

Universidad Nacional de Cuyo – Facultad de Ciencias Agrarias
Tesis para optar al grado de LICENCIATURA EN BROMATOLOGÍA



ESTUDIO DEL PERFIL NUTRICIONAL Y SENSORIAL DE ALIMENTOS FUNCIONALES FORMULADOS CON ORUJO DE UVA MALBEC

Tesista: Lucía Maribel Becerra

Mendoza, 2022

Título del trabajo: Estudio del perfil nutricional y sensorial de alimentos funcionales formulados con orujo de uva Malbec.

Tesista: Lucía Maribel Becerra

mabec.lucia@gmail.com

Directora: Dra. Andrea Antonioli

Codirector: Dr. Ariel Fontana

Comisión evaluadora:

Presidente:

- Dra. Lic. Brom María Sance

Vocales:

- Nut. Gladys DIP
- MSc. Lic. Brom. Nora Martinengo

Suplente:

- Dra. Lic. Brom. Daniela Locatelli

RESUMEN

Siendo la vid el mayor cultivo frutícola mundial y la producción vitivinícola la mayor actividad industrial de la provincia de Mendoza, se espera destacar las propiedades de uno de los principales subproductos de la vinificación: el orujo de uva. El orujo de uva Malbec posee una importante cantidad de componentes bioactivos incluyendo compuestos fenólicos (CPs) y fibra dietaria, los cuales, junto con su actividad antioxidante, resaltan por su potencial valor nutracéutico.

En este estudio se propuso ensayar la formulación de alimentos incorporando orujo de uva Malbec, evaluando el perfil nutricional, la actividad antioxidante, los atributos sensoriales y el grado de aceptabilidad de los alimentos formulados con orujo.

El orujo deshidratado de uva cv. Malbec, se incorporó como ingrediente en diferentes alimentos tales como: magdalenas, barritas de cereal y biscuits. Se realizaron extracciones de los CPs en el alimento y los extractos fueron caracterizados por el contenido de polifenoles totales (TPC), perfil de CPs antocianos y no antocianos mediante cromatografía líquida acoplada a detectores de arreglo de diodos y fluorescencia (LC-DAD-FLD) y la capacidad antioxidante. Por otro lado, se evaluó el perfil nutricional, y se determinó el grado de aceptación de los alimentos por parte de paneles de evaluadores no entrenados.

Se observó que, tanto el TPC como la actividad antioxidante de los alimentos formulados con orujo, presentaron un incremento comparado con el alimento control. En este aspecto se destacaron las magdalenas, aumentando más de 8 veces el TPC y 6 veces la actividad antioxidante; siguiendo los biscuits en donde los incrementos del TPC y la actividad antioxidante fueron de 6 y 4 veces, respectivamente. Por último, las barras de cereal aumentaron tanto su TPC y actividad antioxidante casi 3 veces.

En los tres alimentos formulados con orujo, se cuantificaron compuestos derivados de las antocianidinas (en orden decreciente de concentración) malvidina, delphinidina, petunidina, peonidina, y cianidina, mientras que en los no suplementados éstos no fueron detectados.

En cuanto a los CPs no antocianos, se identificaron y cuantificaron 14 compuestos en los alimentos suplementados con orujo, mientras que en las muestras testigo se detectaron un número menor de estos compuestos. Los compuestos no antocianos detectados fueron: tirosol, (+)-catequina, (-)-galocatequina, ácido cafeico, ácido siríngico, ácido *p*-cumárico, ácido ferúlico, ácido clorogénico, astilbina, *trans*-resveratrol, quercetina-3-glucósido, rutina, miricetina y quercetina.

En cuanto al valor nutricional, el aporte más significativo se observó en el contenido de fibra bruta, destacándose el producto biscuit, aumentando un poco más de 15 veces con respecto al testigo. También se observó un incremento en el contenido de cenizas y una disminución en los hidratos de carbono.

Desde el punto de vista sensorial, los alimentos formulados con orujo fueron aceptados por los evaluadores ya que fueron generalmente descritos como “me gusta moderadamente”, no manifestando en ningún caso rechazo. Asimismo, los evaluadores afirmaron que estarían dispuestos a consumirlos regularmente si le aportasen un beneficio para la salud.

Los resultados obtenidos arrojan que es factible la incorporación de orujo de uva Malbec en los alimentos estudiados, justificando su agregado en base al enriquecimiento en fibra dietaría y CPs de los mismos.

Palabras claves: orujo, alimentos funcionales, Malbec, subproductos.

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, a Dios por darme la vida y la fuerza necesaria para perseverar y seguir adelante a pesar de las circunstancias.

A mi compañero de vida Lucas, quien ha sido mi apoyo emocional y económico durante los últimos años de carrera ayudándome a llegar a esta etapa.

A mi hija Sofía, quien día a día me motiva a crecer, y con paciencia y amor ha tolerado la ausencia de su mamá en muchas oportunidades.

A mis padres, quienes me dieron los valores y la educación fundamental que me hicieron llegar a este lugar.

A mi segunda familia, mis suegros y cuñada que me han acompañado y apoyado de muchas formas para que pudiera alcanzar mis objetivos.

A mis profesores, particularmente a mi directora Andrea Antonioli quien con su pasión y cariño me mostró desde el comienzo el intrigante camino de la investigación, motivándome día a día, ofreciendo su tiempo y conocimiento, ayudándome en cada paso de mi carrera y de esta tesis. También a Ariel Fontana, mi codirector, por su tiempo y conocimiento, por haber creído en mí y por las oportunidades que me ha dado.

INDICE

| | |
|---|----|
| RESUMEN..... | II |
| AGRADECIMIENTOS..... | IV |
| INDICE | V |
| 1. INTRODUCCIÓN..... | 2 |
| 1.1. Orujo de uva..... | 2 |
| 1.2. El orujo de uva como ingrediente en alimentos..... | 3 |
| 1.3. Alimentos funcionales..... | 5 |
| 1.4. Componentes funcionales del orujo de uva..... | 7 |
| 1.4.1. Compuestos fenólicos..... | 7 |
| 1.4.2. Propiedades antioxidantes del orujo de uva..... | 10 |
| 1.4.3. Fibra dietaria..... | 10 |
| 1.4.4. Oligosacáridos..... | 12 |
| 1.4.5. Proteínas..... | 12 |
| 1.4.6. Minerales..... | 12 |
| 1.4.7. Lípidos..... | 13 |
| 1.5. Características particulares del orujo de uva cv. Malbec..... | 13 |
| 1.6. Características de los alimentos seleccionados para el estudio..... | 14 |
| 1.6.1. Magdalenas y biscuits..... | 14 |
| 1.6.2. Barritas de cereal..... | 15 |
| 2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS | 19 |
| 2.1. Hipotésis..... | 19 |
| 2.2. Objetivos..... | 19 |
| 2.2.1. Objetivo general..... | 19 |
| 2.2.2. Objetivos particulares..... | 19 |
| 3. MATERIALES Y MÉTODOS | 21 |
| 3.1. Estándares, solventes y químicos utilizados..... | 21 |
| 3.2. Materias primas utilizadas para la elaboración de los alimentos..... | 22 |
| 3.3. Obtención de orujo deshidratado..... | 22 |
| 3.4. Elaboración de las muestras..... | 22 |
| 3.4.1. Formulación..... | 22 |
| 3.4.2. Descripción de las etapas de elaboración..... | 24 |

| | | |
|----------|--|----|
| 3.4.3. | Diagramas de flujo de los alimentos elaborados..... | 27 |
| 3.4.3.1. | Magdalenas con orujo..... | 27 |
| 3.4.3.2. | Biscuits con orujo..... | 29 |
| 3.4.3.3. | Barritas de cereal con orujo..... | 31 |
| 3.5. | Extracción de compuestos fenólicos | 32 |
| 3.6. | Determinación del contenido de polifenoles totales, antocianos totales y capacidad antioxidante..... | 32 |
| 3.7. | Caracterización del perfil de compuestos fenólicos..... | 34 |
| 3.7.1. | Caracterización de compuestos fenólicos de bajo peso molecular (no antocianos)..... | 34 |
| 3.7.2. | Caracterización de compuestos fenólicos antocianos..... | 35 |
| 3.8. | Caracterización nutricional (proteínas, lípidos y carbohidratos) | 36 |
| 3.9. | Evaluación sensorial | 37 |
| 4. | RESULTADOS Y DISCUSIÓN..... | 40 |
| 4.1. | Capacidad antioxidante y contenido de polifenoles totales (TPC) | 40 |
| 4.2. | Caracterización del perfil y concentración de compuestos fenólicos..... | 42 |
| 4.2.1. | Perfil de compuestos fenólicos antocianos | 42 |
| 4.2.2. | Perfil de compuestos fenólicos no antocianos..... | 49 |
| 4.3. | Caracterización nutricional..... | 52 |
| 4.3.1. | Fibra..... | 52 |
| 4.3.2. | Proteínas..... | 53 |
| 4.3.3. | Lípidos | 54 |
| 4.3.4. | Hidratos de carbono..... | 55 |
| 4.3.5. | Cenizas | 55 |
| 4.3.6. | Evaluación sensorial | 55 |
| 5. | CONCLUSIONES..... | 65 |
| 6. | BIBLIOGRAFÍA CONSULTADA..... | 68 |
| 7. | ANEXOS | 79 |
| | ANEXO 1 | 79 |

Capítulo 1

INTRODUCCIÓN



1. INTRODUCCIÓN

1.1. Orujo de uva

La vid es el mayor cultivo frutícola mundial, con una producción anual de más de 77 millones de toneladas (FAO, 2019). Alrededor del 57% de su producción global se utiliza en la elaboración de vino (OIV, 2019).

La actividad vitivinícola en Argentina constituye una importante fuente económica. Aproximadamente el 96% de la producción de uva es destinada a la elaboración de vinos y mostos. En la provincia de Mendoza, la producción de vinos en el año 2019 representó aproximadamente el 70% de la producción nacional, siendo la variedad Malbec la de mayor producción, con más de 300.000 toneladas anuales (INV, 2019). Esta variedad se produce mayormente en el departamento de Luján de Cuyo, representada por el 21% de la producción total provincial, siguiendo en importancia Maipú, Tupungato y San Carlos (INV, 2019).

La industria del vino genera millones de toneladas de residuos o subproductos después de la fermentación, entre ellos, el orujo (Kammerer et al., 2004). En la vinificación de vinos tintos, el orujo de uva es el producto obtenido después de la fermentación, el cual está compuesto principalmente por hollejos (pieles) y semillas. En este tipo de vinificación, las semillas suelen estar en contacto con el mosto de fermentación durante varios días, lo que le otorga al vino tinto un contenido variable de CPs (Fontana et al., 2013). Sin embargo, esta extracción es incompleta y el orujo remanente presenta aún altos niveles de CPs y otros metabolitos secundarios, reteniendo alrededor del 20-30 % del total de CPs en el hollejo y entre 60-70 % en las semillas. El grado de extracción depende de la variedad de uva, madurez de la baya, factores ambientales y tecnológicos y procedimientos realizados durante la vinificación (Kammerer et al., 2004). Estos metabolitos tienen efectos beneficiosos para la salud y otras propiedades en diferentes sistemas biológicos y alimentos tal como se ha reportado (Fontana et al., 2013). Las características mencionadas están relacionadas al comportamiento como antioxidantes, actuando como agentes reductores, sequestrantes de metales o de especies reactivas del oxígeno, por lo que provocan la inhibición y retraso de la oxidación de lípidos en diversos sistemas alimentarios (Sánchez-Alonso et al., 2008, Iacopini et al., 2008, Yu et al. 2013). Como consecuencia de ello, se considera al orujo y otros residuos de la vinificación, una valiosa fuente de fitoquímicos.

Debido a estas propiedades promotoras de la salud o de prevención de enfermedades, los productos alimenticios que contienen CPs pueden ser potencialmente

considerados como alimentos funcionales (Fontana et al., 2017).

El aprovechamiento de subproductos de la industria alimentaria ha evidenciado una creciente y continua demanda en las últimas décadas, tanto por razones económicas como ambientales. La presencia en estos subproductos de fitonutrientes (compuestos bioactivos naturales de origen vegetal) que podrían ser de gran valor en las industrias farmacéuticas, cosmética y alimentaria, han sido una de las principales razones de este auge (González-Centeno et al., 2010).

Actualmente una recuperación industrial parcial de un subproducto como el orujo, se lleva a cabo en la extracción de ácido tartárico y de etanol (Silva et al., 2000), pero además puede ser utilizado en alimentación animal, aunque la presencia de polifenoles poliméricos (lignina) reduce la digestibilidad. También puede ser utilizado como mejorador de suelo, sin embargo, los elevados niveles de CPs constituyen un problema ya que inhiben la germinación de semillas y el desarrollo de las plantas (Fontana et al., 2013).

1.2. El orujo de uva como ingrediente en alimentos

Existe una creciente demanda por parte de los consumidores sobre el consumo de alimentos seguros, manifestando además la necesidad de identificar alternativas naturales y probablemente más seguras de antioxidantes para la industria alimentaria. En este sentido, la utilización eficiente, de bajo costo relativo y ambientalmente sustentable de los subproductos de la industria agroalimentaria es de una importancia indiscutible (Spigno et al., 2007). Una de las opciones que presenta mayor interés es la recuperación de los componentes con potenciales propiedades bioactivas como CPs, los cuales, poseen propiedades antioxidantes y pueden ser utilizados en la industria farmacéutica, cosmética y alimentaria.

El éxito actual de la industria alimentaria depende de la capacidad de adaptación e innovación de productos de calidad que satisfagan las expectativas y además respondan a las necesidades sociales de los consumidores (Cortés et al., 2005).

Por lo expuesto anteriormente la utilización de orujo de uva en alimentos brinda la posibilidad de incorporar compuestos fitoquímicos a la dieta cotidiana, que pudieran contribuir al bienestar y a la salud de los consumidores.

Reconocer las fuentes naturales de compuestos con potenciales efectos benéficos para la salud y de importancia económica para nuestra provincia, constituye un punto de partida para la elaboración de alimentos con alto contenido en fitoquímicos. Esto

representa un desafío para los nutricionistas e investigadores de la salud y de la ciencia de los alimentos, en el campo de desarrollo de productos que posibiliten innovar en el mercado de este tipo de alimentos, generando posicionamiento y rentabilidad a partir de la experiencia y conocimiento específico en estos productos.

El documento “Biotecnología argentina al año 2030: Llave estratégica para un modelo de desarrollo tecno-productivo” emitido por el Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación Productiva, con el objetivo de identificar desafíos, oportunidades y posibles líneas de acción para la biotecnología argentina, destaca la utilización de subproductos, residuos y efluentes de las industrias alimentarias como fuente de nuevos componentes bioactivos. Además, resalta el importante aporte que representa el desarrollo de alimentos funcionales, basado en la identificación de nuevos componentes bioactivos, en el conocimiento de sus mecanismos de acción y actividades fisiológicas y su incidencia en la salud del consumidor. Siendo esto último de alto impacto en el bienestar de la población, representando un aporte sustancial de la biotecnología para el sector alimentario (Anlló et al., 2016).

El orujo de uva es una rica fuente de sustancias bioactivas, especialmente CPs, proteínas, lípidos, fibra dietética soluble e insoluble y minerales. Por tanto, se han desarrollado varias formas innovadoras para una reutilización sostenible del orujo de uva (Devesa-Rey et al., 2011). Dentro de la industria de la panadería, los subproductos de la uva se han utilizado con éxito como aditivos en la producción de pan (Mildner-Szkudlarz et al., 2011), galletas (Mildner-Szkudlarz et al., 2013), barras de cereales, panqueques y fideos (Rosales et al., 2012). Otros productos prometedores son los bizcochuelos y budines (Pycarelle et al., 2019).

Nakov et al. (2020) estudiaron el efecto del agregado del orujo de uva en bizcochuelos y obtuvieron que los pasteles enriquecidos con polvo de orujo de uva tenían significativamente más cenizas, lípidos, proteínas, CPs, fibra dietética y capacidad antioxidante que el control. También en su trabajo afirman que la adición de pequeñas cantidades de polvo de orujo de uva no empeora las características tecnológicas de los pasteles y mejora sus cualidades sensoriales.

Otros estudios (Balli et al., 2021; Tolve et al., 2020) demuestran los resultados de agregar orujo de uva a pastas obteniendo un producto con alto contenido en CPs que son retenidos luego de la cocción y con una valiosa cantidad de fibra. Resultados similares se obtienen al agregar orujo de uva en otras matrices alimentarias como en

muffins (Melero et al., 2020; Ortega-Heras et al., 2019), galletas (Mildner-Szkudlarz et al., 2013) y pan (Ceballos et al., 2016), entre otros.

Los estudios mencionados también sugieren que los alimentos preparados con orujo de uva presentan una adecuada aceptabilidad por parte de los consumidores.

1.3. Alimentos funcionales

La evolución de los hábitos nutricionales ha sido muy variable a través del tiempo, pero siempre con el criterio básico de mantener la salud. La prevención de enfermedades crónicas no transmisibles se ha convertido en el foco de interés tanto desde la Salud Pública como desde la investigación y la tecnología. Cada día las exigencias de los consumidores se dirigen más a la búsqueda de nuevos productos con propiedades funcionales que puedan proporcionar, además del valor nutritivo, otros componentes con actividad fisiológica que permitan un mejor estado tanto físico como mental, reduciendo así el riesgo de enfermedades y alargando la vida al mismo tiempo que mantienen su calidad (Cortés et al., 2005). Todas estas causas han motivado el desarrollo de los alimentos funcionales, en los cuales el enriquecimiento con fibra y la incorporación de fitoquímicos (carotenoides, CPs, entre otros) han demostrado sus beneficios en la salud humana y apuntan a mejorar el estilo de vida del mundo. La nutrición óptima apunta a maximizar el potencial genético y fisiológico de cada individuo a efectos de asegurar una vida saludable y minimizar la aparición de enfermedades (Roberfroid, 2002).

En general se considera alimento funcional al que, además de sus valores nutritivos intrínsecos, demuestra tener efectos beneficiosos sobre una o más funciones selectivas del organismo, de modo tal que resulte apropiado para mejorar el estado de salud y bienestar, reducir el riesgo de enfermedad, o ambas cosas. No se trata de comprimidos ni cápsulas, sino de productos que forman parte de un régimen normal (Moreno, 2012).

A lo largo del tiempo se han utilizado muchos términos para identificar los alimentos funcionales, tales como: alimentos de diseño, productos nutracéuticos, alimentos genéticamente diseñados, farmalimentos, vitalimentos, fitoalimentos/fitonutrientes, alimentos de alto rendimiento, alimentos inteligentes, alimentos terapéuticos, alimentos de valor añadido, alimentos genómicos, prebióticos/probióticos, alimentos superiores, alimentos hipernutritivos, alimentos reales (Mazza, 2000; Xu, 2001).

