

Evaluación De La Producción De Harina De Orujo Fermentado De Uva Para Su Uso Como Aditivo
Alimentario

María Ximena Barajas Otálora Y Laura Daniela Rodríguez Chiquillo

Trabajo De Grado Para Optar Al Título De Ingeniero Químico
Trabajo De Investigación

Director

Ph.D. Débora Alcida Nabarlatz

Codirector

Ph.D. Luis Javier López Giraldo

Universidad Industrial De Santander
Facultad De Ingenierías Fisicoquímicas
Escuela De Ingeniería Química
Bucaramanga

2022

Tabla de contenido

	Pág.
Introducción.....	11
1 Estado Del Arte	14
2 Objetivos.....	20
2.1 Objetivo General	20
2.2 Objetivos Específicos	20
3 Descripción Metodológica.....	20
3.1 Lugar De Desarrollo	21
3.2 Materiales	21
3.3 Equipos	21
3.4 Metodología Experimental	22
3.4.1 Acondicionamiento Del Orujo	22
3.4.2 Obtención De La Harina De Orujo De Uva	22
3.4.3 Análisis Bromatológico Y Fibra Dietaria	23
3.4.4 Análisis De Compuestos Antioxidantes.....	24
3.4.5 Elaboración Del Prototipo De Galleta Fortificada Con Harina De Orujo..	25
3.4.6 Análisis Sensorial Y Contenido Nutricional Del Prototipo	26
4 Resultados.....	27
4.1 Selección Del Método De Secado Para La Harina De Orujo.....	27
4.1.1 Análisis Bromatológico De Las Harinas De Orujo.....	27
4.1.2 Cuantificación De Polifenoles Totales.....	29
4.1.3 Determinación De La Capacidad Antirradicalaria	31

4.2	Determinación De La Influencia Del Despepitado En La Cantidad De Polifenoles Y Cuantificación De Polifenoles Totales	33
4.2.1	Cuantificación De Polifenoles Totales.....	33
4.2.2	Determinación De La Capacidad Antirradicalaria	34
4.3	Determinación De La Aceptabilidad Del Prototipo De Galleta	35
4.3.1	Análisis Sensorial.....	35
4.3.2	Análisis Bromatológico, Polifenoles Totales Y Capacidad Antirradicalaria Del Prototipo	37
5	Conclusiones.....	38
6	Recomendaciones	39
	Referencias Bibliográficas.....	41
	Apéndices	49

Lista de Tablas

	Pág.
Tabla 1. Valores de criterio para la aceptación de la harina de trigo ante el INVIMA (NTC 267, Icontec.org, 2013).....	19
Tabla 2. Metodologías de parámetros de análisis bromatológico, cuantificación de polifenoles totales y capacidad antioxidante	23
Tabla 3. Resultados del análisis bromatológico para la harina de orujo preparada a partir de distintos tipos de secado (CICTA)	28
Tabla 4. Comparación de la cantidad de polifenoles obtenida según los métodos de secado estudiados	30
Tabla 5. Comparación de la actividad antioxidante de la harina de orujo obtenida a partir de los métodos de secado estudiados	32
Tabla 6. Valores nutricionales de la galleta.....	38

Lista de Figuras

	Pág.
Figura 1. Proceso de fabricación de la harina de orujo.	18
Figura 2. Esquema tipo radar con los resultados de la prueba hedónica aplicada a galletas tipo mantequilla usando harina de trigo con y sin adición de harina de orujo.	36

Lista de Apéndices

	Pág.
Apéndice A. Ficha Del Análisis Sensorial Aplicado Al Panel De Cata No Entrenado	49
Apéndice B. Formato Del Consentimiento Informado Para Los Participantes	53
Apéndice C. Protocolo Para La Determinación De La Actividad Antioxidante Por El Método DPPH, Proporcionado Por El CICTA	55
Apéndice D. Metodología Descrita Por López-Giraldo Et Al. (2009)	57
Apéndice E. Registro fotográfico de las galletas elaboradas con harina de orujo	65

Resumen

Título: Evaluación de la Producción de Harina de Orujo Fermentado de Uva para su Uso como Aditivo Alimentario *

Autor: Maria Ximena Barajas Otálora**; Laura Daniela Rodríguez Chiquillo**

Palabras Clave: Harina de orujo de uva; Antioxidantes; Deshidratación.

Descripción:

El orujo de uva es un residuo de la industria del vino el cual se produce en grandes cantidades y corresponde a aproximadamente 62% en peso de los residuos totales. En los últimos años, éste ha sido foco de estudio para la elaboración de harina de orujo principalmente para consumo animal; sin embargo, dadas las propiedades funcionales presentes en dicho residuo, su interés ha girado hacia el consumo humano en reemplazo de harinas convencionales como la harina de trigo. Este proyecto se centra en conocer el efecto del tipo de secado y el despepitado en los valores nutricionales y antioxidantes de la harina de orujo de uva y además conocer la aceptabilidad de un prototipo de galleta de mantequilla con 15% en peso de harina de orujo en reemplazo de harina de trigo. Para el desarrollo del estudio se evaluaron 3 tipos de secado: natural bajo el sol, en horno de conducción y en un deshidratador, a partir de los cuales se elaboraron 3 lotes de harinas empleando un método de secado diferente. Una vez obtenidas las harinas se midió su capacidad antioxidante, el contenido de polifenoles totales, y el análisis bromatológico. La harina con mayor contenido de polifenoles y capacidad antioxidante se seleccionó para hacer el estudio de la influencia del despepitado y posteriormente se elaboró un prototipo de galleta con harina de orujo y harina de trigo para compararla con una galleta tradicional de harina de trigo, las cuales fueron evaluadas sensorialmente por un panel de cata no entrenado; tanto para el prototipo como para la galleta control se realizaron los respectivos análisis bromatológico, contenido de polifenoles y

capacidad antioxidante. Los resultados obtenidos en este estudio mostraron que el método de secado no tiene influencia sobre los resultados del análisis bromatológico, pero sí sobre el contenido de polifenoles y la capacidad antioxidante, por lo que se seleccionó el deshidratador como el mejor método de secado. El despepitado tiene una influencia significativa, mostrando mejores resultados en el contenido de polifenoles de la harina con semillas, mientras que la mejor capacidad antioxidante se obtiene de la harina despepitada. Por último, al comparar las galletas elaboradas se logra concluir que la galleta elaborada con harina de orujo es aceptada organolépticamente, y conserva las propiedades antioxidantes de la harina de orujo; mientras la galleta control de trigo muestra valores nulos para contenido de polifenoles y capacidad antioxidante.

*Trabajo de Grado

**Facultad de Ingenierías Físicoquímicas. Escuela de Ingeniería Química. Director Debora Alcida Nabarlatz. Codirector Luis Javier López Giraldo.

Abstract

Title: Evaluation of Wine Grape Pomace Flour Production for Use as a Food Additive*

Author: Maria Ximena Barajas Otálora**; Laura Daniela Rodríguez Chiquillo**

Key Words: Wine grape pomace flour; antioxidants; dehydration.

Description:

Grape pomace is a waste from the wine industry which is produced in large quantities and corresponds to approximately 62% by weight of total waste. In recent years, this has been the focus of study to produce pomace flour mainly for animal consumption; however, given the functional properties present in said residue, its interest has turned towards human consumption in replacement of conventional flours such as wheat flour. This project focuses on knowing the effect of the type of drying and seeding on the nutritional and antioxidant values of grape pomace flour and knowing the acceptability of a butter biscuit prototype with 15% by weight of pomace flour in wheat flour replacement. For the development of the study, 3 types of drying were evaluated: natural under the sun, in a conduction oven and in a dehydrator, from which 3 batches of flour were made using a different drying method. Once the flours were obtained, their antioxidant capacity, the content of total polyphenols, and the bromatological analysis were measured. The flour with the highest content of polyphenols and antioxidant capacity was selected to carry out the study of the influence of seeding and subsequently a prototype of a cookie was made with pomace flour and wheat flour to compare it with a traditional wheat flour cookie, which they were evaluated sensorially by an untrained tasting panel; For both the prototype and the control biscuit, the respective bromatological analysis, polyphenol content and antioxidant capacity were carried out. The results obtained in this study showed that the

drying method has no influence on the results of the bromatological analysis, but it does influence the content of polyphenols and the antioxidant capacity, so the dehydrator was selected as the best drying method. The seedless has a significant influence, showing better results in the content of polyphenols of the flour with seeds, while the best antioxidant capacity is obtained from the seedless flour. Finally, when comparing the cookies made, it is possible to conclude that the cookie made with pomace flour is accepted organoleptically, and preserves the antioxidant properties of pomace flour, while the control wheat cookie shows zero values for polyphenol content and antioxidant capacity.

*Bachelor Thesis

**Facultad de Ingenierías Físicoquímicas. Escuela de Ingeniería Química. Director Debora Alcida Nabarlantz. Codirector Luis Javier López Giraldo.

Introducción

El presente trabajo de investigación tiene por objetivo determinar los parámetros de elaboración de una harina de orujo de uva que permitan potencializar su calidad nutricional (fibra dietaria total, polifenoles totales y capacidad antioxidante), para ser utilizada como alimento funcional sin influir negativamente en el sabor y textura de los alimentos elaborados a partir de esta. Adicionalmente, la elaboración de harina de orujo de uva se presenta como una alternativa para valorizar el orujo generado, el cual es el mayor residuo del proceso de vinificación, siendo esto una ventaja en comparación al precio de otras materias primas usadas para la elaboración de harinas consideradas saludables, tales como la harina de almendras, amaranto, entre otras.

La idea de sustituir parcialmente la harina de trigo en la elaboración de productos de panificación, galletería, pastelería y pastas, por una harina fabricada a partir de orujo de uva, surge por la necesidad de disminuir el consumo de la harina de trigo en la dieta diaria, debido a que su consumo se asocia con enfermedades crónicas no transmisibles como la *diabetes mellitus*, la cual es un problema de salud pública de creciente importancia a nivel mundial (*OPS/OMS | Obesidad Una Precursora de La Diabetes*, n.d.)(*Diabetes - Symptoms and Causes - Mayo Clinic*, n.d.)(Organización Mundial de la Salud, 2016)(Gil De Los Santos et al., 2012). De acuerdo con la Federación Internacional de Diabetes, se estima que para 2035 ésta afecte al 59,8% de la población mundial (Agudelo-Botero & Dávila-Cervantes, 2015); además, la diabetes se relaciona con enfermedades cerebrales como demencia y Alzheimer, las cuales están asociadas al consumo de gluten, la cual es una proteína inflamatoria presente en el trigo (Hadjivassiliou et al., 2002).

En Colombia el consumo interno de trigo anualmente supera las 1,3 millones de toneladas, las cuales en su mayoría se importan de Estados Unidos y Canadá (Revista Pan Caliente Colombia - [Blog - Consumo de Trigo En Colombia]) y están destinadas a la fabricación de harina que posteriormente será utilizada a gran escala para la elaboración de productos panificables, elemento principal en la dieta de muchas regiones de Colombia y en general del mundo. En Colombia, según la Federación de Molineros, el consumo per cápita anual es de 30 kilos de productos panificables (FEDEMOL) (Revista Pan Caliente Colombia - [Blog - Consumo de Trigo En Colombia]); en efecto, el problema se centra en el alto consumo de harina de trigo. Es por esto que surge el interés por buscar alternativas más saludables que contribuyan a reducir el consumo de este alimento, y que a su vez permitan la reutilización de algunos residuos agroindustriales como lo es el orujo, de tal manera que se pueda aprovechar la capacidad nutracéutica de este residuo. En este sentido, el orujo de uva combina las propiedades saludables de la fibra dietaria con la actividad antioxidante de los polifenoles, conociéndose como “fibra antioxidante” (*Aplicaciones y Nuevos Usos de Subproductos de La Vinificación - Vitivinícola*, n.d.-a). El orujo de uva es de gran interés para las industrias farmacéutica y de alimentos, llegándose a considerar como un alimento funcional (Juárez Trujillo et al., 2017)(Franco-Mora et al., 2015)(Shinagawa et al., 2015), pues no solo tiene un efecto positivo sobre el control de la presión arterial, la glucemia y la insulina, sino que además contribuye al aumento de compuestos antioxidantes que actúan para prevenir el envejecimiento o deterioro celular y a mejorar el tránsito intestinal (*Prueban Los Beneficios Nutricionales Del Orujo Del Malbec - Prensa Institucional UNCUIYO*, n.d.)(Urquiaga, d’Acuña, et al., 2015)(*Fibra Alimentaria | CuidatePlus*), y es bajo en azúcares simples(Ruíz, 2015).

