



UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACÉUTICAS
DEPARTAMENTO DE CIENCIA DE LOS ALIMENTOS Y TECNOLOGÍA QUÍMICA
PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA
CENTRO DE NUTRICIÓN MOLECULAR Y ENFERMEDADES CRÓNICAS

**ESTUDIO DE LOS PARÁMETROS DE ELABORACIÓN DE HARINA DE
BAGAZO DE UVA PARA LA OBTENCIÓN DE UN PRODUCTO CON
PROPIEDADES FUNCIONALES**

NATALIA JESÚS SALINAS DES CHANALET



UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACÉUTICAS
DEPARTAMENTO DE CIENCIA DE LOS ALIMENTOS Y TECNOLOGÍA QUÍMICA
PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA
CENTRO DE NUTRICIÓN MOLECULAR Y ENFERMEDADES CRÓNICAS

PATROCINANTE

Andrea Bunger Timmermann.

Departamento de Ciencia de los
Alimentos y Tecnología Química.
Universidad de Chile.

DIRECTORAS DE MEMORIA

Andrea Bunger Timmermann.

Departamento de Ciencia de los
Alimentos y Tecnología Química.
Universidad de Chile.

Inés Urquiaga Reus.

Centro de Nutrición Molecular y
Enfermedades Crónicas.
Pontificia Universidad Católica.

ESTUDIO DE LOS PARÁMETROS DE ELABORACIÓN DE HARINA DE BAGAZO DE UVA PARA LA OBTENCIÓN DE UN PRODUCTO CON PROPIEDADES FUNCIONALES

MEMORIA PARA OPTAR AL TÍTULO DE INGENIERO EN ALIMENTOS

NATALIA JESÚS SALINAS DES CHANALET

Santiago, Chile

MAYO 2013

CIRCULACIÓN RESTRINGIDA MAYO 2015

AGRADECIMIENTOS

A mis padres, Antonio y Solange, y a mi hermana Daniela, por su apoyo incondicional, por sus palabras de cariño y aliento, y porque gracias a su esfuerzo constante pude realizar este sueño. Los amo infinito.

A mi Mundito amado, por su amor permanente e incondicional, por soportarme y abrazarme cada vez que fue necesario. Gracias por creer siempre en mí, te amo.

A Andrea Bunger, profesora guía y directora de memoria, por sus consejos, su tiempo, preocupación y disposición permanente, que me permitieron llevar a cabo esta memoria.

Al Centro de Nutrición Molecular y Enfermedades Crónicas y al Departamento de Ingeniería Química y de Bioprocesos de la Pontificia Universidad Católica, por darme la posibilidad de ser parte de este proyecto, facilitarme el material e instalaciones para poder desarrollar esta memoria. A todas las personas que trabajan en el Centro de Nutrición, en especial Inés Urquiaga, Druso Pérez-Pons y Sara Dicenta, por los conocimientos entregados, su ayuda y disponibilidad.

A mis amigas, a las que están lejos pero siempre en mi corazón y a las que están cerca por darme siempre su cariño, apoyo y motivación, las quiero. A todos mis compañeros de carrera, por haber hecho de este camino una de las mejores experiencias.

Por último, a Dios, por haberme dado la calma, concentración e inspiración necesaria, por haberme ayudado a mantener la fe y el optimismo hasta el final.

Gracias a todos...

RESUMEN

Se estudiaron los parámetros empleados para elaborar una harina de bagazo de uva (HBU) tinta y blanca, se variaron las condiciones en cada proceso con el fin de maximizar sus propiedades funcionales (capacidad antioxidante y fibra dietaria) y poder incorporarla a alimentos de consumo humano. Para esto se realizó un secado de los bagazos a tres temperaturas (40°, 60° y 80°C) hasta una humedad menor al 8%, se determinó que el tiempo de secado era inversamente proporcional a la temperatura en ambos bagazos. Se seleccionó la temperatura de 60°C como la mejor para los bagazos, considerando los criterios de selección y mediante análisis realizados de antioxidantes y fibra dietaria.

Posteriormente se realizó una molienda de los bagazos secados a 60°C y un tamizado, de donde se obtuvieron tres tamaños de partícula para ambas HBU (< 500 µm, < 500 - > 300 µm y < 300 µm). La HBU blanca obtuvo un mejor rendimiento en el tamizado en general. El tamaño de partícula menor a 500 µm fue escogido como el mejor para ambas HBU. Se determinó que las propiedades antioxidantes y la fibra dietaria fueron mayores en la HBU tinta.

Del análisis proximal, se determinó que la HBU blanca presenta un mayor contenido energético, pero la HBU tinta es más completa en los otros aspectos nutricionales.

Se realizó un estudio de estabilidad en el tiempo a ambas harinas finales escogidas para conocer el comportamiento de sus propiedades antioxidantes, las muestras fueron almacenadas durante seis semanas a 4° y 45°C y además se realizaron análisis microbiológicos al inicio y final del estudio.

En la HBU tinta se encontró que la muestra a 4°C aumento su capacidad antioxidante debido a la liberación de compuestos antioxidantes en condiciones de refrigeración, en cambio a 45°C no hubo variación con respecto a la inicial. Los polifenoles y antocianinas no presentaron diferencias a 4° y 45°C con respecto a la muestra inicial. En la HBU blanca se encontró que las muestras a 4° y 45°C aumentaron su capacidad antioxidante y su cantidad de polifenoles totales con respecto a la inicial.

De los análisis microbiológicos se determinó que ambas HBU estaban dentro de los límites establecidos por el RSA.

ABSTRACT

Study of the processing parameters of grape bagasse flour for obtaining a product with functional properties

The parameters used to produce red and white grape bagasse flour (GBF) were studied, varying the conditions in each process in order to maximize their functional properties (antioxidant capacity and dietary fiber) and to incorporate it into food for human consumption. For this, the grape bagasse was dried at three temperatures (40°, 60° and 80°C) to reach a moisture content less than 8%, observing that the drying time was inversely proportional to the temperature in both grape bagasses. The temperature of 60°C was selected for the drying of both grape bagasses, considering the selection criteria and through analyses of antioxidants and dietary fiber.

Subsequently the grape seeds dried at 60°C, were ground and sieve, obtaining three particle sizes for both GBF (< 500 microns, < 500 - > 300 microns and < 300 microns). In general the white GBF obtained a best sieving yield. The particle size less than 500 microns was chosen as the best for both GBF. The antioxidant and dietary fiber were higher in the red GBF.

The proximate analysis indicated that white GBF has higher energy content, but the red GBF is more complete in the other nutritional aspects.

A stability study was carried out with both final flours in order to determine the behavior of its antioxidant properties, with the samples stored during six weeks at 4° and 45°C. Microbiological analyses were also performed at the beginning and end of the study.

In the red GBF the sample at 4°C increased its antioxidant capacity due to the release of antioxidant compounds under refrigeration, whereas at 45°C there was no variation compared with the initial one. Polyphenols and anthocyanins were not different at 4° and 45°C compared with the initial sample. In the white GBF the samples at 4° and 45°C increased its antioxidant capacity and also the amount of total polyphenols compared with the initial one.

From the microbiological analyzes it was determined that both GSF were within the limits set by the Chilean Food Health Regulations.

TABLA DE CONTENIDO

ÍNDICE DE TABLAS	IX
INTRODUCCIÓN	1
1. ANTECEDENTES BIBLIOGRAFICOS	3
1.1. Descripción general del bagazo u orujo de uva.....	3
1.2. Propiedades Funcionales.....	4
1.2.1 Capacidad Antioxidante.....	4
(1) Definiciones.....	4
(2) Clasificación.....	5
(3) Compuestos antioxidantes en uvas tintas y blancas	6
(4) Antioxidantes en vino y bagazo de uva	7
1.2.2 Fibra Dietaria	9
(1) Definición.....	9
(2) Clasificación.....	10
(3) Efectos de la fibra dietaria en el organismo	12
1.3. Desafío en la industria alimentaria	12
2. HIPÓTESIS	14
3. OBJETIVOS	14
3.1. Objetivo general	14
2.1.1. Objetivos específicos.....	14
4. METODOLOGÍA	16
4.1. Lugar de desarrollo	16
4.2. Materiales.....	16
4.3. Equipos	16

4.4.	Metodología Experimental.....	17
4.4.1.	Acondicionamiento del bagazo de uva congelado.....	17
4.4.2.	Secado del bagazo de uva	17
4.4.3.	Molienda y tamizado del bagazo de uva.....	18
4.4.4.	Análisis de antioxidantes	19
(1)	Determinación de Capacidad Antioxidante, Método ORAC Hidro.	19
(2)	Determinación de Polifenoles Totales, Método Folin-Ciocalteu.....	20
(3)	Determinación de Antocianinas totales.....	20
4.4.5.	Análisis de Fibra Dietaria	21
4.4.6.	Análisis proximal de la harina de bagazo de uva final	21
(1)	Materia Grasa.....	21
(2)	Proteínas	22
(3)	Cenizas totales	22
(4)	Humedad	22
(5)	Elementos no nitrogenados - ENN	22
4.4.7.	Estudio de la estabilidad en el tiempo de la harina de bagazo de uva final.	23
4.5.	Criterios de selección de los parámetros de producción de la harina de bagazo de uva	24
5.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	26
5.1.	Secado del bagazo de uva.....	26
5.1.1.	Determinación del tiempo de secado del bagazo de uva	26
5.1.2.	Selección de la mejor temperatura de secado del bagazo	28
5.2.	Molienda y tamizado del bagazo de uva	31
5.2.1.	Determinación del rendimiento de tamizado de la harina de bagazo de uva	31

5.2.2. Selección del mejor tamaño de partícula para la harina de bagazo de uva	33
5.3. Análisis proximal de la harina de bagazo de uva final escogida.....	37
5.4. Estudio de estabilidad en el tiempo de la harina de bagazo de uva final escogida.	38
6. CONCLUSIONES.....	42
7. BIBLIOGRAFÍA.....	44
ANEXOS	48
ANEXO 1 Pruebas preliminares de secado de los bagazos tinto y blanco donde se determinaron tiempos y humedades a las distintas temperatura de secado.	48
ANEXO 2 Detalle de análisis estadístico de varianza (ANOVA simple y Test de diferencias múltiples LSD), para tablas 3, 4, 7, 8, 10 y 11.....	50

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Tiempo de secado del bagazo de uva tinta para obtener un contenido de humedad menor a 8%.	26
Tabla 2. Tiempo de secado del bagazo de uva blanca para obtener un contenido de humedad menor a 8%.	27
Tabla 3. Resultados de análisis de antioxidantes y fibra dietaria en bagazo tinto secado a tres temperaturas diferentes.	28
Tabla 4. Resultados de análisis de antioxidantes y fibra dietaria en bagazo blanco secado a tres temperaturas diferentes.	29
Tabla 5. Rendimiento del tamizado en la harina de bagazo de uva tinta.	31
Tabla 6. Rendimiento del tamizado en la harina de bagazo de uva blanca.	32
Tabla 7. Resultados de análisis de antioxidantes y fibra dietaria en harina de bagazo de uva tinta con tres tamaños de partícula diferentes.	34
Tabla 8. Resultados de análisis de antioxidantes y fibra dietaria en harina de bagazo de uva blanca con tres tamaños de partícula diferentes.	35
Tabla 9. Resultados análisis proximal de la harina de bagazo de uva final	37
Tabla 10. Resultados del estudio de estabilidad en el tiempo para HBU Tinta.	38
Tabla 11. Resultados del estudio de estabilidad en el tiempo para HBU Blanca. .	39
Tabla 12. Resultados de análisis microbiológico para HBU Tinta.....	40
Tabla 13. Resultados de análisis microbiológico para HBU Blanca.....	41
Tabla 14. Tiempos y humedades del bagazo tinto secado a diferentes temperaturas.	48
Tabla 15. Tiempos y humedades del bagazo tinto secado a diferentes temperaturas.	49

INTRODUCCIÓN

Algunas de las causas de muerte más comunes en el mundo se relacionan con el efecto que las especies reactivas del oxígeno producen en el organismo, las que pueden provocar daño oxidativo y contribuir al desarrollo de enfermedades cardiovasculares, algunos tipos de cáncer, diabetes y trastornos neurodegenerativos. Para prevenir el efecto de estas especies existen los antioxidantes que tienen la capacidad de neutralizar su acción (García-Gasca et al., 2008).

Dentro de las fuentes dietarias más ricas en antioxidantes se encuentran la uva y sus derivados, ya que poseen gran cantidad de compuestos fenólicos (Cantos et al., 2000).

En Chile se producen aproximadamente 900.000 litros de vino al año (ODEPA, 2012), de esta producción vitivinícola se genera un subproducto conocido como bagazo u orujo de uva, el cual se forma luego de la extracción del mosto y está compuesto principalmente por el hollejo o piel de la uva, las semillas y los cabos de los racimos (Rockenbach, 2008). Este bagazo es generalmente un producto de desecho en la industria vitivinícola o en algunos casos es utilizado como compostaje (Producciónlimpia.cl, 2012).