El término “alimento funcional” fue utilizado por primera vez en Japón a principios de los años 80, y desde allí se ha extendido hacia el resto del mundo. Se inicia en Japón

la comercialización de alimentos especialmente formulados para cumplir con una función de salud. A estos alimentos se los categorizó como Foods for Specified Health Uses (FOSHU) y fueron el inicio de una nueva era de la industria alimentaria: la era de los alimentos funcionales (Leal et al., 2016).

El sistema regulatorio japonés, FOSHU (Alimentos de uso exclusivo para la salud), describe 11 categorías de ingredientes con actividad fisiológica (Mazza, 2000):

- Fibras alimentarias.
- Oligosacáridos.
- Alcoholes derivados de azúcares.
- Ácidos grasos poliinsaturados.
- Péptidos y Proteínas.
- Glucósidos, Isoprenoides y Vitaminas.
- Alcoholes y fenoles.
- Colinas (lecitina).
- Bacterias del ácido láctico.
- Minerales.
- Otros.

El poder funcional de los alimentos sobre la salud es de origen milenario, principalmente a lo largo de la historia de la cultura oriental, donde los alimentos y la medicina son considerados igualmente importantes en la prevención y curación de enfermedades. Con el paso del tiempo, se han identificado componentes fisiológicamente activos o bioactivos en los alimentos, soportados con un aumento en las evidencias científicas en que se apoyan los efectos fisiológicos o los beneficios para la salud; al mismo tiempo aumenta el interés de los consumidores, la industria y los legisladores por este tipo de alimentos (Cortés et al., 2005).

Los alimentos funcionales se caracterizan por tener efectos benéficos específicos en la salud del consumidor como resultado de sus ingredientes (prebióticos, probióticos, antioxidantes, ácidos grasos omega-3, ácido fólico, fitoesteroles, fitoestrógenos, entre otros), o porque se le han removido aquellos componentes del alimento que pueden tener un efecto perjudicial en la salud, como por ejemplo la remoción de componentes alérgenos, irritantes, hipercalóricos, entre otros. El efecto positivo de estas modificaciones alimentarias, de adición o de remoción, debe ser evaluado previamente con criterios técnicos y respaldo científico (Valenzuela et al., 2014).

Cabe aclarar que actualmente el CAA prohíbe en forma expresa las indicaciones en los rótulos o anuncios, propaganda radial, televisiva, oral o escrita que se refieran a

propiedades medicinales, terapéuticas o aconsejar su consumo por razones de estímulo, bienestar o salud. (Artículo 235 del CAA, incorporado por Res. Conj. SPRyRS 149/05 y SAGPyA 683/05).

Debe tenerse en cuenta que los alimentos funcionales resultan un complemento interesante, dentro de una estrategia que promueva una buena salud, pero no cumplen por sí solos el objetivo de preservarla. Estos constituyen solo un factor dentro de un estilo de vida que conduce a la buena salud (SERNAC, 2004).

1.4. Componentes funcionales del orujo de uva

Los componentes funcionales del orujo de uva han sido estudiados centrándose en su composición y propiedades biológicas. Además, se ha hecho referencia a los CPs y su capacidad antioxidante, antimicrobiana y las interacciones de los CPs con otros ingredientes de los alimentos, así como también se ha reportado la funcionalidad del aceite de semilla de uva y la fibra presente en el orujo de la misma (Yu et al., 2013). Asimismo, hay reportes sobre la composición del orujo de uva Malbec en donde se han encontrado elevadas concentraciones de CPs, fibra dietaria y actividad antioxidante (Antionioli et al., 2015; Rodriguez Lanzi et al., 2016).

1.4.1. Compuestos fenólicos

Los CPs constituyen uno de los grupos de productos naturales más numerosos y ampliamente distribuidos en el reino vegetal. Incluyen, no solo una amplia variedad de moléculas con una estructura polifenólica (es decir, uno o más grupos hidroxilo unidos a uno o más anillos bencénicos), sino también moléculas con un anillo fenólico, como ácidos fenólicos y alcoholes fenólicos. Los CPs contenidos en las uvas y el vino se pueden clasificar, de acuerdo a la estructura química de las agliconas, en dos grandes grupos: los compuestos flavonoides y los no flavonoides. Los no flavonoides comprenden a los ácidos hidroxicinámicos, ácidos hidroxibenzoicos y estilbenos (Kammerer et al., 2014). Entre los flavonoides, los principales compuestos son: antocianos, flavan-3-oles y flavonoles (Antionioli et al., 2015).

En las figuras 1 y 2 se representan las estructuras de los principales grupos de CPs mencionados, los cuales son frecuentemente identificados y cuantificados en el orujo de uva.

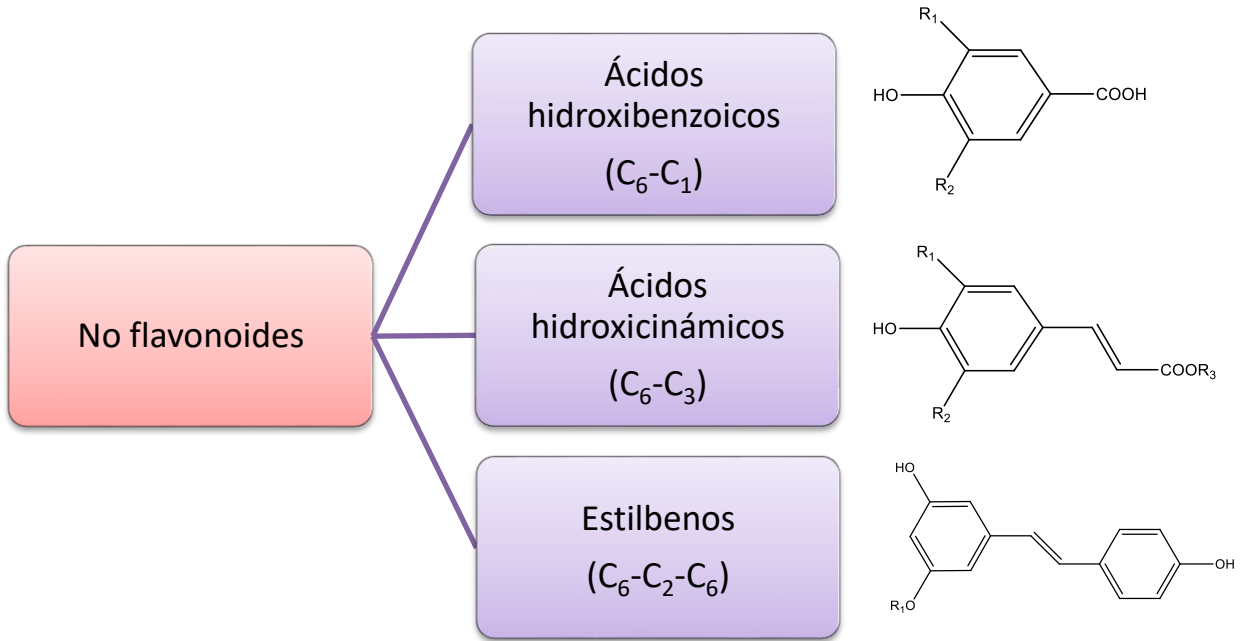


Figura 1: Principales grupos y estructuras químicas de CPs no flavonoides

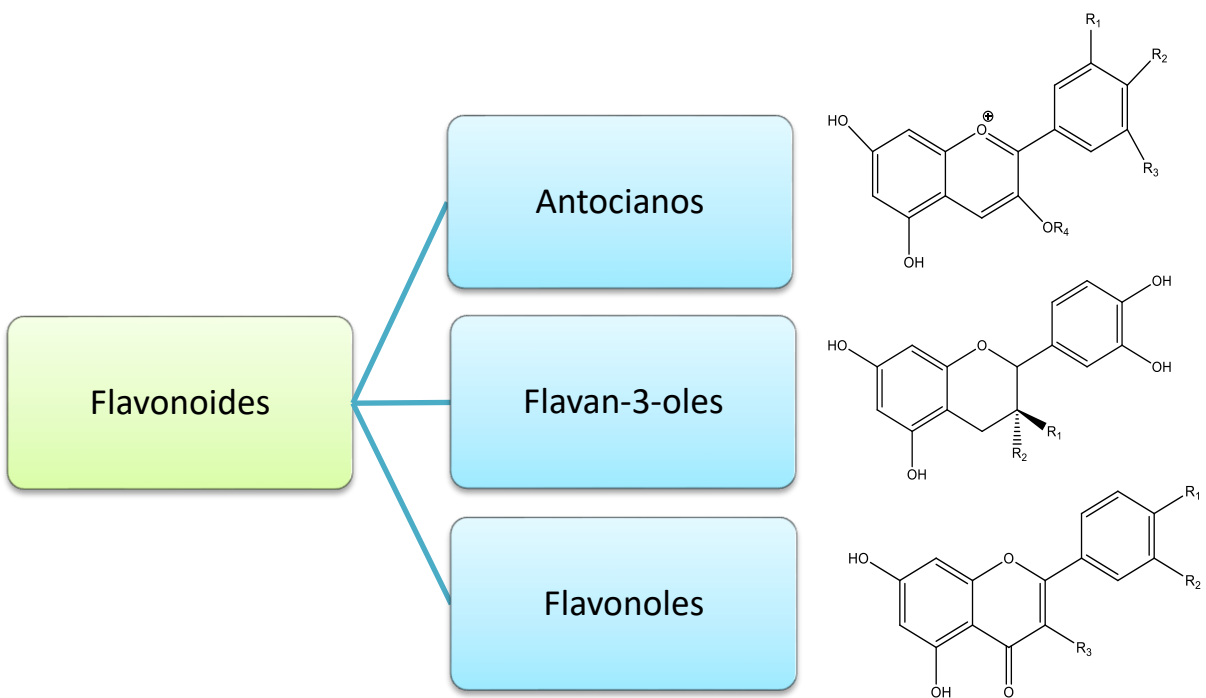


Figura 2: Principales grupos y estructuras químicas de CPs flavonoides

Actualmente, se reconoce que los CPs representan una gran familia de compuestos naturales, los cuales son metabolitos secundarios y derivados de las vías pentosa fosfato, del ácido shikímico y fenilpropanoides (Ajila et al., 2011; Berli et al., 2011). Esto incluyendo sólo una amplia variedad de moléculas con una estructura de polifenol (es decir, varios grupos hidroxilo en los anillos aromáticos), sino también moléculas con un anillo de fenol, tales como los ácidos fenólicos y alcoholes fenólicos (Fontana et al., 2013). De hecho, actualmente son conocidas más de 8000 estructuras fenólicas y a su vez, dentro de éstas se han identificado alrededor de 4000 compuestos de tipo flavonoides (Tsao, 2010).

Entre los diversos CPs previamente detectados en orujo, las antocianinas, ácidos hidroxibenzoicos e hidroxicinámicos, flavan-3-oles, flavonoles y estilbenos aparecen como los más abundantes (Bordiga et al., 2013). Malvidina, petunidina, cianidina, peonidina y delfinidina (todas en forma de 3-O-glucósidos) representan las principales antocianinas (pigmentos característicos del color rojo y producidos durante la maduración de la uva) que se encuentran en los hollejos. Estos compuestos son altamente susceptibles a las transformaciones químicas debido a la acción de diferentes agentes (por ejemplo: la luz, temperatura, oxígeno y pH). Debido a esta característica, los estudios relacionados con estos compuestos están dirigidos a su estabilización para su uso como colorante natural en la industria alimentaria (Xu et al., 2015).

El perfil y la concentración de antocianos en uvas de determinados cultivares están estrechamente vinculados con caracteres genéticos de las variedades y factores del ambiente donde las plantas se desarrollan. La transferencia de antocianos de la uva al vino es relativamente limitada, con valores inferiores al 40% (Kammerer et al., 2005), en consecuencia, una elevada cantidad de antocianos de la uva permanece en el orujo, convirtiéndolo en una fuente abundante de colorantes y antioxidantes naturales para la industria alimentaria.

Los flavan-3-oles, ampliamente difundidos en frutas y verduras, representan el grupo más común de flavonoides de la dieta humana. La mayor concentración de estas moléculas se encuentra en las semillas de la uva, pero son también abundantes en las pieles (Bordiga et al., 2011). El kaempferol, la quercetina, miricetina e isorhamnetina aparecen como los más importantes representantes de los flavonoles. Los estilbenos más importantes son *trans*-resveratrol, y dímeros de piceatanol y resveratrol (Flamini et al., 2013).

1.4.2. Propiedades antioxidantes del orujo de uva

La actividad antioxidante, consecuencia de la presencia y estructura química de los CPs, ha centrado interés en los posibles efectos beneficiosos para la salud de los alimentos y bebidas ricos en ellos. Los antioxidantes protegen el organismo de los radicales libres, moléculas altamente reactivas que pueden dañar el organismo a nivel celular. Este daño producido por los radicales libres puede aumentar el riesgo al desarrollo de cáncer, enfermedades cardiovasculares y otras enfermedades degenerativas. Los antioxidantes desactivan los radicales libres, minimizando el daño y protegiendo el organismo de este tipo de enfermedades. Esto ha traído interés en los antioxidantes presentes de forma natural en la dieta humana (Padilla et al., 2008).

Afortunadamente, la mayoría de los organismos, poseen mecanismos que los protegen de los efectos nocivos de las radicales libres, estabilizándolos hasta volverlos inocuos (Pinto et al., 2003); estos mecanismos incluyen a enzimas que son producidas por las células, entre las que se encuentran la superóxido dismutasa, catalasa y glutatión peroxidasa, y otros compuestos tales como glutatión, ácido ascórbico y α -tocoferol. Los flavonoides y otros CPs pueden tener un efecto aditivo con dichos compuestos (Panche et al., 2016).

La uva, tiene un contenido mucho mayor de CPs en relación con otras frutas, dentro de estos compuestos abundan los fenoles y taninos, que se encuentran mayormente en semillas y en hollejos (Reynier, 1989). En el hollejo de las uvas tintas se han identificado tres monoglucósidos de flavonoles como son la quercetina, kaempferol y miricetina. Las antocianinas presentes en la piel les brindan el color rosa y rojo oscuro a las uvas, destacándose el contenido de malvidin-3-glucósido (Reynier, 1989). Por último, en las semillas en general los taninos son los compuestos más abundantes (Zuñiga Morales, 2005). Además, se pueden encontrar polímeros derivados de catequina y epicatequina, denominados procianidinas (Moya, 2017). Otros CPs pertenecen al grupo de los estilbenos, entre los que destacan la fitoalexina, *trans*-resveratrol y viniferinas (Zuñiga Morales, 2005). Las pepitas contienen también esteroides y tocoferoles, los cuales pueden influir en el nivel de actividad antioxidante (Zuñiga Morales, 2015).

1.4.3. Fibra dietaria

La fibra dietaria es el componente más importante en el orujo de uva deshidratado, con concentraciones comprendidas entre el 43 y 75%. Los polisacáridos y la lignina son los componentes principales de la fibra dietaria. Generalmente, las semillas son más ricas en fibra si se compara con la piel, también el orujo de vino tinto en comparación con el blanco (Gul et al., 2013). Lo más importante relacionado al

consumo de fibra dietaria se basa en la reducción del riesgo asociado a enfermedades cardiovasculares, prevención de la diabetes, protección contra el cáncer, reducción del colesterol, estreñimiento y prevención de la obesidad (Deng et al., 2011).

Se ha reportado que el orujo de uva Malbec posee un contenido de fibra dietaria total del 53% y en el mismo estudio se informó que ratas con una dieta suplementada con orujo de Malbec, disminuyeron su presión arterial sistólica, el nivel de triglicéridos y atenuaron parcialmente la resistencia a la insulina con respecto a un control (Rodríguez Lanzi et al., 2016). El elevado contenido de fibra dietaria del orujo, especialmente glicanos, celulosa y pectinas, resalta su valor nutritivo, con una amplia gama de aplicaciones como ingrediente alimentario (Llobera et al., 2007) y como una fuente de compuestos bioactivos en la formulación de alimentos funcionales y suplementos nutracéuticos (O'Connell et al., 2001).

Si bien la fuente tradicional de fibra dietaria utilizada como ingrediente funcional ha sido a partir de la industria cerealera (Fuentes-Alventosa et al., 2009), se considera que la fibra dietaria de orujo, representa una matriz rica en CPs y, por lo tanto, es un suplemento dietario que combina ambos beneficios. Por un lado, los inherentes a la fibra dietaria y por el otro los CPs con propiedades antioxidantes (Pozuelo et al., 2012). El efecto antioxidante de la fibra dietaria se basa en los CPs unidos a los complejos de polisacáridos, que se liberan en el intestino y funcionan como antioxidantes (Mézes et al., 2018). De esta manera, los subproductos de la vinificación tienen potencial como materia prima para la producción de concentrados de fibra dietaria y el desarrollo de productos comerciales ricos en fibra con un valor nutricional añadido, debido a la importancia que tiene el consumo adecuado de ésta en nuestra dieta (González Centeno et al., 2010).

La ingesta diaria de fibra alimentaria recomendada, 28 gramos/2000 kcal por día (Food and Drugs Administration – FDA), o en la Argentina, de acuerdo a las directrices de la OMS/FAO es de 25 gramos/2000 kcal (MSN, 2020) no es fácilmente alcanzable. De hecho, en el documento “Guías alimentarias para la República Argentina” (MSN, 2020) se reportó que en el país la mediana es de 9,39 g/día y en la región de Cuyo 8,38 g/día. Así, la necesidad de encontrar fuentes alternativas ha promovido la investigación, desarrollo y comercialización de productos ricos en fibra como es el caso del orujo de uva.

1.4.4. Oligosacáridos

Las macromoléculas presentes en la uva y el vino incluyen CPs, proteínas y polisacáridos. Los polisacáridos han sido estudiados exhaustivamente debido a su importancia (propiedades tecnológicas y sensoriales en vinos). A diferencia de los polisacáridos del vino, los oligosacáridos (OS) sólo se han caracterizado recientemente. Estas moléculas representan los subproductos naturales de la degradación de los polisacáridos de la pared celular de las bayas. Los oligosacáridos detectados en los vinos mostraron un grado de polimerización de entre 2 y 50 caracterizados por una gran diversidad estructural (Bordiga et al., 2012; Doco et al., 2015). Los oligosacáridos, carbohidratos que contienen entre 3 y 10 residuos de monosacáridos, se ajustan a la definición de prebiótico porque estos no son digeridos o absorbidos en el tracto intestinal superior de humanos. Estos compuestos llegan intactos al colon, actuando así como nutrientes para la microflora colónica. Junto con un gran contenido en CPs, las semillas de uva también contienen una cantidad significativa de oligosacáridos (Bordiga et al., 2018), lo que confirma que éstas representan una fuente novedosa e interesante de este grupo de moléculas bioactivas.