Con base en lo anteriormente expuesto surge la pregunta de investigación: ¿Cuál es la metodología de elaboración de la harina de orujo para sustituir parcialmente la harina de trigo en la elaboración de galletas y hacer de éstas un alimento con mayor aporte nutricional que sea aceptable organolépticamente?

Para la realización de este trabajo se inició con una búsqueda de material bibliográfico en la línea de investigación de aprovechamiento del orujo como harina, con lo cual se determinaron los parámetros del proceso que ya han sido estudiados, como la temperatura, y se hizo énfasis en aquellos que aún no estaban establecidos como la influencia del despepitado con respecto al contenido nutricional de un producto panificable elaborado a partir de la harina de orujo. Una vez recolectada la información, se procedió a plantear un diseño de experimentos que permitiera escoger un método de secado que no solo conservara la mayor cantidad de polifenoles, sino que fuera una opción de fácil acceso y de bajo costo para los productores del orujo.

Las variables de respuesta que se usaron para determinar el contenido nutricional de la harina, fueron la cantidad de polifenoles totales y la actividad antirradicalaria del orujo fermentado como referencia. Para esto fue necesario realizar una extracción de polifenoles por el método de *Folin Ciocalteu* y posteriormente, medir la actividad antirradicalaria por el método DPPH. Para estudiar los factores que influyen en la elaboración de la harina de orujo se plantearon 3 objetivos específicos: analizar la influencia del secado en las variables de estudio, conocer el efecto del despepitado en las propiedades funcionales de la harina de orujo de uva elaborada por el método de secado seleccionado y, por último, evaluar el grado de aceptación de un prototipo de galleta de mantequilla que contiene harina de orujo de uva. De esta manera se pudo concluir que el mejor método de secado es el deshidratador, ya que

fue el que mejor conservó las propiedades del orujo y su capacidad antioxidante, respecto al secado natural y secado en horno de conducción (tradicional); por otro lado, el despepitado mejoró la cantidad de polifenoles totales y la capacidad antirradicalaria de la harina, y por último se pudo concluir que el prototipo de galleta elaborado utilizando harina de orujo se destaca principalmente por su sabor y textura, con puntajes en la escala hedónica (1-9) de 8,75 y 8,25 respectivamente.

Finalmente, este trabajo de pregrado está compuesto por las siguientes secciones:

En primer lugar, se presenta el estado del arte que contiene una revisión bibliográfica de distintos autores que han trabajado en la elaboración de la harina de orujo y en la investigación de los factores que influyen en el proceso partiendo de parámetros previamente establecidos. Seguidamente, se presentan los objetivos trazados en este trabajo. Luego de esto se describe la metodología, el diseño de la investigación, los instrumentos y técnicas empleadas para obtener los resultados, así como las tablas con los cálculos y la respectiva discusión de resultados, lo cual permite corroborar la relación entre los datos obtenidos experimentalmente y la literatura. Por último, se incluyen las conclusiones y recomendaciones para futuros trabajos de investigación y finalmente, se presentan los apéndices que permiten conocer y aclarar los procedimientos llevados a cabo.

1 Estado Del Arte

Como su nombre lo indica la harina de orujo de uva se elabora a partir del orujo de uva, un residuo del proceso de vinificación de la uva. Este proceso se basa en el estrujado de uvas con alto porcentaje de azúcar, el cual da como resultado una mezcla de dos fases

compuesta por orujo (piel o hollejos, semillas) y mosto (extracto líquido), el cual se fermenta y finalmente es prensado y filtrado. El mosto fermentado continúa su fermentación para convertirse en vino, mientras el orujo (que corresponde a un 62% en peso de los residuos de la producción vinícola y entre un 14-26% en peso de las uvas) en general es descartado (Pszczólkowski, P., & Ceppi De Lecco, 2016)(Nuñez, Y., 2013) . Para el caso de Colombia se estimó que durante el 2021 hubo una producción de 1000 – 2000 botellas de vino solo en el departamento de Boyacá; no obstante, otras regiones como el Valle del Cauca y Antioquia también cuentan con características específicas de altitud y clima que hacen factible su fabricación (*Colombia Tiene Gran Potencial Para Sembrar Vid y Producir Vinos de Alta Calidad*, n.d.). En cuanto al uso actual del orujo, una parte se aprovecha para ser utilizada como compostaje en los viñedos, sin embargo, por el alto contenido de materia orgánica presente, puede representar un impacto ambiental negativo en grandes cantidades(Aplicaciones y Nuevos Usos de Subproductos de La Vinificación - Vitivinícola, n.d.). Países como España, famoso por su producción vinícola, cuenta con industrias encargadas de la transformación del orujo, en harina, colorantes, aceites, etc. La producción de harina de orujo es llamativa y de valor, pues permite la utilización completa del orujo, sin generar ningún tipo de residuo adicional.

En los últimos años, diversos estudios han evaluado el uso de la harina de orujo de uva. En general, estos estudios evalúan el empleo de la harina de orujo de uva como alimento y determinaron el aporte nutricional del mismo, tanto para consumo humano como animal; así, por ejemplo, la incorporación de esta harina en la dieta animal permitió mejorar la calidad nutricional de ciertos derivados como la carne, huevos, leche, entre otros (Reyes et al., 2020).

En los estudios revisados se evaluó el contenido nutricional (fibra dietaria total, polifenoles totales y capacidad antioxidante) de los alimentos elaborados con *Wine Grape Pomace Flour* (WGPF), que en español hace referencia a la harina de orujo de vino de uva. En la elaboración de la harina de orujo se describen los parámetros del proceso, considerando factores como variedad de uva (tinta/blanca), cepa de la vid, pretratamiento (congelación/transporte/descongelación), proceso de producción (secado/despepitado/molienda/tamizado) y empaçado. Los investigadores coinciden en que la variedad con mayor contenido nutricional (fibra dietaria total, polifenoles totales y capacidad antioxidante) es la uva tinta y entre las cepas se destaca la Cabernet Sauvignon. En cuanto al pretratamiento, la mayoría de los investigadores reportan la congelación del orujo a -20°C en bolsas plásticas al vacío, con el fin de detener la fermentación alcohólica y maloláctica, y detener su descomposición hasta la descongelación previa al secado (Reyes et al., 2020)(Urquiaga, D'Acuña, et al., 2015)(Monteiro et al., 2021)(Muncaciu et al., 2017). En términos generales, el proceso de producción de harina de orujo se representa en la figura 1 (Reyes et al., 2020)(Urquiaga, D'Acuña, et al., 2015)(Beres et al., 2019)(Piovesana et al., 2013)(Šporin et al., 2018)(Sousa et al., 2014)(Monteiro et al., 2021)(Muncaciu et al., 2017)(Salinas Des Chanalet, 2015).

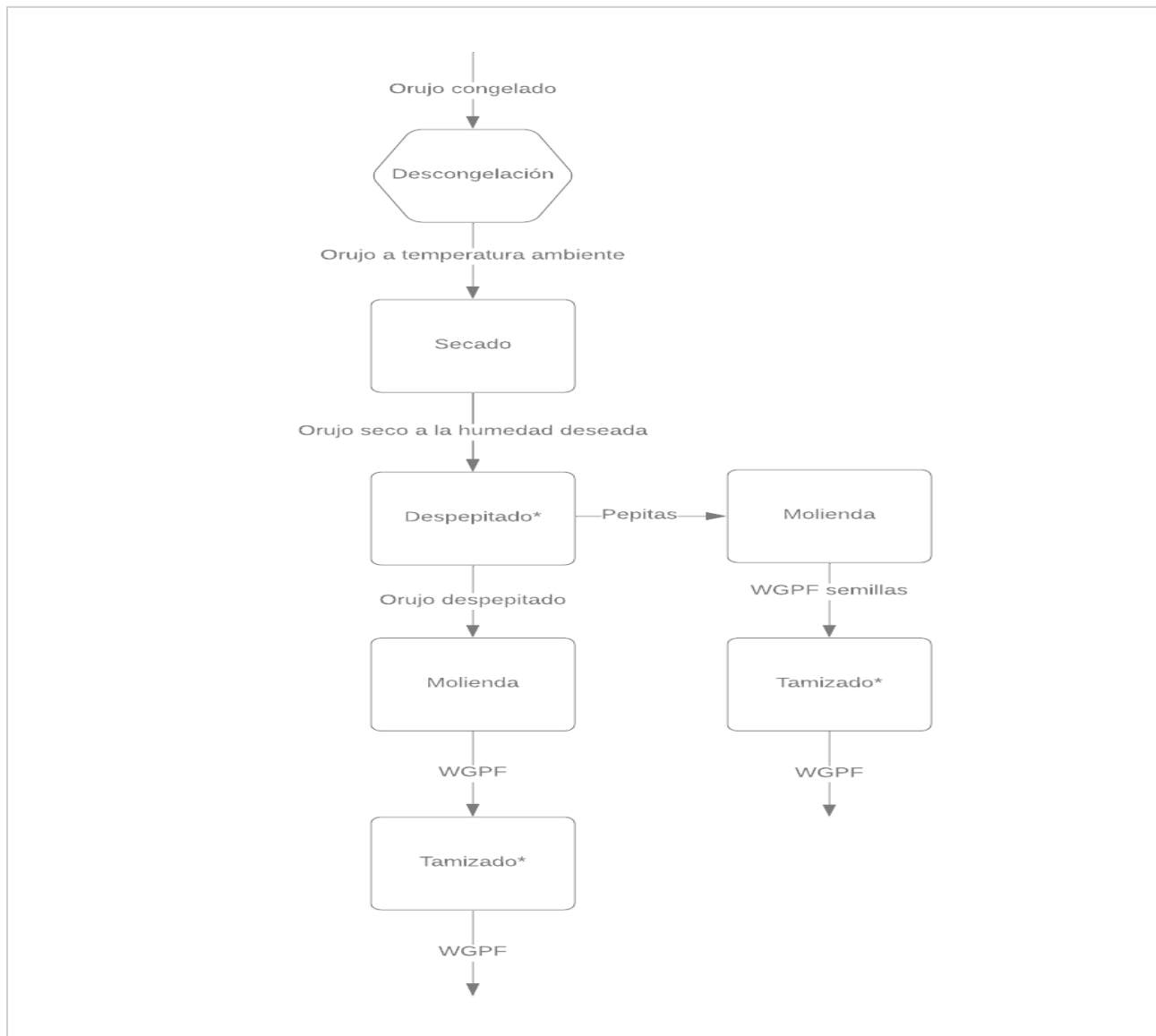
El despepitado es un proceso opcional dependiendo del criterio de producción, dado que para que ésta sea considerada harina no necesita contener las pepas de la uva, y al despepitarse se puede reducir la astringencia, así como homogenizar la textura de la harina; sin embargo, sus propiedades nutraceuticas pueden verse reducidas al eliminar las semillas. No obstante, el despepitado es un proceso complejo si se realiza de forma manual e implicaría

un equipo especializado para hacerse de forma automática (Piovesana et al., 2013)(Muncaciu et al., 2017)

Durante la etapa de secado del orujo se debe considerar el tipo de secador, dado que sus características influyen en las condiciones de secado. En los estudios antes mencionados se utilizaron hornos de conducción (tradicionales), hornos de convección (deshidratadores), liofilizadores y el secado natural, siendo este último de interés porque supone ser de fácil acceso al no necesitar equipos especializados. Sin embargo, no se encontró un estudio en el cual se analice y concluya la relación entre el tipo de secado y las propiedades nutricionales de la harina. Por otro lado, en un estudio se encontró este análisis para las semillas del orujo, concluyendo que existe una relación significativa entre el contenido nutricional de éstas y el tipo de secador cuando la temperatura es mayor a 50°C; el autor compara la liofilización y el secado en estufa, dando como resultado una capacidad antioxidante de 0,2470 mM Trolox/g muestra seca y 0,2113 mM Trolox/ g muestra seca, respectivamente. El contenido de polifenoles totales en este caso fue de 30,93 mgEAG/g y 26,36 mgEAG/g respectivamente, lo que permite suponer que el tipo de secado influye significativamente sobre la capacidad antioxidante y la cantidad de polifenoles totales (Larrea, J., 2012). En cuanto al contenido de fibra total, el estudio antes mencionado no reporta variación de acuerdo al tipo de secado.

Figura 1.

Proceso de fabricación de la harina de orujo.



