

Productes de rebuig de la vinya:

Una atractiva font de fungicides ecològics contra els majors patògens fúngics de *Vitis vinifera*

1) INTRODUCCIÓ

Productes de rebuig de la vinya → Antifúngics ecològics

- Des de sempre, les malalties fúngiques han afectat seriosament les vinyes. Per això es requereix de la utilització d'efectius antifúngics, com el coure i altres productes sintètics com el Tebucanazole o el Cyprodinil.
- Estudis han detectat residus d'aquests fungicides en el raïm → se sap que poden causar efectes perjudicials per la salut humana i arribar a ser cancerígens, més fins i tot que pesticides.
- La contaminació dels sòls de les vinyes per coure comença a ser alarmant segons la UE.



Sarments
de la poda



Brisa o "Grape pomace"
(formada per pells, llavors i polpa)

- Grans quantitats de productes de rebuig de la viticultura són generats. Es sap que els extractes de *Vitis vinifera* amaguen compostos fenòlics amb valuoses qualitats antioxidants i antimicrobianes.
- Objectiu:** Valorar si la idea d'una obtenció de productes antifúngics amb els propis productes de rebuig seria possible. Avaluar les activitats antifúngiques d'aquests extractes i les seves composicions fenòliques!

2) FONGS AMB MAJOR INFLUÈNCIA A LA VINYA

Míldiu: Taques grogues a les fulles i borrisol blanquinós al revers. Espores infecten pels estomes.

Plasmopara viticola



Oïdi: Decoloració de la fulla i acúmulo de polsim cendrós.

Erysiphe necator



Pudrició gris: Afectació en grans del raïm. Taques vermelloses als límits de les fulles. Presenta una gran activitat polifenoloxidasa