Se sabe que estos residuos son una fuente rica en fibra dietaria y compuestos polifenólicos como flavonoides y procianidinas, los que no fueron debidamente extraídos en la vinificación, quedando en altas concentraciones presentes en el bagazo u orujo. Los polifenoles son antioxidantes de alto poder, que tienen la capacidad de inactivar radicales libres y proteger a la estructura de las células y tejidos del daño oxidativo (Rockenbach, 2008). La fibra dietaria está compuesta de dos partes, la fibra insoluble y la fibra soluble. Esta fibra dietaria es resistente a las enzimas digestivas presentes en las secreciones del tracto gastrointestinal humano y en el último tiempo ha mostrado que ejerce importantes efectos

fisiológicos sobre el organismo humano, en el tratamiento o prevención de enfermedades como la obesidad, diabetes, cáncer de colon, constipación, entre otras (Zúñiga, 2005).

Este proyecto tiene como objetivo principal aprovechar el subproducto de la industria vitivinícola y transformarlo en una harina de óptimas características funcionales, por medio de procesos de secado, molienda y tamizado, que permitan su incorporación a alimentos de consumo humano y poder aprovechar sus beneficiosas propiedades, como son su poder antioxidante y su contenido de fibra dietaria.

1. ANTECEDENTES BIBLIOGRAFICOS

1.1. Descripción general del bagazo u orujo de uva

El bagazo u orujo de uva se define como un residuo sólido que es generado luego de la extracción del mosto y está compuesto principalmente por el hollejo o piel de la uva, las semillas y los cabos de los racimos, este residuo es generalmente considerado desecho o subproducto de la industria vitivinícola (Flanzy, 2003). Este orujo o bagazo generado en el proceso de vinificación mantiene algunas de las características propias de la uva, como lo son sus compuestos antioxidantes y su contenido de fibra, los que no fueron extraídos en su totalidad durante la vinificación quedando todavía presentes en altas concentraciones (García-Gasca et al., 2008).

Las semillas corresponden a hasta un 6% del peso total de la uva y están compuestas principalmente de agua (25-45%), azúcares (34-36%), taninos (4-10%), compuestos nitrogenados (4-6,5%), minerales (2-4%) y lípidos (13-20%). Por otra parte los hollejos de uva corresponden a entre un 7-12% del peso total y se componen principalmente de agua (78-80%), ácidos orgánicos (0,8-1,6%), taninos (0,4-3%), antocianos (0-0,5%), compuestos nitrogenados (1,5-2%), minerales (1,5-2%), ceras (1-2%) y sustancias aromáticas (Flanzy, 2003).

La uva es una de las frutas con más superficie de plantación en Chile con aproximadamente 120.000 hectáreas de vides únicamente viníferas, de donde se obtienen 1.150 toneladas de uvas al año. De estas vides se logra una producción anual de 900.000 litros de vino (ODEPA, 2012).

El porcentaje promedio de generación de bagazo de uva de la producción de vino es aproximadamente un 7,5% de la materia prima (uva) utilizada (Chamy y Vivanco, 2007), por lo tanto, si se considera un total de 1.150 toneladas de uvas para vino se debería obtener un aproximado de 86 toneladas de bagazo de uva.

Este bagazo, actualmente considerado residuo sólido o desecho de la fermentación alcohólica, posee algunos usos alternativos como, por ejemplo, sustrato para obtención de proteína unicelular, alimentación animal, para extracción de pigmentos rojos, para extracción de taninos, ácidos o proteínas y también uso como compostaje o como biomasa para producción de biogás (Chamy y Vivanco, 2007).

1.2. Propiedades Funcionales

1.2.1 Capacidad Antioxidante

(1) Definiciones

Un antioxidante es definido principalmente como cualquier molécula capaz de prevenir o retardar la oxidación (pérdida de uno o más electrones) de otras moléculas, generalmente de sustratos biológicos como lípidos, proteínas o ácidos nucleicos. La oxidación de tales sustratos podrá ser iniciada por dos tipos de especies reactivas: los radicales libres y/o aquellas especies que sin ser radicales libres, son suficientemente reactivas como para inducir la oxidación de sustratos como los mencionados anteriormente. Por lo tanto, la función química que poseen los antioxidantes es eliminar eficazmente la especie reactiva proporcionando un átomo de hidrógeno o un radical libre a un sustrato. Un radical libre se define como cualquier especie (átomo, molécula o ion) que contenga a lo menos un electrón desapareado en su orbital más extremo y que sea a su vez capaz de existir en forma independiente (Portalantioxidante.com, 2012). La principal fuente de origen de los radicales libres es la respiración. Sin embargo, también se producen en el organismo como respuesta a la exposición a radiaciones ionizantes, rayos ultravioleta, contaminación ambiental, algunos fármacos e incluso durante el proceso de digestión de los alimentos (Leighton y Urquiaga, 2000).

La capacidad antioxidante y “secuestrante” de radicales libres es una propiedad común en muchos de los compuestos bioactivos como los polifenoles. La prevención de los efectos perniciosos en la salud derivados de la acción de los radicales libres producidos en el organismo como consecuencia de la oxidación biológica ha adquirido cada vez más importancia en la nutrición humana (Lajolo et al., 2001).

En el organismo existe un equilibrio natural entre el sistema de defensa antioxidativo, que puede ser de origen endógeno o exógeno, y las especies reactivas del oxígeno. Cuando este equilibrio se rompe, se habla de un estrés oxidativo debido a la ingesta deficiente en compuestos antioxidantes o a un exceso de especies reactivas del oxígeno. Es importante que una vez terminada la acción beneficiosa, el antioxidante gastado sea eliminado eficazmente para prevenir su interacción con otras sustancias (Zoecklein et al., 2001).

(2) Clasificación

Los antioxidantes se pueden clasificar en dos grandes categorías: aquellos que son normalmente bio-sintetizados por el organismo y aquellos que ingresan a éste a través de la dieta. En la primera categoría se encuentran los antioxidantes enzimáticos como por ejemplo catalasas, glutatión peroxidasas, tioredoxina-reductasas, etc. y los antioxidantes no-enzimáticos, como ácido úrico, metalotioneína, melatonina, entre otros. Si bien dichos antioxidantes son bio-sintetizados por el organismo humano, también pueden estar contenidos en los alimentos. Dentro de la segunda categoría, es decir, aquellos antioxidantes que son incorporados al organismo a través de la dieta se encuentran las vitaminas-antioxidantes, como el ácido ascórbico y el betacaroteno, los carotenoides como la luteína y el licopeno, los polifenoles, en sus categorías flavonoides (flavonas, flavonoles, flavanoles y antocianidinas) y no-flavonoides (ácidos fenólicos, ácidos cinámicos y estilbenos), entre otros (Leighton y Urquiaga, 2000).

(3) Compuestos antioxidantes en uvas tintas y blancas

Los compuestos antioxidantes presentes en las uvas han despertado gran interés desde el punto de vista de la investigación en relación a sus propiedades protectoras beneficiosas para el organismo. Considerando la gran variedad de especies de vides, los compuestos antioxidantes pueden variar en su concentración más que en el tipo de compuesto. Los compuestos responsables del color de las uvas se encuentran principalmente en los hollejos, siendo las sustancias fenólicas como pigmentos y taninos los más importantes (Alonso, 2000). La cantidad y calidad de polifenoles en la uva depende principalmente de la variedad de la vid, del clima, del terreno y de las prácticas de cultivo (Leighton y Urquiaga, 2000).

Los componentes polifenólicos de la uva se encuentran en la piel, especialmente en las células epidérmicas y en las pepas, su concentración es más bien baja en la pulpa. Sin embargo, en la pulpa de uvas tintas y blancas se pueden encontrar polifenoles del tipo ácidos cinámicos, como el ácido cafeico y el ácido paracumárico (Leighton y Urquiaga, 2004).

En el hollejo o piel de las uvas, tanto blancas como tintas, se pueden encontrar polifenoles neutros del tipo flavonoides, específicamente los flavonoles representados por la quercetina, miricetina y kaempferol, que se encuentran generalmente conjugados con un azúcar. Estos flavonoles son los responsables de la coloración amarillenta apreciable cuando las uvas blancas son vistas a trasluz y del color amarillo presente en el vino blanco. Además se pueden encontrar flavanoles como la catequina, epicatequina y procianidina, que corresponden a dímeros, trímeros o polímeros de hasta 12 unidades de catequina y epicatequina, esterificados generalmente con ácido gálico y que también se encuentran tanto en la piel como en las pepas de uvas tintas y blancas (Leighton y Urquiaga, 2004).

Por otra parte, en el hollejo de las uvas tintas se ha identificado un polifenol conocido como antocianina, el cual le brinda el color rosa y rojo oscuro a estas uvas. Las antocianinas están representadas por la malvidina-3-glucósido, esta molécula es muy soluble en agua y se puede encontrar conjugada con azúcares (Leighton y Urquiaga, 2004).

También están presentes otros compuestos como ácidos fenólicos y resveratrol que tienen una gran capacidad de proteger a las lipoproteínas LDL de la oxidación. El resveratrol es abundante en las partes leñosas de la planta, los hollejos y en el vino, no así en las hojas, este compuesto ha sido señalado como agente hipolipemiente, antiinflamatorio, antiagregante plaquetario y algunos estudios también le señalan propiedades antitumorales (Zúñiga, 2005).

En las semillas, hojas y raíces de la vid se pueden encontrar compuestos como procianidinas, antocianidinas y leucoantocianidinas que son derivados de la catequina y epicatequina. Otros compuestos fenólicos también presentes, son los pertenecientes al grupo de los estilbenos, entre los que se pueden destacar a la fitoalexina y a la viniferina, los que se han reconocido como compuestos antimicrobianos que defenderían a la planta del ataque de determinados gérmenes (Alonso, 2000).

(4) Antioxidantes en vino y bagazo de uva

Los compuestos antioxidantes presentes en el vino dependen principalmente de la concentración de estos en la uva y del proceso de vinificación. Los polifenoles, especialmente flavonoides, extraídos durante la vinificación dependen de factores como la temperatura, el tiempo de contacto del mosto con la piel y las pepas, las prácticas de remontaje y mezclado, la concentración de etanol, el procedimiento de prensado de la uva, entre otros. Si bien el contenido de polifenoles de la uva dependen de estos factores, la diferencia en el proceso de vinificación es el principal motivo por el cual los vinos tintos y blancos tienen gran diferencia de polifenoles, variando entre un promedio de 2,57 g/L de equivalentes de ácido

gálico en vino tinto y un promedio de 0,24 g/L en el vino blanco (Leighton y Urquiaga, 2000).

El vino tinto se elabora a partir del grano completo de la uva, o sea, pulpa, piel y pepas. El vino blanco, en cambio, se elabora solo con el jugo de la uva, separándose al inicio del proceso, antes de la fermentación, la piel y las pepas. Las grandes concentraciones de polifenoles, especialmente flavonoides, presentes en el vino tinto se deben a las técnicas de vinificación, que buscan la óptima extracción de compuestos favorables del hollejo y la semilla, tales como las maceraciones largas y el remontaje (bombeo de vino en fermentación sobre el bagazo). Este largo contacto del bagazo con el mosto durante la fermentación permite que se extraigan los compuestos polifenólicos responsables de la mayor capacidad antioxidante en vinos tintos (Leighton y Urquiaga, 2000).

Como los compuestos polifenólicos se encuentran en su mayoría en el hollejo de la uva, mientras mayor sea la cantidad de éste que se use en el proceso de producción del vino, mayores serán las cualidades antioxidantes que presente dicho vino, es debido a esto, que se puede considerar al bagazo como una buena fuente de antioxidantes, ya que todo el porcentaje de hollejo que no queda en el vino, queda remanente en el bagazo. Además la capacidad antioxidante que posea el vino y por ende el bagazo, es resultado de las condiciones de cultivo y producción de la uva misma. Cuando los viñedos crecen en un clima cálido, las uvas pueden dejarse en la planta hasta que estén completamente maduras, momento en que los niveles de polifenoles se acumulan debido a que la luz solar estimula la síntesis de estos principalmente en la piel de la fruta (Leighton, 2002).

La composición química del vino suele ser muy variable y compleja, de donde se destacan el agua, alcohol, compuestos polifenólicos como ácidos fenólicos, ácidos cinámicos, derivados de tirosina, estilbenos, flavonoides dentro de los que se encuentran las flavonas, flavonoles, flavanoles y antocianidinas, entre otros (Alonso, 2000).