Otro de los parámetros a considerar en el secado con horno convencional y por aire forzado, es la temperatura; por ejemplo, Salinas Des Chanalet (2015) recomienda que sea 60°C para la elaboración de harina de orujo de vino de uva, concluyendo que esta temperatura es la óptima para tener un bajo tiempo de secado y mayor calidad nutricional de la harina. Adicionalmente, la NTC 267 que resume los requisitos que deben cumplir las harinas para el

consumo humano, tomando como referencia la harina de trigo, establece que la humedad final debe ser menor al 14% (NTC 267, Icontec.org, 2013). Entre los diversos estudios se reportan diferentes valores, encontrándose como límite inferior un 3,3% de humedad (Salinas Des Chanalet, 2015). Otro aspecto importante por considerar posterior al secado es el despepitado, el cual a pesar de ser un proceso opcional se debe evaluar su pertinencia dado el alto contenido en polifenoles y material fibroso de la semilla, por lo que se espera que al incluirlas en la molienda esto resulte en un aporte significativo de fibra total, capacidad antioxidante y polifenoles totales a la harina.

En Colombia, el Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos se encarga de regular los parámetros de producción y comercialización de diferentes tipos de alimentos, para el caso de la harina de orujo no existe una regulación específica, pero se tomaron como referencia los parámetros establecidos para la harina de trigo refinada, los cuales se muestran en la siguiente tabla.

Tabla 1.

Valores de criterio para la aceptación de la harina de trigo ante el INVIMA (NTC 267, Icontec.org, 2013)

<i>Parámetros</i>	<i>Unidad</i>	<i>Valor</i>
<i>Humedad</i>	g/ 100g (%)	Máximo 14,5
<i>Ceniza</i>	g/ 100g (%)	Máximo 1,0
<i>Grasa</i>	g/ 100g (%)	No aplica
<i>Proteína</i>	g/ 100g (%)	Mínimo 7,0
<i>Fibra</i>	g/ 100g (%)	No aplica
<i>Carbohidratos totales</i>	g/ 100g (%)	No aplica
<i>Calorías</i>	kcal/ 100 g	No aplica

2 Objetivos

2.1 Objetivo General

Determinar los parámetros de elaboración de la harina de orujo de uva, que permitan potencializar su calidad nutricional, a través de la medición de fibra dietaria total, polifenoles totales y capacidad antioxidante para ser utilizada como alimento funcional.

2.2 Objetivos Específicos

» Analizar la influencia del tipo de secado en la capacidad antirradicalaria, cantidad de polifenoles totales y fibra dietaria total de la harina de orujo producida.

» Conocer el efecto del despepitado en las características bromatológicas y antirradicalarias de la harina de orujo de uva elaborada por el método de secado seleccionado.

» Evaluar el grado de aceptación de un prototipo de galleta de mantequilla que contiene harina de orujo de uva y sus aportes nutricionales.

3 Descripción Metodológica

Este trabajo se desarrolló partiendo de una búsqueda bibliográfica usando el sistema de consulta de la Biblioteca UIS; se empleó como ecuación de búsqueda Wine Grape Pomece Flour Process. Con base en las 23 investigaciones encontradas y estudiadas, como se presentó en el estado del arte, se diseñó un experimento de un factor y 3 niveles. Partiendo de que el tipo de secado es un factor que puede influir sobre las variables de interés tales como capacidad antirradicalaria y contenido de polifenoles totales, se establecieron 3 niveles para

dicho factor, los cuales son diferentes métodos de secado: secado natural al sol, secado en horno de conducción y secado en deshidratador.

3.1 Lugar De Desarrollo

La parte experimental de este estudio se desarrolló en el Parque Tecnológico Guatiguará, en los laboratorios del Grupo de Investigación en Tecnologías de Valorización de Residuos y Fuentes Agrícolas e Industriales para la Sustentabilidad Energética (INTERFASE), con el apoyo del Grupo de Investigación en Ciencia y Tecnología de Alimentos (CICTA) de la Universidad Industrial de Santander.

3.2 Materiales

Para la elaboración de la harina, se empleó orujo de uva tinta de la cepa Cabernet Sauvignon, congelado a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ y envasado al vacío en bolsas de polietileno de baja densidad proveniente del viñedo Ain Karim, ubicado en Villa de Leyva- Boyacá.

El orujo se recolectó en septiembre de 2020, y se recuperó inmediatamente después de ser extraído de las cubas de fermentación para preservar al máximo su calidad microbiológica, para posteriormente almacenarse en cámaras de refrigeración a -20°C hasta su utilización en enero de 2021.

3.3 Equipos

- Horno de conducción
- Deshidratador DY-110H
- Licuadora industrial
- Tamizadora eléctrica CL313F

- Plancha de agitación
- Centrífuga
- Espectrofotómetro

3.4 Metodología Experimental

3.4.1 Acondicionamiento Del Orujo

El orujo congelado se separó en bandejas con capacidad para 800 g, luego se atemperó a temperatura ambiente durante aproximadamente una hora hasta que este se descongeló; después el material se extendió de manera que se consiguiera una capa fina en cada bandeja, para finalmente llevarla al respectivo proceso de secado.

3.4.2 Obtención De La Harina De Orujo De Uva

Para la obtención de las harinas de orujo se dividió el orujo recolectado en 3 lotes, cada uno fue secado por un método diferente (secado natural, secado en horno convectivo, y deshidratación). Estos métodos se seleccionaron basados en la literatura y la disponibilidad de los equipos con los que se contaba para el proyecto, cada uno de los procesos de secado fue realizado con los parámetros optimizados encontrados en la literatura, con los cuales los autores reportan obtener mejores propiedades nutraceuticas. En primer lugar, se hizo una comparación de los métodos de secado de harina de orujo con pepas y una vez se encontró el mejor, se procedió a comparar el efecto del despepitado con la materia seca reservada.

El primer lote de orujo se extendió en bandejas que fueron dispuestas al aire libre para el secado natural al sol, mientras que el segundo y tercer lote se dispusieron en bandejas y se introdujeron en el horno de conducción precalentado y en el deshidratador, respectivamente, ambos a 60°C. Para el secado natural, la muestra extendida en bandejas fue removida cada

dos horas para asegurar un secado homogéneo. Para analizar la pérdida de peso de las muestras estudiadas, se midieron el peso inicial y final de estas. Los métodos de secado estudiados lograron secar las muestras a distintas velocidades, por tanto, para el secado en horno de conducción tras el primer día se pesaron las bandejas cada 3 horas hasta que se obtuviesen 3 valores constantes; para el secado natural las muestras se pesaron cada día a la misma hora, y para el deshidratador se pesó la muestra cada hora. Una vez el peso de las muestras alcanzó el estado estable para las últimas 3 tomas, la mitad del material fue despepitado en forma manual y la otra mitad se mantuvo con las semillas. Todas las muestras se molieron usando una licuadora industrial, y fueron tamizadas para recuperar el material que pasó por una malla #14 de la serie Taylor; es decir, partículas con un tamaño inferior a 1,41 mm.

3.4.3 *Análisis Bromatológico Y Fibra Dietaria*

Una vez obtenidas las diferentes muestras de harina, éstas se dispusieron en bolsas resellables para enviarlas al laboratorio de servicios del CICTA, en donde se realizaron los análisis de humedad, ceniza, grasa, proteína, fibra y carbohidratos totales presentados en la tabla 2 con su respectivo método y normatividad.

Tabla 2.

Metodologías de parámetros de análisis bromatológico, cuantificación de polifenoles totales y capacidad antioxidante.

<i>Parámetro</i>	<i>Método de análisis / Normatividad</i>
<i>Humedad</i>	Gravimétrico GOMESL.01 V06 2018-07-30
<i>Ceniza</i>	Gravimétrico GOMECH.01 V06 2019-04-01
<i>Grasa</i>	Gravimétrico Soxhlet GOMEGC.01 V06 2019-04-01
<i>Proteína</i>	Volumétrico – Kjeldahj GOMEPL.01 V08 2019-04-01

	<i>Fibra</i>	Hidrólisis ácida y básica
		Cálculo según Numeral 9.3
<i>Carbohidratos</i>		Resolución 333 de 2011
<i>totales</i>		%CT = 100 – (%H + %C + %P + %G)
	<i>Polifenoles</i>	Espectrofotometría UV-Vis
<i>totales</i>		GOMEPT.01 V01 2021-09-23
	<i>Capacidad antioxidante</i>	Espectrofotometría UV-Vis
		Método DPPH

3.4.4 *Análisis De Compuestos Antioxidantes*

3.4.4.1 **Determinación De Polifenoles Totales (PT), Método Folin – Ciocalteu.** El

extracto rico en polifenoles proveniente del orujo de uva se obtuvo usando etanol como solvente siguiendo el procedimiento descrito por Guntero et al. (2015.), quien propone la preparación de soluciones 5% (p/v) de cada muestra utilizando etanol y agua destilada como solvente, seguido a esto se ponen las muestras en una plancha con agitación a 60°C por 120 minutos. Terminada la extracción, se centrifuga por 20 minutos a 6000 rpm y los sobrenadantes son decantados, envasados y puestos en refrigeración hasta su posterior análisis.

La variable de respuesta que se evaluó fue el contenido de polifenoles totales presente en los extractos, para esto se utilizó el método Folin-Ciocalteu (F-C), siguiendo el procedimiento establecido por Wollgast (2000), el cual fue adaptado por el grupo de investigación INTERFASE (Grupo de Investigación en Tecnologías de Valorización de Residuos y Fuentes Agrícolas e Industriales para la Sustentabilidad Energética (INTERFASE)). El procedimiento consistió en preparar una solución patrón de ácido gálico:agua en una proporción 0,2 g:100 mL, posteriormente se construye la curva de calibración tomando como patrón el ácido gálico preparando diluciones a partir de la solución madre con valores entre 0,2 y 1,8 mg ácido gálico/mL con cada punto de la curva por

duplicado; con la cual se obtiene la ecuación de calibración que permite estimar la concentración de los polifenoles totales al reemplazar el valor de la absorbancia. El procedimiento para preparar la solución fue el siguiente, en tubos de ensayo protegidos de la luz con papel aluminio, se adicionaron 50 µl del extracto y 50 µl de agua destilada para la muestra y el blanco, respectivamente. Seguidamente, se adicionan 1,5 ml de la solución F-C a los tubos de ensayo con las sustancias a analizar, se tapa y se agita por 10 s para homogenizar. Transcurridos 5 minutos se les adiciona a todos los tubos 1,5 ml de la solución de Na₂CO₃ 7,5% p/v, nuevamente se tapan y se agitan por 10 s y se almacenan durante 1 hora en condiciones de oscuridad, registrando los tiempos de adición de los reactivos. Finalmente, se determina la absorbancia de los patrones por duplicado leyendo en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 765 nm.

3.4.4.2 Determinación De La Capacidad Antioxidante, Método DPPH. Para este análisis se utilizó la metodología proporcionada por el Grupo de Investigación en Ciencia y Tecnología de Alimentos CICTA de la Universidad Industrial de Santander basado en la metodología descrita por López-Giraldo et al. (2009). El ensayo DPPH inicia con la preparación y extracción de la muestra, siguiendo con la preparación de la curva de Trolox, del reactivo DPPH y, por último, la realización del análisis espectrofotométrico por duplicado para llevar a cabo la cuantificación de la capacidad antioxidante.

3.4.5 *Elaboración Del Prototipo De Galleta Fortificada Con Harina De Orujo*

En pruebas previas de formulación se determinó que un contenido de 10 a 15% en peso de la harina de orujo garantiza que se obtendrá un efecto antirradicalario en el producto formulado (Acun & Gül, 2014), por ende, se fijó un 15% en peso para el reemplazo de harina de trigo por harina de orujo en la receta de la galleta. Para la preparación de la galleta de

mantequilla tradicional se utilizaron 200 g de mantequilla sin sal, 250 g de azúcar blanca, 400 g de harina de trigo, 1 huevo mediano, 1 cucharada de esencia de vainilla, ½ cucharada de sal y ½ cucharadita de polvo para hornear. El método utilizado para la preparación consistió en primeramente mezclar la mantequilla y el azúcar a velocidad baja para incorporarlos y formar una pasta cremosa. Posteriormente, se agregó el huevo y se batió junto con la esencia de vainilla hasta lograr nuevamente una pasta uniforme. En este punto se añadió la mezcla del 85% de la harina de trigo con el polvo de hornear y la sal, y se procedió a amasar con las manos hasta que todo estuvo compacto. Después, la masa obtenida se dividió en dos mitades, a cada una de las mitades se le agregó el 15% de harina restante, para la primera mitad se agregó harina de trigo, para la segunda se agregó harina de orujo y se amasó y luego de esto, se llevó a la nevera por una hora. Pasado este tiempo, se retiraron ambas mitades de la nevera, con y sin orujo de uva, y se amasaron para así estirar la masa sobre papel parafinado. Las masas se introdujeron nuevamente en la nevera por 30 minutos y al retirarlas se cortaron con moldes circulares previamente engrasados. Por último, se llevaron las galletas al horno a 180°C entre 10 a 20 minutos. Una vez se enfriaron, se envolvieron en papel laminado y se etiquetaron para su posterior análisis, obteniendo un total de 30 galletas, 15 con harina de trigo y 15 con harina de orujo adicionado.

