, ISBN 978-88-8286-226-8.

Poncet-Legrand, C., Gautier, C., Cheynier, V. and Imberty, A. (2007) Interactions between flavan-3-ols and poly(L-proline) studied by Isothermal Titration Calorimetry: effect of the tannin structure. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55, 9235–9240.

Poncet-Legrand, C.A., Edelman, J.-L., Putaux, D., Cartalade, D., Sarni-Manchado, P. and Vernhet, A. (2003) Poly(L-proline) interactions with flavan-3-ols units: influence of the molecular structure and the polyphenol/protein ratio. *Food Hydrocolloids* 20, 687–697.

prevention. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63(16), 4020–4030.

Prieur, C., Rigaud, J., Cheynier, V. and Moutounet, M. (1994) Oligomeric and polymeric procyanidins from grape seeds. *Phytochemistry* 36, 781–784.

Puech, J.-L., Feuillat, F. and Mosedale, J.R. (1999) The tannins of oak heartwood: structure, properties, and their influence on wine flavor. *American Journal of Enology and Viticulture* 50, 469–478.

Puech, J.-L., Feuillat, F. and Mosedale, J.R. (1999) The tannins of oak heartwood: structure, properties, and their influence on wine flavor. *American Journal of Enology and Viticulture* 50, 469–478.

Puech, J.-L., Prida, A. and Isz, S. (2007) Quality assessment of oenological tannins utilising global selectivity chemical sensors array ('electronic tongue'). *South African Journal of Enology and Viticulture* 28, 101–106.

Quideau, S., Jourdes, M., Lefeuvre, D., Montaudon, D., Saucier, C., Glories, Y., Pardon, P. and Pourquier, P. (2005) The chemistry of wine polyphenolic C-glycosidic ellagitannins targeting human topoisomerase II. *Chemistry a European Journal* 11, 6503–6513.

Ratnayake, S., Stockdale, V., Grafton, S., Munro, P., Robinson, A. L., Pearson, W., ... Bacic, A. (2019). Carrageenans as heat stabilisers of white wine. *Australian Journal of Grape*

Remy, S., Fulcrand, H., Labarbe, B., Cheynier, V. and Moutounet, M. (2000) First confirmation in red wine of products resulting from direct anthocyanin–tannin reactions. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 80, 745–751.

Rinaldi, A., Gambuti, A., Moine-Ledoux, V. and Moio, L. (2010) Evaluation of the astringency of commercial tannins by means of the SDS–PAGE- based method. *Food Chemistry* 122, 951–956.

Rodrigues, A., Ricardo-Da-Silva, J. M., Lucas, C., & Laureano, O. (2012). Influence of fining and tartaric stabilisation procedures on white wine mannoprotein content. *South African Journal of Enology and Viticulture*, 33(1), 88–94.

Romanini, E., McRae, J. M., Colangelo, D., & Lambri, M. (2020). First trials to assess the feasibility of grape seed powder (GSP) as a novel and sustainable bentonite alternative. *Food Chemistry*, 305, Article 125484.

Rombaut N, Savoie R, Thomasset B, et al. Grape seed oil extraction: interest of supercritical fluid extraction and gas-assisted mechanical extraction for enhancing polyphenol co-extraction in oil. *Comptes Rendus Chimie*. 2014;17:284–292.

Rombaut N, Savoie R, Thomasset B, et al. Optimization of oil yield and oil total phenolic content during grape seed cold screw pressing. *Ind Crops Prod*. 2015;63:26–33.

Ruggieri, L.; Cadena, E.; Martínez-Blanco, J.; Gasol, C.M.; Rieradevall, J.; Gabarrell, X.; Gea, T.; Sort, X.; Sánchez, A. Recovery of organic wastes in the Spanish wine industry. Technical, economic and environmental analyses of the composting process. *J. Clean. Prod*. 2009, 17, 830–838. [CrossRef]

Rotava R, Zanella I, da Silva LP, et al. Antibacterial, antioxidant and tanning activity of grape by product. *Cienc Rural*. 2009;39(3):941–944

S. Vincenzi, C. Dinnella, A. Recchia, E. Monteleone, D. Gazzola, G. Pasini, A. Curioni Grape seed proteins: a new fining agent for astringency reduction in red wine.