1.4.5. Proteínas

Gazzola et al. (2014) han informado en forma exhaustiva la caracterización de las proteínas presentes en las semillas de uva. El contenido de proteína puede oscilar entre 6% y 15% (MS) en orujo de uva según variedad y condiciones de crianza. Haciendo una comparación entre pieles y semillas, la proporción de proteínas parece similar. Estos autores informaron que el orujo de uva muestra un perfil de aminoácidos comparable al de los cereales, mostrando altos valores de ácido glutámico y aspártico y valores bajos en triptófano y aminoácidos que contienen azufre.

1.4.6. Minerales

El contenido de minerales del orujo de uva se caracteriza por una variabilidad significativa. Algunos aspectos como las condiciones climáticas, las prácticas vitivinícolas, junto con el proceso de elaboración del vino son responsables de esta variabilidad (Lachman et al., 2013). Los minerales como potasio, fósforo, azufre y magnesio tienden a concentrarse y localizarse principalmente en la piel de las bayas durante la maduración. El tartrato representa las sales de potasio más abundantes, principalmente el bitartrato de potasio. Los tartratos, con valores que oscilan entre el 4% y 14% (materia seca), representan una cantidad significativa en el orujo de uva (Bordiga et al., 2019).

1.4.7. Lípidos

En el análisis por separado de los diferentes componentes del orujo de uva se puede ver que la semilla contribuye con mayor fracción de extracto etéreo (aproximadamente 14% MS; Paulós et al., 2019).

El contenido de lípidos en la semilla está caracterizado por altos niveles de ácido oleico y ácidos linoleicos (insaturados), y muestra valores que van entre 8% y 15% (p/p; Mironeasa et al., 2016). Además, la fracción lipídica se caracteriza por un perfil de ácidos grasos con una alta cantidad de ácidos grasos poliinsaturados /monoinsaturados y baja cantidad de saturados. Los principales ácidos grasos presentes en la semilla de uva son el ácido linoleico (C18:2), ácido oleico (C18:1) y ácido palmítico (C16:0), mostrando un porcentaje de aproximadamente 70%, 15% y 7% respectivamente (Bordiga et al., 2015). La molécula de β -sitosterol representa el principal esteroide en el aceite de semilla, y el α -tocoferol el principal tocoferol, alcanzando valores de alrededor del 70% de los tocoferoles, correspondiente a 3,8 mg.100 g⁻¹ de aceite (Fiori et al., 2014).

1.5. Características particulares del orujo de uva cv. Malbec

El orujo de uva Malbec ha sido recientemente estudiado y caracterizado por Antonioli et al. (2015) para la valorización de este residuo de la vinificación como fuente potencial de antioxidantes naturales, siendo ésta variedad de uva la más emblemática de Argentina.

En el estudio mencionado se obtuvieron valores en el contenido de polifenoles totales de 41,6 mg de equivalente de ácido gálico (GAE) por gramo de orujo, 53,5 % (materia seca) de fibra dietaria y una actividad antioxidante de 258,1 μ mol de equivalentes de Trolox por gramo de orujo (μ mol TE g⁻¹ MS) de uva Malbec.

En cuanto a los CPs de bajo peso molecular se encontraron los flavan-3-oles (+) -catequina y (-) - epicatequina, así como el flavonol quercetina entre los más abundantes. Entre los no flavonoides, los estilbenos son importantes debido a sus propiedades biológicas y aplicaciones nutricionales informadas. Con respecto a esto se encontró *trans*-resveratrol con un nivel de 55,9 μ g por gramo en las muestras de orujo cv Malbec liofilizado.

Este mismo orujo fue el estudiado por Rodriguez-Lanci et al. 2016 en la suplementación de la alimentación de ratas que habían sido sometidas a una dieta rica en grasas y fructosa, obteniendo resultados favorables en la mejora de parámetros relacionados al síndrome metabólico.

1.6. Características de los alimentos seleccionados para el estudio

1.6.1. Magdalenas y biscuits

El Código Alimentario Argentino (CAA) no define específicamente a las magdalenas ni a los biscuits. En el capítulo IX de dicho Código “Alimentos farináceos- cereales, harinas y derivados”, en su artículo 760, los alimentos mencionados se encuentran dentro de la denominación genérica de Galletitas, Bizcochos y productos similares (Cakes, Crackers, Biscuits, Barquillos, Vainillas, Amaretis, etc.), se entienden numerosos productos a los que se les da formas variadas antes del horneado de una masa elaborada a base de harina de trigo u otras o sus mezclas, con o sin salvado, con o sin agentes químicos y/o biológicos autorizados”.

Las magdalenas son un tipo especial de bizcocho obtenido por horneado de la masa en un molde de papel. La masa de las magdalenas es una emulsión de aceite en agua compuesta por una base de harina que incorpora grasa y azúcar como ingredientes principales y como opcionales huevos, leche y otros componentes. El producto final se caracteriza por tener una estructura porosa y un elevado volumen, lo cual le confiere una textura esponjosa. Es un producto altamente apreciado por los consumidores debido a su buen sabor y textura, sin embargo, es un producto con un alto contenido en calorías (Martínez, 2013).

Los biscuits, popularmente conocidos como “bay biscuit” son un tipo de bizcocho preparado a base de harina, azúcar y aceite, que luego de horneada, se corta en rodajas finas y vuelve a hornearse para su deshidratación. De allí su nombre en francés “Bis Cuit” que significa doblemente horneado (Asociación Gastronómica Francesa en Argentina).

Durante las últimas décadas se ha producido una disminución en el consumo de pan que coincide con un aumento en el consumo de productos de bollería y dentro de este grupo, aquellos productos que suponen una reducción en carga energética y/o azúcar son los que más han visto aumentado su consumo (Martínez, 2013). La principal diferencia nutricional entre estos productos es la cantidad y tipo de grasas que contienen. El pan es un producto con baja o nula concentración de grasas mientras que los productos de bollería, generalmente, están compuestos por una amplia gama de productos de alto contenido en azúcares y grasa, siendo especialmente elevada la concentración de ácidos grasos saturados y escasos en proteínas y otros compuestos nutricionales como los antioxidantes (Varela et al., 1993).

Según Vidal (2018), actualmente las personas buscan snacks y comidas preparadas que contengan nutrientes como proteínas, fibras, ácidos grasos omega 3, entre otros. Además, aunque los consumidores priorizan el sabor en estos alimentos, están accesibles a que éstos sean lo más naturales y saludables posibles. Por otro lado, la OMS hace mención a la importancia del consumo de alimentos, que, aunque tengan calorías, sean de alto valor nutricional para evitar algunas enfermedades crónicas como diabetes, cardiovasculares y cáncer (OMS, 2003).

Las magdalenas son productos populares para el desayuno o la merienda con una gran aceptación del consumidor. Debido a que las magdalenas son ricas en azúcar y grasa, se han realizado varios intentos para aumentar su valor nutricional, por ejemplo, reemplazando la sacarosa con edulcorantes intensivos o incorporando fibra dietaria de diferentes fuentes vegetales (Struck et al., 2016) e incluso reformulando los ingredientes para disminuir el contenido en grasa mediante la adición de ingredientes funcionales, como pueden ser fitoesteroles o la inulina (Illanes, 2015).

Con respecto a los biscuits, entran dentro de un grupo de derivados farináceos muy diverso que integran la canasta básica de alimentos en Argentina. Tanto la producción como el consumo de estos productos se han visto incrementados hacia el año 2007 (según informe realizado en dicho año acerca del consumo de estos productos) con respecto a años anteriores (Lezcano, 2008).

Debido al consumo masivo de este tipo de productos y a su escaso valor nutricional, se podrían considerar a estos alimentos adecuados para mejorar sus características nutricionales y así contribuyan también a la prevención de enfermedades cardiovasculares.

1.6.2. Barritas de cereal

Uno de los productos que mayor crecimiento ha registrado en los últimos años son las “barritas de cereal”. Estas son básicamente, una “masa” moldeada en forma de barra, compuesta por cereales de distintos tipos, en algunos casos con algún tratamiento previo, como inflado, tostado, etc. También puede incluir semillas, trozos de fruta, miel, chocolate, yogurt y otros (INTI, 2011).

Las barritas de cereal son comprendidas en el CAA bajo el ítem “cereales para desayuno, merienda u otros alimentos a base de cereales, fríos o calientes”, el cual incluye todos los productos a base de cereales (ya sean extrudados, expandidos, inflados, aplastados, laminados, rolados/cilindrados o en hebras) listos para consumo, los instantáneos y los utilizados normalmente en desayunos, meriendas, u otros, fríos

o calientes. Ejemplo de estos productos son cereales tipo granola, muesli, harina de avena instantánea, copos de maíz, trigo o arroz inflado, cereales mixtos (p.ej. arroz, trigo y maíz), cereales elaborados con soja o salvado, productos de cereales extrudados elaborados con harina o granos de cereales molidos y barras de cereales.

El maíz, el trigo, el arroz y la avena son los principales cereales utilizados como materia prima para elaborar las diferentes variedades de cereales para el desayuno. Con el maíz se obtienen los tradicionalmente conocidos copos o flakes, la avena suele laminarse, con el arroz se elabora arroz inflado y el trigo suele consumirse como trigo triturado o inflado. Asimismo, con los cereales procesados, pueden obtenerse las barritas de cereal que resultan muy convenientes para los consumidores (Lezcano, 2010).

En nuestro país, las barras de cereales o barritas de cereal se conocieron aproximadamente en el año 2000. En un principio, orientadas a deportistas y luego como alternativa para resolver alguna de las comidas del día. Actualmente su composición varía entre las diversas opciones que existen en el mercado y su consumo se ha promovido, por medio de publicidades, como alternativas saludables y nutritivas de alimentación. Las hay bajas en calorías, glúcidos y grasas y/o enriquecidas con fibras y proteínas. También en lo que hace a sabores, hay algunas diseñadas para satisfacer el paladar del público adulto y otras diseñadas para los más jóvenes (INTI, 2011).

Las barras de cereal contribuyen a optimizar el rendimiento físico por su composición nutritiva, son muy prácticas, pesan poco, caben en cualquier bolsillo, son resistentes a altas temperaturas y al frío sin necesidad de un aislante térmico, se deshacen en la boca casi sin esfuerzo y se digieren fácilmente (Lezcano, 2010).

Como en el resto del mundo, la conciencia por el cuidado de la salud también se ha instalado en el país, y como los cereales para el desayuno son vistos como productos sanos y nutritivos, el mercado interno se abre paulatinamente a su consumo. Desde su lanzamiento en el mercado argentino, las barritas de cereales han sido aceptadas rápidamente, asociadas a lo natural y al cuidado de la salud (Lezcano, 2009).

Pese a las ventajas mencionadas en cuanto a su valor nutritivo y practicidad. Trabajos recientes muestran que en la mayoría de los productos comerciales el promedio del contenido de proteínas es bajo y su calidad proteica sería pobre en la medida que proviene principalmente de cereales (arroz, avena, maíz). Las grasas utilizadas se encuentran lejos de las recomendaciones actuales: por su ausencia de ácidos grasos

poliinsaturados y frecuente presencia de grasas saturadas y/o aceites vegetales hidrogenados que pueden aportar en algunos casos, ácidos grasos trans cuyos niveles en una sola unidad cubrirían un elevado porcentaje del máximo admisible establecido por OMS para la dieta (2,2 g por día; OMS, 2018). En consecuencia, a pesar del posicionamiento como alimentos saludables, su gran difusión y vertiginoso aumento de la producción a nivel mundial, las barras de cereal comerciales están lejos de responder a la calidad nutricional que potencialmente podrían presentar. (Olivera-Carrión et al., 2009; Giacomino et al., 2011; INTI, 2011).

Para el consumidor, la elección del producto está asociada a su apariencia, la descripción en el paquete y la información nutricional proporcionada. Sin embargo, estos parámetros no siempre son eficaces para garantizar una elección segura del alimento deseado. La información incorrecta en el paquete o en la etiqueta de los alimentos, como la ausencia o presencia de azúcar o carbohidratos, puede conducir a elecciones incorrectas por parte de los diabéticos, por ejemplo, causando hiperglucemia y problemas cardiovasculares (Bizerra Brito et al., 2013).

No obstante, este alimento es un producto que puede adecuarse a la mayoría de las metas de la OMS para una dieta saludable: sustituir las grasas saturadas por insaturadas, eliminar los ácidos grasos trans, aumentar el consumo de granos enteros y frutos secos (OMS, 2003).

Por lo expuesto anteriormente, en esta tesis se propone la elaboración de magdalenas, barras de cereal y biscuits agregando orujo de uva cv. Malbec en su composición, para obtener alimentos con propiedades nutricionales mejoradas, principalmente como fuente alternativa de fibra dietaria y CPs. Además, su utilización en la producción de alimentos aliviaría los problemas relacionados con su disposición, otorgando mayor valor agregado a un subproducto de la vitivinicultura argentina.

Capítulo 2

HIPÓTESIS Y OBJETIVOS



2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

2.1. Hipotésis

La aplicación del orujo de uva Malbec deshidratado permite mejorar las características nutricionales y nutracéuticas de alimentos.

2.2. Objetivos

2.2.1. Objetivo general

Estudiar la aplicación del orujo de uva cv. Malbec deshidratado en la formulación de alimentos, a fin de lograr una mejora en el perfil nutricional y/o funcionalidad de los mismos.

2.2.2. Objetivos particulares

- Estudiar el efecto del agregado de orujo en la formulación de alimentos, evaluando las modificaciones en el perfil nutricional, actividad antioxidante y contenido de CPs.
- Evaluar los atributos sensoriales y el grado de aceptabilidad de los alimentos formulados con orujo de uva Malbec.

Capítulo 3

MATERIALES Y MÉTODOS



3. MATERIALES Y MÉTODOS

Se elaboraron diferentes alimentos incorporando orujo de uva Malbec a su composición. Los alimentos elegidos para el presente estudio fueron magdalenas, barras de cereal y bizcochos tipo biscuits. Los mismos se seleccionaron en base a su compatibilidad con el sabor del orujo de uva y su posibilidad de consumo. La formulación de los mismos está descripta en la sección 3.4.1. A continuación se detallan los materiales utilizados y las metodologías llevadas a cabo en este estudio.

3.1. Estándares, solventes y químicos utilizados

El ácido clorhídrico, etanol y reactivo de Folin-Ciocalteu se adquirieron en Merck (São Paulo, Brasil). El reactivo Trolox (ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico), $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$, fluoresceína y 2,2-azobis-2-metilpropionamida (AAPH) fueron provistos por Sigma-Aldrich.

El agua ultrapura para la preparación de soluciones se obtuvo utilizando un sistema Milli-Q (Millipore, Billerica, MA, EE.UU.).

Los estándares de ácido gálico, 3-hidroxitirosol, (-)-galato de galocatequina, ácido caftarico, (-)-epigalocatequina, (+)-procianidina B1, (+)-catequina, procianidina B2, (-)-epicatequina, (-)-epigalocatequina galato, dihidroquercetina 3-ramnosido (astilbina), ácido cafeico, ácido siríngico, ácido cumárico, ácido ferúlico, *trans*-piceido, (-)-epicatequinagalato, piceatannol, *trans*-resveratrol, (+)- ϵ -viniferina, quercetina hidratada, ácido cinámico, quercetina 3- β -D-glucósido, kaempferol-3-glucósido, miricetina, naringina, naringenina, quercetina 3- β -D-galactósido, floridzina deshidratada y trihidrato de rutina se adquirieron de Sigma-Aldrich. El estándar de pterostilbeno se compró a TCI (Tokio, Japón) y 2-(4-hidroxifenil) etanol (tirosol) se obtuvo de Fluka (Buchs, Suiza). Se adquirieron acetonitrilo (MeCN), etanol (EtOH), metanol (MeOH) y ácido fórmico (FA) de grado HPLC de Mallinckrodt Baker (Inc. Phillipsburg, Nueva Jersey, EE. UU.).

Tanto la amina primaria-secundaria (PSA) y octadecilsilano (C18) se obtuvieron de Waters (Milford, MA, ESTADOS UNIDOS). Los reactivos NaCl, Na_2CO_3 anhidro, MgSO_4 anhidro y CaCl_2 anhidro se adquirieron de Sigma-Aldrich.

Se prepararon soluciones madre individuales de compuestos en MeOH a niveles de concentración que oscilan entre 400 y 2000 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$. Las diluciones adicionales y mezclas de compuestos se prepararon mensualmente en MeOH y almacenaron en botellas de vidrio oscuro a $-20\text{ }^\circ\text{C}$. Los patrones y mezclas de calibración de analitos

utilizados durante la optimización de las condiciones LC-DAD-FLD se disolvieron en H₂O (0,1% FA) / MeCN (95:5)) y se utilizaron hasta 3 días después de su preparación.

3.2. Materias primas utilizadas para la elaboración de los alimentos

Para la elaboración de las magdalenas se utilizó harina 0000, huevos, azúcar, manteca, esencia de vainilla y polvo de hornear como base para la mezcla, luego se incorporó orujo de uva cv. Malbec deshidratado a una parte de la preparación. Para los biscuits las materias primas fueron iguales, con la excepción de que se reemplazó la manteca por aceite.

En las barritas de cereal se utilizó miel, avena arrollada, copos de maíz y copos de arroz. Al igual que en los anteriores casos se le agregó orujo deshidratado a una porción de la mezcla.

Además, se utilizaron diversos utensilios de cocina como: recipiente para la mezcla, balanza, cuchara, fuente para magdalenas, fuente para horno, budinera; papel aluminio; batidora eléctrica y horno.

Las materias primas se eligieron en base a su calidad. La mayor parte de ellos se adquirieron en supermercados eligiendo marcas reconocidas por su aspecto y calidad.

3.3. Obtención de orujo deshidratado

El orujo de uva Malbec se obtuvo de Catena Institute of Wine (Bodega Catena Zapata) provenientes de diferentes viñedos de Mendoza ubicados en Gualtallary (Tupungato).

Dichas muestras fueron recolectadas inmediatamente luego del prensado del mosto en la bodega y colocadas en cajas refrigeradas con hielo durante el transporte al laboratorio, y luego, almacenadas a -20°C hasta el procesamiento.

En el laboratorio el orujo se deshidrató en horno a una temperatura de 60 °C durante 48 horas. Luego se trituró en licuadora de cocina y se tamizó con un tamiz de malla 1 mm para obtener un polvo fino.

3.4. Elaboración de las muestras

3.4.1. Formulación

Para la elaboración de los alimentos se utilizaron las materias primas en las proporciones indicadas en la Tabla 1.