3.4.6 Análisis sensorial y contenido nutricional del prototipo

Se realizó la planeación de pruebas de análisis sensorial orientadas a panelistas no entrenados (Sebastián Ramírez-Navas, 2014). El análisis sensorial se llevó a cabo evaluando dos galletas, una galleta tradicional de mantequilla elaborada únicamente con harina de trigo (200 g) y otra con un 15% de harina de orujo (30 g) y 85% de harina de trigo (170 g). Se pidió que en cada muestra se evaluaran los atributos color, aroma, textura, cuerpo y sabor,

basada en la escala hedónica de nueve puntos desde un rango de “me gusta extremadamente” a “me disgusta extremadamente”. En la prueba participaron 20 evaluadores no entrenados los cuales recibieron un kit de cata con la ficha de evaluación sensorial con las indicaciones y recomendaciones correspondientes para evaluar ambas galletas.

La ficha de evaluación antes mencionada se elaboró en base a lo propuesto por Duneska et al. (2013), la cual se presenta en el apéndice A, donde también se puede encontrar la información sobre los diferentes atributos.

Para el análisis del contenido nutricional se llevaron las muestras de galleta elaborada con harina de orujo al laboratorio de servicios CICTA para realizar los diferentes ensayos según la normativa consignada en la tabla 2.

4 Resultados

4.1 Selección Del Método De Secado Para La Harina De Orujo

4.1.1 Análisis Bromatológico De Las Harinas De Orujo

El análisis bromatológico permite conocer la composición de las harinas, la distribución de sus macronutrientes (fibra cruda, proteínas, grasas y carbohidratos) y otros parámetros que se requieren para poder considerar un producto como harina ante el INVIMA (% humedad y cenizas), por lo que las harinas fueron analizadas por el laboratorio de servicios del CICTA. Los resultados obtenidos para las harinas según el método de secado empleado, así como los valores de aceptación establecidos por el INVIMA para las harinas de trigo se muestran en la tabla 3.

Tabla 3.

Resultados del análisis bromatológico para la harina de orujo preparada a partir de distintos tipos de secado (CICTA)

Parámetros	Unidad	Secado Natural	Horno de Convección	Deshidratador	Límite INVIMA NTC 267
<i>Humedad</i>	g/ 100g (%)	8,92	8,67	7,17	Máximo 14,5
<i>Ceniza</i>	g/ 100g (%)	6,53	6,30	6,75	Máximo 1,0
<i>Grasa</i>	g/ 100g (%)	5,54	6,24	6,13	No aplica
<i>Proteína</i>	g/ 100g (%)	11,69	11,44	12,1	Mínimo 7,0
<i>Fibra</i>	g/ 100g (%)	20,34	20,09	20,28	No aplica
<i>Carbohidratos totales</i>	g/ 100g (%)	67,33	67,35	67,86	No aplica
<i>Calorías</i>	kcal/ 100 g	365,89	371,31	374,99	No aplica

En la tabla 3 se puede observar que los contenidos de fibra están alrededor de un 20% y no difieren significativamente conforme se modifica el método de secado; este tipo de resultados también ha sido previamente reportado por Londoño (2012) lo que es de esperarse debido que las temperaturas empleadas en el secado son menores a las temperaturas de degradación de los compuestos que hacen parte de la fibra.

Adicionalmente, las 3 harinas presentadas cumplen con todos los parámetros de aceptación requeridos por el Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos (INVIMA) para la harina de trigo, excepto en cuanto a la cantidad de ceniza presente; sin embargo, al ser una harina no convencional no se ha establecido una normativa, y este valor es modificable según acuerdo cliente-proveedor (Norma Técnica Ntc Colombiana 267, 2006).

4.1.2 Cuantificación De Polifenoles Totales

Los polifenoles son un grupo de compuestos entre los que se encuentran las familias de los flavonoides, antocianinas, flavanoles, taninos y ácidos cinamínicos así como sus derivados glicosilados. Los taninos y las antocianinas están principalmente en las semillas y piel de la uva, las cuales a su vez son quienes conforman el orujo, materia prima para la elaboración de la harina de estudio (Quagliari et al., 2017).

En la tabla 4 se muestra el contenido de PT para cada uno de los métodos de secado evaluados, encontrándose que el secado realizado en el deshidratador permite obtener los mayores contenidos de PT (146,23 mg GAE/gWGPF). Al hacer la comparación estadística de los valores obtenidos para cada harina elaborada se verificó que la influencia del método de secado es estadísticamente significativa con $p < 0,05$. Las diferencias obtenidas entre los diferentes métodos de secado puede explicarse si se considera que los tiempos de exposición a la luz y temperatura varían de método a método; como consecuencia aquellos métodos de secado con mayores tiempos de exposición (secado natural con una duración de 7 días a temperatura ambiente de aproximadamente 24°C, y horno de conducción con mínimo 1 día de secado a 60°C) conducen a menores contenidos de PT que el obtenido en el deshidratador (secado durante 6 h a 60°C). Aunque a lo mejor de nuestro conocimiento este resultado no ha sido previamente evidenciado por otros autores en harinas de orujo, Larrea (2012) determinó que la temperatura de extracción de polifenoles influyó significativamente en el contenido de PT obtenidos para los extractos de semillas de uva, disminuyendo de $26,30 \pm 1,53$ mg GAE/gWGPF a 50°C hasta $22,55 \pm 0,8$ mg GAE/gWGPF a 20°C.

Tabla 4.

Comparación de la cantidad de polifenoles obtenida según los métodos de secado estudiados.

<i>Tipo de harina</i>	<i>Tipo de secado</i>	<i>Cantidad de polifenoles [mgGAE/gWGPF]</i>	<i>Valor reportado en literatura [mgGAE/gWGPF]</i>	<i>Referencia</i>
<i>Harina con semillas</i>	Natural	86,571 ± 0,046	44,74 ^{ad}	30,40 ^{bd} (Tseng & Zhao, 2012)
	Horno conducción	62,093 ± 0,014	44 ^{ac}	23,88 ^{bc} (Tseng & Zhao, 2012)
	Deshidratador	146,230 ± 0,020	42,4 ± 2,3	41,1 (Salinas Des Chanalet, 2015), (Reyes et al., 2020)
<i>Harina despepitada</i>	Deshidratador	114,446 ± 0,012		

Nota: ^a Harina de orujo variedad Pinot Noir. ^b Harina de orujo variedad Merlot. ^c Secado en horno de conducción a 40°C. ^d Secado a temperatura ambiente de 25 °C.

± = Desviación estándar para análisis realizados en duplicado.

Cabe mencionar que los resultados obtenidos fueron superiores a los encontrados en la literatura utilizando el mismo método de secado con deshidratador a 60°C, donde Salinas Des Chanalet (2015) obtuvo 42,4 ± 2,3 mg GAE/gWGPF y Reyes et al. (2020) obtuvo 41,1 mg GAE/gWGPF utilizando también un deshidratador, mientras que en esta investigación se obtuvo un máximo de 146,230 ± 0,020 mg GAE/gWGPF utilizando la deshidratación como método de secado. Las diferencias pueden explicarse si se tiene en cuenta que tanto las variedades de uva, como las condiciones agroclimáticas fueron diferentes entre los trabajos analizados.

4.1.3 Determinación De La Capacidad Antirradicalaria

Las antocianinas y los taninos son poderosos antioxidantes que, como se dijo anteriormente, están presentes en grandes cantidades en la piel y semillas de la uva y; por lo tanto, en el orujo residual. Teniendo en cuenta esto, resulta apenas lógico determinar la capacidad antirradicalaria (responsable de la actividad antioxidante como consecuencia de la captura o secuestro de radicales libres que inician los procesos de oxidación) de las harinas de orujo, la cual sería una evidencia de que dicha harina podría tener características nutraceuticas. Para tal fin, se usó el método DPPH, el cual permite obtener una buena aproximación de la capacidad antirradicalaria de la harina de orujo, tal como concluye Kuskoski et al. (2005), quien comparó los resultados obtenidos por el método DPPH con otros métodos de estimación de la capacidad antioxidante para frutos con alto contenido de taninos y antocianinas.

La siguiente tabla muestra la capacidad antirradicalaria de los tipos de harina, siendo la harina obtenida por el método de deshidratación la de mayor valor para ambos tipos de harina (con y sin semillas) con 439,42 y 463,39 $\mu\text{mol Trolox/gWGPF}$ respectivamente. La harina obtenida por secado natural tiene una capacidad antirradicalaria unas 10 veces menor (48,9210 $\mu\text{mol Trolox/gWGPF}$) que la obtenida en el deshidratador, mientras que la obtenida en horno de conducción presentó alrededor de 24,83 $\mu\text{mol Trolox/gWGPF}$. Los valores obtenidos fueron comparados con Salinas Des Chanalet (2015) quien en su estudio obtuvo una capacidad antioxidante de $365,8 \pm 37,3 \mu\text{mol Trolox/gWGPF}$ para la harina secada por deshidratador, valor similar al obtenido en este estudio; mientras que para la harina secada naturalmente y en horno de conducción no se encontró un referente que evaluara la capacidad antioxidante.

Tabla 5.

Comparación de la actividad antioxidante de la harina de orujo obtenida a partir de los métodos de secado estudiados.

<i>Tipo de harina</i>	<i>Tipo de secado</i>	<i>TEAC ($\mu\text{mol Trolox/gWGPF}$)</i>
<i>Harina con semillas</i>	Natural	48,92 \pm 0,042
	Horno conducción	24,83 \pm 0,07
	Deshidratador	439,42 \pm 0,006
<i>Harina despepitada</i>	Deshidratador	463,39 \pm 0,002

Nota: \pm = Desviación estándar para análisis realizados en duplicado.

Al realizar el análisis comparativo de los resultados obtenidos para la capacidad antioxidante de las diferentes harinas se encontró que la influencia del tipo de secado es estadísticamente significativa ($p < 0,05$) y concuerda con que a mayor contenido de polifenoles, mayor capacidad antioxidante, como lo indican los estudios realizados a materias vegetales con alto contenido de polifenoles que concluyen que existe una relación estrecha y proporcional entre PT y capacidad antirradicalaria (Duh, 1999).

Considerando los parámetros de contenido de polifenoles, capacidad antirradicalaria y fibra total, se seleccionó la deshidratación como el mejor método de secado entre los métodos estudiados, dado que este método no sólo permite obtener mayores valores de PT y capacidad antirradicalaria sino que el tiempo en el cual se debe operar para secar el orujo es de aproximadamente 6 horas, siendo significativamente menor al ser comparado con el secado natural que tarda 7 días y el horno de conducción que tarda 2 días aproximadamente.

4.2 Determinación De La Influencia Del Despepitado En La Cantidad De Polifenoles Y Cuantificación De Polifenoles Totales

4.2.1 Cuantificación De Polifenoles Totales

Se encontró que el mayor contenido de PT del orujo se obtiene a partir del orujo deshidratado con semillas con 146,230 mgGAE/gWGPF tal como se muestra en la tabla 4. Al comparar este valor con los reportados por autores como Reyes et al. (2020) donde también el orujo de uva Cabernet Sauvignon fue secado por deshidratación (donde el rango de PT estaba entre 33,8 y 41,1 mgGAE/gWGPF), se observa que en la presente investigación se obtuvieron mejores resultados. Aunque en este trabajo no se determinó el perfil de polifenoles, la diferencia en los contenidos de polifenoles totales podría deberse a las diferencias de composición en antocianinas y taninos, las cuales dependen de las variedades de uva y de factores tales como el potencial intrínseco de cada variedad, el cual puede variar según las condiciones climáticas del cultivo de la vid; el calor, las sequías y la intensidad luminosa, entre otros factores agroclimáticos que influyen directamente en el metabolismo polifenólico y en el desarrollo de la composición química de la uva (Franco-Bañuelos et al., 2017).

Al realizar un análisis comparativo del contenido de polifenoles totales entre la harina con y sin semillas se encontró que hay una diferencia estadísticamente significativa con un valor $p = 4,661 \text{ E-}02$ ($p < 0,05$), por lo que es posible afirmar que las semillas de uva que contiene el orujo le confieren un mayor contenido de polifenoles (los cuales probablemente pertenezcan a las familias de antocianinas, taninos y ácidos fenólicos) (Jara-Palacios et al., 2016) a la harina de orujo de uva, potenciando a su vez el contenido nutricional de la misma.