Los compuestos antioxidantes nombrados anteriormente, presentes en el vino, también se encuentran presentes en el bagazo, ya que es en la etapa de fermentación donde estos compuestos son extraídos. Por otro lado, a diferencia del vino, el bagazo presenta un alto contenido de fibra, ventaja muy beneficiosa en términos de salud. Es por esto que la utilización del bagazo en la elaboración de materias primas alimentarias, es sin duda alguna una promisoriosa alternativa para la inclusión de compuestos funcionales.

Por último, es importante destacar que el consumo de la uva entera en su forma natural no posee los mismos efectos beneficiosos que el vino, debido a que los antioxidantes pasan directo a través del tubo digestivo y no son absorbidos en su totalidad por el organismo.

1.2.2 Fibra Dietaria

(1) Definición

Investigaciones desarrolladas a lo largo del siglo XX en el ámbito de la bioquímica y más específicamente sobre los carbohidratos y las implicaciones que estos tienen en la nutrición humana, han permitido la determinación y cuantificación de lo que hoy se conoce como fibra dietaria, dietética o alimentaria (García et al., 2008).

Múltiples son las definiciones que se le han otorgado al término “fibra dietaria”, por ejemplo, la Organización Mundial de la Salud (OMS) ha adoptado el uso del término polisacáridos distintos del almidón para referirse a la fibra dietaria, así como también, para expresar sus recomendaciones en la dieta de la misma (WHO, 2012). Por otra parte, el instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos del Reino Unido (I.F.S.T), sostiene que la fibra dietaria debe ser definida como: un material alimenticio, particularmente de origen vegetal que no es hidrolizado por las enzimas del tracto digestivo humano, pero, que puede ser digerido por la microflora intestinal (IFST, 2012). Los componentes vegetales que entran dentro

de esta definición son los polisacáridos no amiláceos como celulosas, hemicelulosas, gomas, ceras, lignina, pectinas y almidones resistentes, siendo todas estas parte importante de las frutas, hortalizas, cereales y leguminosas (Uaemex.mx, 2012).

(2) Clasificación

La fibra dietaria se puede clasificar de acuerdo a su solubilidad en agua como fibra dietaria soluble y fibra dietaria insoluble, ambas fracciones poseen efectos fisiológicos particulares. Habitualmente las fibras de frutas presentan cantidades significativas de compuestos con elevada actividad biológica, como pectinas, fructo-oligosacáridos, almidones resistentes, etc., los cuales normalmente son denominados compuestos minoritarios. Hoy en día, estudios biológicos han demostrado que estos compuestos tienen una gran importancia en nutrición y salud. Son los que se denominan compuestos bioactivos asociados a fibra dietaria, cuyas principales características son: no poseer nutrientes, ser metabolitos secundarios en los vegetales, diferenciarse estructural y fisiológicamente de los micronutrientes (vitaminas, minerales, etc.), estar parcialmente biodisponibles y haber demostrado algún efecto positivo en la salud humana (Lajolo et al., 2001).

- Fibra Dietaria Soluble:

La fibra dietaria soluble se compone básicamente de pectina, gomas, mucílago, pentosanos y polisacáridos solubles, estos componentes son más efectivos en reducir las concentraciones de colesterol plasmático y/o hepático y la glicemia (Pennacchiotti, 1989).

Este tipo de fibra es hidrosoluble, es decir, que en contacto con el agua se disuelve formando un retículo de gran viscosidad (gel). Es muy fermentable por los microorganismos intestinales, por lo que favorece la creación de flora bacteriana (Serra et al., 2006). En general se puede encontrar principalmente en frutas y

algas marinas en altas concentraciones (Pennacchiotti, 1989). Las pectinas por ejemplo, son fáciles de encontrar en la porción carnosa de las frutas, verduras y plantas comestibles, además de la parte blanca de la cáscara de los cítricos. Los mucílagos son polímeros pobres en ácido urónico, de naturaleza viscosa, que se encuentran en el interior de semillas y algas como el agar-agar. Las gomas al contrario de los mucílagos, están formadas por largas cadenas de ácido urónico, xilosa, arabinosa o manosa, y se encuentran en la resina arábica, tragacanto, gelana, etc. (Miranda, 2006).

- **Fibra Dietaria Insoluble:**

En la fibra dietaria insoluble se incluyen la celulosa, lignina y hemicelulosa, componentes que son responsables de la regulación gastrointestinal (Pennacchiotti, 1989).

Esta fibra insoluble o poco soluble es capaz de retener el agua en su matriz estructural formando mezclas de baja viscosidad, lo que produce una aceleración del tránsito intestinal y aumento de la masa fecal. Los componentes de este tipo de fibra son poco fermentables y resisten la acción de los microorganismos del intestino (Serra et al., 2006).

Comúnmente, esta fibra está presente en variados alimentos como verduras, cereales, frutas y leguminosas, y se considera con un aporte de cero calorías al organismo (Nelson, 2001). La celulosa se encuentra en la pared de las células vegetales y por lo tanto es fácil encontrarla en alimentos de origen vegetal como forrajes, cáscara de cereales, etc. La hemicelulosa, sin embargo, es un conjunto de polímeros, como ramnogalacturonanos, arabinogalactanos, xiloglucanos, entre otros, por ende, la ausencia o presencia dependerá del vegetal en particular. Es importante señalar que si bien hay hemicelulosas insolubles, hay otras que si son solubles, característica que dependerá únicamente de su composición química. Por otra parte, la lignina es el único componente de la fibra dietaria que no es un polisacárido. Es un polímero de varios alcoholes y ácidos fenilpropílicos, y su

propiedad más interesante es la capacidad de unirse a los ácidos biliares y al colesterol retrasando o disminuyendo su absorción en el intestino delgado (Miranda, 2006).

(3) Efectos de la fibra dietaria en el organismo

Dentro de las recomendaciones que permitirían mejorar el estado de salud del ser humano está aumentar la ingesta de alimentos ricos en fibra. La fibra dietaria, según estudios, podría reducir el riesgo de enfermedades cardiovasculares, diabetes, obesidad, cáncer de colon y otras enfermedades. De ahí la importancia de aumentar su consumo (Lee et al., 1992).

La ingesta de fibra en los últimos años, ha traído consigo modificaciones en la industria alimentaria, desarrollándose nuevos productos con un alto contenido de fibra, vitaminas y bajo contenido de colesterol, comidas complementadas con ella, que han sido formuladas utilizando materias primas ricas en fibra de cereales (salvado de cereales), de vegetales y de legumbres (Periago et al., 1993).

Las fibras de frutas, como por ejemplo las provenientes de la uva, tienen una característica específica o diferencial que consiste en la presencia de cantidades significativas de compuestos minoritarios con elevada actividad biológica, tales como polifenoles y carotenoides. La mayoría de las frutas presentan un contenido de fibra entre 5 y 20%, estos resultados relativamente altos pueden brindar una gran alternativa para prevenir y aliviar en forma sencilla a personas con enfermedades cardiovasculares, estreñimientos, diabetes, obesidad e incluso cáncer de colon (Lajolo et al., 2001).

1.3. Desafío en la industria alimentaria

En el último tiempo la industria alimentaria se ha propuesto el desafío de crear alimentos que contengan componentes beneficiosos para la salud como lo son la fibra dietaria y los antioxidantes. Los productos mayormente conocidos por

contener altos porcentajes de fibra son por ejemplo: variedad de cereales, galletas, productos de panadería, entre otros. Sin embargo, las frutas y sus derivados en general tienen una mejor calidad nutricional que los cereales debido a la presencia en cantidades significativas de compuestos bioactivos como flavonoides, carotenoides, etc., además de una composición equilibrada en fibra soluble/insoluble, agua, capacidad de retención de grasas y menor valor energético (Saura-Calixto, 1998).

El desarrollo de alimentos que contengan un alto contenido de antioxidantes y que además provengan de fuentes naturales, ha cobrado gran importancia para la industria de alimentos, principalmente por dos aspectos: el efecto protector contra el cáncer y las enfermedades cardiovasculares que poseen los antioxidantes naturales; y por el rechazo que tienen los consumidores a los antioxidantes sintéticos. En general las frutas y verduras son importantes fuentes de antioxidantes naturales, las uvas y el vino son conocidos por contener cantidades significativas de estos compuestos y es aquí donde se han desarrollado la mayor parte de las investigaciones sobre capacidad antioxidante y sus efectos biológicos (Frankel et al., 1995).

Sin embargo, muy poca es la información existente acerca de los subproductos de la elaboración del vino, por lo tanto investigar las múltiples propiedades funcionales que forman parte de la composición del bagazo de uva es de mucha importancia para la industria alimentaria, y en un futuro próximo para el beneficio de toda la población al poder incluirlas en productos de consumo masivo.

2. HIPÓTESIS

Es posible la elaboración de una harina de bagazo de uva tinta y blanca con propiedades funcionales maximizadas, tanto en su capacidad antioxidante como en su contenido de fibra total, mediante determinación de temperatura de secado y condiciones de molienda.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo general

Estudiar los parámetros de elaboración (secado, molienda y tamizado) de una harina de bagazo de uvas tintas y blancas, a distintas condiciones en cada proceso, con el fin de maximizar sus propiedades funcionales tanto de capacidad antioxidante como de contenido de fibra.

2.1.1. Objetivos específicos

Realizar un secado del bagazo de uva a distintas temperaturas hasta obtener una humedad final menor a 8% en base húmeda (8,7% en base seca).

Analizar las propiedades antioxidantes y la fibra dietaria presentes en el bagazo luego del secado para seleccionar temperatura óptima.

Realizar una molienda del bagazo de uva seco, variando tamizado, para obtener harinas con tamaños de partícula diferentes.

Analizar las propiedades antioxidantes y la fibra dietaria presente en la harina luego del tamizado para seleccionar tamaño de partícula óptimo.

Realizar análisis de capacidad antioxidantes, polifenoles totales, antocianinas totales y contenido de fibra dietaria de la harina final escogida.

Realizar un análisis proximal de la harina final escogida, para obtener contenido de proteínas, humedad, cenizas, hidratos de carbono y materia grasa.

Determinar la estabilidad en el tiempo de las propiedades antioxidantes de la harina final escogida, a través de análisis de antioxidantes. Además verificar su cumplimiento con los parámetros microbiológicos establecidos por el RSA.

4. METODOLOGÍA

4.1. Lugar de desarrollo

Este estudio se realizó en el marco del proyecto FONDEF AF10i1014 “Diseño y caracterización funcional de aditivos alimentarios saludables, ricos en antioxidantes y fibra, obtenidos de bagazo de *Vitis Vinífera* para la prevención de enfermedades crónicas”.

La parte experimental se desarrolló en el Departamento de Ingeniería Química y de Bioprocesos y en el Centro de Nutrición Molecular y Enfermedades Crónicas de la Pontificia Universidad Católica. El estudio de estabilidad se realizó en la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas de la Universidad de Chile.

4.2. Materiales

Bagazo u orujo de uva tinta y blanca (de las cepas Cabernet Sauvignon y Chardonnay, respectivamente) congelado a -20 °C, envasado en bolsas de polietileno de baja densidad. Ambos bagazos provenientes del Valle del Maipo, Región Metropolitana

El bagazo se recolectó en la vendimia 2011 (marzo – mayo), de la bodega Puente Alto de Viña Concha y Toro, se recuperó inmediatamente después de ser extraído de las cubas de fermentación, para preservar al máximo su calidad microbiológica y se almacenó en cámaras de refrigeración a -20°C hasta su utilización en junio de 2012.

4.3. Equipos

- Cámara de secado con convección forzada marca BINDER Serie ED 115, Alemania.

- Analizador de humedad marca AND modelo MS-70, USA.
- Picadora de alimentos marca Moulinex modelo D56, Francia.
- Minipimer para alimentos marca Black & Decker modelo SB400, USA.
- Dos tamices con mallas de 500 μm y 300 μm según norma ASTM E11 marca Endecotts Limited, Inglaterra.
- Incubadora general marca LabTech modelo LIB-080M, Corea.
- Refrigerador marca Fensa modelo Not Frost Advantage 7200, Chile.

4.4. Metodología Experimental

4.4.1. Acondicionamiento del bagazo de uva congelado

El acondicionamiento de ambos bagazos congelados a -20°C se realizó en una cámara de ambientación a 25°C hasta que la muestra se ablandó lo suficiente para permitir separar y extender el material, este proceso duró aproximadamente 3 horas (Elaboración de Harina de Bagazo de Uva HBU, 2011).