Tabla 1: Formulación de las muestras con y sin orujo

| ALIMENTO | | MATERIA PRIMA |
|--------------------|-----------|---|
| MAGDALENAS | CONTROL | Harina 24% Huevos 27% Azúcar 27% Manteca 21 % Esencia de vainilla 0,5 % Polvo de hornear 0,5% |
| | CON ORUJO | Harina 19% Huevos 27% Azúcar 27% Manteca 21% Esencia de vainilla 0,5 % Polvo de hornear 0,5% Orujo deshidratado 5% |
| BARRITAS DE CEREAL | CONTROL | Miel 63% Avena 17,5% Copos de maíz 10,5% Copos de arroz 9% |
| | CON ORUJO | Miel 56% Avena 16% Copos de maíz 10% Copos de arroz 8% Orujo deshidratado 10% |
| BISCUITS | CONTROL | Harina 25% Huevos 46% Azúcar 23% Aceite de girasol 5% Esencia de vainilla 0,5% Polvo de hornear 0,5% |
| | CON ORUJO | Harina 15% Huevos 46% Azúcar 23% Aceite de girasol 5% Esencia de vainilla 0,5% Polvo de hornear 0,5% Orujo deshidratado 10% |

Cada tipo de alimento se preparó por duplicado, realizando una muestra sin orujo en su composición y otra muestra con orujo, para poder comparar las diferentes características.

Los alimentos se elaboraron en cocina de uso doméstico con condiciones adecuadas de limpieza y equipada con los utensilios necesarios, mesa y luminaria apropiada.

3.4.2. Descripción de las etapas de elaboración

A continuación, se describen las principales etapas de elaboración de los alimentos, los cuales se detallan posteriormente en los diagramas de flujo correspondientes a la sección 3.4.3.

Pesado de ingredientes: Al momento de comenzar la elaboración de los alimentos, se pesaron los ingredientes en las cantidades indicadas en cada formulación. Para ellos se utilizó una balanza de cocina con precisión de 1 g.

Mezclado de ingredientes: en todos los casos, primero se mezclaron los ingredientes secos y luego los líquidos, uniendo finalmente las dos preparaciones hasta lograr la integración de los ingredientes.

Preparación para el horneado: en el caso de las magdalenas las preparaciones se colocaron en moldes adecuados; para las barritas de cereal la mezcla se estiró sobre una placa rectangular para horno hasta que la masa quedó compacta y de un grosor uniforme; y por último las preparaciones para biscuits se colocaron en budineras.

Horneado: las preparaciones de magdalenas y biscuits fueron llevadas a horno precalentado a 180°C y mantenido a la misma temperatura durante toda la cocción. En el caso de las barritas de cereal la temperatura del horneado fue de 160°C. Se realizó el control del tiempo de cocción y temperatura.

Enfriado: La masa cocida fue retirada del horno y enfriada a temperatura ambiente. Se cubrió superficialmente para evitar la contaminación con polvo, insectos, o cualquier sustancia extraña que pudiera estar presente en el ambiente.

Segundo horneado: en el caso de los biscuits, la masa obtenida se cortó en rodajas las cuales se colocaron nuevamente en el horno a 200°C por 10 minutos para que se produzca el proceso de tostado. Por otro lado, la masa de las barritas se cortó en rectángulos uniformes y se llevaron nuevamente a horno mínimo (con puerta abierta) para producir su deshidratación.

Almacenamiento: una parte de los productos obtenidos se colocaron en recipientes herméticos y llevados a -20°C para conservar sus propiedades y luego realizar las correspondientes determinaciones; la otra parte de los alimentos se conservaron a temperatura ambiente en lugar fresco y seco para ser utilizados en la evaluación sensorial.



Figura 3: Esquema de elaboración de las magdalenas

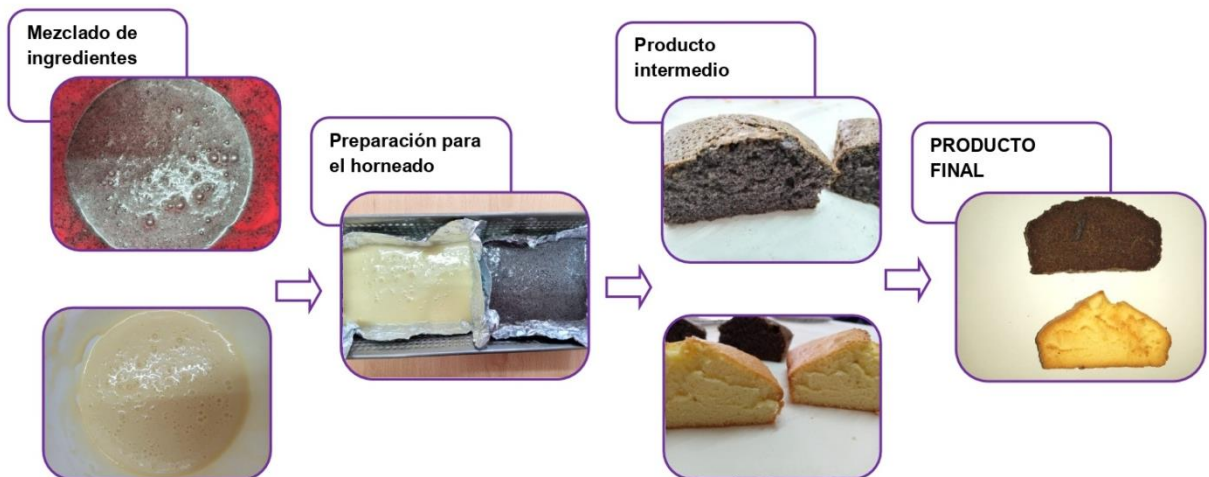


Figura 4: Esquema de elaboración de los biscuits

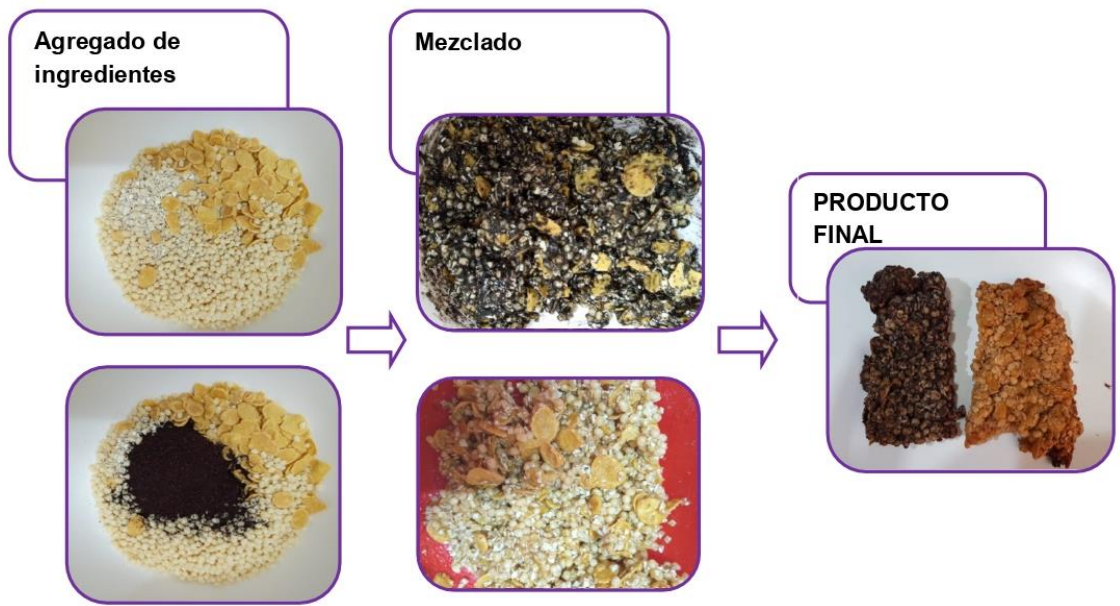


Figura 5: Esquema de elaboración de las barras de cereal

3.4.3. Diagramas de flujo de los alimentos elaborados

3.4.3.1. Magdalenas con orujo

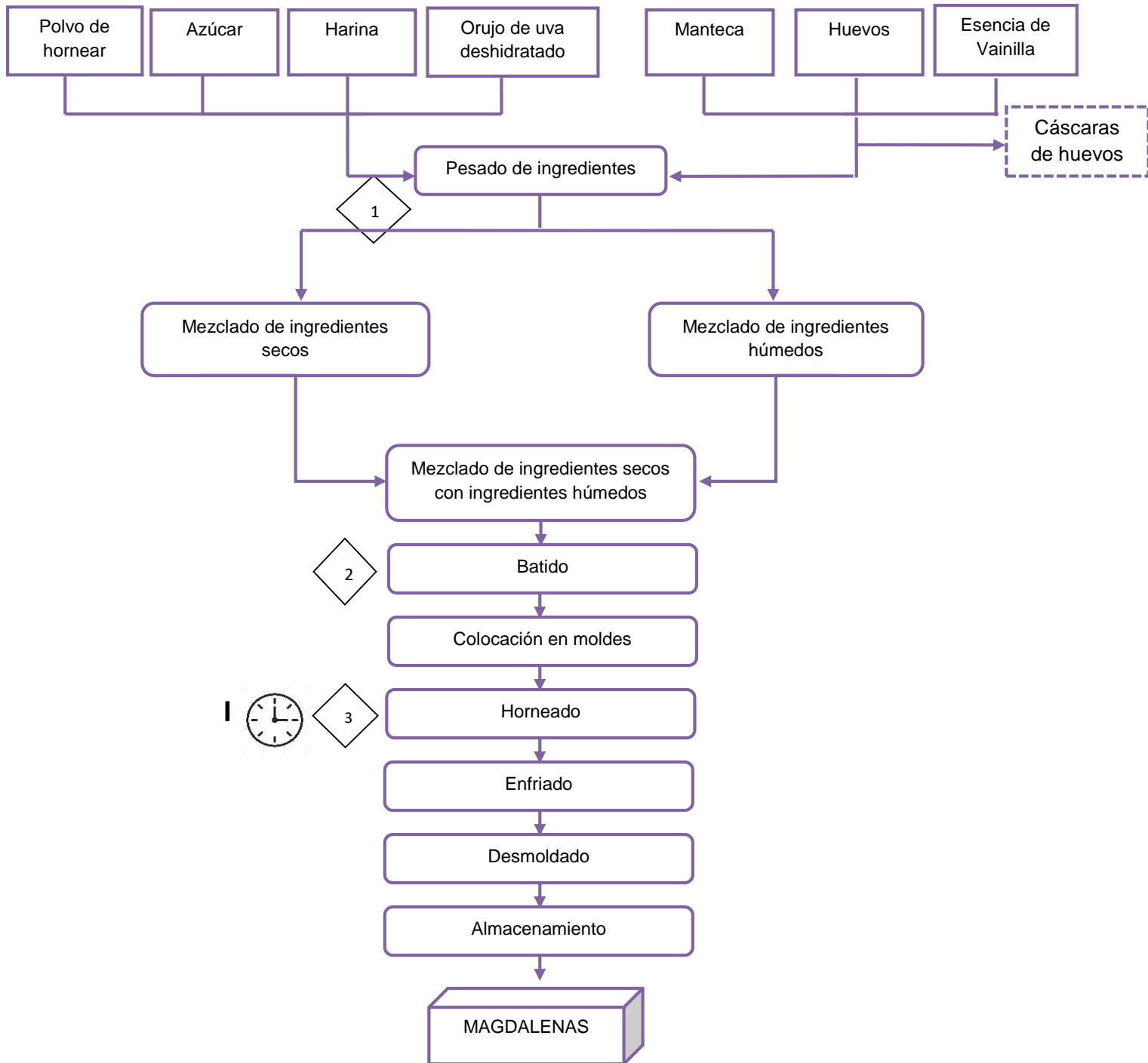


Figura 6: Diagrama de elaboración de magdalenas con orujo

*En el caso de magdalenas sin orujo, este ingrediente no se agrega.

CONTROLES

1. Peso correcto de los ingredientes.
2. Homogeneidad de la mezcla.
3. Temperatura y tiempo de horneado.

RELOJ

- I. Tiempo de horneado: 20 minutos. Temperatura: 180 °C

3.4.3.2. Biscuits con orujo

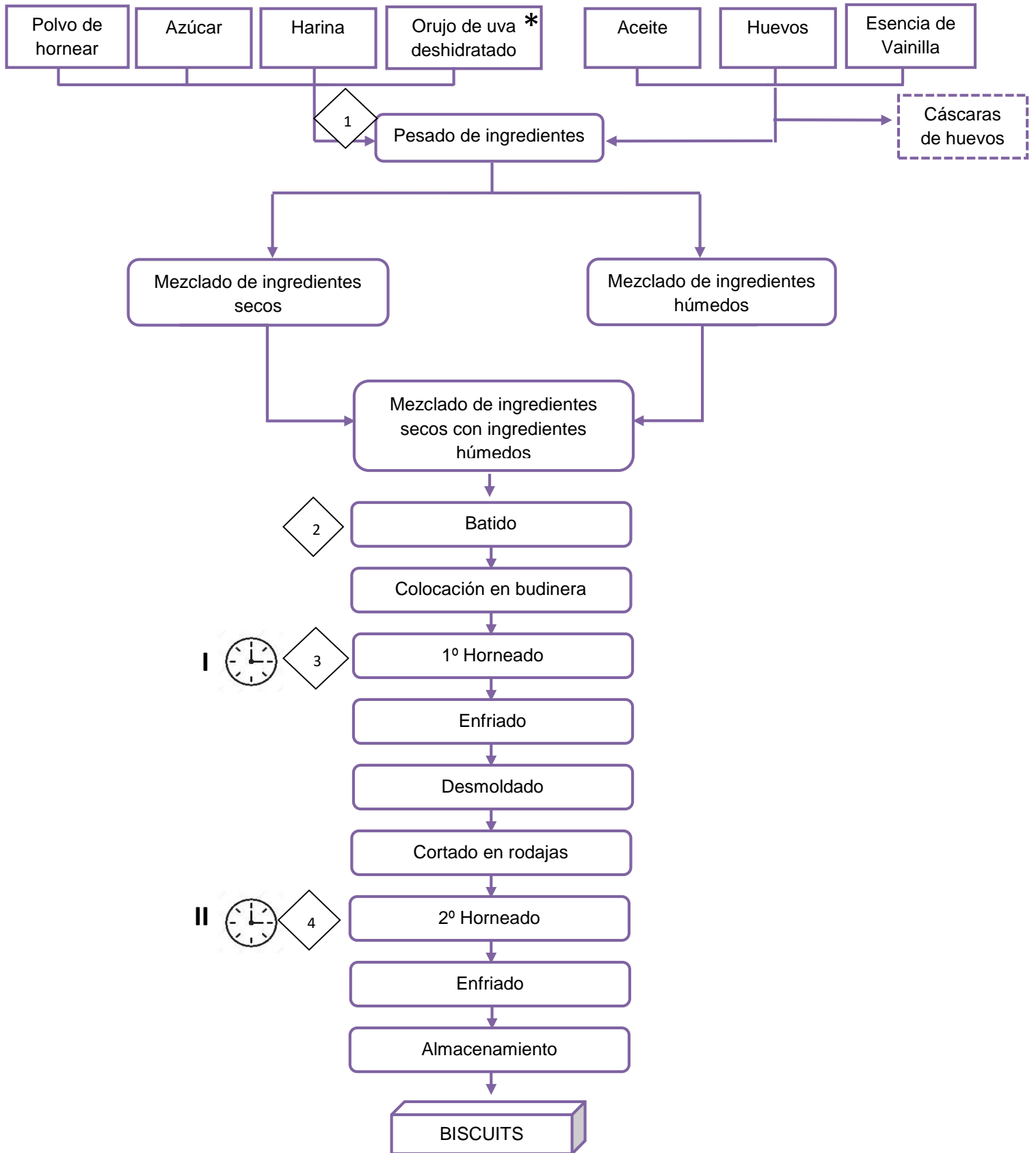


Figura 7: Diagrama de elaboración de biscuits con orujo

*En el caso de los biscuits sin orujo, este ingrediente no se agrega.

CONTROLES

1. Peso correcto de los ingredientes.
2. Homogeneidad de la mezcla.
3. Temperatura y tiempo de horneado.
4. Temperatura y tiempo de horneado.

RELOJ

- I. Tiempo de horneado: 20 minutos. Temperatura: 180 °C
- II. Tiempo de horneado: 10 minutos. Temperatura: 200 °C

3.4.3.3. Barritas de cereal con orujo

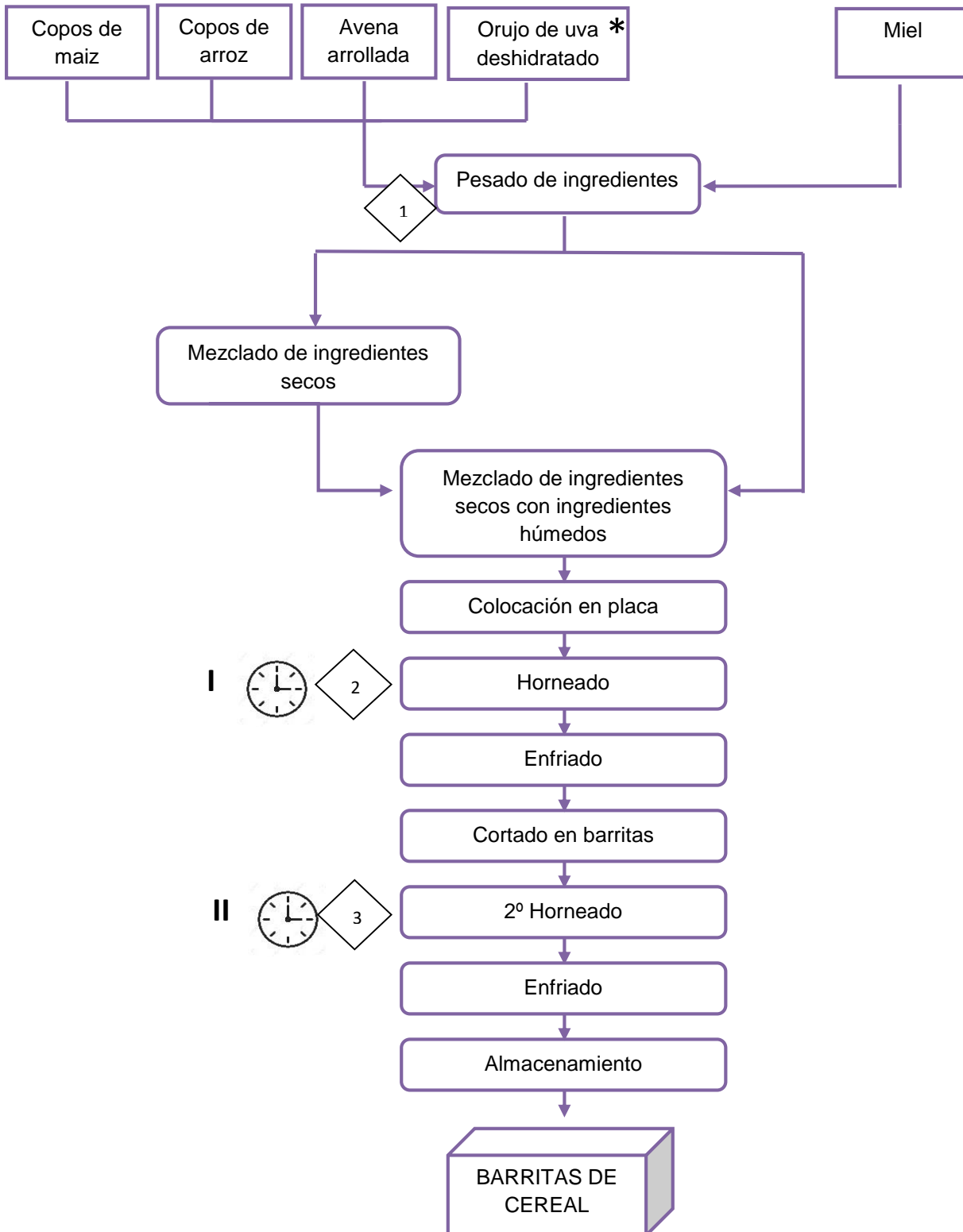


Figura 8: Diagrama de elaboración de barras de cereal con orujo

*En el caso de las barritas de cereal sin orujo este ingrediente no se agrega.