4.2.2 Determinación De La Capacidad Antirradicalaria

En este ensayo, la mayor capacidad antirradicalaria fue obtenida para la muestra de harina de orujo deshidratado sin semillas (Tabla 5). Al comparar los valores de las muestras de harinas deshidratadas con y sin semillas, y realizar el análisis estadístico se pudo establecer que la influencia del despepitado es significativa, dando un valor $p = 0,001$ ($p < 0,05$). Con lo anterior se concluye que la medición no arrojó los resultados que se esperaban según la literatura, puesto que la muestra con semillas debía presentar un mayor valor de TEAC según reportes de autores que indican que la adición de las semillas de uva permite mejorar el contenido de polifenoles totales, tal como se mencionó anteriormente y que en consecuencia, aumentaría la actividad antioxidante de la harina (Jara-Palacios et al., 2016)(Canals et al., 2008)(Yilmaz & Toledo, 2004).

Estos hallazgos sugieren que los compuestos antioxidantes presentes en las semillas del orujo deshidratado son altamente lipofílicos debido a las grasas presentes en la semilla, siendo estos compuestos más sensibles a la técnica ABTS, la cual se recomienda para el estudio de estos compuestos que son altamente pigmentados. (Huet-Breña, 2017)(Zapata et al., 2013)(Floegel et al., 2011). Según Londoño (2012) el método DPPH no mostró ser muy bueno para medir la adaptabilidad de compuestos lipofílicos. Asimismo, hay que tener cuidado a la hora de interpretar los resultados asociados con el contenido de PT puesto que el reactivo de Folin Ciocalteu reacciona con todo tipo de sustancias que tengan características reductoras, tales como azúcares y; por lo tanto, es posible que haya una sobrestimación de la cantidad de polifenoles presentes en una muestra en particular. Por esta razón se sugiere hacer un estudio más profundo determinando los contenidos de polifenoles usando técnicas específicas tales como la cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC).

Cabe mencionar que los resultados del contenido de polifenoles obtenidos por el método de *Folin-Ciocalteu* sugieren un potencial antioxidante muy elevado en el orujo de uva, lo cual hace que la capacidad antioxidante de esta materia prima sea comparable e incluso superior a la de otros frutos silvestres considerados como potentes antioxidantes como los arándanos, los cuales según Christian et al. (2021) tienen una capacidad antioxidante entre 64,19 y 59,91 $\mu\text{mol Trolox/gWGPF}$.

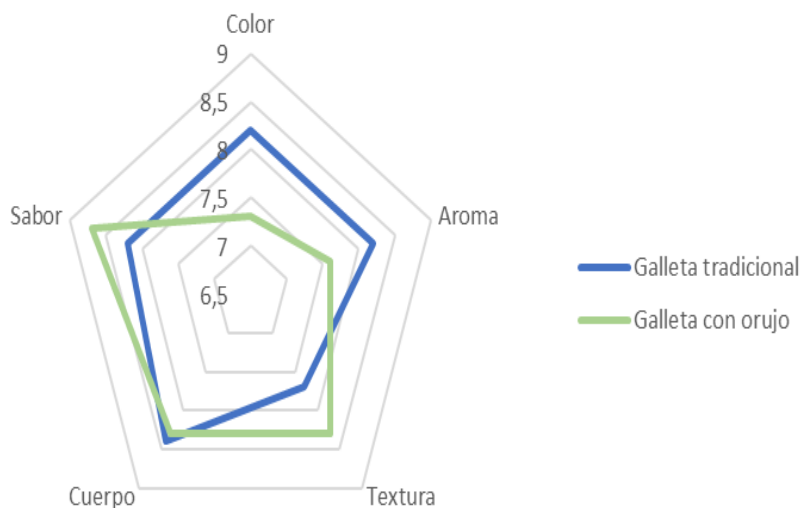
4.3 Determinación De La Aceptabilidad Del Prototipo De Galleta

4.3.1 Análisis Sensorial

El análisis sensorial se realizó evaluando dos galletas, una galleta tradicional de mantequilla elaborada únicamente con harina de trigo (200 g) y otra con un 15% de harina de orujo (30 g) y 85% de harina de trigo (170 g). Durante el panel de cata, se solicitó evaluar los atributos color, aroma, textura, cuerpo y sabor, basada en la escala hedónica de nueve puntos desde un rango de “me gusta extremadamente (9)” a “me disgusta extremadamente (1)”. En la prueba participaron 20 evaluadores no entrenados los cuales recibieron un kit de cata con la ficha de evaluación de sensorial con las indicaciones y recomendaciones correspondientes para evaluar ambas galletas.

Figura 2.

Esquema tipo radar con los resultados de la prueba hedónica aplicada a galletas tipo mantequilla usando harina de trigo con y sin adición de harina de orujo.



En la figura 2 se presenta el esquema tipo radar con los resultados obtenidos del panel de cata. En éste se puede observar que las muestras de galleta tradicional mostraron una mayor aceptación en los atributos de color y aroma con una frecuencia de respuesta de “me gustó extremadamente” del 50 % para dichos atributos. Los panelistas indicaron que el color (Apéndice F) de la galleta con orujo, cuya tonalidad es oscura, es muy diferente al tradicional y aunque no desagrada visualmente preferirían otra tonalidad. Con relación al aroma, las personas que participaron en el estudio mencionaron que las galletas con harina de orujo conservan el olor del vino o uva. En cuanto al sabor, los consumidores mostraron una mayor aceptación por la galleta con orujo debido a que era una combinación de sabores nuevos por las notas ácidas características de los ácidos presentes en la uva, tal como lo manifestaron en las observaciones hechas por cada uno, siendo “me gustó extremadamente” la respuesta con mayor frecuencia (70%). Así mismo, la textura de las galletas que mostró mayor aceptación

fue la de la galleta con orujo, gracias a la percepción de los gránulos de la uva. Por último, el atributo de cuerpo no mostró una diferencia significativa en las respuestas obtenidas, con un 60% de la respuesta de mayor grado en ambos casos, lo que indica que los panelistas consideraron la consistencia, crocancia y porosidad como aceptable en ambas galletas y permitiendo concluir que las semillas de la uva no generaron un impacto negativo en estas características. En general, la galleta de harina de orujo fue aceptada positivamente por los catadores en cuanto a los atributos evaluados.

4.3.2 Análisis Bromatológico, Polifenoles Totales Y Capacidad Antirradicalaria Del Prototipo

Con el apoyo del grupo de investigación CICTA, se realizó el análisis bromatológico, cuantificación de polifenoles totales y capacidad antioxidante del prototipo de galleta con adición de harina de orujo (85% harina de trigo y 15% harina de orujo en peso) y de la galleta control (100% harina de trigo). Los resultados obtenidos en los informes se muestran en la tabla 6.

Los resultados de polifenoles totales y capacidad antioxidante muestran que para la galleta control estos valores son nulos, lo anterior concuerda con lo encontrado en la literatura pues la harina de trigo reporta valores muy bajos (polifenoles totales dentro de un rango de 1,66 a 2,01 mg GAE/g y capacidad antioxidante entre 2,83 a 3,90 $\mu\text{mol Trolox/g}$)(Lv et al., 2012)(Yu et al., 2013) mientras que para la galleta con adición de harina de orujo de uva los valores son de 6,90 mg EAG/g y 183,23 $\mu\text{mol Trolox/g}$, respectivamente, lo cual demuestra que la adición de la harina elaborada y analizada en este proyecto contribuye a la mejora de las propiedades funcionales del prototipo de galleta. En teoría el prototipo para el caso del contenido de polifenoles basado en el balace de materia, debe contener 9,71 mg EAG/g, que

comparado con el contenido real es aproximadamente 30% menos, sin embargo, esto se le atribuye a que en la elaboración del prototipo los polifenoles, que son compuestos termolábiles, son sometidos a una etapa de horneado con temperaturas de 180°C,

Tabla 6.

Valores nutricionales de la galleta

<i>Parámetro</i>	<i>Unidades</i>	<i>Galleta de harina de trigo/control</i>	<i>Galleta con orujo de uva</i>
<i>Humedad</i>	g/100g muestra (%)	3,17	7,52
<i>Ceniza</i>	g/100g muestra (%)	0,37	1,02
<i>Grasa</i>	g/100g muestra (%)	18,91	19,27
<i>Proteína</i>	g/100g muestra (%)	7,66	6,80
<i>Carbohidratos totales</i>	g/100g muestra (%)	69,93	65,39
<i>Polifenoles totales</i>	mg EAG/g muestra	0,00	6,90
<i>Capacidad antioxidante</i>	μmol Trolox/g muestra	0,00	183,27

5 Conclusiones

Los orujos fermentados obtenidos del viñedo Ain Karim constituyen una buena fuente de polifenoles que permiten la elaboración de una harina de orujo de uva tinta de la variedad Cabernet Sauvignon con contenidos de polifenoles totales y capacidad antirradicalaria que podrían conferirles propiedades funcionales aumentadas.

El tipo de secado al cual se somete el orujo fresco como parte de la elaboración de la harina de orujo de uva, tiene una influencia estadísticamente significativa sobre el contenido de polifenoles y la capacidad antirradicalaria de la misma, por lo tanto, se seleccionó la deshidratación como el mejor método de secado, dado que permite obtener valores de 439,42 TEAC y 146,230 mgGAE/gWGPF para la capacidad antioxidante y el contenido de polifenoles respectivamente. En cuanto al contenido de fibra se encontró que para todos los

métodos de secado éste no varió y se mantuvo alrededor de 20 g/ 100 g. Debido a esto, el secado en deshidratador es de gran interés ya que permite una mayor conservación de las propiedades antioxidantes y requiere cortos tiempos de secado a comparación de los otros métodos.

Una vez elaboradas las harinas a partir del orujo de uva fermentado se comprobó que el despepitado de éstas es estadísticamente significativo en la capacidad antioxidante. No obstante, los resultados no fueron los esperados pues se obtuvo un mayor valor para la harina despepitada (463,39 TEAC) que sin despepitarse (439,42 TEAC), lo que se puede deber a que posiblemente el perfil individual de los PT o la prueba antirradicalaria aplicada puede conducir a una subestimación de la capacidad antioxidante.

Finalmente, fue posible la elaboración de un prototipo de galleta utilizando un 15% en peso de harina de orujo de uva fermentado conservando las características organolépticas de una galleta de trigo convencional, el cual fue aceptado positivamente por un panel de cata no entrenado. Los promedios obtenidos fueron 7,3 para color, 7,6 para aroma, 8,3 para textura, 8,3 para cuerpo y 8,7 para sabor. Este prototipo además conserva parte de las propiedades antioxidantes de la harina de orujo, con una cuantificación de polifenoles de 6,90 mg EAG/g y capacidad antioxidante de 183,23 $\mu\text{mol Trolox/g}$, mientras para la galleta de trigo convencional los valores fueron nulos.

6 Recomendaciones

Debido al alto contenido de cenizas encontrado en la harina de orujo de uva, se recomienda para un estudio futuro, analizar el contenido de metales en las cenizas ya que

estos pueden llegar a ser benéficos para la salud (macroelementos sodio, potasio, magnesio y calcio, los microelementos manganeso, hierro, cobre, zinc, cromo y níquel) o tener efectos adversos (elementos traza tóxicos cadmio, plomo, entre otros).

Referencias Bibliográficas

- Acun, S., & Gül, H. (2014). Effects of grape pomace and grape seed flours on cookie quality. *Quality Assurance and Safety of Crops and Foods*, 6(1), 81–88.
<https://doi.org/10.3920/QAS2013.0264>
- Agudelo-Botero, M., & Dávila-Cervantes, C. A. (2015). Carga de la mortalidad por diabetes mellitus en América Latina 2000-2011: los casos de Argentina, Chile, Colombia y México. *Gaceta Sanitaria*, 29(3), 172–177.
<https://doi.org/10.1016/j.gaceta.2015.01.015>
- Aplicaciones y nuevos usos de subproductos de la vinificación - Vitivinícola.*
 Recuperado el 30 noviembre 2020, desde
<https://www.interempresas.net/Vitivinicola/Articulos/245686-Aplicaciones-y-nuevos-usos-de-subproductos-de-la-vinificacion.html>
- Beres, C., Freitas, S. P., Godoy, R. L. de O., de Oliveira, D. C. R., Deliza, R., Iacomini, M., Mellinger-Silva, C., & Cabral, L. M. C. (2019). Antioxidant dietary fibre de grape pomace flour or extract: Does it make any difference on the nutritional and functional value? *Journal of Functional Foods*, 56(March), 276–285.
<https://doi.org/10.1016/j.jff.2019.03.014>
- Camargo Sierra, Angelica Maria (2017). Prácticas residenciales y movilidad social, Universidad Externado de Colombia.
- Canals, R., del Carmen Llaudy, M., Canals, J. M., & Zamora, F. (2008). Influence of the elimination and addition of seeds on the colour, phenolic composition and astringency

of red wine. *European Food Research and Technology*, 226(5), 1183–1190.
<https://doi.org/10.1007/s00217-007-0650-8>

Christian, G., Arriola, P., Esther, S., & Ovalle, T. (n.d.). *UNIVERSIDAD NACIONAL DEL CALLAO ESCUELA DE POSGRADO "CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y COMPUESTOS*.