4.4.2. Secado del bagazo de uva

El material se extendió en bandejas confeccionadas con papel aluminio en una capa de no más de 1,5 cm, procurando que el material quedará completamente separado para asegurar el secado homogéneo. Las bandejas con el material extendido se sometieron a un secado en estufa con ventilación forzada y flujo de aire paralelo, a tres temperaturas diferentes de 40, 60 y 80°C . Durante el periodo de secado se movió la muestra para contribuir al secado homogéneo de la misma. La muestra seca debía tener un contenido de humedad menor al 8% en base húmeda (8,7% en base seca), medido por calentamiento a 120°C en un analizador de humedad. Una vez obtenido el bagazo seco a las tres temperaturas, se analizaron los antioxidantes y la fibra dietaria total (Metodología en puntos 3.4.4 y 3.4.5, respectivamente), con el fin de seleccionar la temperatura que mejor

conservara dichas características (Elaboración de Harina de Bagazo de Uva HBU, 2011). Los criterios de selección se detallan en el punto 3.5.

4.4.3. Molienda y tamizado del bagazo de uva

Luego de secar el bagazo de uva a la temperatura seleccionada anteriormente, éste se sometió en una primera parte a molienda gruesa utilizando una picadora de alimentos durante el tiempo mínimo posible para lograr una molienda homogénea del bagazo, esto fue aproximadamente 16 pulsos de 5 segundos cada uno. Posteriormente se sometió a una molienda fina en una minipimer de alimentos, el tiempo empleado fue el mismo que en la procesadora de alimentos. Luego de la molienda el bagazo fue tamizado en tamices de 500 μm y 300 μm para obtener cuatro tamaños de partícula:

- Residuo: Tamaño de partícula mayor a 500 μm ($> 500 \mu\text{m}$), no fue considerado para los análisis posteriores por su mayor tamaño de partícula.
- Muestra 1: Tamaño de partícula menor a 500 μm ($< 500 \mu\text{m}$)
- Muestra 2: Tamaño de partícula entre 500 y 300 μm ($< 500 - > 300 \mu\text{m}$)
- Muestra 3: Tamaño de partícula menor a 300 μm ($< 300 \mu\text{m}$)

Cada una de estas muestras de harina de bagazo fueron sometidas a análisis de antioxidantes y fibra total (Metodología en puntos 3.4.4 y 3.4.5 respectivamente), con el objetivo de seleccionar el tamaño de partícula que mejor conservara dichas características y obtener una harina de bagazo de uva óptima (Elaboración de Harina de Bagazo de Uva HBU, 2011). Los criterios de selección se detallan en el punto 3.5.

4.4.4. Análisis de antioxidantes

(1) Determinación de Capacidad Antioxidante, Método ORAC Hidro

El método ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity) se aplica con frecuencia para determinar la capacidad antioxidante en muestras biológicas y de alimentos.

El ensayo mide la degradación oxidativa de una molécula fluorescente (ya sea B-ficoeritrina o fluoresceína) después de haber sido mezclada con generadores de radicales libres tales como compuestos azoderivados. Se considera que los azoderivados producen radicales peroxilo por calentamiento, que dañan la molécula fluorescente, resultando en pérdida de su fluorescencia. Los antioxidantes protegen la molécula fluorescente de la degeneración oxidativa. La intensidad de fluorescencia disminuye a medida que avanza la degeneración oxidativa. Esta intensidad se registra durante 35 minutos después de la adición del azoderivado. Hasta ahora, el AAPH (2,2'-azobis(2-amidino-propano) dihidrocloruro) es el único generador de radicales libres utilizado. La degeneración (o descomposición) de fluoresceína se mide en función del retardo en el decaimiento de fluorescencia, respecto a la presencia o no del antioxidante. Las curvas de caída (la intensidad de fluorescencia respecto al tiempo) se registran y el área entre las dos curvas de caída (con o sin antioxidante) se calcula. Posteriormente, el grado de protección antioxidante se cuantifica utilizando el antioxidante Trolox como estándar. Diferentes concentraciones de Trolox se utilizan para hacer una curva estándar, y las muestras de ensayo se comparan con esto.

Los resultados de este método son expresados en micromoles equivalentes Trolox (unidad ORAC) por gramo de muestra.

Se usó la metodología descrita por Huang et al. (2002), Ou et al. (2001) y Brescia (2005).

(2) Determinación de Polifenoles Totales, Método Folin-Ciocalteu

Para realizar la cuantificación del contenido de polifenoles totales se utilizó el método que emplea al Folin-Ciocalteu (F-C), el cual mide la capacidad que tienen los polifenoles para reducir el Mo(VI) a Mo(V), presente en el complejo molibdotungstato característico de este reactivo. Como resultado de esta reducción, el reactivo, de color amarillo, adquiere un intenso color azul, el cual es cuantificado espectrofotométricamente a 765 nm. El contenido de polifenoles totales resultante de la aplicación del reactivo F-C es expresado como mg de equivalente de ácido gálico (EAG) / 100 g de alimento.

Se usó la metodología descrita por Bordeu y Scarpa (1998).

(3) Determinación de Antocianinas totales

Para la determinación de las antocianinas totales se utilizó el método de pH diferencial. Las antocianinas experimentan una transformación reversible al cambiar su pH manifestando un llamativo cambio en la absorbancia, lo que es medido fácilmente por medio de espectrofotometría. La forma oxonium predomina a pH 1.0 (antocianina coloreada) y la forma hemiacetal a pH 4.5 (antocianina incolora). El pH diferencial es un método basado en esta reacción y permite una rápida y exacta medida de la antocianina total, incluso en presencia de pigmentos degradados, polimerizados y de otros compuestos interferentes. Cabe mencionar que las antocianinas no son medidas en el bagazo blanco puesto que este no presenta el color característico producido por este tipo de pigmentos los que si son evidentes en el bagazo tinto, es por esto que los resultados de antocianinas totales serán presentados únicamente para bagazo tinto. Los resultados obtenidos de esta determinación fueron expresados en mg de cianidina-3-glucósido equivalente por gramo de muestra.

Se usó la metodología oficial AOAC (AOAC Official Method 2005.02 Total Monomeric Anthocyanin Pigment Content of fruit juices, beverages, natural

colorants and wine), además está descrita en un estudio comparativo por Lee et al. (2005).

4.4.5. Análisis de Fibra Dietaria

Para determinar la fibra dietaria soluble, insoluble y total presente en la muestra se llevó a cabo el método enzimático gravimétrico Buffer MES-Tris.

Las muestras de harina de bagazo de uva, una vez secas son gelatinizadas con amilasa térmicamente estable y luego son digeridas enzimáticamente con proteasa y amiloglucosidasa para remover la proteína y el almidón. La fibra dietética soluble es precipitada por la adición del etanol, el residuo total se filtra, se lava, se seca y se pesa. En el residuo en duplicado se determina proteína, y en el otro cenizas. Los resultados se expresan como porcentaje de fibra soluble, insoluble y total.

Se usó la metodología oficial AOAC para determinar fibra dietaria (AOAC Official Method 991.43 Total Dietary Fiber).

4.4.6. Análisis proximal de la harina de bagazo de uva final

Se realizó un análisis químico proximal para conocer el contenido nutricional que presenta la harina de bagazo de uva, en este análisis se midió:

(1) Materia Grasa

Se determinó utilizando el método de extracción Soxhlet. Este método se utiliza en productos con baja humedad, los que presentan su mayor porcentaje de materia grasa en forma libre; con este procedimiento se obtiene el contenido lipídico de la muestra seca y húmeda. Se llevó a cabo con el método para determinación del contenido de grasa total descrito en la Norma Chilena NCh 1370/III - Of 77.

(2) Proteínas

Se realizó una cuantificación en forma indirecta y aproximada para medir sustancias nitrogenadas. Se utilizó el método de Kjeldahl (AOAC Official Method 2001.11) para determinar cantidad de proteína cruda de un producto a partir de su contenido de nitrógeno (AOAC Official Method 2001.11 Protein (Crude) in Animal Feed, Forage (Plant Tissue), Grain and Oilseeds).

(3) Cenizas totales

Se realizó empleando una técnica llamada mineralización por vía seca o calcinación, la cual consiste en incinerar la muestra en un horno de mufla y recoger el residuo mineral, el peso obtenido es una muy buena estimación de las materias minerales y salinas de la muestra. Se utilizó el método para determinación de cenizas según la Norma Chilena NCh 842 - Of 78. Determinación de Cenizas.

(4) Humedad

Se realizó mediante el método descrito en la Norma Chilena NCh 841 - Of 78. Determinación de Humedad.

(5) Elementos no nitrogenados - ENN

Para la determinación de los elementos no nitrogenados se realizó una diferencia de cálculo con los valores obtenidos en los análisis previos (materia grasa, proteína, humedad y cenizas). En el resultado de este análisis se incluyen los carbohidratos, azúcares disponibles y fibra dietaria.

4.4.7. Estudio de la estabilidad en el tiempo de la harina de bagazo de uva final.

Una vez obtenida la harina de características óptimas en cuanto a capacidad antioxidante y contenido de fibra (criterios de selección en punto 3.5), tanto en su variedad blanca como tinta, ésta fue sometida a un estudio de estabilidad acelerado para determinar el comportamiento de sus características antioxidantes durante seis semanas. Este estudio consistió en almacenar las muestras de harina a dos temperaturas diferentes, en un refrigerador a 4°C y en una incubadora general a una temperatura estable de 45°C. Las muestras fueron almacenadas en envases que simulaban condiciones reales de comercialización del producto, en este caso se utilizó un envase de doble capa, la capa interna de polietileno de baja densidad con cierre hermético y la capa externa de papel kraft o papel de madera opaco para proteger las muestras de la luz.

Se realizaron análisis de capacidad antioxidante (3.4.4) al inicio y al finalizar el estudio, es decir, una vez transcurridas las seis semanas proyectadas. Se aplicó un análisis estadístico de varianza usando ANOVA simple seguido por un test de diferencias múltiples LSD para determinar la existencia de diferencias significativas entre los valores obtenidos para los análisis de antioxidantes al inicio y final del estudio ($p \leq 0,05$).

Además se realizaron análisis microbiológicos a ambas muestras de harina, para conocer el recuento total de aerobios mesófilos (RAM), enterobacterias y levaduras que pudieran estar presentes en las muestras al inicio y al final del estudio de estabilidad en el tiempo. Estos análisis se realizaron para conocer si la HBU presentaba alteraciones del tipo microbiológico que pudieran afectar la salud humana. Los resultados obtenidos fueron expresados en unidades formadoras de colonias por gramo de muestra (UFC/g) y la metodología de análisis fue llevada a cabo según las siguientes normas:

- Recuento total de aerobios mesófilos: Técnica de recuento en placa según la Norma Chilena NCh 2659 - Of. 2002.
- Enterobacterias: Técnica de recuento en placa según la Norma Chilena NCh 2676 - Of. 2002.
- Levaduras: Técnica de recuento en placa según la Norma Chilena NCh 2734 - Of. 2002.

4.5. Criterios de selección de los parámetros de producción de la harina de bagazo de uva

Para realizar la selección de los parámetros de producción de la harina de bagazo de uva se utilizaron varios criterios en las diferentes etapas de la metodología experimental (3.4).

En la etapa de secado del bagazo de uva (3.4.2) se seleccionó la temperatura de secado utilizando como primer criterio el tiempo que el bagazo demoraba en alcanzar una humedad menor a 8%, esto se realizó tomando muestras del bagazo y analizando su humedad cada una hora aproximadamente hasta lograr la humedad deseada, la temperatura que empleara menor tiempo en alcanzar la humedad deseada debería idealmente ser escogida como la mejor. Como segundo criterio se consideraron los análisis de antioxidantes y fibra (3.4.4 y 3.4.5, respectivamente) realizados a cada muestra de bagazo secada a tres diferentes temperaturas, la muestra que tuviera, por una parte, mayor capacidad antioxidante (análisis ORAC), mayor cantidad de polifenoles totales y en el caso del bagazo tinto mayor cantidad de antocianinas totales y por otra parte mayor contenido de fibra soluble, insoluble y total, debería ser escogida como la mejor.

En la etapa de molienda y tamizado del bagazo (3.4.3) también se tuvieron dos criterios de selección para obtener harina con el mejor tamaño de partícula, primeramente se consideró el porcentaje de rendimiento del tamizado, el que se calculó considerando el porcentaje de la muestra de bagazo molida que pasaba

por los respectivos tamices para lograr los tamaños de partícula deseados. Además se tuvieron en consideración los análisis de antioxidantes y fibra (3.4.4 y 3.4.5, respectivamente) realizados a cada muestra de bagazo con tamaño de partícula diferente y al igual que en la selección de temperatura, la muestra que resultara con mayores valores generales en los distintos análisis debería ser escogida como la mejor.

Además para justificar mejor las elecciones se realizó un análisis estadístico de varianza usando ANOVA simple seguido de un test de diferencias múltiples LSD para determinar la existencia de diferencias significativas entre los valores obtenidos para los análisis de antioxidantes a las distintas temperaturas y distintos tamaños de partícula ($p \leq 0,05$). Cabe mencionar que este análisis estadístico fue realizado únicamente a los resultados de antioxidantes que presentaban desviación estándar, no fue posible realizarlo en los resultados de fibra puesto que no se tenían datos suficientes.