Salagoity-Auguste, M.-H., Tricard, C., Marsal, F. and Sudraud, P. (1986) Preliminary investigation for the differentiation of enological tannins according to botanical origin: determination of gallic acid and its derivatives. *American Journal of Enology and Viticulture* 37, 301–303.

Salas, E., Fulcrand, H., Mendes, E. and Cheynier, V. (2003) Reactions of anthocyanins and tannins in model solutions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51, 7951–7961.

Salehizadeh, H., Van Loosdrecht, M.C.M., 2004. Production of polyhydroxyalkanoates by mixed culture: recent trends and biotechnological importance. *Biotechnology Adv.* 22, 261–279.

Sano A, Uchida R, Saito M, et al. Beneficial effects of grape seed extract on malondialdehyde-modified LDL. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)*. 2007;53(2):174–182. against oxidative damage. *Eur J Nutr*. 2006;45(5):251–258.

Santangelo C, Vari R, Scazzocchio B, Di Benedetto R, Filesi C, Masella R. Poly-phenols, intracellular signalling and inflammation. *Ann Ist Super Sanita*. 2007;43(4):394–405.

Santos-Buelga, C. and Scalbert, A. (2000) Proanthocyanidins and tannin like compounds - nature, occurrence, dietary intake and effects on nutrition and health. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 80, 1094–1117.

Saucier, C., Mirabel, M., Daviaud, F., Longieras, A. and Glories, Y. (2001) Rapid fractionation of grape seed proanthocyanidins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49, 5732–5735.

Scalbert, A. (1992) Quantitative methods for the estimation of tannins in plant tissues. In: *Polyphenols*. Ed. R.W. Hemingway (Plenum Press: New York) pp. 259–280.

Schofield, P., Mbugua, D.M. and Pell, A.N. (2001) Analysis of condensed tannins: a review. *Animal Feed science and Technology* 91, 21–40.

Serrano, J., Puupponen-Pimi, R., Dauer, A., Aura, A.-M. and Saura-Calixto, F. (2009) Tannins: current knowledge of food sources, intake, bioavailability and biological effects. *Molecular Nutrition and Food Research* 53, S310–S329.

Shi, J., Yu, J., Pohorly, J. E., & Kakuda, Y. (2003). Polyphenolics in grape seeds—biochemistry and functionality. *Journal of Medicinal Food*, 6(4), 291–299.

Shinagawa FB, Santana FC, Mancini-Filho J. Effect of cold pressed grape seed oil on rats biochemical markers and inflammatory profile. *Rev Nutr*. 2015; 28(1):65–76.

Shinagawa FB, Santana FC, Torres LRO, et al. Grape seed oil: a potential functional food? *Food Sci Technol (Campinas)*. 2015;35(3):399–406.

Siebert, K. J., Troukhanova, N. V., & Lynn, P. Y. (1996). Nature of polyphenol–protein

Siebert, K.J. (2006) Haze formation in beverages. *LWT – Food Science and Technology* 39, 987–994.

Singleton, V.L., Orthofer, R. and Lamuela-Raventós, R.M. (1999) Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology* 299, 152–178.

Soares, S., Mateus, N. and de Freitas, F. (2007) Interaction of different polyphenols with bovine serum albumin (BSA) and human salivary α -amylase (HSA) by fluorescence quenching. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55, 6727–6735.

Somers, T.C. (1971) The polymeric nature of wine pigments. *Phytochemistry* 10, 2175–2186.

Soobrattee MA, Neergheen VS, Luximon-Ramma A, Aruoma OI, Bahorun T. Phenolics as potential antioxidant therapeutic agents: mechanism and actions. *Mutat Res.* 2005;579(1–2):200–213.

Souquet, J.M., Cheynier, V., Brossaud, F. and Moutounet, M. (1996) Poly-meric proanthocyanidins from grape skins. *Phytochemistry* 43, 509–512.

taste-active ellagitannins in American (*Quercus alba* L.) and European oak wood (*Quercus robur* L.) and quantitative analysis in Bourbon whiskey and oak-matured red wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54, 3380–3390.

Thorngate, J.H. and Singleton, V.L. (1994) Reactions of monomeric and polymeric flavan-3-ols with monomeric pigment in model wine solutions. *American Journal of Enology and Viticulture* 45, 349–352.

Timberlake, C.F. and Bridle, P. (1976) Interactions between anthocyanins, phenolic compounds, and acetaldehyde and their significance in red wines. *American Journal of Enology and Viticulture* 27, 97–105.