Colombia tiene gran potencial para sembrar vid y producir vinos de alta calidad. Recuperado el 1 noviembre 2021, de <https://www.agronegocios.co/agricultura/colombia-tiene-gran-potencial-para-sembrar-vid-y-producir-vinos-de-alta-calidad-3212646>

Diabetes - Symptoms and causes - Mayo Clinic. (n.d.). Recuperado el 22 septiembre 2020, de <https://www.mayoclinic.org/diseases-conditions/diabetes/symptoms-causes/syc-20371444>

Duh, P. der. (1999). Antioxidant activity of water extract of four Harnng Jyur (*Chrysanthemum morifolium* Ramat) varieties in soybean oil emulsion. *Food Chemistry*, 66(4), 471–476. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(99\)00081-3](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(99)00081-3)

Duneska, C., Bustillo Escuela, C., Panamericana, A., & Honduras, Z. (2013). *Comparación de la escala hedónica de nueve puntos con la escala hedónica general de magnitud (gLMS) utilizada por personas de dos regiones de América Latina*.

E, L. E. N. v. (2013). *De Residuos del Vino a Productos de Alto Valor Añadido LIFE HApróWINE*.

Fibra alimentaria | CuidatePlus. (n.d.). Recuperado el 16 julio 2020, de <https://cuidateplus.marca.com/alimentacion/diccionario/fibra.html>

Floegel, A., Kim, D. O., Chung, S. J., Koo, S. I., & Chun, O. K. (2011). Comparison of ABTS/DPPH assays to measure antioxidant capacity in popular antioxidant-rich US

foods. *Journal of Food Composition and Analysis*, 24(7), 1043–1048.
<https://doi.org/10.1016/j.jfca.2011.01.008>

Franco-Bañuelos, A., Contreras-Martínez, C. S., Carranza-Téllez, J., & Carranza-Concha, J. (2017). Total phenolic content and antioxidant capacity of non-native wine grapes grown in zacatecas, Mexico. *Agrociencia*, 51(6), 661–671.

Franco-Mora, O., Salomon-Castañ, J., Morales P., A. A., Castañeda-Vildózola, Á., & Rubí-Arriaga, M. (2015). Fatty acids and parameters of quality in the oil of wild grapes (*Vitis* spp.). *Scientia Agropecuaria*, 6(4), 271–278.
<https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2015.04.04>

Gil De Los Santos, D., Gil Turnes, C., & Rochedo Conceição, F. (2012). Bioremediation of parboiled rice effluent supplemented with biodiesel-derived glycerol using *pichia pastoris* 20-33. *The Scientific World Journal*, 2012.
<https://doi.org/10.1100/2012/492925>

Grupo de Investigación en Tecnologías de Valorización de Residuos y Fuentes Agrícolas e Industriales para la Sustentabilidad Energética (INTERFASE). (n.d.). *Protocolo polifenoles totales. Cuantificación del contenido de polifenoles totales presentes en extractos fenólicos de grano de cacao y cáscara de cacao*.

Guntero, V., Longo, M., Ciparicci, S., Martini, R., Andreatta, A., & Reg San Fco, F. (2015). COMPARACIÓN DE MÉTODOS DE EXTRACCIÓN DE POLIFENOLES A PARTIR DE RESIDUOS DE LA INDUSTRIA VITIVINÍCOLA. In *AAIQ, Asociación Argentina de Ingenieros Químicos- CSPQ*.

- Hadjivassiliou, M., Grünewald, R. A., & Davies-Jones, G. A. B. (2002). Gluten sensitivity as a neurological illness. *Journal of Neurology Neurosurgery and Psychiatry*, 72(5), 560–563. <https://doi.org/10.1136/jnnp.72.5.560>
- Huet-Breña, C. (2017). *Métodos analíticos para la determinación de antioxidantes en muestras biológicas*. 1–20.
- Icontec.org. (2013). *NTC 267 Harina de trigo*. 571, 5. <https://es.scribd.com/doc/175648904/NTC-267-HARINAS-pdf>
- Jara-Palacios, M. J., Hernanz, D., Escudero-Gilete, M. L., & Heredia, F. J. (2016). The use of grape seed byproducts rich in flavonoids to improve the antioxidant potential of red wines. *Molecules*, 21(11). <https://doi.org/10.3390/molecules21111526>
- Javier, L. P. (2012). *Obtención de extractos polifenólicos a partir de uva para uso alimentar*.
- Juárez Trujillo, N., Jiménez Fernández, M., Guerrero Analco, J. A., Monribot Villanueva, J. L., & Jiménez Fernandez, M. (2017). Caracterización del aceite y harina obtenido de la semilla de uva silvestre (*Vitis tiliifolia*). *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 8(5), 1113. <https://doi.org/10.29312/remexca.v8i5.112>
- Kuskoski, E. M., Asuero, A. G., Troncoso, A. M., Mancini-Filho, J., & Fett, R. (2005). Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 25(4), 726–732. <https://doi.org/10.1590/s0101-20612005000400016>
- Londoño, J. L., & Químico Farmacéuti-Co, P. (n.d.). *Antioxidantes: importancia biológica y métodos para medir su actividad PARTE III / PART III*. 129–162.
- López-Giraldo, L. J., Laguerre, M., Lecomte, J., Figueroa-Espinoza, M. C., Baréa, B., Weiss, J., Decker, E. A., & Villeneuve, P. (2009). Kinetic and stoichiometry of the reaction of

chlorogenic acid and its alkyl esters against the DPPH radical. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(3), 863–870. <https://doi.org/10.1021/jf803148z>

Lv, J., Yu, L., Lu, Y., Niu, Y., Liu, L., Costa, J., & Yu, L. (2012). Phytochemical compositions, and antioxidant properties, and antiproliferative activities of wheat flour. *Food Chemistry*, 135(2), 325–331. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.04.141>

Monteiro, G. C., Minatel, I. O., Junior, A. P., Gomez-Gomez, H. A., de Camargo, J. P. C., Diamante, M. S., Pereira Basílio, L. S., Tecchio, M. A., & Pereira Lima, G. P. (2021). Bioactive compounds and antioxidant capacity of grape pomace flours. *Lwt*, 135(August 2020). <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110053>

Muncaciu, M. L., Zamora Marín, F., Pop, N., & Babeş, A. C. (2017). Comparative polyphenolic content of grape pomace flours de “Fetească Neagră” and “Italian riesling” cultivars. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 45(2), 532–539. <https://doi.org/10.15835/nbha45210872>

OPS/OMS | *Obesidad una precursora de la Diabetes*. (n.d.). Recuperado el 22 september 2020, de https://www.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=6718:2012-obesity-as-precursor-diabetes&Itemid=39448&lang=es

Organizacion Mundial de la Salud. (2016). *Informe Mundial Sobre la diabetes*.

Piovesana, A., Bueno, M. M., & Klajn, V. M. (2013). Elaboração e aceitabilidade de biscoitos enriquecidos com aveia e farinha de bagaço de uva. *Brazilian Journal of Food Technology*, 16(1), 68–72. <https://doi.org/10.1590/s1981-67232013005000007>

Prueban los beneficios nutricionales del orujo del Malbec - Prensa Institucional UNCUYO.

(n.d.). Recuperado el 24 marzo 2021, de <http://www.uncuyo.edu.ar/prensa/prueban-los-beneficios-nutricionales-del-orujo-del-malbec>

Pszczółkowski, P., & Ceppi De Lecco, C. (2016). Manual de vinificación: Guía práctica para la elaboración de vinos. *Ediciones UC, Reimpresio*(November), 122. <https://doi.org/10.13140/2.1.2037.6009>

Quaglieri, C., Prieto-Perea, N., Berrueta, L. A., Gallo, B., Rasines-Perea, Z., Jourdes, M., & Teissedre, P. L. (2017). Comparison of aquitaine and Rioja red wines: Characterization of their phenolic composition and evolution from 2000 to 2013. *Molecules*, 22(2). <https://doi.org/10.3390/molecules22020192>

Revista Pan Caliente Colombia - [Blog - Consumo de Trigo en Colombia]. Recuperado el 31 agosto 2020, de <http://www.revistapancaliente.co/hablemos-de/consumo-de-trigo-en-colombia/>

Reyes, P., Urquiaga, I., Echeverría, G., Durán, E., Morales, M. S., & Valenzuela, C. (2020). Wine grape pomace flour in broiler diets effects growth and some meat characteristics. *Animal Production Science*, 60(9), 1210–1216. <https://doi.org/10.1071/AN19385>

Ruíz, A. A. B. (2015). *Enología 2015. Innovación vitinícola*. 3(2), 54–67. <http://repositorio.unan.edu.ni/2986/1/5624.pdf>

Salinas Des Chanalet, N. J. (2015). *Estudio De Los Parámetros De Elaboración De Harina De Bagazo De Uva Para La Obtención De Un Producto Con Propiedades Funcionales*. Universidad De Chile.

- Sebastián Ramírez-Navas, J. (2014). *Análisis sensorial: pruebas orientadas al consumidor Alimentos Funcionales e Ingredientes Naturales View project Lácteos concentrados azucarados: de la tradición a la ciencia View project*. <http://revistareciteia.es/tl/>
- Shinagawa, F. B., de Santana, F. C., Torres, L. R. O., & Mancini-Filho, J. (2015). Grape seed oil: A potential functional food? *Food Science and Technology*, 35(3), 399–406. <https://doi.org/10.1590/1678-457X.6826>
- Sousa, E. C., Uchôa-Thomaz, A. M. A., Carioca, J. O. B., de Moraes, S. M., de Lima, A., Martins, C. G., Alexandrino, C. D., Ferreira, P. A. T., Rodrigues, A. L. M., Rodrigues, S. P., Silva, J. do N., & Rodrigues, L. L. (2014). Chemical composition and bioactive compounds of grape pomace (*Vitis vinifera* L.), Benitaka variety, grown in the semiarid region of Northeast Brazil. *Food Science and Technology*, 34(1), 135–142. <https://doi.org/10.1590/S0101-20612014000100020>
- Šporin, M., Avbelj, M., Kovač, B., & Možina, S. S. (2018). Quality characteristics of wheat flour dough and bread containing grape pomace flour. *Food Science and Technology International*, 24(3), 251–263. <https://doi.org/10.1177/1082013217745398>
- Tseng, A., & Zhao, Y. (2012). Effect of Different Drying Methods and Storage Time on the Retention of Bioactive Compounds and Antibacterial Activity of Wine Grape Pomace (Pinot Noir and Merlot). *Journal of Food Science*, 77(9). <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2012.02840.x>
- Urquiaga, I., d'Acuña, S., Pérez, D., Dicenta, S., Echeverría, G., Rigotti, A., & Leighton, F. (2015). Wine grape pomace flour improves blood pressure, fasting glucose and protein damage in humans: a randomized controlled trial. *Biological Research*, 48, 49. <https://doi.org/10.1186/s40659-015-0040-9>

- Yilmaz, Y., & Toledo, R. T. (2004). Major Flavonoids in Grape Seeds and Skins: Antioxidant Capacity of Catechin, Epicatechin, and Gallic Acid. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(2), 255–260. <https://doi.org/10.1021/jf030117h>
- Yu, L., Nanguet, A. L., & Beta, T. (2013). Comparison of antioxidant properties of refined and whole wheat flour and bread. *Antioxidants*, 2(4), 370–383. <https://doi.org/10.3390/antiox2040370>
- Zapata, K., Cortes, F. B., & Rojano, B. A. (2013). Polifenoles y Actividad Antioxidante del Fruto de Guayaba Agria (*Psidium araca*). *Informacion Tecnologica*, 24(5), 103–112. <https://doi.org/10.4067/S0718-07642013000500012>

Apéndices

Apéndice A. Ficha Del Análisis Sensorial Aplicado Al Panel De Cata No Entrenado

FICHA DE EVALUACIÓN SENSORIAL

FECHA:

PRODUCTO: Galleta tradicional de trigo dulce sabor a vainilla fortificada con harina de orujo fermentado de uva.

DATOS PANELISTA

Nombre:

Edad:

Sexo:

RECOMENDACIONES: Ubíquese en un lugar tranquilo, cómodo y libre de distracciones; que cuente con luz blanca o natural, una silla y una mesa para realizar la evaluación. **Es importante que no haya consumido café durante las últimas 24h e ingerido alimentos o hecho limpieza bucal durante las últimas 2 horas.**

INDICACIONES: esta evaluación se realiza con la finalidad de conocer el grado de aceptación del producto, basado en atributos de color, aroma, cuerpo, textura en boca y sabor.