Cabe destacar que al tener cuatro criterios de selección, dos en cada etapa, se debió realizar un balance de ambos, considerando la óptima mantención de las características funcionales de la harina, esto quiere decir que no en todos los casos fueron considerados los mejores resultados.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1. Secado del bagazo de uva

5.1.1. Determinación del tiempo de secado del bagazo de uva

Para realizar el secado del bagazo de uva se escogieron tres temperaturas de secado 40°, 60° y 80°C, con las cuales se llevaron a cabo pruebas preliminares para poder determinar el tiempo de secado hasta que el bagazo presentara un contenido de humedad menor a 8% base húmeda (8,7% en base seca). Las pruebas de secado se realizaron con 10 g de cada muestra (bagazo tinto y blanco) para cada temperatura y los resultados detallados de estas pruebas se muestran en el Anexo 1.

Los resultados finalmente obtenidos se resumen en las Tablas 1 y 2.

Tabla 1. Tiempo de secado del bagazo de uva tinta para obtener un contenido de humedad menor a 8%.

BAGAZO TINTO			
Temperatura (°C)	Humedad inicial* (%)	Tiempo secado (min)	Humedad final* (%)
80	54,0 ± 5,1	80	7,0 ± 0,1
60	48,6 ± 4,8	180	7,3 ± 0,2
40	47,1 ± 1,3	600	7,5 ± 0,2

± = Desviación estándar, análisis realizados en duplicado.

* = Humedades expresadas en base seca.

Se observa en la Tabla 1 que las humedades iniciales de las muestras de bagazo tinto son muy variables, esto puede deberse a la heterogeneidad del bagazo, que como se ha descrito anteriormente está compuesto de las diferentes partes de la uva. En cuanto al tiempo de secado, se puede observar que éste es inversamente proporcional a la temperatura de secado, destacándose los 80 minutos (1 hora y 20 min) que demoró la muestra a 80°C y los 180 minutos (3 horas) de la muestra a

60°C en comparación con los 600 minutos (10 horas) que tarda la muestra a 40°C, de esto se puede inferir que la temperatura de 40°C es menos adecuada que las otras dos (80° y 60°C) únicamente por el tiempo empleado en el secado.

Tabla 2. Tiempo de secado del bagazo de uva blanca para obtener un contenido de humedad menor a 8%.

BAGAZO BLANCO			
Temperatura (°C)	Humedad inicial* (%)	Tiempo secado (min)	Humedad final* (%)
80	58,2 ± 2,1	160	7,9 ± 0,1
60	65,1 ± 1,5	540	7,2 ± 0,5
40	64,9 ± 3,2	5.400	7,0 ± 0,1

± = Desviación estándar, análisis realizados en duplicado.

* = Humedades expresadas en base seca.

En la Tabla 2 se observa nuevamente que las humedades iniciales de las muestras de bagazo blanco son bastante variables entre sí, a pesar de que fueron tomados 10 g de muestra por igual para cada temperatura de secado, lo que también se puede justificar por la heterogeneidad única del bagazo.

En lo que respecta al tiempo de secado, también se puede observar que es inversamente proporcional a la temperatura. El tiempo a 40°C es extremadamente largo (5.400 minutos o 90 horas), en comparación con las otras dos temperaturas, es por esto que debería descartarse si se quiere optimizar el proceso. Las otras dos temperaturas si presentan tiempos razonablemente menores con 160 minutos (2 horas y 40 min) a 80°C y 540 minutos (9 horas) a 60°C.

Por otra parte, haciendo una apreciación general de ambas tablas (Tabla 1 y 2) cabe destacar la diferencia en las humedades iniciales y en los tiempos de secado de ambos bagazos, siendo mayores las humedades y los tiempos en el bagazo blanco, lo que podría deberse a que este bagazo es menos prensado que el de uva tinta en la elaboración de vino, quedando al momento de ser extraído para ser

congelado con una mayor cantidad de agua, lo que explica que su humedad inicial sea mayor y que también lo sea el tiempo a emplearse en su secado.

5.1.2. Selección de la mejor temperatura de secado del bagazo

Para seleccionar la mejor temperatura de secado se utilizaron como criterios de selección (3.5) el tiempo de secado y el contenido de antioxidantes y fibra presentes en el bagazo. Los resultados para bagazo tinto y blanco se presentan en las Tablas 3 y 4, respectivamente. Por otra parte, el detalle del análisis estadístico de ambas Tablas se encuentra en el Anexo 2.

Tabla 3. Resultados de análisis de antioxidantes y fibra dietaria en bagazo tinto secado a tres temperaturas diferentes.

BAGAZO TINTO	Temperatura de secado (°C)		
	40	60	80
ORAC (µmoles TE/g)	242,2 ± 8,1 ^a	247,3 ± 21,3 ^a	200,4 ± 8,3 ^b
Polifenoles totales (mg/g)	36,5 ± 5,8 ^{ab}	42,4 ± 2,3 ^a	34,2 ± 2,1 ^b
Antocianinas totales (mg/g)	1,5 ± 0,1 ^a	1,6 ± 0,0 ^a	1,3 ± 0,1 ^b
Fibra Soluble (%)	4,89	5,49	5,18
Fibra Insoluble (%)	56,54	58,94	57,10
Fibra Total (%)	61,43	64,43	62,28

± = Desviación estándar para análisis realizados en duplicado.

Superíndices distintos en una misma fila indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$).

En la Tabla 3 se observan los resultados obtenidos en el bagazo tinto, los valores para el análisis ORAC muestran que a las temperaturas de 40° y 60°C no hay diferencias significativas ($p > 0,05$). Los resultados a temperatura de 80°C presentan diferencias significativas con las temperaturas más bajas ($p \leq 0,05$), con una leve disminución debido a la alta temperatura de secado, que podría degradar los antioxidantes. En los resultados para polifenoles totales se observa que a la temperatura de 60°C se obtuvo un valor levemente mayor que presentó diferencias significativas únicamente con la temperatura de 80°C ($p \leq 0,05$). Las

antocianinas totales, presentaron diferencias significativas a la temperatura de 80°C donde también se obtuvo un valor menor.

En los resultados obtenidos para los tres tipos de fibra (soluble, insoluble y total) no se presentaron diferencias a las tres temperaturas, lo que era de suponer, puesto que la fibra del bagazo no debería verse afectada por la temperatura de secado.

Según los criterios de selección mencionados anteriormente (3.5), se puede descartar la temperatura de 80°C, ya que a pesar de ser la mejor según tiempo de secado (Tabla 1) no lo es según los análisis de antioxidantes. Entre las temperaturas de 40° y 60°C no se apreciaron diferencias significativas en cuanto a capacidad antioxidante, pero si se puede descartar la de 40°C por ser poco eficiente en cuanto al tiempo de secado (Tabla 1).

Por lo tanto, la temperatura escogida como mejor, haciendo un balance entre capacidad antioxidante y tiempo de secado, es la de 60°C para el bagazo tinto.

Tabla 4. Resultados de análisis de antioxidantes y fibra dietaria en bagazo blanco secado a tres temperaturas diferentes.

BAGAZO BLANCO	Temperatura de secado (°C)		
	40	60	80
ORAC (µmoles TE/g)	321,3 ± 4,6 ^{ab}	365,8 ± 37,3 ^a	301,9 ± 16,2 ^b
Polifenoles totales (mg/g)	31,8 ± 4,3 ^b	41,2 ± 3,5 ^a	39,9 ± 3,2 ^a
Fibra Soluble (%)	4,29	4,08	4,29
Fibra Insoluble (%)	31,04	30,36	33,03
Fibra Total (%)	35,33	34,44	37,33

± = Desviación estándar para análisis realizados en duplicado.

Superíndices distintos en una misma fila indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$).

En la Tabla 4 se muestran los resultados para el bagazo blanco. En el análisis ORAC se observa, al igual que en el bagazo tinto, que a las temperatura de 40° y 60°C no hay diferencias significativas ($p \leq 0,05$). Además, si se considera la alta

desviación estándar a 60°C, se obtiene un valor similar a la de 40°C. A la temperatura de 80°C se observan diferencias significativas con la temperatura de 60°C ($p \leq 0,05$), y se aprecia una leve disminución en la capacidad antioxidante, que como se explicó en el bagazo tinto, puede deberse a la degradación de algunos compuestos por la alta temperatura. Entre las temperaturas de 40° y 80°C no se encontraron diferencias significativas, lo que podría deberse en el caso de los 40°C por el tiempo prolongado de secado y a los 80°C por la alta temperatura, lo que equipara ambos resultados. Los polifenoles totales presentaron diferencias significativas entre la temperatura de 40°C y las temperaturas de 60° y 80°C ($p \leq 0,05$), éstas últimas no presentaron diferencias entre sí.

En cuanto a la fibra dietaria, los resultados obtenidos tampoco presentaron diferencias, al igual que en el bagazo tinto, la fibra no se vio afectada por las temperaturas.

Por lo tanto, según los criterios de selección (3.5) se pueden descartar las temperaturas de 40° y 80°C por las mismas razones que en el bagazo tinto, la de 80°C por presentar una disminución en la capacidad antioxidante y la de 40°C por un tiempo muy largo de secado (Tabla 2). Entonces, la temperatura seleccionada como mejor para el bagazo blanco es la de 60°C.

Por otra parte, si se realiza una observación general de los resultados de las Tablas 3 y 4, se observa que la fibra es mayor en el bagazo tinto que en el blanco, lo que podría deberse a que este bagazo tiene un porcentaje mayor de pepas y partes fibrosas de la fruta, lo que hacen más alto este valor.

Por el contrario, en los resultados generales de antioxidantes se observan valores mayores para el bagazo blanco, lo que podría deberse a que este bagazo es menos procesado en la vinificación que el tinto, quedando posiblemente con mayor contenido de antioxidantes.

5.2. Molienda y tamizado del bagazo de uva

5.2.1. Determinación del rendimiento de tamizado de la harina de bagazo de uva

Se realizó una molienda y posteriormente un tamizado de ambos bagazos secados a 60°C, con estos datos se calculó el rendimiento de los tamizados para poder considerar estos valores en la selección del tamaño de partícula más adecuado de la harina, los valores se muestran en las Tablas 5 y 6.

Tabla 5. Rendimiento del tamizado en la harina de bagazo de uva tinta.

HBU TINTA		
Tamaño de partícula (μm)	Peso final después de tamizado (g) *	Rendimiento del tamizado (%)
> 500	30,2	25
< 500	89,8	75
< 500 - > 300	46,0	38
< 300	43,8	37

* Peso inicial: 120 g.

En la Tabla 5 se aprecian los resultados obtenidos en el tamizado de HBU tinta, cabe mencionar que para las pruebas se comenzó con 120 g iniciales de bagazo molido.

El primer tamaño de partícula (> 500 μm) que se muestra en la tabla es la fracción residual, debido a su mayor tamaño y su bajo rendimiento en el tamizado (solo un 25%) no fue considerado para la selección del mejor tamaño ni para los análisis posteriores de antioxidantes y fibra. El segundo tamaño de partícula (< 500 μm) se obtuvo pasando los 120 g de bagazo molido por un tamiz de 500 μm , de éste se consiguió el mejor rendimiento con un 75%. A pesar de que este no es un valor tan alto es importante considerar que la molienda fue hecha de forma artesanal, probablemente de forma industrial se obtendrían mejores valores. Para lograr el

tercer y cuarto tamaño de partícula (< 500 - > 300 μm y < 300 μm , respectivamente) se tomaron los 89,8 g obtenidos en el primer tamizado y se pasaron por el tamiz de 300 μm , de esto se obtuvieron dos fracciones, la de arriba con tamaño de partícula menor a 500 μm pero mayor a 300 μm , en la cual se tuvo un rendimiento del 38% y la de abajo con tamaño de partícula menor a 300 μm , de la cual se consiguió un rendimiento del 37%.

Por lo tanto, se puede decir que el mejor tamaño de partícula en este caso, considerando únicamente el rendimiento en el tamizado, es el menor a 500 μm .

Tabla 6. Rendimiento del tamizado en la harina de bagazo de uva blanca.

HBU BLANCA		
Tamaño de partícula (μm)	Peso final después de tamizado (g) *	Rendimiento del tamizado (%)
> 500	17,3	14
< 500	102,7	86
< 500 - > 300	55,3	46
< 300	47,4	40

* Peso inicial: 120 g.

En la Tabla 6 se muestran los resultados del rendimiento del tamizado para la HBU blanca, en este caso se realizó el mismo proceso descrito anteriormente en la HBU tinta para obtener los cuatro tamaños de partícula, aquí también se descartó el primero (> 500 μm) para la selección del mejor tamaño por su bajo rendimiento (solo un 14%) y por su mayor tamaño de partícula.