Botrytis cinerea

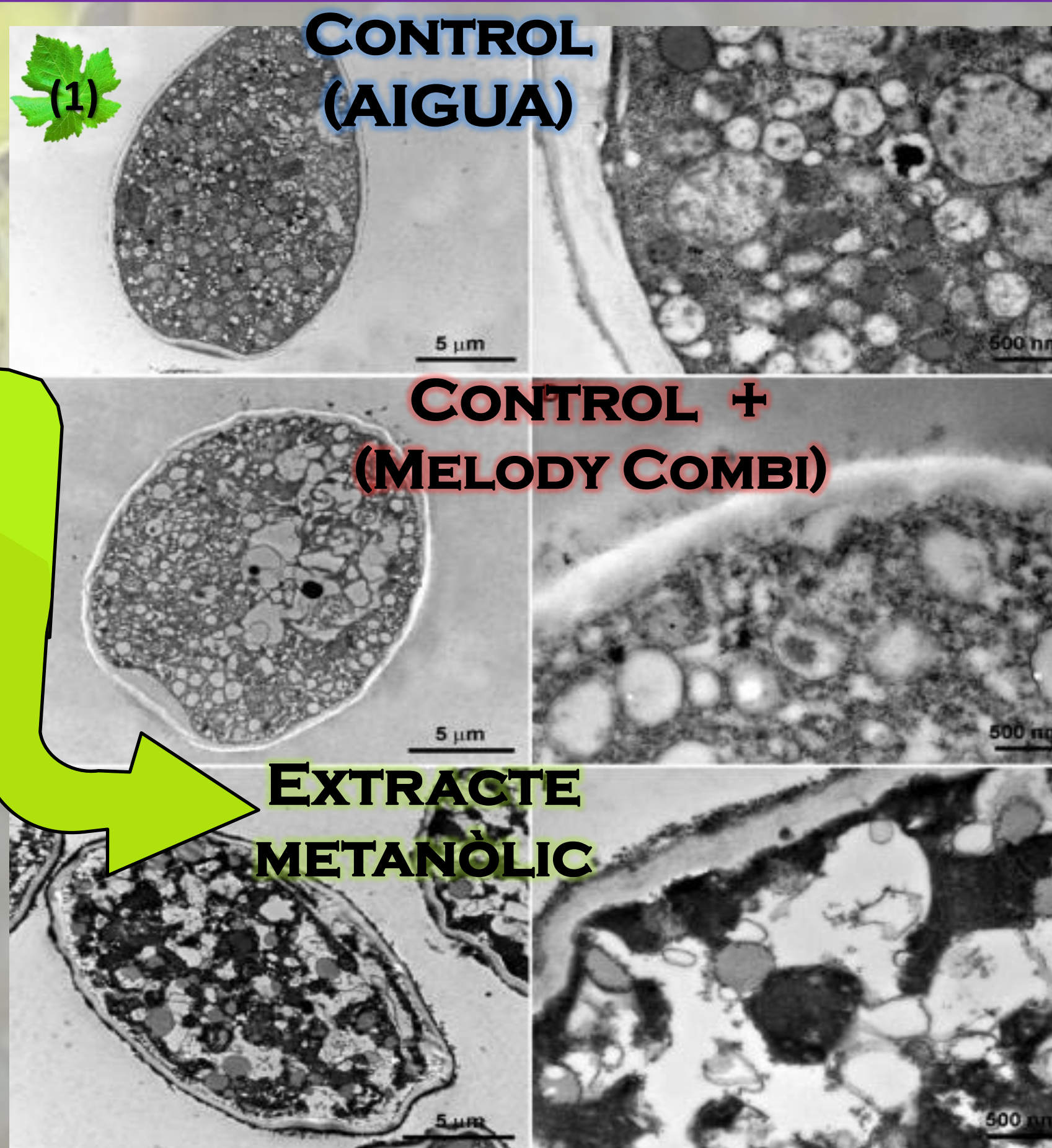


3) MÈTODES D'EXTRACCIÓ DE SARMENTS I BRISA

Extrac	Extraccions a baixa pressió (LPE)		(2) SFE	Soxhlet
	Extracció aquosa	Extraccions etanòliques i metanòliques (Extractes crus)	Supercritical fluid extraction	Metanol, etanol, acetat d'etil o hexà
Metodologia a seguir	Procés de maceració o decocció	Es fa una extracció amb etanol o metanol que després s'aseca amb un evaporador rotatori per aconseguir extractes lliures de solvents orgànics	Ús de solvent (CO ₂ més un co-solvent com pot ser etanol) en condicions per sobre el punt crític, incrementant la pressió	Solvent orgànic contínuament en reflux a T ₃ d'ebullició. Cost energètic important
Rendiment d'extracció	Presenta molt baix contingut de compostos fenòlics	Metanol i etanol obtenen molt més rendiment que aquosa. Metanòlica presenta la varietat de compostos fenòlics més alta	Juntament amb el co-solvent es converteix en un dels extractes amb més rendiment i menys consum energètic que Soxhlet	Rendiment de captació de compostos fenòlics més gran, especialment amb EtOH i EtOAc
Fraccions que arroseguen més compostos fenòlics			Acetat d'etil > cloroform > n-butanol > Hexà i també MeOH > H ₂ O	

4) ACTIVITAT ANTIFÚNGICA DELS EXTRACTES

- Extractes etanòlics i metanòlics (aquoses NO) de sarments inhibeixen *P.viticola*, *E.necator* i *B.cinerea* a concentracions molt semblants a fungicides comercials.
- Afectació a nivell de esporangi de *P.viticola* → Visualització de la membrana desorganitzada i replegada i un citoplasma coagulat.
- En el fraccionament mostren més activitat antifúngica les fraccions més apolars (com la d'hexà, cloroform o més relació MeOH/H₂O).



- SFE (50°C i 200 bar) vs. *Candida albicans* i *C.krusei*
MIC (Concentració mínima inhibidora) = 500µg/ml

5) COMPOSICIÓ FENÒLICA

Dels diferents extractes obtinguts s'analitza la seva composició (HPLC i NMR) i s'avalua l'activitat antifúngica dels compostos presents. Es detecten compostos fenòlics:

Extractes metanòlics de sarments vs. <i>P.viticola</i>	IC ₅₀ (µM) Mobilitat zoòspora	IC ₅₀ (µM) Esporulació	Extractes de brisa	IC ₅₀ (µg/ml) vs. <i>B.cinerea</i>
E-Vitisina B	13	12	À.p-Coumaric	95,8
Hopeafenol	17	26	Kaempferol	100,9
ε-viniferina (també contra <i>B.cinerea</i>)	66	63	Quercetina	120,8
Trans-resveratrol	122	121	Àcid Siringic	163,1
Ampelopsina H	92	282	Catequina	178,9
Ampelopsina A	124	282	Àcid vanillic	207,4
			Epicatequina	208
			Àcid gàl·lic	316,9
			À.Protocatechuic	383,4
			Àcid ellàgic	390

- Les viniferines poden induir producció de fitoalexines per el que mostraran activitat "in vivo".
- Pteroestilbè (relacionat amb el Resveratrol) presenta activitat antifúngica envers *P.viticola* i *B.cinerea*.
- S'ha vist que catequines, àcids trans-caftaric, coumàric i quercetina són potents inhibidors d'estilbens oxidases dels fongs → evitar degradació de fitoalexines.
- Hidroxiestilbenoids com Vitisina B o el Resveratrol serien grans compostos antifúngics → FITOALEXINES!

Llistat de referències

- Schnee S, Queiroz EF, Voinesco F et al. *Vitis vinifera* canes, a new source of antifungal compounds against *Plasmopara viticola*, *Erysiphe necator*, and *Botrytis cinerea*. *J Agric Food Chem*. 2013;61(23):5459-5467.
- Oliveira DA, Salvador AA, Smanía A, Jr. et al. Antimicrobial activity and composition profile of grape (*Vitis vinifera*) pomace extracts obtained by supercritical fluids. *J Biotechnol*. 2013;164(3):423-432.
- Mendoza L, Yañez K, Vivanco M et al. Characterization on extracts from winery by-products with antifungal activity against *Botrytis cinerea*. *Industrial Crops and Products*. 2013;43:360-364.

6) CONCLUSIONS

- Els resultats de les activitats antifúngiques enregistrades en diferents mètodes d'extracció envers els principals fongs de la vinya són esperançadores i la seva composició rica en compostos fenòlics (conegudes fitoalexines) donaria a pensar que la idea d'una reutilització de productes de rebuig de la vinya per l'obtenció de fungicides seria possible.
- Tot i presentar més compostos fenòlics fraccions polars, es detecta major activitat antifúngica en fraccions apolars → possible paper antifúngic d'esterols i àcids grassos.
- Un mètode d'extracció més accessible als viticultors i amb menys requeriments de infraestructures seria requerit per dur a terme extraccions a la vinya (basant-se amb els coneixements exposats en tècniques d'extracció).