Para iniciar el análisis sensorial ubique cada uno de los productos en el recipiente según corresponda. Los cuales se encuentran etiquetados así:

1. Muestra 1 de control
2. Muestra 2 de testeo
3. Galletas para limpieza de paladar
4. Café para neutralizar olores
5. Agua para limpieza de paladar

Seleccione una de las muestras de testeo e inicie el análisis sensorial, marque con una X según corresponda en el cuadro etiquetado con el número de muestra. Siga las siguientes recomendaciones para cada uno de los análisis.

Análisis de aroma: Se recomienda llevar el producto cerca de la nariz y realizar aspiraciones cortas, si considera necesario repetir el proceso se recomienda aspirar el aroma de café para neutralizar olores.

Análisis de sabor y textura: Se recomienda limpiar el paladar con agua, luego tomar una fracción moderada de la muestra y llevarla a la boca donde se debe mantener por un tiempo antes de masticar, para así apreciar los diferentes sabores, una vez identificados puede pasar la muestra, y limpiar el paladar con agua y una porción de galleta de sal.

Análisis del cuerpo: Este se refiere a la consistencia, porosidad, crocancia, aspecto y otras características que usted considere al momento de ingerir un producto de este tipo.

Para todo en general, deberá seleccionar con una X en cada atributo aquella opción que defina su aceptación.

Muestra #1					
Grado de aceptación	Color	Aroma	Textura	Cuerpo	Sabor
Me gusta extremadamente					
Me gusta mucho					
Me gusta moderadamente					
Me gusta poco					
No me gusta ni me disgusta					
Me disgusta poco					
Me disgusta moderadamente					
Me disgusta mucho					
Me disgusta extremadamente					

Observaciones:

Una vez finalizada la primera muestra, repita el proceso con la segunda, no olvide hacer la limpieza de paladar y neutralizar nuevamente los olores.

Muestra #2					
Grado de aceptación	Color	Aroma	Textura	Cuerpo	Sabor
Me gusta extremadamente					
Me gusta mucho					

Me gusta moderadamente					
Me gusta poco					
No me gusta ni me disgusta					
Me disgusta poco					
Me disgusta moderadamente					
Me disgusta mucho					
Me disgusta extremadamente					

Observaciones:

¡Muchas gracias por su participación!

Apéndice B. Formato Del Consentimiento Informado Para Los Participantes

PROYECTO EVALUACIÓN DE LA PRODUCCIÓN DE HARINA DE ORUJO FERMENTADO DE UVA PARA SU USO COMO ADITIVO ALIMENTARIO

Objetivo específico 3: Evaluar el grado de aceptación de un prototipo de galleta de mantequilla que contiene harina de orujo de uva y sus aportes nutricionales.

Consentimiento Informado para Participantes de Investigación

El propósito de esta ficha de consentimiento es proveer a los participantes en esta investigación con una clara explicación de la naturaleza de la misma, así como de su rol en ella como participantes.

La presente investigación es conducida por **MARIA XIMENA BARAJAS OTÁLORA Y LAURA DANIELA RODRÍGUEZ**, de la **Universidad Industrial de Santander**. El objetivo principal de este estudio es: **Evaluar los atributos sensoriales y la aceptabilidad de una galleta de mantequilla con orujo de uva fermentado.**

Si usted accede a participar en este estudio, se le pedirá hacer el análisis organoléptico de dos muestras de galletas presentadas en la ficha de cata que se le entrega a cada participante de la investigación. Los resultados de cada participante serán transcritos a un formato digital para su tratamiento y posterior anexo al resultado de la investigación.

La participación en este estudio es **estrictamente voluntaria**. La información que se recoja será confidencial y no se usará para ningún otro propósito fuera de los de esta investigación. Sus fichas serán codificadas usando un número de identificación y por lo tanto, serán anónimas.

Si tiene alguna duda sobre este proyecto, puede hacer preguntas en cualquier momento durante su participación en él. Igualmente, puede retirarse del proyecto en cualquier momento sin que eso lo perjudique en ninguna forma.

Desde ya le agradecemos su participación.

Acepto participar voluntariamente en esta investigación, conducida por Maria Ximena Barajas y Laura Daniela Rodríguez y he sido informado (a) sobre el objetivo del estudio.

Nombre del Participante

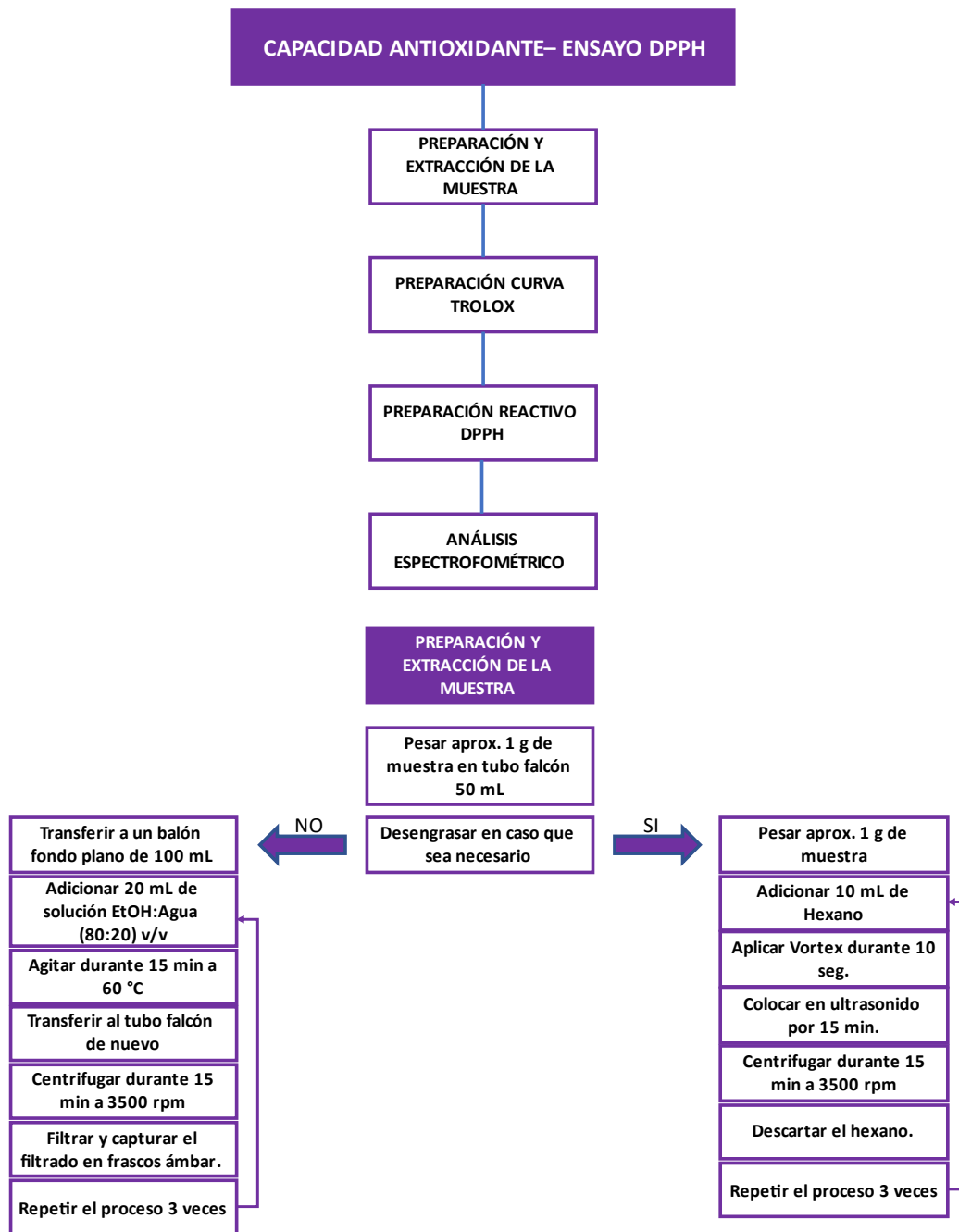
Firma del Participante

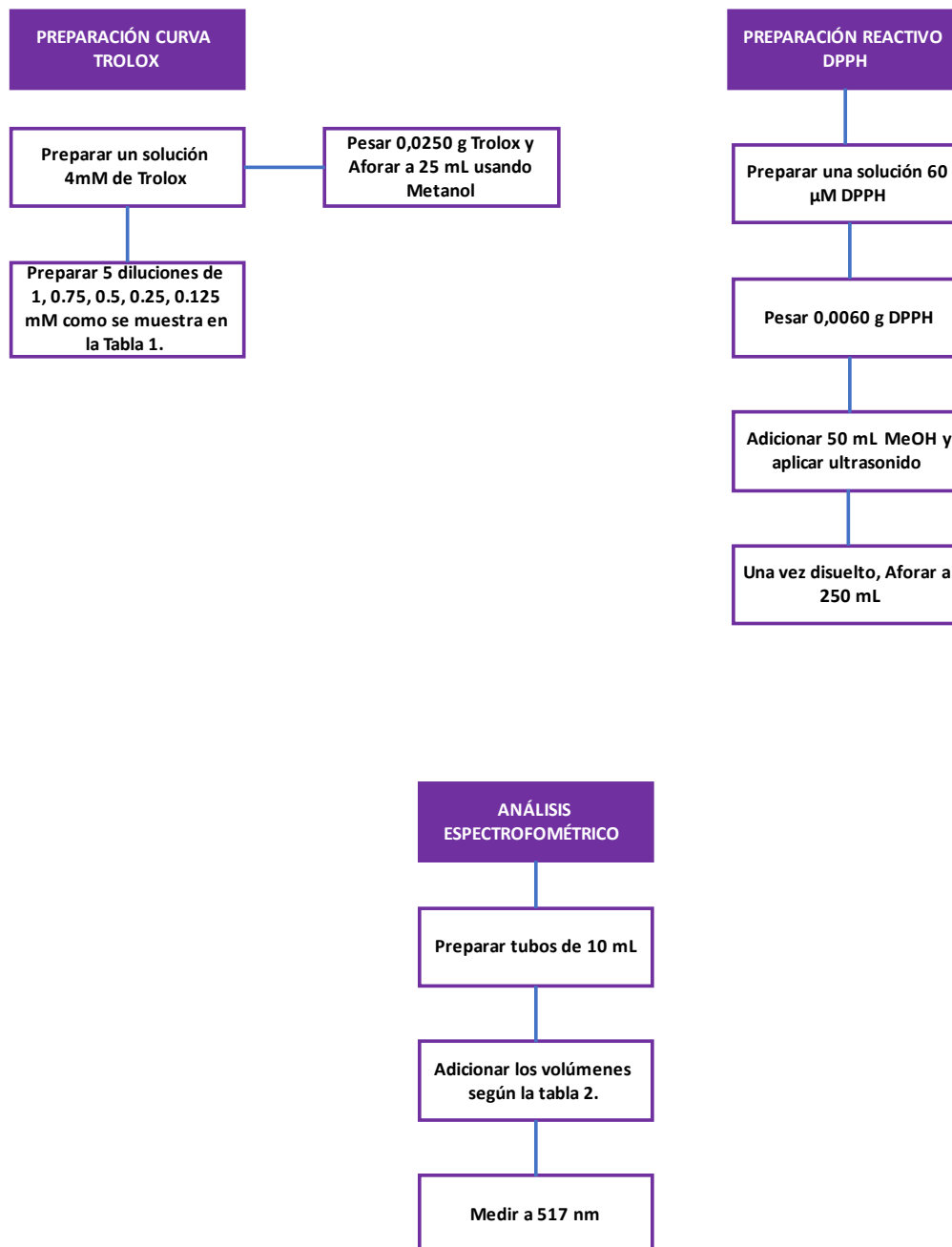
Fecha

(en letras de imprenta)

Adaptado de: (Camargo Sierra, Angelica Maria (2017). Prácticas residenciales y movilidad social, Universidad Externado de Colombia.