Si se observa la columna de los rendimientos se aprecia que el mejor se obtuvo en el segundo tamaño de partícula (< 500 μm) con un 86%, por lo tanto, considerando solo el rendimiento se podría seleccionar este tamaño como el mejor para la HBU blanca.

Al hacer una apreciación general de la molienda considerando los valores de rendimiento de tamizado, se puede decir que esta fue mejor en el bagazo blanco que en el tinto, debido a los mejores porcentajes de rendimiento obtenidos, esto podría deberse a que esta muestra de bagazo blanco en particular quedo con menos humedad, aproximadamente 5%, en cambio en el bagazo tinto se obtuvo un 7% aproximado de humedad, es por esto que el bagazo blanco al estar menos húmedo podría haber facilitado la molienda y el tamizado para un mejor rendimiento. Es importante destacar que este fue un caso particular y que igualmente está dentro del objetivo planteado de secar los bagazos hasta un porcentaje de humedad menor al 8%.

Otra de las razones por la cual el bagazo blanco presenta una mejor molienda es por su menor contenido de partes fibrosas de la fruta. Como se mencionó anteriormente el bagazo tinto posee más pepas y partes de los racimos o escobajos que hacen más difícil su molienda.

5.2.2. Selección del mejor tamaño de partícula para la harina de bagazo de uva

Para determinar el mejor y más adecuado tamaño de partícula para la harina de bagazo de uva se consideraron dos criterios de selección (3.5): el rendimiento en el tamizado (Tablas 5 y 6) y los resultados obtenidos en los análisis de antioxidantes y de fibra dietaria que se muestran en las Tablas 7 y 8. El detalle del análisis estadístico de ambas Tablas se encuentra en el Anexo 2.

Tabla 7. Resultados de análisis de antioxidantes y fibra dietaria en harina de bagazo de uva tinta con tres tamaños de partícula diferentes.

HBU TINTA	Tamaño de partícula (µm)		
	< 500	< 500 - > 300	< 300
ORAC (µmoles TE/g)	378,9 ± 20,5 ^a	236,6 ± 14,2 ^b	372,3 ± 35,1 ^a
Polifenoles totales (mg/g)	49,5 ± 1,5 ^a	38,8 ± 1,3 ^b	48,8 ± 3,9 ^a
Antocianinas totales (mg/g)	1,6 ± 0,2 ^a	1,5 ± 0,1 ^a	1,5 ± 0,1 ^a
Fibra Soluble (%)	3,15	3,81	5,07
Fibra Insoluble (%)	39,01	45,51	38,54
Fibra Total (%)	42,16	49,31	43,61

± = Desviación estándar para análisis realizados en duplicado.

Superíndices distintos en una misma fila indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$).

En la Tabla 7 se observan los resultados obtenidos en los análisis de antioxidantes y fibra de la HBU tinta con tres tamaños de partícula distintos. Los valores para el análisis ORAC muestran que entre los tamaños de partícula < 500 µm y < 300 µm no hay diferencias significativas ($p \leq 0,05$). En el tamaño de partícula intermedio (< 500 - > 300 µm), se aprecia una gran disminución en la capacidad antioxidante, con diferencias significativas ($p \leq 0,05$), que podría deberse a la pérdida de estas propiedades en el tamizado.

Resultados similares se aprecian en los resultados para polifenoles totales, donde los tamaños < 500 µm y < 300 µm no presentan diferencias significativas entre ellos, pero sí en comparación con el < 500 - > 300 µm, que es bastante menor ($p \leq 0,05$). Las antocianinas totales no presentaron diferencias significativas entre los tamaños de partícula ($p > 0,05$).

Por otra parte, en la fibra dietaria se observan valores menores y similares para los tamaños de partícula extremos (< 500 µm y < 300 µm) en comparación con el tamaño central (< 500 - > 300 µm) lo que se condice con los resultados obtenidos de antioxidantes. El tamaño central posee menos propiedades antioxidantes debido a su pérdida en el tamizado pero queda con un mayor porcentaje de fibra por esta misma razón.

De acuerdo a los criterios de selección (3.5) del mejor tamaño de partícula (rendimiento del tamizado y resultados en análisis de antioxidantes y fibra) para la HBU tinta se puede descartar el tamaño de partícula intermedio (< 500 - > 300 µm) ya que a pesar de tener levemente más fibra posee mucha menos capacidad antioxidante. En los tamaños extremos (< 500 µm y < 300 µm) no se presenta una diferencia en los análisis ni de antioxidantes ni de fibra, pero si se puede descartar el tamaño de partícula menor a 300 µm por su bajo rendimiento en el tamizado (Tabla 5).

Por lo tanto, el tamaño de partícula escogido como mejor, haciendo un balance entre capacidad antioxidante, fibra y rendimiento del tamizado, es el menor 500 µm para el bagazo tinto.

Tabla 8. Resultados de análisis de antioxidantes y fibra dietaria en harina de bagazo de uva blanca con tres tamaños de partícula diferentes.

HBU BLANCA	Tamaño de partícula (µm)		
	< 500	< 500 - > 300	< 300
ORAC (µmoles TE/g)	210,2 ± 20,0 ^b	136,9 ± 16,0 ^c	259,8 ± 15,1 ^a
Polifenoles totales (mg/g)	31,4 ± 3,9 ^{ab}	25,8 ± 2,2 ^b	37,3 ± 3,4 ^a
Fibra Soluble (%)	3,80	2,89	3,02
Fibra Insoluble (%)	20,90	18,88	20,17
Fibra Total (%)	24,70	21,77	23,19

± = Desviación estándar para análisis realizados en duplicado.

Superíndices distintos en una misma fila indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$).

La Tabla 8 presenta los resultados para la HBU blanca. En el análisis ORAC se encontraron diferencias significativas entre los tres tamaños de partícula ($p \leq 0,05$), el menor valor se obtuvo en el tamaño de partícula intermedio (< 500 - > 300 µm), lo que puede deberse a la pérdida de algunos compuestos en el tamizado. El mayor valor se obtuvo en el tamaño menor a 300 µm, lo que puede explicarse a que al ser más fino el tamizado podría permitir una mejor extracción de los compuestos antioxidantes previo a su análisis. En los polifenoles totales se encontraron diferencias significativas únicamente entre el tamaño de partícula

intermedio ($< 500 - > 300 \mu\text{m}$) y el menor a $300 \mu\text{m}$, con un valor más bajo para el tamaño intermedio.

En la fibra dietaria no se aprecian diferencias entre los distintos tamaños de partícula para este bagazo.

Según los criterios de selección (3.5) se pueden descartar los tamaños de partícula $< 500 - > 300 \mu\text{m}$ por presentar una menor capacidad antioxidante, y $< 300 \mu\text{m}$ por su bajo rendimiento en el tamizado (Tabla 6).

Finalmente el mejor tamaño de partícula para la HBU blanca es el menor a $500 \mu\text{m}$, al igual que en la HBU tinta, por su buen rendimiento en el tamizado (86%, Tabla 6) y por su igualmente buena capacidad antioxidante.

Por consiguiente, la harina seleccionada como mejor fue la secada a temperatura de 60°C , molida y tamizada a tamaño menor que $500 \mu\text{m}$ para ambos bagazos tinto y blanco. En cuanto a la capacidad y el contenido de antioxidantes se puede observar que este es mucho más elevado en la HBU tinta, lo que concuerda con lo mencionado en el punto 1.2.1 referente a que los compuestos antioxidantes eran mayores en uva tintas que en blancas.

El contenido de fibra dietaria es bastante variable en el bagazo en general, debido a su composición poco homogénea, en este caso la HBU tinta presentó un mayor contenido de fibra total, destacándose por su contenido de fibra insoluble lo que podría deberse a que en su composición el bagazo tinto presenta mayor cantidad de pepas y partes fibrosas.

Como apreciación general de ambas harinas obtenidas, se puede decir que la HBU tinta tiene mejores propiedades funcionales que la blanca, puesto que su bagazo requiere un menor tiempo de secado y además posee mejores características antioxidantes y mayor contenido de fibra dietaria, por lo tanto,

podría ser un mejor producto en general para ser incorporado a algún alimento, como por ejemplo pan, pastas, galletas o productos lácteos.

5.3. Análisis proximal de la harina de bagazo de uva final escogida

Los resultados del análisis proximal de la harina de bagazo de uva final escogida se presentan en la Tabla 9.

Tabla 9. Resultados análisis proximal de la harina de bagazo de uva final

	HBU TINTA	HBU BLANCA
Energía (Kcal/100g)	195,3	280,6
ENN* (%)	19,9	56,1
Humedad (%)	4,9	5,3
Proteínas (%)	11,0	6,4
Lípidos (%)	7,9	3,4
Cenizas (%)	14,1	4,6
Fibra (%)	42,2	24,2

*ENN: Elementos no nitrogenados

Se observa en la Tabla 9 que la energía en Kcal de la HBU blanca es mucho mayor que la tinta, este valor elevado se debe a los elementos no nitrogenados (ENN) presentes en la HBU blanca, los que consideran los carbohidratos y los azúcares disponibles. Las uvas blancas por lo general presentan mayor cantidad de azúcares que las uvas tintas.

Al comparar los valores obtenidos para el resto de parámetros (proteínas, lípidos, cenizas y fibra), se observa que la HBU tinta presenta valores mayores en todos estos componentes, lo que la hace una harina mucho más completa.

A modo de resumen se puede decir que la HBU tinta presenta un valor menor en cuanto a su contenido energético, en comparación con la HBU blanca, sin embargo, es más completa en cuanto a sus características nutricionales general.

5.4. Estudio de estabilidad en el tiempo de la harina de bagazo de uva final escogida.

Con las harinas de bagazo final escogidas se realizó un estudio de estabilidad en el tiempo para determinar el comportamiento de sus características antioxidantes. Las muestras de harina de bagazo fueron almacenadas a 4°C y a 45°C durante seis semanas y se realizaron análisis de antioxidantes al inicio y al final del estudio. Los resultados se muestran en las Tablas 10 y 11. Además, el detalle del análisis estadístico de ambas Tablas se encuentra en el Anexo 2.

Tabla 10. Resultados del estudio de estabilidad en el tiempo para HBU Tinta.

HBU TINTA	Inicial	Final a 4°C	Final a 45°C
ORAC (µmoles TE/g)	378,9 ± 20,5 ^{ab}	424,7 ± 36,1 ^a	360,8 ± 21,4 ^b
Polifenoles totales (mg/g)	49,5 ± 1,5 ^a	48,9 ± 1,7 ^a	50,2 ± 2,0 ^a
Antocianinas totales (mg/g)	1,6 ± 0,2 ^a	1,6 ± 0,1 ^a	1,4 ± 0,1 ^a

± = Desviación estándar para análisis realizados en duplicado.

Superíndices distintos en una misma fila indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$).

Se observa en la Tabla 10 los resultados del estudio de estabilidad de la HBU tinta. En el análisis ORAC, al comparar el valor inicial con el final a 4°C, se produjo un leve aumento en la capacidad antioxidante, sin embargo estadísticamente no fue significativa ($p > 0,05$), el leve aumento podría deberse a compuestos antioxidantes unidos entre sí o con otros compuestos y que al estar almacenados a temperatura de refrigeración fueron liberados, aumentando levemente la capacidad antioxidante de la muestra. En estudios no publicados realizados en el Centro de Nutrición Molecular y Enfermedades Crónicas de la Pontificia Universidad Católica, se obtuvieron resultados similares donde después de

someter a ciertas variedades de berries a un almacenamiento refrigerado (4°C) por un tiempo determinado aumentaba su capacidad antioxidante comparada con la inicial.

Al comparar el valor inicial con el final a 45°C, no se obtuvieron diferencias significativas en la capacidad antioxidante por lo que se puede suponer que a estas condiciones de almacenamiento y temperatura no se vieron afectados los antioxidantes.

Los resultados de polifenoles totales y antocianinas totales no presentaron diferencias significativas ($p > 0,05$) comparando el valor inicial con los finales a 4 y 45°C.

Tabla 11. Resultados del estudio de estabilidad en el tiempo para HBU Blanca.

HBU BLANCA	Inicial	Final a 4°C	Final a 45°C
ORAC (μmoles TE/g)	210,2 \pm 20,0 ^c	432,4 \pm 32,5 ^a	372,8 \pm 20,3 ^b
Polifenoles totales (mg/g)	31,4 \pm 3,9 ^b	43,5 \pm 2,6 ^a	42,7 \pm 2,2 ^a

\pm = Desviación estándar para análisis realizados en duplicado.

Superíndices distintos en una misma fila indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$).

La Tabla 11 muestra los resultados del estudio de estabilidad para la HBU blanca, donde destaca la capacidad antioxidante final a 4°C por sobre la inicial con diferencias significativas ($p \leq 0,05$), ya que el valor obtenido fue más del doble, esto podría deberse a las mismas razones expresadas para la HBU tinta, es decir, que al estar las muestras almacenadas a una temperatura de 4°C permitió la liberación de más compuestos antioxidantes, además el bagazo blanco posee compuestos diferentes del tinto que podrían haberse liberado a estas condiciones.