CONTROLES

1. Peso correcto de los ingredientes.
2. Temperatura y tiempo de horneado.
3. Temperatura y tiempo de horneado.

RELOJ

- I. Tiempo de horneado: 10 a 15 minutos. Temperatura: 160 °C
- II. Tiempo de horneado: 1 hora. Temperatura: 50 °C

3.5. Extracción de compuestos fenólicos

Para poder realizar diferentes análisis, es necesario extraer de la matriz del alimento los compuestos de interés. Para ello se procedió a realizar la extracción de los CPs de los alimentos, la cual se realizó mediante una doble extracción sólido-líquido siguiendo la metodología descrita por Antonioli et al. (2015). Las extracciones se realizaron por duplicado para cada muestra. Para ello, una porción del alimento se trituró en un mixer de laboratorio, se pesó 1,5 g de cada muestra con balanza analítica y se colocaron en tubos cónicos de vidrio adicionando 5 mL de solvente de extracción (solución de metanol-agua en una relación 4:1 v/v con 1% de HCl). Los tubos fueron debidamente rotulados y llevados a baño de ultrasonido por 30 minutos a 25 °C agitando en intervalos de 5 minutos. Posteriormente se procedió a la centrifugación de las muestras por otros 30 minutos. Una vez finalizada esta etapa, por un lado, se recuperó el sobrenadante de cada tubo, y por otro, los pellets fueron sometidos a extracción nuevamente repitiendo los pasos anteriormente descritos. Finalmente se sumaron los sobrenadantes en tubos cónicos tipo Falcon y se conservaron en freezer a -20°C. Los sobrenadantes obtenidos se utilizaron para las determinaciones de TPC, ORAC y CPs antocianos y no antocianos individuales por LC-DAD-FLD.

3.6. Determinación del contenido de polifenoles totales, antocianos totales y capacidad antioxidante.

Según lo propuesto por Spigno et al. (2007) para la determinación del contenido de polifenoles totales (TPC) se abordaron dos diferentes técnicas espectrofotométricas utilizando el espectrofotómetro UV-vis Cary-50 (Varian Inc., Mulgrave, Australia).

El método más simple y rápido para la estimación del TPC es la medida de la absorbancia a 280 nm en una muestra apropiadamente diluida. Este valor se basa en

que el núcleo bencénico característico de los CPs tiene su máximo de absorbancia a esta longitud de onda (Fontana et al. 2013). Se diluyeron los extractos de las muestras en una relación de 1:50 con agua destilada y se colocaron en cubeta de cuarzo de 1 cm de camino óptico. Se realizó la lectura de la absorbancia a 280 nm utilizando como blanco agua destilada. El TPC se calculó a partir de una curva de calibración realizada con soluciones estándar de ácido gálico (por triplicado) en el rango entre 5,4 y 31,5 mg L⁻¹ ($R^2 = 0.999$), y se expresó como mg de equivalente de ácido gálico por gramo de extracto, luego estos valores fueron referidos a los alimentos húmedos (mg GAE.g⁻¹ de alimento fresco) y en base a materia seca (MS). Para esta determinación no se realizaron repeticiones dado que se utilizó para tener una primera medida de TPC, a fin de ajustar luego el resto de los análisis.

El segundo método más comúnmente utilizado para TPC es el ensayo de Folin – Ciocalteu (TPC-FC). Esta técnica se basa en la oxidación de los grupos hidroxilo de los fenoles en medio básico con el reactivo de Folin-Ciocalteu, dando lugar a una coloración azul susceptible de ser determinada espectrofotométricamente a 750 nm.

El TPC-FC de los extractos se llevó a cabo según la técnica descrita por Antonioli et al. (2015): en un matraz de 25 mL se disolvió una alícuota de 100 µL de extracto en un colchón de agua destilada, se agregó 1250 µL de reactivo Folin-Ciocalteu, se dejó actuar 5 minutos, se adicionó 3750 µL de solución de Na₂CO₃ al 20%, enrazando finalmente con agua destilada hasta el volumen final. La mezcla se homogeneizó y se incubó durante una hora y media en la oscuridad a temperatura ambiente. Por último, se realizó la medición de la absorbancia a 750 nm en una cubeta de cuarzo de 10 mm de paso óptico. El TPC-FC se expresó como mg de GAE.g⁻¹ de extracto y luego estos valores fueron referidos a los alimentos húmedos (mg GAE.g⁻¹ de alimento fresco) y sobre MS, utilizando una recta de calibración con ácido gálico como estándar (n=3) en un rango entre 0 y 200 mg L⁻¹ ($R^2 = 0,999$; Antonioli et al., 2015). Esta determinación fue realizada por duplicado para cada uno de los extractos.

Se ha reportado que tanto el método de la medición de absorbancia a 280 como el de Folin-Ciocalteu se utilizan como complemento, ya que estas técnicas espectrofotométricas para el análisis de polifenoles totales evalúan diversos grupos estructurales de las moléculas, dando ambos resultados satisfactorios (Fontana et al. 2013).

La capacidad antioxidante se determinó mediante la técnica ORAC (del inglés: oxygen radical absorbance capacity). Se utilizó un espectrofluorómetro y microplacas negras

siguiendo la metodología de acuerdo a lo reportado por Berli et al. (2012) con las adecuaciones realizadas por Antonioli et al. (2015) para este tipo de matriz. Los extractos crudos se solubilizaron en buffer fosfato de potasio y se agregaron en las celdas junto con diferentes concentraciones de Trolox (0; 3,125; 6,25; 12,5 y 25 μM). La intensidad de la fluorescencia fue monitoreada aplicando excitación a 485 nm y emisión a 538 nm con intervalos de 1 minuto durante 90 minutos en un fluorómetro de microplacas (Fluoroskan Ascenso FL, Thermo Fisher Scientific Inc, Wilmington, DE). El área bajo la curva de la disminución de la fluorescencia relativa durante 90 minutos (relacionada con la capacidad de la muestra de proteger a la fluoresceína de la oxidación por el AAPH) fue calculada mediante el programa informático GraphPadPrism y se expresó como micromoles de equivalentes de Trolox por gramo de extracto ($\mu\text{mol TE g}^{-1}$). A continuación, se añadieron 100 μL de solución de fluoresceína y se incubó a 37 °C durante 7 minutos, posteriormente se adicionó 50 μL de solución generadora de radicales peroxilo AAPH (Antonioli et al., 2015). Las determinaciones fueron realizadas por triplicado.

3.7. Caracterización del perfil de compuestos fenólicos

3.7.1. Caracterización de compuestos fenólicos de bajo peso molecular (no antocianos)

La identificación y cuantificación de los compuestos fenólicos de bajo peso molecular (LMW-PP) presentes en las muestras de alimentos se realizó mediante un método desarrollado por Ferreyra et al. (2021) de LC-DAD-FLD, utilizando un método de preparación de muestras, QuEChERS (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe) reportado por Fontana et al. (2014) junto con la extracción en fase sólida dispersiva (d-SPE). Este último se basa en purificar los extractos de las muestras en dos etapas: una extracción (con acetonitrilo y sales) y una limpieza (a través del agregado de un material absorbente) para remover interferencias tales como ácidos orgánicos, azúcares, ácidos grasos entre otros.

Los analitos se extrajeron de una solución acuosa del extracto de las muestras con 2,5 mL de acetonitrilo (MeCN) acidificado con ácido fórmico (FA) al 1%. Para la separación de fases se añadieron 1,5 g de NaCl y 4 g MgSO_4 anhidro, seguido de una agitación manual de 1 minuto y centrifugación durante 10 minutos a 3000 rpm. A continuación, se tomó una alícuota de 1 mL de la fase superior (MeCN) y se transfirió a un tubo limpio de 2 mL que contenía una combinación de 150 mg de CaCl_2 anhidro, 100 mg de PSA (amina primaria y secundaria) y 100 mg de C_{18} como adsorbentes. La mezcla se agitó con vórtex por 30 segundos y se centrifugó 2 minutos a 8000 rpm. Por último, una alícuota del extracto limpio se evaporó hasta sequedad y el residuo se

reconstituyó en la fase móvil inicial para LMW-PP, y a continuación, se analizaron mediante HPLC-DAD.

Las separaciones y cuantificaciones de LMW-PP por HPLC se llevaron a cabo en un Dionex Ultimate 3000 (Dionex Softron GmbH, Thermo Fisher Scientific Inc., Germering, Alemania) equipado con una unidad desgasificadora de vacío, un muestreador automático, una bomba cuaternaria, un horno cromatográfico, una matriz de diodos (DIONEX DAD-3000 (RS)) y un detector de fluorescencia de dos canales (FLD-3400RS Dual-PMT) conectados en serie. Se utilizó un software (Chromeleon 7.1) para controlar todos los parámetros de adquisición del LC-DAD-FLD y procesar los datos obtenidos.

La separación cromatográfica se logró con una columna C₁₈ Kinetex de fase reversa (3,0 mm x 100 mm, 2,6 µm) Phenomenex (Torrance, CA, EE.UU.).

Se utilizaron como fases móviles agua ultrapura con 0,1% FA (disolvente A) y MeCN (disolvente B). Los analitos se separaron usando el siguiente gradiente: 0-1,7 min, 5% de B; 1,7 a 10 min, 30% de B; 10 a 13,5 min, 95% B; 13,5 a 15 min, 95% de B; 15 a 16 min, 5% B; 16-19, 5% de B. El flujo de la fase móvil fue de 0,8 mL min⁻¹. La temperatura de la columna fue de 35 °C y el volumen de inyección 5 µL. La identificación y cuantificación de los CPs del orujo y su extracto se basaron en la comparación de los tiempos de retención (tR) y los valores máximos de absorbancia de picos detectados en las muestras con los obtenidos por inyección de patrones puros. Las muestras de cada matriz se enriquecieron con concentraciones conocidas de estándares para asegurar una correcta cuantificación e identificación. La cuantificación de las muestras se realizó mediante el uso de una calibración externa con estándares puros.

3.7.2. Caracterización de compuestos fenólicos antocianos

El análisis de CPs antocianos se realizó de acuerdo al método reportado por Fontana et al. (2017). Las antocianinas se analizaron secando y resuspendiendo una alícuota de extracto de los alimentos en la fase móvil inicial del método HPLC-DAD para antocianos y luego se procedió a la inyección.

Las separaciones se llevaron a cabo en una columna C₁₈ Kinetex de fase reversa (3,0 mm x 100 mm, 2,6 µm) Phenomenex (Torrance, CA, EE.UU.).

La fase móvil fue A: agua ultrapura/ácido fórmico/Acetonitrilo (87:10:3, v/v/v) y B: agua/ácido fórmico/Acetonitrilo (40:10:50, v/v/v;), usando el siguiente gradiente: 0 min, 10% de B; 0-6 min, 25% de B; 6-10 min, 31% de B; 10-11 min, 40% de B; de 11-14

min, 50% de B; 14-15 min, 100% de B; de 15-17 min, 10% de B; 17-21 min, 10% de B. El flujo fue de $0,8 \text{ mL min}^{-1}$, la temperatura de la columna 35°C y el volumen de inyección $10 \mu\text{L}$. La cuantificación se llevó a cabo mediante mediciones del área de los compuestos a 520 nm , y la concentración de cada antociano fue expresada como malvidina-3-glucósido, utilizando una curva de calibración externa ($1\text{-}250 \text{ mg mL}^{-1}$, $R^2 = 0,9984$; Fontana et al., 2017).

3.8. Caracterización nutricional (proteínas, lípidos y carbohidratos)

Para poder determinar el aporte nutricional del producto se realizó análisis químico proximal mediante la evaluación de humedad, porcentaje de proteínas, carbohidratos, grasa, fibra y cenizas mediante métodos oficiales.

Los análisis de humedad y cenizas se realizaron en el laboratorio de la Cátedra de Química General e Inorgánica de la Facultad de Ciencias Agrarias. Estos análisis se realizaron por triplicado.

Para la determinación de humedad y cenizas se utilizó el método gravimétrico, para lo cual se llevaron las muestras previamente trituradas a estufa a $100\text{-}105^{\circ}\text{C}$ hasta que el peso resultante fuera constante. El contenido en agua de la muestra (humedad) se calculó por diferencia de peso y se expresó en porcentaje de humedad ($\text{g}/100\text{g}$ de muestra).

Para la cuantificación de las cenizas se colocaron las muestras previamente trituradas en cápsulas y se llevaron a mufla a 550°C hasta cenizas blancas. El valor de ceniza se determina mediante la destrucción de la materia orgánica presente en la muestra por calcinación y determinación gravimétrica del residuo. Se expresó en porcentaje ($\text{g}/100 \text{ g}$ de muestra).

Los análisis de proteínas, lípidos y fibra fueron derivados para ser realizados en los laboratorios del INTI.

El contenido de proteínas fue determinado por el método Kjeldahl, lípidos por Twisselmann, fibra bruta por el método de referencia de la AOAC, y finalmente se calcularon los carbohidratos por diferencia.

Cabe aclarar que la determinación de fibra bruta subvalora en forma importante el contenido de fibra alimentaria ya que con el método que se utiliza (tratamiento secuencial con ácidos y álcalis en condiciones estandarizadas) se disuelve gran parte de la hemicelulosa y lignina, cantidades variables de celulosa y toda la fibra soluble. Por lo tanto, los valores de fibra bruta no tienen relación con el verdadero valor de fibra

alimentaria de los alimentos humanos. Los valores de fibra dietaria generalmente son 3 a 5 veces mayores que los valores de fibra cruda (Grossi et al., 2015). A pesar de que existen otros métodos más específicos para la determinación de la fibra dietaria total, como son los enzimáticos, por el costo que estos tienen y por convención, en la provincia se acepta utilizar el valor de fibra bruta para indicar el contenido de fibra dietaria.

3.9. Evaluación sensorial

La apreciación de los consumidores por los productos alimenticios se basa en gran medida en la impresión visual y sensorial. Por lo tanto, para el desarrollo de nuevos productos, es necesario realizar un análisis para determinar la aceptabilidad de los alimentos.

Para la evaluación sensorial se efectuó una prueba para obtener el grado de aceptación por parte de los posibles consumidores, utilizando una escala hedónica de aceptación del producto, en la cual además de medir el grado de preferencia se evalúa la actitud del catador hacia el producto alimenticio preguntándole si estaría dispuesto a adquirirlo y por ende su gusto o disgusto frente al alimento. La misma se condujo en diferentes ámbitos a consumidores potenciales de los productos. Se utilizaron 45 jueces no entrenados que degustaron los diferentes alimentos.

Este análisis se llevó a cabo en dos etapas, una primera en la cual se entrevistó a 20 consumidores entregándoles a cada uno una pequeña porción de cada muestra, ficha de evaluación y lapicera, y se les indicó que completen la planilla de evaluación disponible en el Anexo 3. Luego se realizó la prueba a otros 25 jueces, pero como ésta fue realizada durante el confinamiento por la Pandemia por Covid-19, a los jueces no se les entregó papel, sino que se les envió un formulario de Google (disponible en el anexo 4). La situación de ASPO y DISPO también limitó el número final de jueces recomendado para este tipo de evaluaciones.

Los consumidores no sólo expresaron su opinión global del producto, sino también su agrado o desagrado frente a cada característica de los productos (aspecto, color, aroma, sabor, consistencia/textura). Además, contestaron si son o no consumidores habituales de esos tipos de alimentos, si comprarían o no los productos y por qué.

Se le asignó un puntaje a cada opinión de un determinado aspecto. Los mismos se presentan en la tabla 2.

Tabla 2: Puntajes correspondientes a las opiniones dadas por los consumidores en la evaluación sensorial

| | PUNTAJE |
|------------------------------|----------------|
| ME GUSTA MUCHO | 5 |
| ME GUSTA MODERADAMENTE | 4 |
| NO ME GUSTA NI ME DISGUSTA | 3 |
| ME DISGUSTA MODERADAMENTE | 2 |
| ME DISGUSTA MUCHO | 1 |

Finalmente se realizó un análisis estadístico descriptivo utilizando el programa Microsoft Office Excel 2007.

Capítulo 4

RESULTADOS Y DISCUSIÓN



4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Como se mencionó anteriormente, en el presente estudio se analizaron 3 alimentos elaborados con orujo de uva Malbec en su composición comparándolos con sus contrapartes elaboradas sin orujo.

4.1. Capacidad antioxidante y contenido de polifenoles totales (TPC)

El TPC y la actividad antioxidante proporcionan información valiosa acerca de la composición relativa de las muestras y su potencialidad como alimentos funcionales.

Como se mencionó en la metodología, el TPC se determinó a través de dos métodos: análisis de Folin-Ciocalteu (FC) y a través de la lectura directa de la absorbancia a 280 nm (280), y los resultados se expresaron como mg GAE.g⁻¹ de producto fresco y sobre materia seca (MS).

En la Tabla 3 podemos observar los resultados obtenidos por ambos métodos. En todos los datos obtenidos por FC se manifiesta un incremento del TPC en el alimento con orujo comparado con su control, en concordancia con los diferentes porcentajes de incorporación de orujo que permitió agregar tecnológicamente el producto sin que sus propiedades de elaboración se vieran alteradas (ensayos preliminares no informados). La mayor diferencia entre el alimento testigo y aquél elaborado con orujo se presentó en las magdalenas aumentando un poco más de 8 veces el TPC, siguiendo por los biscuits en donde el incremento fue de 6 veces con respecto al control; y por último las barras de cereal aumentando su TPC casi 3 veces.

En cuanto a los datos obtenidos por TPC 280, el alimento que se destaca es el biscuit en el cual tenemos un incremento aproximado de 5 veces; luego las magdalenas, en las cuales se observa una diferencia de 3 veces con respecto a su testigo. No se observan importantes cambios en el TPC 280 para las barritas de cereal.