Università di Padova, Biofuel Tesaf, 2020.

UNFCCC. Kyoto Protocol to the United Nations Framework Convention on Climate Change Adopted at COP3 in Kyoto, Japan, on 11 December 1997. Available online: <http://unfccc.int/resource/docs/cop3/07a01.pdf> (accessed on 27 July 2018).

Van Sluyter, S. C., McRae, J. M., Falconer, R. J., Smith, P. A., Bacic, A., Waters, E. J., & Marangon, M. (2015). Wine protein haze: Mechanisms of formation and advances in

Vázquez, G., Fontenla, E., Santos, J., Freire, M.S., González-Álvarez, J. and Antorrena, G. (2008) Antioxidant activity and phenolic content of chestnut (*Castanea sativa*) shell and eucalyptus (*Eucalyptus globulus*) bark extracts. *Industrial Crops and Products* 28, 279–285.

Vernhet, A., Pellerin, P., Belleville, M. P., Planque, J., & Moutounet, M. (1999). Relative impact of major wine polysaccharides on the performances of an organic micro-filtration membrane. *American Journal of Enology and Viticulture*, 50(1), 51–56.

Vernhet, A., Pellerin, P., Prieur, C., Osmianski, J. and Moutounet, M. (1996) Charge properties of some grape and wine polysaccharide and polyphenolic fractions. *American Journal of Enology and Viticulture* 47, 25–30.

Vidal, S., Francis, L., Guyot, S., Marnet, N., Kwiatkowski, M., Gawel, R., Cheynier, V. and Waters, E.J. (2003) The mouth-feel properties of grape and apple proanthocyanidins in a wine-like medium. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 83, 564–573.

Vivancos M, Moreno JJ. Effect of resveratrol, tyrosol and beta-sitosterol on oxidised low-density lipoprotein-stimulated oxidative stress, arachidonic acid release and prostaglandin E2 synthesis by RAW 264.7 macrophages. *Br J Nutr.* 2008;99(6):1199–1207.

Vivas, N. and Glories, Y. (1996) Role of oak wood ellagitannins in the oxidation process of red wines during ageing. *American Journal of Enology and Viticulture* 47, 103–107.

Vivas, N., Nonier, M.F. and Vivas De Gaulejac, N. (2004) Structural characterization and analytical differentiation of grape seeds, skins, stems and Quebracho tannins. *Bulletin de O.I.V.* 77, 643–659.

Vivas, N., Vivas De Gaulejac, N. and Nonier, M.F. (2002) Mise au point sur les tanins oenologiques et bases d'une nouvelle définition qualitative. Setting up enological tannins and bases for a new qualitative definition. *Bulletin de O.I.V.* 853–854, 175–185.

- Vivas, N., Vivas De Gaulejac, N. and Nonier, M.F. (2002) Mise au point sur les tanins oenologiques et bases d'une nouvelle définition qualitative. Setting up enological tannins and bases for a new qualitative definition. *Bulletin de O.I.V.* 853–854, 175–185.
- Volodina, E., Raberg, M., Steinbüchel, A., 2016. Engineering the heterotrophic carbon sources utilization range of *Ralstonia eutropha* H16 for applications in biotechnology. *Crit. Rev. Biotechnol.* 36, 978–991.
- Volova, T., Demidenko, A., Kiselev, E., Baranovskiy, S., Shishatskaya, E., Zhila, N., 2019. Polyhydroxyalkanoate synthesis based on glycerol and implementation of the process under conditions of pilot production. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 103, 225–237.
- W. Ker, Y. K. Sen and S. D. Rajendran, *E3S Web Conf.*, 2019, 136(4), 04092.
- Waterman, P.G. and Mole, S. (1994) *Analysis of phenolic plant metabolites* (Blackwell: Oxford).
- Waters, E. J., Alexander, G., Muhlack, R., Pocock, K. F., Colby, C., O'neill, B. K., Høj, P. B., Wilson, T.C. and Hagerman, A.E. (1990) Quantitative determination of ellagic acid. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 38, 1678–1683.
- Xia EQ, Deng GF, Guo YJ, Li HB. Biological activities of polyphenols from grapes. *Int J Mol Sci.* 2010;11(2):622–646.
- Zoecklein, B. (2007) *Enology notes #128*. <http://www.fst.vt.edu/extension/>