Al comparar el valor inicial con el final a 45°C también se observa un aumento de la capacidad antioxidante con diferencias significativas ($p \leq 0,05$), esto podría

deberse a que hubo una liberación de compuestos antioxidantes, al igual que a 4°C, pero en menor cantidad.

Los polifenoles totales presentaron un aumento en ambos valores finales comparándolos con el valor inicial con diferencias estadísticamente significativas ($p \leq 0,05$), lo que podría deberse también a la liberación de algunos de estos compuestos dado por las condiciones y temperaturas de almacenamiento.

Es importante recalcar que no existen estudios similares sobre este tema, por ende, es difícil argumentar que fue lo que sucedió específicamente con las capacidades antioxidantes de ambas harinas.

Por otra parte, a la harina final escogida también se le realizó un análisis microbiológico para conocer el recuento total de aerobios mesófilos, enterobacterias y levaduras que pudieran estar presentes en las muestras al inicio y al final del estudio de estabilidad en el tiempo, los resultados se muestran en las Tablas 12 y 13.

Tabla 12. Resultados de análisis microbiológico para HBU Tinta

HBU TINTA	Recuento (UFC/g)*		
	Recuento total aerobios mesófilos (RAM)	Enterobacterias	Levaduras
Inicial	< 100	< 10	< 100
Final a 4°C	< 100	< 10	< 100
Final a 45°C	< 100	< 10	< 100

* UFC/g = Unidades formadoras de colonias por gramo de muestra.

Tabla 13. Resultados de análisis microbiológico para HBU Blanca

HBU BLANCA	Recuento (UFC/g)*		
	Recuento total aerobios mesófilos (RAM)	Enterobacterias	Levaduras
Inicial	< 100	< 10	< 100
Final a 4°C	< 100	< 10	< 100
Final a 45°C	< 100	< 10	< 100

* UFC/g = Unidades formadoras de colonias por gramo de muestra.

En las Tablas 12 y 13 se muestran los resultados de los análisis microbiológicos para HBU tinta y blanca respectivamente.

En el Reglamento Sanitario de los Alimentos (RSA, 2010) se especifican los criterios microbiológicos por grupos de alimentos (Título V, Párrafo III, Artículo 173), sin embargo, la harina de bagazo de uva como tal no encaja en ninguna de las categorías. Se escogieron dos grupos de alimentos del RSA que podrían tener con características similares a la HBU para hacer una comparación y determinar si esta cumple con los criterios microbiológicos.

El primer grupo es el 14.2 “Frutas y otros vegetales comestibles pre-elaborados, listos para el consumo”, si se comparan los resultados inicial, final a 4°C y final a 45°C obtenidos para HBU tinta y blanca de RAM y enterobacterias se puede decir que están dentro de los límites establecidos por el RSA para este grupo de alimentos.

El segundo grupo 14.7 “Frutas y verduras desecadas o deshidratadas”, se utilizó para hacer una comparación del análisis de levaduras donde también ambas harinas en todas las condiciones (inicial, final a 4°C y final a 45°C) se encuentran dentro de los límites establecidos.

6. CONCLUSIONES

Se determinaron los mejores tiempos de secado para ambos bagazos de uva a las tres temperaturas escogidas (40, 60 y 80°C) hasta que el bagazo tuviera un contenido de humedad menor a 8%. Con los análisis de antioxidantes y fibra dietaria de ambos bagazos se seleccionó la temperatura de 60°C como la mejor para el secado, utilizando como criterios de selección el tiempo de secado y el contenido de antioxidantes y fibra dietaria. Las humedades iniciales y los tiempos de secado fueron mayores en el bagazo blanco.

Se determinaron los rendimientos del tamizado de las HBU tinta y blanca para los tres tamaños de partícula (< 500 µm, < 500 - > 300 µm y < 300 µm) los que se consideraron en la selección del mejor tamaño de partícula de la harina. Se seleccionó el tamaño menor a 500 µm como el mejor para ambas HBU, teniendo como criterios de selección el rendimiento del tamizado y el contenido de antioxidantes y fibra dietaria.

El rendimiento del tamizado fue mejor en la HBU blanca debido a la menor cantidad de pepas y partes duras de la fruta. La HBU tinta tiene mejores propiedades funcionales que la HBU blanca por sus características antioxidantes, su mayor contenido de fibra dietaria y su menor tiempo de secado.

Del análisis proximal se concluye que la HBU blanca presenta un mayor contenido energético que la tinta debido a la mayor cantidad de azúcares presentes en las uvas blancas. Además se concluye que la HBU tinta es más completa nutricionalmente ya que presenta mayor contenido de proteínas, lípidos, cenizas y fibra.

Del estudio de estabilidad en el tiempo para la HBU tinta se encontró que la muestra a 4°C aumento su capacidad antioxidante debido a la liberación de compuestos antioxidantes en condiciones de refrigeración, mientras que a 45°C no

hubo variación con respecto a la inicial. Los polifenoles y antocianinas no presentaron diferencias a 4 y 45°C con respecto a la muestra inicial.

Del estudio de estabilidad en el tiempo para la HBU blanca se encontró que las muestras a 4 y 45°C aumentaron su capacidad antioxidante y su cantidad de polifenoles totales con respecto a la inicial debido a la liberación de estos compuestos en las condiciones dadas.

De los análisis microbiológicos durante el estudio de estabilidad se encontró que ambas HBU estaban dentro de los límites establecidos por el RSA en las tres condiciones analizadas, es decir, al inicio del estudio de estabilidad y al final a 4 y 45°C.

Es posible la elaboración de una harina de bagazo de uva tinta y blanca con propiedades funcionales maximizadas, tanto en su capacidad antioxidante como en su contenido de fibra total, mediante una temperatura de secado de 60°C y una molienda a un tamaño de partícula menor a 500 µm.

7. BIBLIOGRAFÍA

- Alonso, J. 2000. La uva [en línea] disponible en: <<http://webs.uolsinetis.com.ar/fitomedicina/RevMonografíaSolotxt.html> > [consulta: 13 de octubre de 2012].
- AOAC, 2012. Official Methods of Analysis [en línea] disponible en: <<http://www.aoac.org>> [consulta: 21 de junio de 2012].
- Bordeu, E.y Scarpa, J. 1998. Análisis químico del vino. Ediciones Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile. 253 pp.
- Brescia, P. 2005. Determination of antioxidant potential using an oxygen radical absorbance capacity (ORAC) assay with synergy H4. Applications Scientist, BioTek Instrument, Inc., Winooski, VT.
- Cantos, E., García-Viguera, C., De Pascual-Teresa, S. y Tomás-Barberán, F.A. 2000. Effect of postharvest ultraviolet irradiation on resveratrol and other phenolics of Cv. Napoleon table grapes. J. Agric. Food Chem. 48:4606-4612.
- Chamy, R. y Vivanco, E. 2007. Potencial de Biogás: Identificación y clasificación de los distintos tipos de biomasa disponibles en Chile para la generación de biogás.
- Elaboración de Harina de Bagazo de Uva HBU, 2011. Centro de Nutrición Molecular y Enfermedades Crónicas, Pontificia Universidad Católica.
- Flanzky, C. 2003. Enología: Fundamentos científicos y tecnológicos. A. Madrid Vicente, Ediciones; Ediciones Mundi-Prensa.
- Frankel, E. N., Waterhouse, A. L. Teissedre, P. L. 1995. Principal phenolic phytochemical in selected California wines and their antioxidant activity in inhibiting oxidation of human low-density lipoproteins. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 43 pp. 890-894.
- García O., Infante, R. y Rivera, C. 2008. Hacia una definición de fibra alimentaria. Anales Venezolanos de Nutrición; Vol. 21 (1): 25-30.

- García-Gasca, T. Chávez Castro, V. Muñoz de la Cruz, FC. 2008. Caracterización nutraceutica y análisis sensorial de té de bagazo de uva roja. Universidad Autónoma de San Luis Potosí, Campus Huasteca.
- Huang, D., Ou, B., Hampsch-Woodill, M., Flanagan, J., and Prior, R. 2002. High-throughput Assay on Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC) Using a Multichannel Liquid Handling System Coupled with a Microplate Fluorescence Reader in 96-Well Format. J.Agric. Food Chem. 50:4437-4444.
- IFST, 2012. IFST – The Institute of Food Science and Technology [en línea]. Fibra dietaria, comité de asuntos públicos, técnicos y legislativos, disponible en: < <http://www.ifst.org/> > (consulta: 17 de octubre de 2012).
- Lajolo, F. Saura-Calixto, F. Wittig de Penna, E. y Wenzel de Meneses, E. 2001. Fibra dietética en Iberoamérica: Tecnología y salud. Ed. Librería Varela.
- Lee, J. Durst, R. y Wrolstad, R. 2005. AOAC official method 2005.02: Total Monomeric Anthocyanin Pigment Content of Fruit Juices, Beverages, Natural Colorants, and Wines by the pH Differential Method.
- Lee, S. Prosky, L. y De Vries, J. 1992. Determination of total, soluble, and insoluble dietary fiber in foods- enzymatic- gravimetric methods, MES-TRIS buffer: collaborative Study. Journal of A.O.A.C: International.
- Leighton, F. 2002. Proyecto ciencia, vino y salud. [en línea] disponible en: <<http://info.saludisima.com/ciencia-vino-y-salud/>> (consulta: 21 de Junio de 2012).
- Leighton, F. y Urquiaga, I. 2000. Alimentación, antioxidantes y envejecimiento. Programa para el adulto mayor, Pontificia Universidad Católica de Chile.
- Leighton, F. y Urquiaga, I. 2004. Dietas Mediterráneas, La Evidencia Científica. Pontificia Universidad Católica de Chile.
- Miranda, A. 2006. La fibra Dietaria en la nutrición. Artículo de medicina. Universidad Autónoma del Estado de México.

- Nelson, A.M. 2001. High-fiber ingredients. Eagan press handbook series. St. Paul, Minnesota, USA.
- ODEPA, 2012. Publicación de la Oficina de Estudios y Políticas Agrarias – ODEPA. Ministerio de Agricultura. Estadísticas por macro rubro agrícola, reporte de Superficie y producción de vides para vinificación, de mesa y pisqueras.
- Ou, B., Hampsch-Woodill, M., and Prior, R. 2001. Development and Validation of an Improved Oxygen Radical Absorbance Capacity Assay Using Fluorescein as the Fluorescent Probe. J.Agric. Food Chem. 49:4619-4626.
- Pennacchiotti, I. 1989. La fibra dietaria y su importancia en la salud humana.
- Periago, M. Ros, G. López, M. Martínez, C. y Rincón, F. 1993. Componentes de la fibra dietética y sus efectos fisiológicos. Revista española de ciencia y tecnología de alimentos.
- Portalantioxidante.com, 2012. “Análisis de antioxidante ¿Qué y cómo se deben medir?” [en línea] <<http://portalantioxidantes.com/analisis-de-antioxidantes>> (consulta: 12 de junio de 2012).
- Producciónlimpia, 2012. “Compostaje de orujo y escobajo, Viña Undurraga” [en línea] disponible en: <<http://www.produccionlimpia.cl/medios/Undurraga.pdf>> (consulta: 02 de junio de 2012).
- Rockenbach, I; Rodrigues, E; Gonzaga, L; Kuskoski, E. y Fett, R; 2008. Actividad antioxidante de sub-producto de la vinificación. Revista Enología N°1 Año V, pp. 1-9, Florianópolis, Santa Catarina, Brasil.
- RSA (2010). Reglamento Sanitario de los Alimentos. Ministerio de Salud. Decreto N° 997/96. Versión actualizada.
- Saura-Calixto, F. 1998. Antioxidant Dietary Fiber Product: A New Concept and a Potential Food Ingredient. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 46 pp. 4303-4306.

- Serra, L; Aranceta, J; Mataix, V; Uauy, R; 2006. Nutrición y Salud Pública: Métodos, bases científicas y aplicaciones. 2° Edición, pp. 10-15.
- Uaemex.mx, 2012. “La fibra dietaria en la nutrición” [en línea] disponible en: <<http://www.uaemex.mx/fmedicina/articulos/fibra.pdf>> (consulta: 22 de Junio de 2012).
- Zoecklein, B.W; Fugelsang, K.C; Gump, B.H. y Nury, F.S; 2001. Análisis y producción de vinos. Edición Acribia, pp. 610-615.
- Zúñiga, M.C; 2005. Caracterización de fibra dietaria en orujo y capacidad antioxidante en vino, hollejo y semilla de uva. Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Agronómicas, Escuela de Agronomía, Memoria de título. Santiago, Chile.
- WHO, 2012. WHO – World Health Organization [en línea]. Dieta, nutrición y la prevención de enfermedades crónicas, reporte en conjunto WHO/FAO, disponible en: <<http://www.who.int/es/>> (consulta: 17 de octubre de 2012).