Tabla 3: TPC FC y 280 en las muestras de alimentos

| MUESTRA | TPC FC mgGAE.g ⁻¹ producto fresco | TPC FC mgGAE.g ⁻¹ MS | TPC 280 mgGAE.g ⁻¹ producto fresco | TPC 280 mgGAE.g ⁻¹ MS |
|-------------------------------------|---|---------------------------------------|--|--|
| Magdalenas testigo | 0,34 ± 0,04 | 0,39 ± 0,04 | 1,16 | 1,35 |
| Magdalenas con orujo | 2,58 ± 0,15 | 3,28 ± 0,19 | 3,13 | 3,99 |
| Barritas de cereal testigo | 2,21 ± 0,13 | 2,58 ± 0,15 | 6,45 | 7,52 |
| Barritas de cereal con orujo | 4,98 ± 0,15 | 6,27 ± 0,19 | 6,08 | 7,65 |
| Biscuits testigo | 0,88 ± 0,10 | 0,94 ± 0,10 | 2,36 | 2,51 |
| Biscuits con orujo | 5,31 ± 0,17 | 6,35 ± 0,20 | 11,77 | 13,65 |

Los resultados para el TPC FC están en concordancia con los reportados por Mildner-Szkudlarz et al. (2012), estos autores realizaron un estudio en galletas adicionándoles orujo de uva blanca a las mismas. En sus resultados se observa que al agregar un 10% de orujo al producto obtuvo 2,11 mg GAE.g⁻¹ sobre materia seca comparado con el producto sin orujo, el cual presentó 0,85 mg GAE.g⁻¹; con agregado del 20%, 3,34 mg GAE.g⁻¹; y con el 30%, 4,45mg GAE.g⁻¹, representando estos valores un aumento del 148% (casi el triple), 293% (4 veces más) y 424% (5 veces más) respectivamente.

Otro estudio (Ceballos et al. 2016) en el cual se elaboró pan con adición de 4% de harina de orujo de uva Isabella (*Vitis labrusca* L.) se obtuvieron valores de 0,292 mg GAE.g⁻¹ en el pan control y 0,407 mg GAE.g⁻¹ en el pan con harina de orujo, aumentando aproximadamente al doble el TPC (FC).

Si comparamos los estudios anteriormente mencionados con los resultados obtenidos en este trabajo podemos observar que los valores en el TPC encontrados son mayores a los descritos en ellos.

Los incrementos mencionados anteriormente fueron seguidos por los resultados observados en la actividad antioxidante. La misma fue determinada a través del

ensayo ORAC y se expresó como $\mu\text{mol TE.g}^{-1}$ de alimento fresco y sobre materia seca. En los alimentos estudiados el valor más elevado de actividad antioxidante se observó en las barritas de cereal con orujo, manifestando un aumento de casi 3 veces con respecto a las barritas control. En el caso de los biscuits, también destacándose en el incremento observado, hubo una diferencia de $52,89 \mu\text{mol TE.g}^{-1}$ representando el cuádruple de su contraparte sin orujo. Para las magdalenas este valor aumentó 6 veces en el alimento con orujo (Tabla 4).

Tabla 4: Actividad antioxidante (ORAC) en los alimentos

| MUESTRA | Actividad antioxidante $\mu\text{mol TE.g}^{-1}$ alimento | Actividad antioxidante $\mu\text{mol TE.g}^{-1}$ MS |
|-------------------------------------|---|---|
| Magdalenas testigo | 6,15 ± 0,03 | 7,22 ± 0,03 |
| Magdalenas con orujo | 37,55 ± 1,22 | 47,84 ± 1,55 |
| Barritas de cereal testigo | 20,57 ± 2,22 | 24 ± 0,49 |
| Barritas de cereal con orujo | 59,92 ± 5,57 | 75,4 ± 6,77 |
| Biscuits testigo | 14,5 ± 0,42 | 15,43 ± 0,45 |
| Biscuits con orujo | 58,91 ± 4,19 | 68,32 ± 4,86 |

Mildner-Szkudlarz et al. (2013) también obtuvo en su estudio $3,39 \mu\text{mol TE.g}^{-1}\text{MS}$ en sus galletas adicionadas con un 10% de orujo, con el 20% de adición obtuvo $5,12 \mu\text{mol TE.g}^{-1}\text{MS}$ y con el 30%, $7,55 \mu\text{mol TE.g}^{-1}\text{MS}$, mientras que en el alimento sin adicionar encontró $1,27 \mu\text{mol TE.g}^{-1}\text{MS}$, aumentando 3, 4 y 6 veces respectivamente.

4.2. Caracterización del perfil y concentración de compuestos fenólicos

4.2.1. Perfil de compuestos fenólicos antocianos

Las antocianinas separadas y cuantificadas por LC-DAD-FLD se resumen en la Tabla 5. La misma expone las concentraciones individuales de antocianos presentes en los extractos de alimentos con orujo (expresadas en $\mu\text{g.g}^{-1}$ de alimento fresco y sobre materia seca) agrupadas en función al tipo de derivado (glucosilados, acetilados y acetilcumarilados). En total fueron identificadas 10 antocianinas. En el caso de alimentos no suplementados, estos compuestos no fueron detectados, por lo cual se omiten en las tablas. La transferencia de antocianinas de la uva al vino es bastante

limitada y se han sugerido valores inferiores al 40% (Kammerer et al., 2005). En consecuencia, una gran cantidad de antocianinas de la uva permanece en el orujo, haciendo de éste una interesante fuente de colorantes y antioxidantes naturales para la industria alimentaria.

Tabla 5: Composición de antocianinas en los alimentos frescos y sobre materia seca

| ANTOCIANINAS | MAGDALENA CON ORUJO | | BARRITAS DE CEREAL CON ORUJO | | BISCUIT CON ORUJO | |
|----------------------------------|---|--|---|--|---|--|
| | $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ Media \pm SD | $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\text{MS}$ Media \pm SD | $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ Media \pm SD | $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\text{MS}$ Media \pm SD | $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ Media \pm SD | $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\text{MS}$ Media \pm SD |
| Delfinidina-3-O-glucósido | 14,1 \pm 0,3 | 17,9 \pm 0,4 | 28,8 \pm 0,9 | 36,3 \pm 1,1 | 10,4 \pm 2,9 | 12,1 \pm 3,4 |
| Cianidina-3-O-glucósido | 8,2 \pm 0,1 | 10,4 \pm 0,2 | 6,3 \pm 0,1 | 7,9 \pm 0,1 | 4,9 \pm 0,1 | 5,7 \pm 0,1 |
| Petunidina-3-O-glucósido | 20,2 \pm 0,7 | 25,7 \pm 0,9 | 36,9 \pm 1,1 | 46,4 \pm 1,4 | 9,8 \pm 0,1 | 11,4 \pm 0,1 |
| Peonidina-3-O-glucósido | 10,3 \pm 0,1 | 13,1 \pm 0,2 | 13,8 \pm 0,3 | 17,4 \pm 0,4 | 5,5 \pm 0,1 | 6,4 \pm 0,1 |
| Malvidina-3-O-glucósido | 160,2 \pm 4,1 | 204,1 \pm 7,3 | 224,9 \pm 8,9 | 283,0 \pm 11,2 | 69,7 \pm 1,6 | 80,8 \pm 1,8 |
| TOTAL GLUCOSILADAS | 212,9 | 271,2 | 310,7 | 391,0 | 100,5 | 116,5 |
| Delfinidina-3-O-acetilglucósido | 8,9 \pm 0,1 | 11,3 \pm 0,2 | 11 \pm 0,2 | 13,8 \pm 0,2 | 7,4 \pm 0,2 | 8,6 \pm 0,2 |
| Peonidina-3-O-acetilglucósido | 60,4 \pm 1,9 | 77,0 \pm 2,8 | 80,8 \pm 3,1 | 101,6 \pm 3,9 | 45,2 \pm 0,0 | 52,4 \pm 0,1 |
| TOTAL ACETILADAS | 69,3 | 88,3 | 91,8 | 115,5 | 52,6 | 61,0 |
| Cianidina-3-O-p-cumarilglucósido | 13,8 \pm 3,2 | 17,6 \pm 3,6 | 16,5 \pm 3,7 | 20,8 \pm 4,6 | 7,8 \pm 0,5 | 9,1 \pm 0,6 |
| Peonidina-3-O-p-cumarilglucósido | 39,1 \pm 1,3 | 49,8 \pm 1,6 | 50,1 \pm 1,7 | 63,0 \pm 2,1 | 25,8 \pm 0,2 | 29,9 \pm 0,2 |
| Malvidina-3-O-p-cumarilglucósido | 558,1 \pm 31,1 | 711,1 \pm 38,8 | 695,8 \pm 34,7 | 875,6 \pm 43,7 | 361,5 \pm 4,3 | 419,2 \pm 5,0 |
| TOTAL CUMARILADAS | 611,1 | 778,5 | 762,3 | 959,4 | 395,1 | 458,2 |
| TOTAL ANTOCIANINAS | 893,2 | 1138,0 | 1164,8 | 1465,9 | 548,2 | 635,7 |

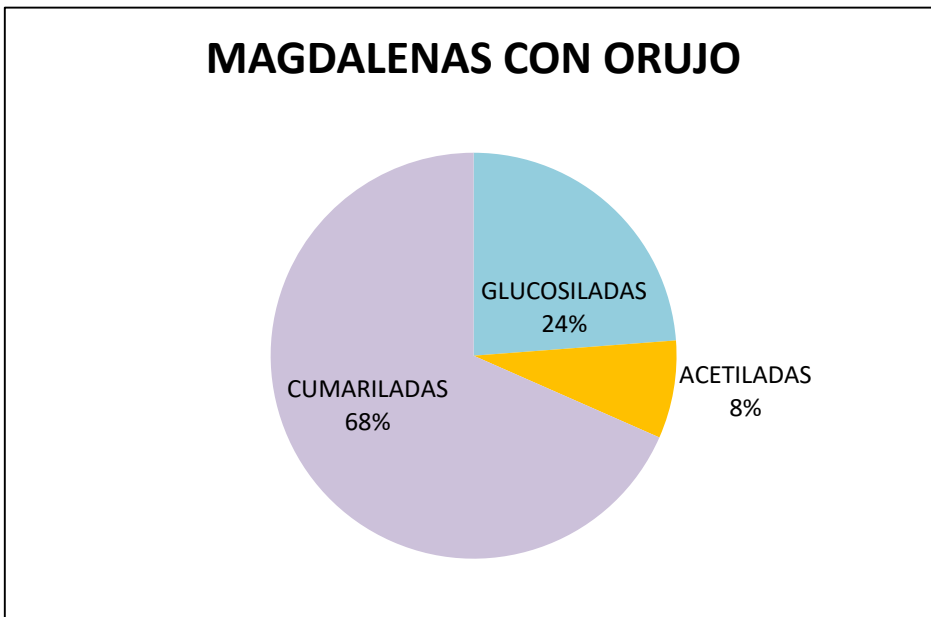


Figura 9: Distribución de antocianinas por el tipo de sustitución en las magdalenas con orujo

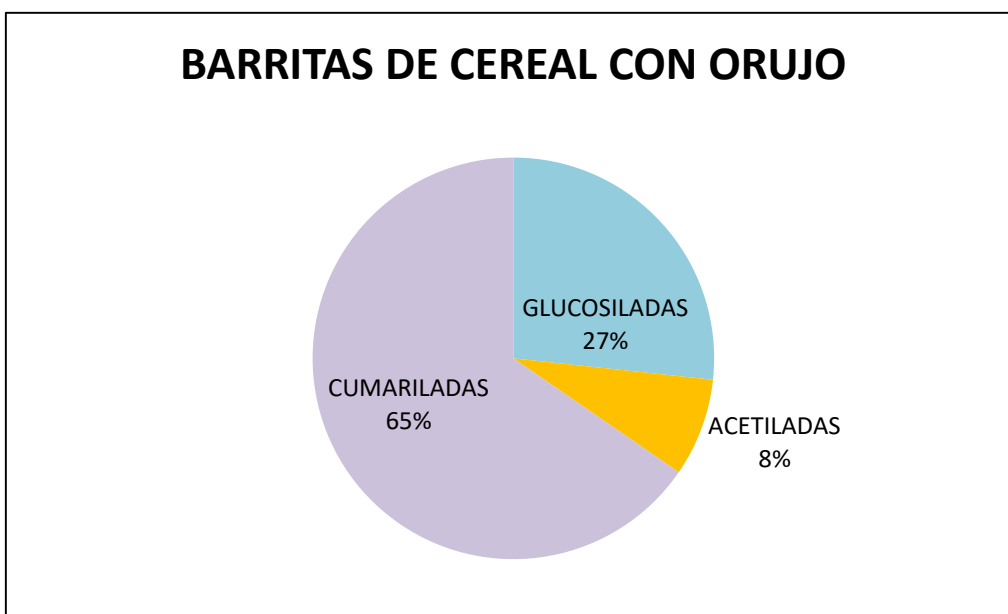


Figura 10: Distribución de antocianinas por el tipo de sustitución en las barras de cereal con orujo

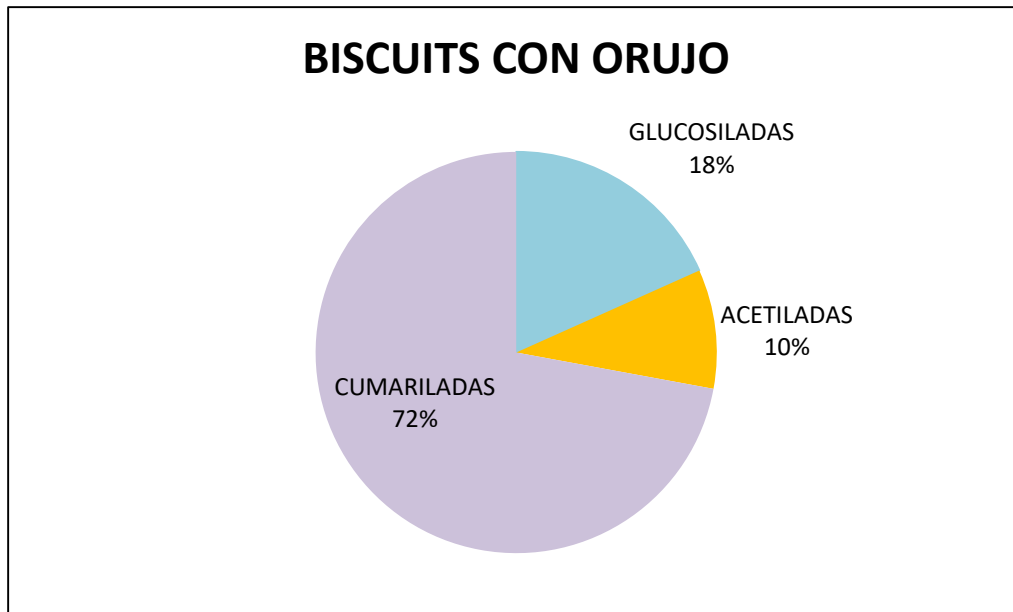


Figura 11: Distribución de antocianinas por el tipo de sustitución en los biscuits con orujo

Las figuras 9, 10 y 11 muestran que, en los tres alimentos, el grupo más abundante de pigmentos corresponde a los glucósidos cumarilados (68% en las magdalenas, 65% en las barritas de cereal y 72% en los biscuits) en comparación con las formas acetiladas y glucosiladas. En todos los casos también observamos que los compuestos acetil derivados presentan la menor proporción en los alimentos (8% para las magdalenas y barritas de cereal, y 10% para los biscuits).

En las figuras 12, 13 y 14 puede observarse que la cantidad de los derivados de malvidina fueron los más altos entre todas las antocianidinas, en los tres alimentos con orujo. La segunda antocianidina más abundante fue peonidina, seguida de cianidina en las magdalenas y barritas de cereal, y delphinidina en los baybiscuits.

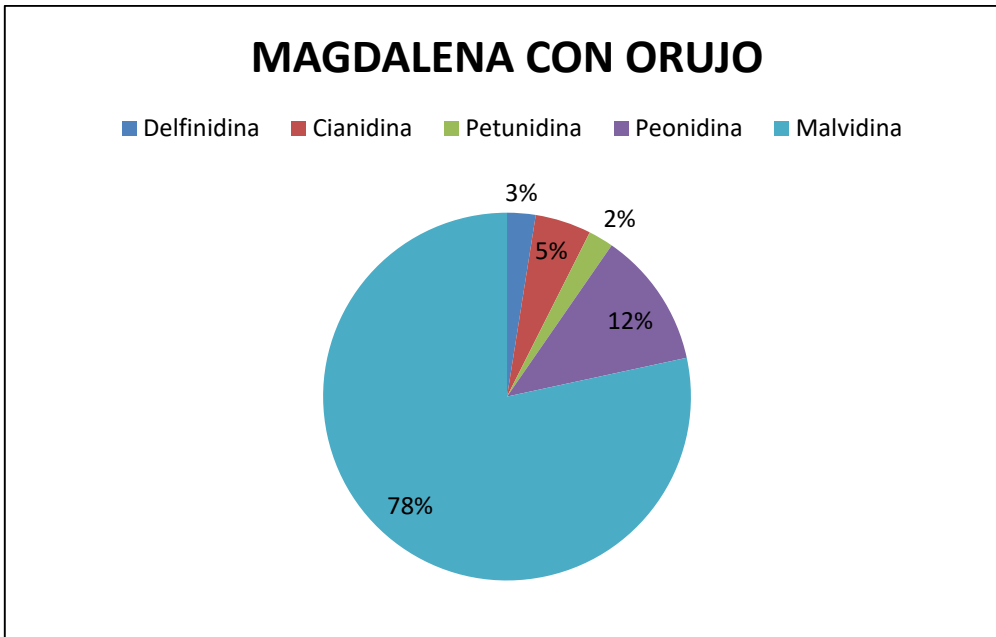


Figura 12: Distribución de antocianinas por tipo de antocianidina en las magdalenas con orujo

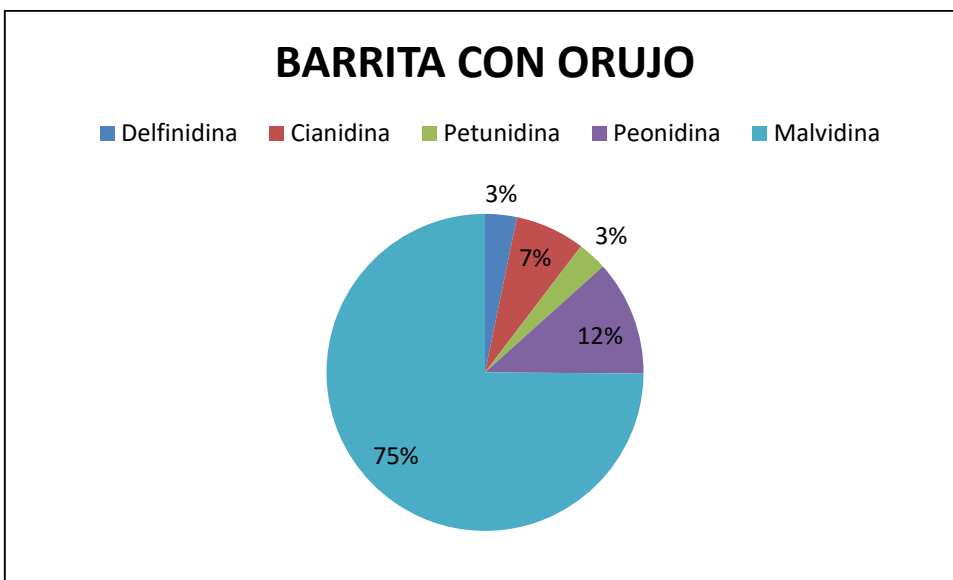


Figura 13: Distribución de antocianinas por tipo de antocianidina en las barras de cereal con orujo