Apéndice C. Protocolo Para La Determinación De La Actividad Antioxidante Por El Método DPPH, Proporcionado Por El CICTA





Apéndice D. Metodología Descrita Por López-Giraldo Et Al. (2009)

Medida de la Actividad Antirradical del 5-CQA y sus Ésteres por el Método DPPH: El procedimiento para la determinación de los parámetros estacionarios de actividad antirradical se realizó por espectrometría según lo descrito por Brand-Williams et al., en el que la velocidad de blanqueo de un radical estable 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH•) se controla a 515 nm en presencia de una muestra fenólica como agente reductor. Las soluciones se prepararon de la siguiente manera: se colocaron 1,95 mL de solución metanólica de DPPH• (60 µM) en una cubeta de cuarzo de 1 cm y se completó con 50 µL de solución metanólica de compuesto fenólico (Φ-OH) (0,154-1,15 mM). Estas últimas concentraciones corresponden a relaciones molares de Φ-OH/DPPH• que oscilan entre 0,05 y 0,5. El decaimiento de la absorbancia a 515 nm debido a la reducción del radical DPPH• después de la adición de Φ-OH se monitoreó cada minuto hasta que alcanzó un estado estacionario (6 h) a 20 °C, utilizando un espectrómetro Lambda 25 UV (Perkin-Elmer, Courtaboeuf, Francia) equipado con un sistema de agitación y control de temperatura (Peltier Temperature Programmer 6+6, Perkin-Elmer). La homogeneidad del medio de reacción se garantizó mediante agitación magnética a 1000 rpm. Se realizó una corrección del blanqueo intrínseco de DPPH• en ausencia de Φ-OH para evitar una posible sobreestimación de la capacidad de Φ-OH (eq 1).

$$Abs^c = Abs_t + Abs_{t0}^b - Abs_t^b \quad (1)$$

donde Abs^c es la absorbancia corregida de la muestra, Abs_t es la absorbancia de la muestra en el tiempo t , y Abs_{t0}^b y Abs_t^b son la absorbancia del blanco (1.95 mL de DPPH• y 50 µL de metanol) a los 0 min y t min, respectivamente. Posteriormente, se calculó el porcentaje de DPPH• remanente utilizando la ecuación 2.

$$\% \text{ DPPH} = (\text{Abs}_{t_0} / \text{Abs}_t) \times 100 \quad (2)$$

donde Abs_{t_0} es la absorbancia corregida de la muestra a los 0 min y Abs_t es la absorbancia corregida en cada intervalo de tiempo. Para cada concentración de Φ -OH analizada, se representó el % de DPPH• remanente en función del tiempo (Figura 1), y se determinó el % de DPPH• remanente en estado estacionario (6 h). Luego se estableció el porcentaje de DPPH• residual en el estado estacionario en función de la relación molar de Φ -OH a DPPH• (Figura 2). La capacidad antirradical se definió así como la cantidad de antioxidante necesaria para disminuir la concentración inicial de DPPH• en un 50% y se expresó como EC50. Para mayor claridad, la actividad antirradical se expresó en equivalente Trolox (TE).

En cuanto al estudio de los parámetros cinéticos, se realizaron ligeras modificaciones al protocolo experimental. Brevemente, los principales cambios fueron los siguientes: (i) una concentración final de compuestos probados de 1,76-17,6 μM y (ii) una frecuencia de adquisición de 0,1 s durante 1-2 min. Vale la pena señalar que, aunque la adición de Φ -OH se realizó manualmente, se prestó mucha atención para minimizar la pérdida de información durante los primeros segundos de reacción. De esta manera, la adición de la solución de Φ -OH se logró en condiciones de agitación y después de que se equilibró la temperatura del medio de reacción y se inició el registro.

Figura 1.

Ejemplo de comportamiento clásico del porcentaje restante de DPPH• para varias proporciones de clorogenato de butilo/DPPH

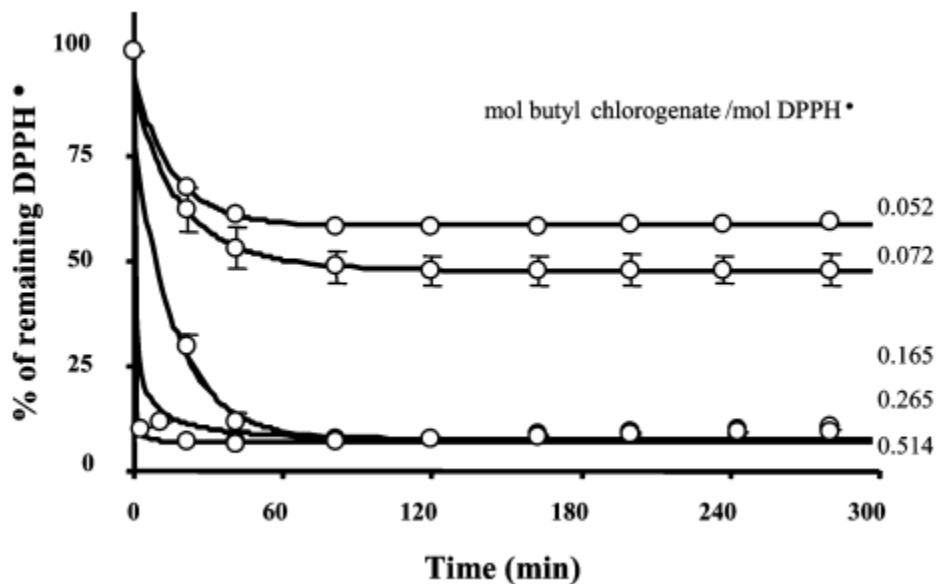
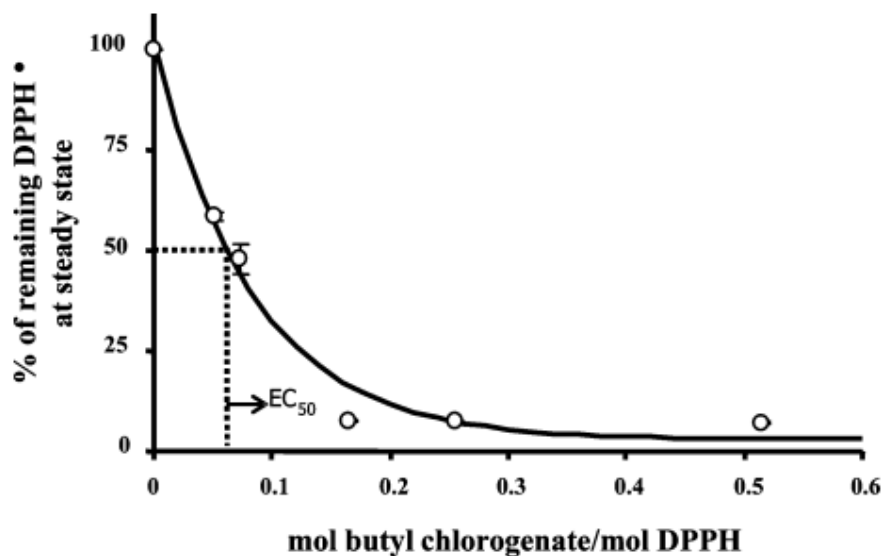


Figura 2.

Valores del porcentaje restante de DPPH• calculados en estado estacionario como una función de la relación molar de clorogenato de butilo/DPPH.



Apéndice E. Protocolo Para La Cuantificación De Los Polifenoles Totales Por El Método Folin Ciocalteu, Proporcionado Por INTERFASE

Protocolo polifenoles totales

Cuantificación del contenido de polifenoles totales (CH) presentes en extractos fenólicos de grano de cacao y cáscara de cacao.

Objetivo.

El contenido de polifenoles totales (CVF) presentes en los extractos se cuantificará empleando el método colorimétrico de Folin-Ciocalteu, siguiendo la metodología descrita por Wollgwst (2000).

Teoría

El método de Folin-ciocalteu se basa en una reacción de óxido-reducción. En el ensayo los iones del complejo polimérico formado los hetero-poliácidos y fosfomolibdenico y fosfotungstenico, son reducidos por los compuestos fenólicos y forman complejos molibdenotungsteno, de color azul oscuro. La intensidad del color azul oscuro depende del Ptencial redox del patrón o de la muestra.

Reactivos

- ✓ Reactivo Folin-Ciocalteu
- ✓ Ácido gálico
- ✓ Carbonato de sodio
- ✓ Agua destilada

Materiales y equipos

- ✓ Balanza analítica.
- ✓ Vortex.
- ✓ Espectrofotómetro.
- ✓ Tubos de ensayo de 5 ml.
- ✓ Gradillas.
- ✓ Pipetas
- ✓ Micro pipetas
- ✓ Timer (reloj).
- ✓ Vasos de precipitados
- ✓ Microplatos de 96 celdas transparente.
- ✓ Puntos azules.

- ✓ Microplatos de 96 celdas transparente.
- ✓ Puntos azules.

Procedimiento

A continuación, se describe brevemente el procedimiento a seguir:

1. Preparar las soluciones presentadas en la tabla 1:

Tabla 1.

Soluciones para cuantificar CPT

Soluciones	Condiciones
<i>Folin-Ciocalteu : agua</i>	Proporción: 10 ml:100 ml. Agitar a través de un mezclador de vórtice durante 15 segundos y almacenar en frasco de vidrio color ámbar. La solución presentará un color amarillo verdoso.
<i>Carbonato de sodio : agua</i>	Proporción: 7,5 g:100 ml. Agitar y almacenar en frasco de vidrio color ámbar. El carbonato de sodio demora en disolverse.
<i>Ácido gálico : agua</i>	Proporción: 0,2 g:100 ml. Agitar y almacenar en frasco de vidrio color ámbar. El ácido gálico demora en disolverse. Tener en cuenta que la señal de absorbancia se satura al superar una concentración de 1,8 mg/ml

2. Construir la curva de calibración tomando como patrón ácido gálico. Inicialmente se preparan diluciones a partir de la solución madre como se presenta a continuación:

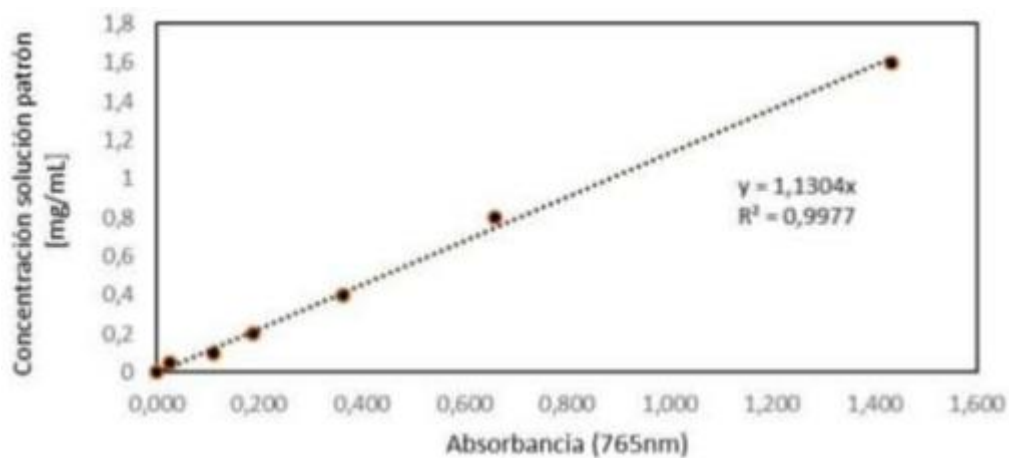
Tabla 2.*Composición de las soluciones patrón de ácido gálico*

Concentración final de la solución patrón (mg/ml)	Volumen tomado de la solución madre de ácido gálico:agua (μ l)	Volumen agregado de agua (μ l)
Blanco	0	5000
0,05	125	4875
0,1	250	4750
0,2	500	4500
0,4	1000	4000
0,8	2000	3000
1,6	4000	1000

Luego se determina la absorbancia de las soluciones a una longitud de onda de 765 nm. En todos los casos, se deben mezclar 1,5 ml de la solución Folin-Ciocalteu:agua y 50 μ l de la solución patrón de ácido gálico, agitándolos a través de un mezclador de vórtice durante 15 segundos. La mezcla permanecerá en reposo y protegida de la luz durante 5 minutos. Luego se agregarán 1,5 ml de solución de carbonato de sodio: agua y se realizará agitación a través de un mezclador de vórtice durante 15 segundos. Esta mezcla permanecerá en reposo y protegida de la luz durante 60 minutos. Finalmente, la absorbancia de todas las soluciones será evaluada por duplicado, y la concentración se correlacionará a través de la ecuación de una línea recta. Se hace una gráfica de Absorbancia vs. Concentración de ácido gálico. con un comportamiento lineal que presente un $R^2 > 0,98$.

Curva de calibración para la cuantificación de compuestos fenólicos totales**Tabla I.***Datos calibración polifenoles totales usando un patrón de ácido gálico*

Concentración final de la sin patrón [mg/mL]	Absorbancia promedio
0	0,243
0,05	0,268
0,1	0,353
0,2	0,430
0,4	0,605
0,8	0,903
1,6	1,675

Figura I.*Curva calibración polifenoles totales usando un patrón de ácido gálico*

Apéndice E. Registro fotográfico de las galletas elaboradas con harina de orujo