ANEXOS

ANEXO 1 Pruebas preliminares de secado de los bagazos tinto y blanco donde se determinaron tiempos y humedades a las distintas temperatura de secado.

Tabla 14. Tiempos y humedades del bagazo tinto secado a diferentes temperaturas.

BAGAZO TINTO					
Secado a 80°C		Secado a 60°C		Secado a 40°C	
Tiempo (min)	Humedad* (%)	Tiempo (min)	Humedad* (%)	Tiempo (min)	Humedad* (%)
0	54,0	0	48,6	0	47,1
30	28,3	30	37,7	120	23,6
40	24,0	40	26,4	180	14,4
50	17,8	50	21,9	300	10,3
60	9,3	60	15,3	420	9,3
70	8,7	120	10,6	540	8,6
80	7,0	180	7,3	600	7,5
90	5,6	240	4,9	930	5,7

* = humedades expresadas en base seca.

** En la fila destacada se muestran los tiempos de secado en que se logra la humedad menor al 8% en base húmeda (8,7% en base seca).

Tabla 15. Tiempos y humedades del bagazo tinto secado a diferentes temperaturas.

BAGAZO BLANCO					
Secado a 80°C		Secado a 60°C		Secado a 40°C	
Tiempo (min)	Humedad* (%)	Tiempo (min)	Humedad* (%)	Tiempo (min)	Humedad* (%)
0	58,2	0	65,1	0	64,9
30	37,3	60	44,5	180	62,0
60	31,2	120	23,8	300	40,3
80	22,4	180	13,8	600	39,6
100	17,3	240	10,9	960	11,8
120	11,9	270	10,4	1.800	10,9
130	11,1	300	10,2	2.700	10,3
150	8,3	480	8,6	4.200	9,1
160	7,9	540	7,5	5.400	7,0
170	7,7	1.800	5,8	5.600	6,9

* = humedades expresadas en base seca.

** En la fila destacada se muestran los tiempos de secado en que se logra la humedad menor al 8% en base húmeda (8,7% en base seca).

ANEXO 2 Detalle de análisis estadístico de varianza (ANOVA simple y Test de diferencias múltiples LSD), para tablas 3, 4, 7, 8, 10 y 11.

ANOVA Tabla 3. Resultados de análisis de antioxidantes y fibra dietaria en bagazo tinto secado a tres temperaturas diferentes.

(1) ORAC

Tabla ANOVA para ORAC por Temperatura

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	3972.86	2	1986.43	10.13	0.0119
Intra grupos	1176.38	6	196.063		
Total (Corr.)	5149.24	8			

Pruebas de Múltiple Rangos para ORAC por Temperatura

Método: 95.0 porcentaje LSD

Temperatura	Casos	Media	Grupos Homogéneos
80	3	200.4	X
40	3	242.2	X
60	3	247.3	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
40 - 60		-5.1	27.9751
40 - 80	*	41.8	27.9751
60 - 80	*	46.9	27.9751

* indica una diferencia significativa.

(2) Polifenoles totales

Tabla ANOVA para Polifenoles totales por Temperaturas

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	107.34	2	53.67	3.72	0.0892
Intra grupos	86.68	6	14.4467		
Total (Corr.)	194.02	8			

Pruebas de Múltiple Rangos para Polifenoles totales por Temperaturas

Método: 95.0 porcentaje LSD

Temperaturas	Casos	Media	Grupos Homogéneos
80	3	34.2	X
40	3	36.5	XX
60	3	42.4	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
40 - 60		-5.9	7.59377
40 - 80		2.3	7.59377
60 - 80	*	8.2	7.59377

* indica una diferencia significativa.

(3) Antocianinas totales

Tabla ANOVA para Antocianinas totales por Temperaturas

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	0.14	2	0.07	10.50	0.0110
Intra grupos	0.04	6	0.00666667		
Total (Corr.)	0.18	8			

Pruebas de Múltiple Rangos para Antocianinas totales por Temperaturas

Método: 95.0 porcentaje LSD

Temperaturas	Casos	Media	Grupos Homogéneos
80	3	1.3	X
40	3	1.5	X
60	3	1.6	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
40 - 60		-0.1	0.163128
40 - 80	*	0.2	0.163128
60 - 80	*	0.3	0.163128

* indica una diferencia significativa.

ANOVA Tabla 4. Resultados de análisis de antioxidantes y fibra dietaria en bagazo blanco secado a tres temperaturas diferentes.

(1) ORAC

Tabla ANOVA para ORAC por Temperaturas

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	6439.82	2	3219.91	5.77	0.0401
Intra grupos	3349.78	6	558.297		
Total (Corr.)	9789.6	8			

Pruebas de Múltiple Rangos para ORAC por Temperaturas

Método: 95.0 porcentaje LSD

Temperaturas	Casos	Media	Grupos Homogéneos
80	3	301.9	X
40	3	321.3	XX
60	3	365.8	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
40 - 60		-44.5	47.207
40 - 80		19.4	47.207
60 - 80	*	63.9	47.207

* indica una diferencia significativa.

(2) Polifenoles totales

Tabla ANOVA para Polifenoles totales por Temperatura

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	155.66	2	77.83	5.70	0.0410
Intra grupos	81.96	6	13.66		
Total (Corr.)	237.62	8			

Pruebas de Múltiple Rangos para Polifenoles totales por Temperatura

Método: 95.0 porcentaje LSD

Temperatura	Casos	Media	Grupos Homogéneos
40	3	31.8	X
80	3	39.9	X
60	3	41.2	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
40 - 60	*	-9.4	7.38413
40 - 80	*	-8.1	7.38413
60 - 80		1.3	7.38413

* indica una diferencia significativa.

ANOVA Tabla 7. Resultados de análisis de antioxidantes y fibra dietaria en harina de bagazo de uva tinta con tres tamaños de partícula diferentes.

(1) ORAC

Tabla ANOVA para ORAC por Tamaño de partícula

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	38707.3	2	19353.7	31.32	0.0007
Intra grupos	3707.8	6	617.967		
Total (Corr.)	42415.1	8			

Pruebas de Múltiple Rangos para ORAC por Tamaño de partícula

Método: 95.0 porcentaje LSD

Nivel	Casos	Media	Grupos Homogéneos
500300	3	236.6	X
300	3	372.3	X
500	3	378.9	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
300 - 500		-6.6	49.6657
300 - 500300	*	135.7	49.6657
500 - 500300	*	142.3	49.6657

* indica una diferencia significativa.

(2) Polifenoles totales

Tabla ANOVA para Polifenoles totales por Tamaño de partícula

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	214.98	2	107.49	16.84	0.0035
Intra grupos	38.3	6	6.38333		
Total (Corr.)	253.28	8			

Pruebas de Múltiple Rangos para Polifenoles totales por Tamaño de partícula

Método: 95.0 porcentaje LSD

Nivel	Casos	Media	Grupos Homogéneos
500300	3	38.8	X
300	3	48.8	X
500	3	49.5	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
300 - 500		-0.7	5.04775
300 - 500300	*	10.0	5.04775
500 - 500300	*	10.7	5.04775

* indica una diferencia significativa.

(3) Antocianinas totales

Tabla ANOVA para Antocianinas totales por Tamaño de partícula

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	0.02	2	0.01	0.50	0.6297
Intra grupos	0.12	6	0.02		
Total (Corr.)	0.14	8			

Pruebas de Múltiple Rangos para Antocianinas totales por Tamaño de partícula

Método: 95.0 porcentaje LSD

Nivel	Casos	Media	Grupos Homogéneos
300	3	1.5	X
500300	3	1.5	X
500	3	1.6	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
300 - 500		-0.1	0.282546
300 - 500300		0.0	0.282546
500 - 500300		0.1	0.282546

* indica una diferencia significativa.

ANOVA Tabla 8. Resultados de análisis de antioxidantes y fibra dietaria en harina de bagazo de uva blanca con tres tamaños de partícula diferentes.

(1) ORAC

Tabla ANOVA para ORAC por Tamaño de partícula

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	22937.5	2	11468.7	38.92	0.0004
Intra grupos	1768.02	6	294.67		
Total (Corr.)	24705.5	8			

Pruebas de Múltiple Rangos para ORAC por Tamaño de partícula

Método: 95.0 porcentaje LSD

Nivel	Casos	Media	Grupos Homogéneos
500300	3	136.9	X
500	3	210.2	X
300	3	259.8	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
300 - 500	*	49.6	34.2959
300 - 500300	*	122.9	34.2959
500 - 500300	*	73.3	34.2959

* indica una diferencia significativa.

(2) Polifenoles totales

Tabla ANOVA para Polifenoles totales por Tamaño de partícula

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	198.42	2	99.21	9.42	0.0141
Intra grupos	63.22	6	10.5367		
Total (Corr.)	261.64	8			

Pruebas de Múltiple Rangos para Polifenoles totales por Tamaño de partícula

Método: 95.0 porcentaje LSD

Nivel	Casos	Media	Grupos Homogéneos
500300	3	25.8	X
500	3	31.4	XX
300	3	37.3	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
300 - 500		5.9	6.48523
300 - 500300	*	11.5	6.48523
500 - 500300		5.6	6.48523

* indica una diferencia significativa.

ANOVA Tabla 10. Resultados del estudio de estabilidad en el tiempo para HBU Tinta.

(1) ORAC

Tabla ANOVA para ORAC por Temperaturas

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	6508.46	2	3254.23	4.48	0.0646
Intra grupos	4362.84	6	727.14		
Total (Corr.)	10871.3	8			

Pruebas de Múltiple Rangos para ORAC por Temperaturas

Método: 95.0 porcentaje LSD

Temperaturas	Casos	Media	Grupos Homogéneos
45	3	360.8	X
0	3	378.9	XX
4	3	424.7	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
0 - 4		-45.8	53.8744
0 - 45		18.1	53.8744
4 - 45	*	63.9	53.8744

* indica una diferencia significativa.

(2) Polifenoles totales

Tabla ANOVA para Polifenoles totales por Temperaturas estabilidad

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	17.2956	2	8.64778	1.79	0.2453
Intra grupos	28.9467	6	4.82444		
Total (Corr.)	46.2422	8			

Pruebas de Múltiple Rangos para Polifenoles totales por Temperaturas estabilidad

Método: 95.0 porcentaje LSD

Nivel	Casos	Media	Grupos Homogéneos
0	3	46.8333	X
4	3	48.9	X
45	3	50.2	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
0 - 4		-2.06667	4.38831
0 - 45		-3.36667	4.38831
4 - 45		-1.3	4.38831

* indica una diferencia significativa.

(3) Antocianinas totales

Tabla ANOVA para Antocianinas totales por Temperaturas estabilidad

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	0.08	2	0.04	2.00	0.2160
Intra grupos	0.12	6	0.02		
Total (Corr.)	0.2	8			

Pruebas de Múltiple Rangos para Antocianinas totales por Temperaturas estabilidad

Método: 95.0 porcentaje LSD

Nivel	Casos	Media	Grupos Homogéneos
45	3	1.4	X
0	3	1.6	X
4	3	1.6	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
0 - 4		0.0	0.282546
0 - 45		0.2	0.282546
4 - 45		0.2	0.282546

* indica una diferencia significativa.

ANOVA Tabla 11. Resultados del estudio de estabilidad en el tiempo para HBU Blanca.

(1) ORAC

Tabla ANOVA para ORAC por Temperatura estabilidad

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	79363.8	2	39681.9	63.72	0.0001
Intra grupos	3736.68	6	622.78		
Total (Corr.)	83100.4	8			

Pruebas de Múltiple Rangos para ORAC por Temperatura estabilidad

Método: 95.0 porcentaje LSD

Nivel	Casos	Media	Grupos Homogéneos
0	3	210.2	X
45	3	372.8	X
4	3	432.4	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
0 - 4	*	-222.2	49.8587
0 - 45	*	-162.6	49.8587
4 - 45	*	59.6	49.8587

* indica una diferencia significativa.

(2) Polifenoles totales

Tabla ANOVA para Polifenoles totales por Temperatura estabilidad

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	274.74	2	137.37	14.34	0.0052
Intra grupos	57.46	6	9.57667		
Total (Corr.)	332.2	8			

Pruebas de Múltiple Rangos para Polifenoles totales por Temperatura estabilidad

Método: 95.0 porcentaje LSD

Nivel	Casos	Media	Grupos Homogéneos
0	3	31.4	X
45	3	42.7	X
4	3	43.5	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
0 - 4	*	-12.1	6.18274
0 - 45	*	-11.3	6.18274
4 - 45		0.8	6.18274

* indica una diferencia significativa.