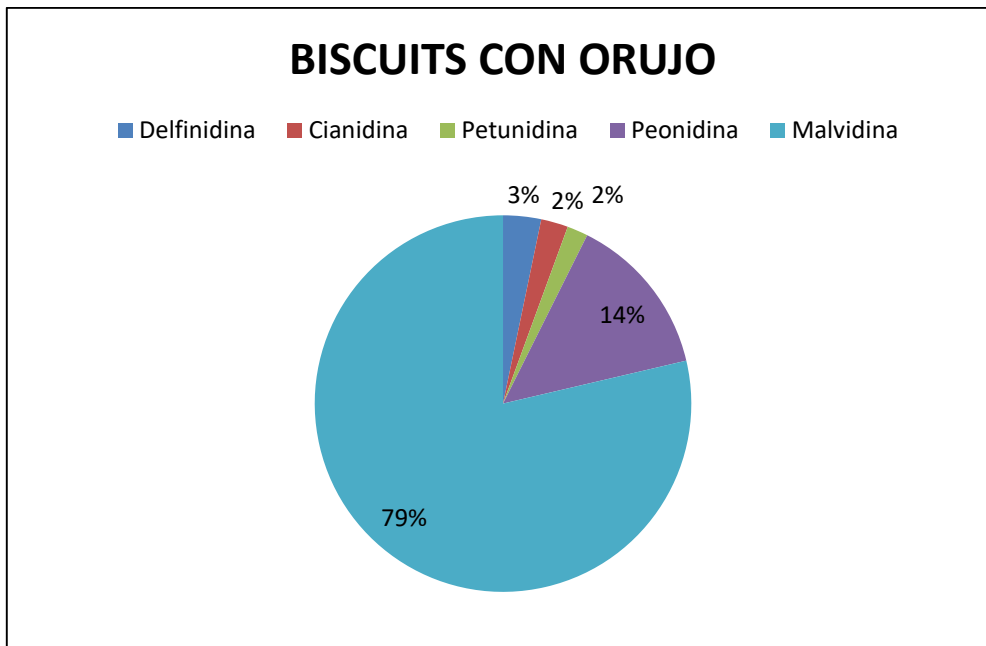


Figura 14: Distribución de antocianinas por tipo de antocianidina en los biscuits con orujo

Antionioli (2018) determinó que en el orujo de uva cv. Malbec (materia prima que se utilizó para el presente trabajo) se encontraban en mayores proporciones glucósidos no acilados (72%), mientras que los cumaril derivados fueron los más abundantes en los alimentos suplementados. Esto indica que los compuestos cumaril derivados han prevalecido luego del tratamiento térmico en la elaboración de los alimentos, mientras que los glucósidos no acilados no fueron conservados en su mayoría.

Por otro lado, Antonioli (2018) obtuvo en su trabajo que los derivados de malvidina fueron los más altos entre todas las antocianidinas (75%), coincidiendo con los resultados encontrados en los alimentos. Con respecto a las demás antocianidinas se ha observado un perfil similar pero no idéntico. El segundo compuesto más abundante en el orujo de uva cv. Malbec fue petunidina, seguido de peonidina, mientras que en los alimentos fueron peonidina y cianidina para magdalenas y barritas de cereal, y peonidina y delfinidina para los biscuits.

Con respecto a la importancia de estos compuestos, los mismos poseen reconocida actividad antioxidante (EFSA, 2011), tal es así que la European Food Safety Authority (EFSA) considera que para que el consumidor reciba los beneficios para la salud esperados de las antocianinas, se debe consumir al menos de 20 a 40 mg / día (EFSA, 2011). Para los alimentos en estudio, esto equivale a 26,34 mg de antocianinas por porción de magdalena (siendo esta porción de 30 gramos), 23,3 mg por porción de 20 g de barrita de cereal y 16,45 mg por porción de biscuit (porción: 30 g) (calculadas como cianidin-3-glucósido). Esto indicaría que, consumiendo una

porción de la magdalena y barritas de cereal en estudio, y dos porciones de biscuits se cubriría la dosis diaria recomendada para que las antocianinas ejerzan un efecto beneficioso en la salud. A pesar de lo mencionado anteriormente, la EFSA (2011) menciona además el hecho de que se debe tener precaución al consumir alimentos con alto contenido en antocianinas para no superar la ingesta diaria admisible de 150 mg por día.

4.2.2. Perfil de compuestos fenólicos no antocianos

Se identificaron y cuantificaron un total de 14 compuestos no antocianos en los extractos de los alimentos con orujo, mientras que en las muestras testigo se detectaron un número menor de estos compuestos. Entre los compuestos no antocianos detectados se encuentran OH-tirosol, (+)-catequina, (-)-galocatequina, ácido cafeico, ácido sirínico, ácido *p*-cumárico, ácido ferúlico, ácido clorogénico, astilbina, *trans*-resveratrol, quercetina-3-glucósido, rutina, miricetina y quercetina, los cuales corresponden a CPs de diferentes familias químicas: no flavonoides (ácidos hidroxibenzoico y hidroxicinámicos y estilbenos), flavonoides (flavanoles y flavonoles) y otros compuestos.

Estos compuestos fueron separados con éxito e identificados comparando sus tiempos de retención y espectros de absorción con los obtenidos mediante la inyección de los estándares puros. La Tabla 6 muestra la concentración de CPs individuales no antocianos.

En las magdalenas con orujo se detectaron 13 compuestos no antocianos, astilbina, (-)-galocatequina y quercetina-3-glucósido fueron los compuestos más abundantes, con concentraciones entre 132,1 y 401,5 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ (MS), seguido por rutina, ácido cafeico, ácido sirínico y (+)-catequina, entre otros. En las magdalenas sin orujo sólo se encontraron 4 LMW-PP, estando ausentes en esta muestra el ácido sirínico, ácido cafeico, ácido clorogénico, *trans*-resveratrol, (+)-catequina, miricetina e OH-tirosol.

Para el caso de las barritas de cereal con orujo se observa como compuestos mayoritarios el ácido clorogénico, seguido de (+)-catequina, (-)-galocatequina y rutina en orden decreciente.

Observando los valores obtenidos para el alimento biscuit con orujo encontramos mayor concentración en el compuesto astilbina, seguido de quercetina-3-glucósido, (-)-galocatequina y ácido cafeico.

Tabla 6: Niveles de CPs de bajo peso molecular en los alimentos ($\mu\text{g g}^{-1} \pm \text{SD MS}$)

| Compuesto | MAGDALENA ORUJO | MAGDALENA TESTIGO | BARRITA ORUJO | BARRITA TESTIGO | BISCUIT ORUJO | BISCUIT TESTIGO |
|--------------------------------------|--------------------|----------------------|------------------|--------------------|------------------|--------------------|
| Ácidos hidroxibenzoicos | | | | | | |
| Ácido siríngico | 70,6±3,1 | n/d | 57,3±2,2 | 5,1±1,5 | 125±2,8 | n/d |
| Total ácidos hidroxibenzoicos | 70,6 | | 57,3 | 5,1 | 125 | |
| Ácidos hidroxicinámicos | | | | | | |
| Ácido cafeico | 77,2±2,9 | n/d | 60,9±2,3 | 24,3±2,3 | 115,2±4,1 | 7,3±0,85 |
| Ácido p-cumárico | 44,8±2,1 | n/d | 29,2±1,3 | n/d | 40,6±1,7 | n/d |
| Ácido ferúlico | 4,8±0,1 | n/d | 8,1±0,2 | n/d | 11,6±0,5 | n/d |
| Ácido clorogénico | 37,7±0,1 | n/d | 153,2±0,2 | n/d | n/d | n/d |
| Total ácidos hidroxicinámicos | 164,5 | | 174,8 | 24,3 | 167,4 | 7,3 |
| Estilbenos | | | | | | |
| trans-resveratrol | 3,4±0,2 | n/d | 2,5±0,1 | n/d | 5,2±0,0 | n/d |
| Total estilbenos | 3,4 | | 2,5 | | 5,2 | |
| Flavan3-oles | | | | | | |
| (+)-catequina | 57,1±1,2 | n/d | 75,6±1,6 | n/d | 59,9±4,0 | n/d |
| (-)-galocatequina | 322,8±39,2 | 190,9±12,6 | 66,9±29,8 | 122,9±27,6 | 188,2±27,7 | 61,9±1,14 |
| Total flavanoles | 379,9 | 190,9 | 142,5 | 122,9 | 248,1 | 61,9 |
| Flavonoles | | | | | | |
| Quercetina-3-glucósido | 132,1±3,1 | 148,4±12,3 | 13,9±2,1 | 51,7±9,6 | 225,9±1,9 | 303,3±5,59 |
| Quercetina | n/d | n/d | 6,0±1,0 | 4,7±0,2 | 4,6±0,3 | n/d |
| Miricetina | 5,4±0,1 | n/d | 9,5±0,3 | 6,3±0,2 | 9,3±1,2 | n/d |
| Rutina | 80±1,9 | 4,8±0,6 | 64,3±1,6 | 3,9±0,4 | 93,4±0,6 | n/d |
| Astilbina | 401,5±33,1 | 465,6±36,3 | 44,4±12,9 | 157,8±14,8 | 681,6±7,0 | 971,7±28,27 |
| Total flavonoles | 619 | 618,8 | 138,1 | 224,4 | 1014,8 | 1275 |
| Otros compuestos | | | | | | |
| OH-Tirosol | 11±1,1 | n/d | 8,7±0,8 | n/d | 15,5±1,4 | n/d |
| Total otros compuestos | 11 | | 8,7 | | 15,5 | |
| Total CPs | 1248,4 | 809,7 | 524,0 | 376,7 | 1576 | 1344,2 |

n/d: no detectado

En general en los alimentos sin orujo no se encontró OH-tirosol, (+)-catequina, *trans*-resveratrol, ácidos p-cumárico, ferúlico y clorogénico,

En el estudio realizado por Antonioli (2018) se observó en el orujo de uva cv. Malbec, que los flavan-3-oles fueron los compuestos más abundantes, con concentraciones de (+)-catequina, (-)-galato de epicatequina y (-)-epicatequina de 258, 253 y 173 $\mu\text{g g}^{-1}$ respectivamente, seguidos por ácido siríngico a un nivel de 157 $\mu\text{g g}^{-1}$, mientras que en los alimentos suplementados estos compuestos fueron variando de un alimento a otro, incluso alguno de los encontrados en el orujo de uva Malbec, no se hallaron en los alimentos, como es el caso del (-) galato de epicatequina y (-)-epicatequina. De los compuestos de tipo estilbeno se determinó *trans*-resveratrol con una concentración de 2 $\mu\text{g g}^{-1}$ en el orujo de uva. Este último valor coincide con los encontrados en los alimentos suplementados, incluso se halló en mayor proporción en los baybiscuits con orujo, y prácticamente no se detectó en los alimentos sin suplementar.

Los resultados obtenidos por Antonioli (2018) y los del presente trabajo, en comparación, indican que tanto el contenido cualitativo como cuantitativo de los CPs individuales puede ser diferente, ya que cuando se trata de un alimento, influyen variables asociadas a las diferentes matrices que acompañan al orujo en ellos, tiempos, temperatura de horneado, entre otros aspectos. Además de otros factores relacionados a la uva como son el año de cosecha, factores agronómicos, climáticos, condiciones de estrés de la planta y prácticas enológicas,

Un dato novedoso encontrado en este trabajo es el contenido de *trans*-resveratrol, ya que según la European Food Safety Authority (EFSA, 2011) para que el resveratrol proveniente de extracto de uva produzca un efecto beneficioso a la salud se debe consumir de 1 mg a 10 mg por día. Para los alimentos en estudio, el contenido de *trans*-resveratrol en alimentos con orujo fue: magdalenas, 0,27 mg cada 100g; barritas de cereal, 0,2 mg cada 100g; y biscuits, 0,45 mg cada 100g expresados en peso fresco (ver anexo 3), de esta forma una porción de cada uno de estos alimentos, en mayor medida los biscuits, contribuirían a alcanzar la dosis diaria recomendada de este compuesto. Por otra parte, esta autoridad europea establece para el consumo de CPs provenientes de extractos (no establece criterios en alimentos), un consumo diario mínimo de 300 mg de los mismos conteniendo 90% de CPs. Los alimentos suplementados en este estudio contienen en promedio 258, 498 y 531 mg GAE cada 100 gramos de producto fresco respectivamente, contribuyendo entonces el consumo de los mismos a alcanzar los niveles sugeridos.

4.3. Caracterización nutricional

Los resultados de los análisis químicos realizados a los alimentos para determinar su composición nutricional arrojaron la siguiente descripción numérica.

Tabla 7: Composición nutricional de los alimentos estudiados (g/100g MS)

| MUESTRAS | PROTEÍNA | LÍPIDOS | FIBRA | CARBOHIDRATOS | CENIZAS |
|------------------------------|----------|---------|-------|---------------|-------------|
| Magdalenas con orujo | 9,17 | 27,90 | 2,42 | 58,95 | 1,56 ± 0,06 |
| Magdalenas testigo | 9,61 | 24,38 | 1,88 | 63,33 | 0,80 ± 0,17 |
| Barritas de cereal con orujo | 7,30 | 1,13 | 3,65 | 86,86 | 1,06 ± 0,08 |
| Barritas de cereal testigo | 5,13 | 1,40 | 2,33 | 90,79 | 0,46 ± 0,03 |
| Biscuits con orujo | 13,68 | 18,32 | 5,10 | 60,66 | 2,22 ± 0,31 |
| Biscuits testigo | 13,73 | 14,90 | 0,32 | 69,77 | 1,29 ± 0,19 |

En el anexo 1 se presentan los datos obtenidos sobre el alimento fresco.

4.3.1. Fibra

El aporte más significativo al suplementar los alimentos con orujo de uva cv. Malbec fue el contenido de fibra, destacándose el producto biscuit, aumentando un poco más de 15 veces con respecto al testigo (pasando de 0,32 a 5,10 g/100 g (MS)). Por otro lado, en las barras de cereal y magdalenas el incremento fue de 56% y 29% respectivamente.

Como se mencionó anteriormente en la metodología, el método empleado para fibra bruta subestima el valor verdadero de fibra dietaria que contiene el alimento, por lo tanto, estos alimentos presentarían mayor contenido de fibra alimentaria que el declarado en los resultados.

Cannet Romero et al. (2004) estudiaron el contenido de fibra dietaria de galletas adicionadas con cascarilla de orujo de uva en las cuales se determinó que el contenido de fibra dietaria aumentaba al incrementarse la adición de este derivado del orujo. Con un agregado del 5% de cascarilla de orujo a las galletas obtuvo un valor de fibra dietaria de 6,38 g/100g (MS), mientras que al adicionar el 10% encontró 9,78 g/100g

(MS) (valor de fibra dietaria del control: 3,93g/100g MS). Los valores de fibra obtenidos en el trabajo mencionado son considerablemente superiores a los obtenidos en las magdalenas y en las barritas de cereal en estudio, no así en los biscuits, ya que estos presentaron un contenido muy por encima de los observados en los demás casos.

Los datos obtenidos arrojaron que el consumo de estos alimentos suplementados con orujo de uva Malbec permitiría aumentar la ingesta diaria de fibra, ayudando a alcanzar la dosis diaria recomendada de 25 g.

De acuerdo a lo señalado en las Guías Alimentarias para la Población Argentina: “se debe promover y enseñar a seleccionar alimentos naturales fuente, como las legumbres, cereales integrales, frutas y verduras, alimentos fortificados y alimentos envasados que contenga la leyenda “fuente de fibras”, “aumentado o alto contenido en fibra”, a fin de alcanzar el nivel de ingesta recomendado”.

La importancia de la inclusión de fibra en la dieta a pesar de su indigestibilidad radica en sus efectos benéficos para la salud, motivo por el cual es importante incluirla como parte de la dieta de una manera fácil y práctica.

En estudios previos (Angarita Dávila et al. 2016; Granito et al. 2014; Ulloa et al., 2015) se ha investigado la influencia del contenido de fibra sobre el índice glucémico de los alimentos. Éstos han evidenciado valores más bajos en los alimentos con mayor contenido de fibra, de esta manera la presencia del orujo, que tiene como consecuencia un aumento en el contenido de fibra, podría contribuir a una disminución en el índice glucémico de los alimentos, sin embargo, se deberían realizar estudios específicos para verificar su influencia en el mismo.

4.3.2. Proteínas

En cuanto al contenido de proteínas entre los diferentes alimentos no se apreciaron diferencias importantes.

Diversos estudios han reportado el contenido proteico de harinas de orujo. Paulós et al. (2019) informaron que el orujo de uva blanca presenta un contenido de proteínas del 10% (MS); Guerra-Rivas et al. (2013) encontraron un contenido de proteínas del 12% (MS) para orujo de uvas tintas; mientras que Gazzola et al. (2014) indicaron que el contenido de proteína en orujos de uva puede oscilar entre 6% y 15% (MS) según variedad y condiciones de cultivo. Se puede observar que estos valores son similares al contenido proteico de la harina de trigo (10 a 12%) (Utilizada en las magdalenas y en los biscuits) lo cual podría justificar que la sustitución de un ingrediente por el otro no modifica el contenido final de los alimentos suplementados. Las barritas de cereal

son el único caso en el cual se observa que el alimento con orujo presenta una cantidad superior de contenido proteico, posiblemente debido a que el orujo en este alimento fue un ingrediente extra, realizando la sustitución proporcional de todos los ingredientes y el menor contenido proteico de ingredientes como los copos de maíz y de arroz empleados.

Con respecto a la calidad proteica del orujo de uva, hay escasos reportes al respecto, sin embargo, en un estudio reportado por Prandi et al. (2021) sobre el perfil de aminoácidos en residuos de la industria agroalimentaria, se detectaron cantidades leucina (5,62 mg. g⁻¹) y fenilalanina (4,09 mg. g⁻¹), lo cual haría interesante la incorporación del orujo dada la potencial mejora de la calidad proteica de los alimentos.

Por otro lado, Gazzola et al. (2014) en su investigación indicaron que el perfil de aminoácidos del orujo de uva es comparable al de los cereales, mostrando altos valores de ácido glutámico y aspártico, y valores bajos de triptófano y aminoácidos azufrados.

4.3.3. Lípidos

En el contenido lipídico se manifiesta un incremento en el caso de las magdalenas y de los biscuits con orujo (14% y 23% de aumento respectivamente), mientras que las barras de cereal control tienen mayor contenido lipídico que aquellas formuladas con orujo (24% más).

Si bien en el presente estudio no se realizó un perfil de lípidos, los datos reportados previamente por Paulós et al. (2019) sugieren que el agregado del orujo de uva a sistemas alimentarios mejoraría el perfil lipídico de los mismos. Según el trabajo mencionado, el orujo de uva es rico en ácido linoleico (C18: 2), correspondiendo al 68,78% del total de ácidos grasos (AG), valor superior al bagazo de girasol, soja o maíz que contienen respectivamente 65, 50% y 48% del total de AG. La semilla contiene la cantidad más elevada de este ácido (77%) seguida de las pieles (58%) y, del tallo (44%). El ácido oleico (C18: 1) es el segundo ácido con mayor concentración en el orujo de uva (14% del total de AG). Su concentración no varía mucho entre las diferentes partes del orujo (pieles, semillas y tallos). Estos dos ácidos, linoleico y oleico constituyen 83% del total de ácidos grasos en el orujo completo y aproximadamente 90% de la semilla.

Asimismo, Bordiga et al. (2019) afirmaron que el aceite de semilla está caracterizado por altos niveles de oleico y ácidos linoleicos (insaturados). Además, la fracción

lipídica se caracteriza por un perfil de ácidos grasos que muestra una alta cantidad de ácidos grasos poliinsaturados/monoinsaturados y baja cantidad de saturados. Los ácidos linoleico (C18:2), oleico (C18:1) y palmítico (C16:0) son los principales ácidos grasos en el aceite de semilla de uva, mostrando el porcentaje de aproximadamente 70%, 15% y 7% respectivamente (Bordiga et al., 2015). La molécula de β -sitosterol representa el principal esteroide en el aceite de semilla, el α -tocoferol el principal tocoferol, alcanzando valores de alrededor del 70% de los tocoferoles, correspondiente a 3,8 mg /100 g de aceite (Fiori et al., 2014).

4.3.4. Hidratos de carbono

En los tres alimentos con orujo se observa una disminución en el contenido de carbohidratos, 7% menos en las magdalenas, 4% en las barritas de cereal y 13% en los biscuits.

Tanto los alimentos convencionales como los formulados con orujo son fuente importante de carbohidratos. Su contenido podría disminuir aún más si se reemplazaran mayores cantidades de harina de trigo por orujo a los alimentos.

4.3.5. Cenizas

El contenido de cenizas presentó un incremento en sus valores en los alimentos formulados con orujo (95% en las magdalenas, 130% en las barritas y 72% en los biscuits), estando en concordancia con lo observado por Cannet Romero et. al (2004) quienes mencionan en su trabajo que el nivel de cenizas en sus galletas fue mayor cuando la adición de cascarilla de uva fue en aumento lo cual se debe al alto contenido de material mineral presente en este subproducto.

4.3.6. Evaluación sensorial

Al finalizar la evaluación sensorial de las diferentes formulaciones efectuada por jueces no entrenados se recopilaron los datos y se analizaron estadísticamente mediante tabla de distribución de frecuencias, gráfico de barras, gráficos radiales y estadígrafos, evaluando además de las opiniones del público, su sexo y edades.

En la figura 15 observamos la distribución de frecuencias porcentuales de los puntajes obtenidos en los distintos aspectos evaluados (categorías) durante el análisis sensorial, para la muestra magdalenas con orujo.

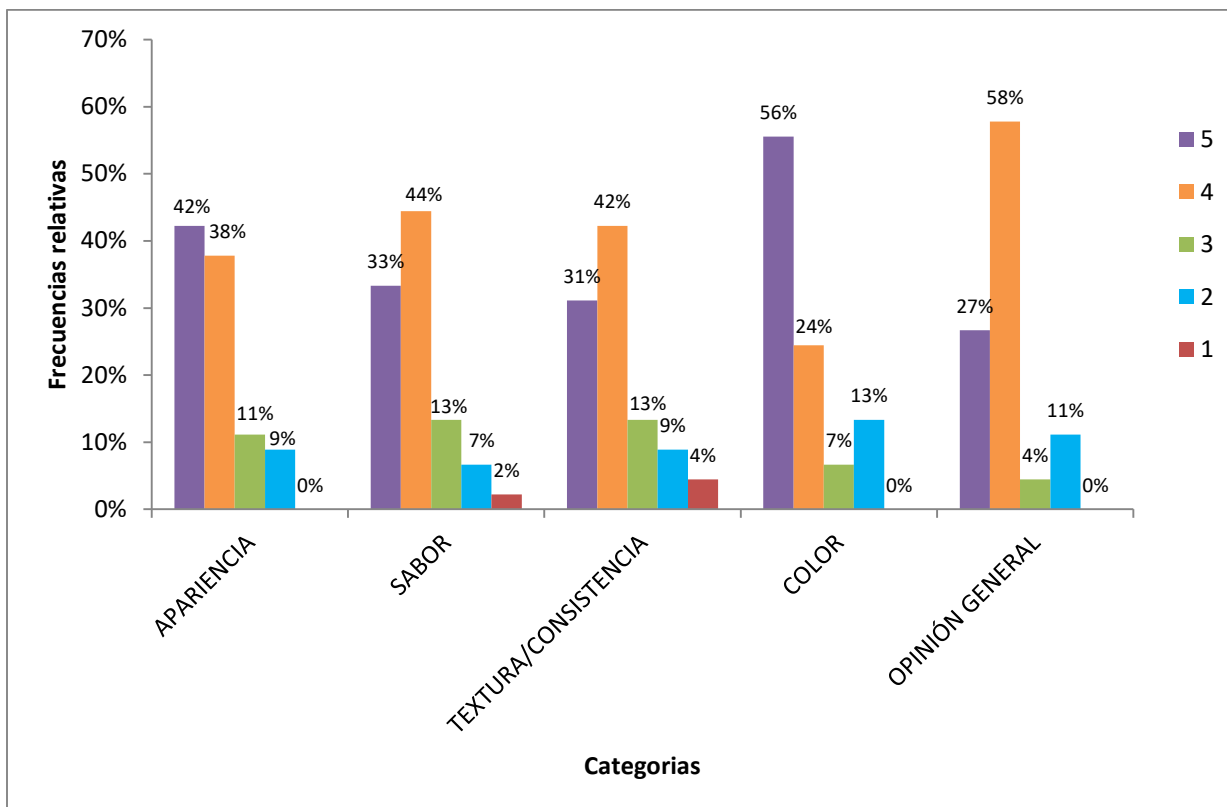


Figura 15: Distribución de frecuencias relativas para las opiniones de los consumidores del alimento magdalenas con orujo.

Observando el gráfico podemos determinar que los consumidores en su mayoría opinaron entre “me gusta mucho” y “me gusta moderadamente” para cada uno de los aspectos evaluados, siendo la categoría “color” la que más puntaje positivo obtuvo de acuerdo a los evaluadores. Por otro lado, sólo un pequeño porcentaje de evaluadores expresó “me disgusta moderadamente” en los diferentes aspectos, y aún un porcentaje inferior indicó “me disgusta mucho” en el sabor y la textura del producto.

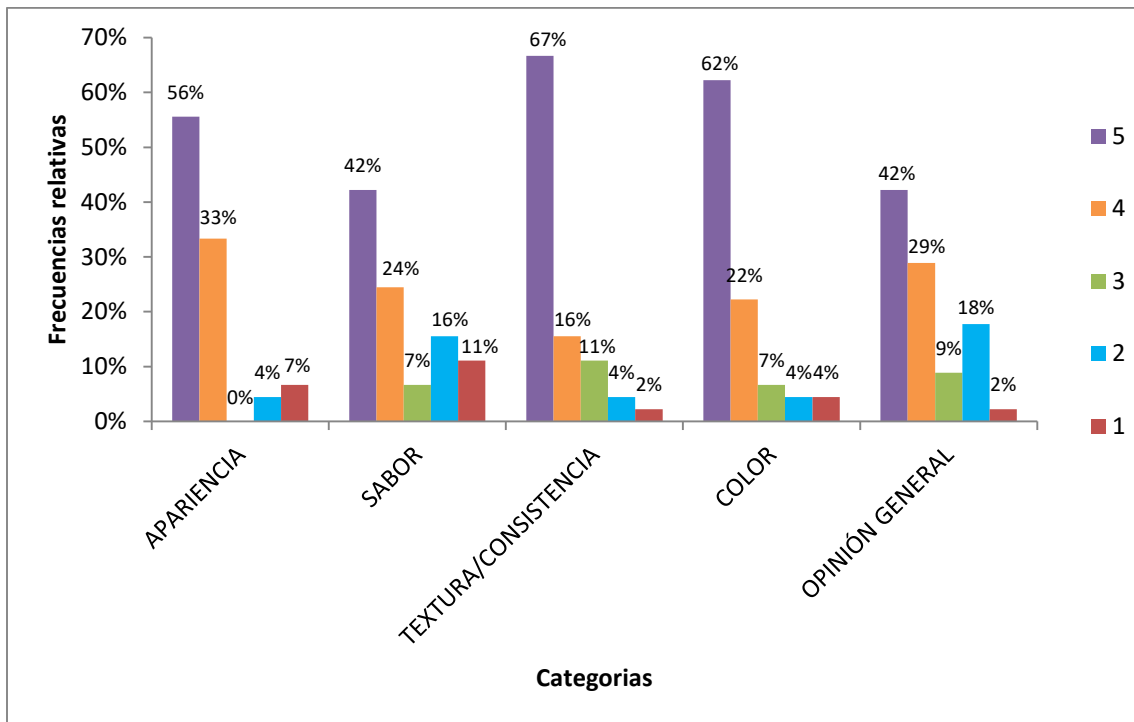


Figura 16: Distribución de frecuencias relativas para las opiniones de los consumidores del alimento barras de cereal con orujo

En la muestra barras de cereal (figura 16) se observa en todos los aspectos evaluados que la opinión más elegida fue “me gusta mucho”. En este caso también una menor proporción de la población expresa que el producto le “disgusta moderadamente” y le “disgusta mucho”, viéndose reflejado en la opinión general del alimento y en el sabor principalmente.

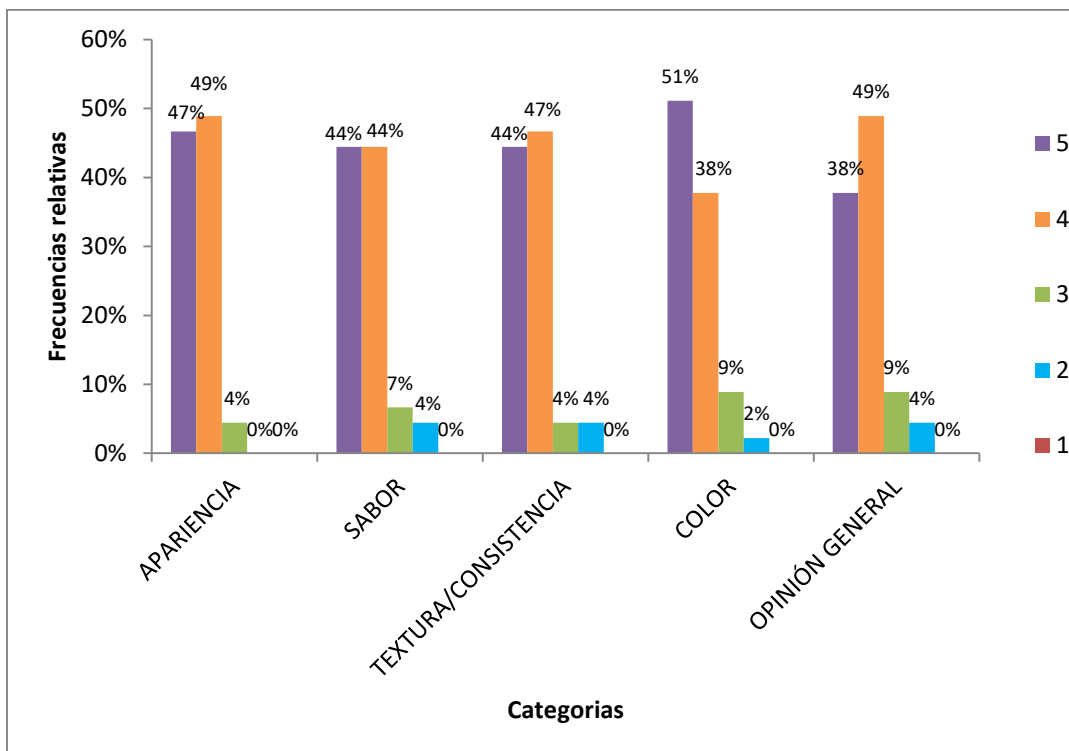


Figura 17: Distribución de frecuencias relativas para las opiniones de los consumidores del alimento biscuit con orujo

Al igual que en los casos anteriores el alimento biscuit (Figura 17) fue descrito por los consumidores en su mayoría como “me gusta mucho” y “me gusta moderadamente”, no manifestándose en ningún aspecto un disgusto absoluto por la muestra.

Con los resultados obtenidos en las encuestas se determinó la moda para las opiniones generales de los consumidores (Tabla 8) y se construyó un gráfico radial para determinar la aceptabilidad de los alimentos con incorporación de orujo en su formulación (Figura 18).

Tabla 8: Moda para las opiniones generales de los consumidores en el test de Escala Hedónica para cada tipo de alimento.

| MODA | APARIENCIA | SABOR | TEXTURA/C | COLOR | OPINION GRAL |
|-------------------|------------|-------|-----------|-------|--------------|
| MAGDALENA | 5 | 4 | 4 | 5 | 4 |
| BARRITA DE CEREAL | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| BAYBISCUIT | 4 | 5 | 4 | 5 | 4 |

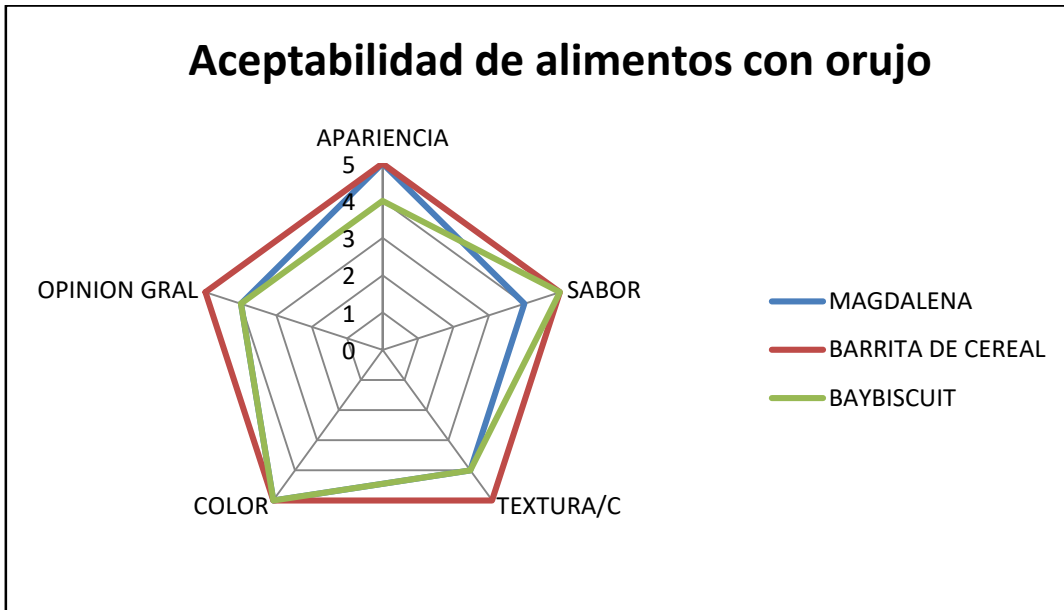


Figura 18: Gráfico radial para la comparación de la aceptabilidad de los alimentos elaborados con orujo

Se relevaron, también, datos personales de los consumidores como: género y rango etario para obtener otras conclusiones sobre el producto. El 71% de los consumidores pertenecían al sexo femenino (Figura 19).

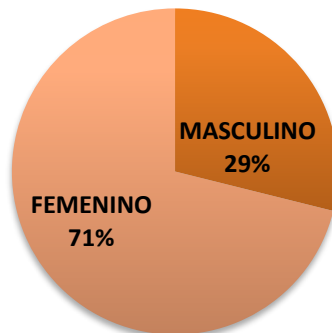


Figura 19: distribución de personas encuestadas según su género.

Las personas encuestadas tenían entre 20 y 60 años. Como se puede observar en la siguiente figura, el 42% de consumidores encuestados tiene entre 31 y 40 años, el 33% entre 20 y 30 años, el 18% entre 31 y 40 años, por último, la menor parte de la

población, representada por el 7% de la población tenían entre 51 y 60 años (figura 20).

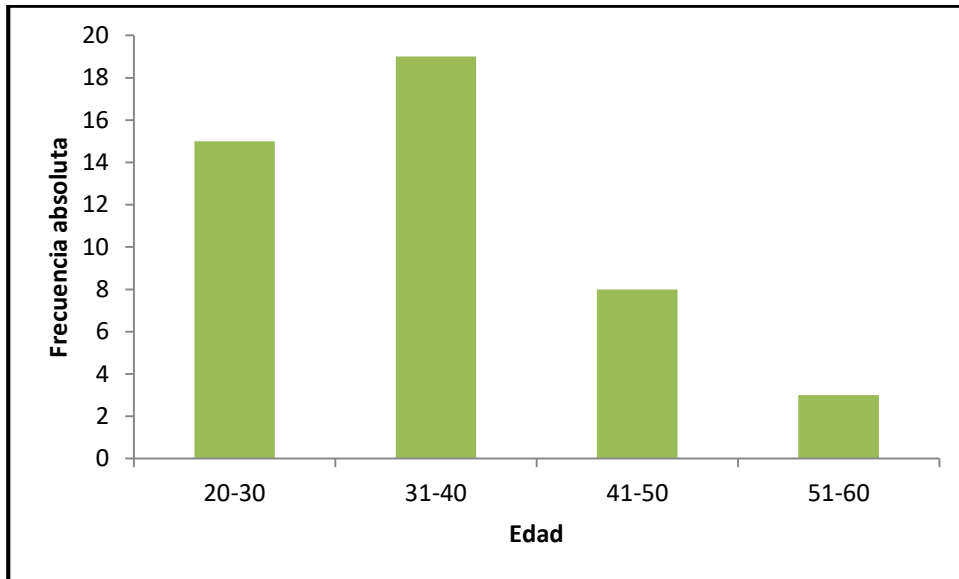


Figura 20: Distribución de las personas encuestadas según su rango etario

Por otro lado, se optó por preguntarle a los consumidores si consumían de manera frecuente magdalenas, barritas de cereal y biscuits, y si los mismos eran productos de su gusto o preferencia. Los resultados se vuelcan en las figuras 21, 22 y 23.

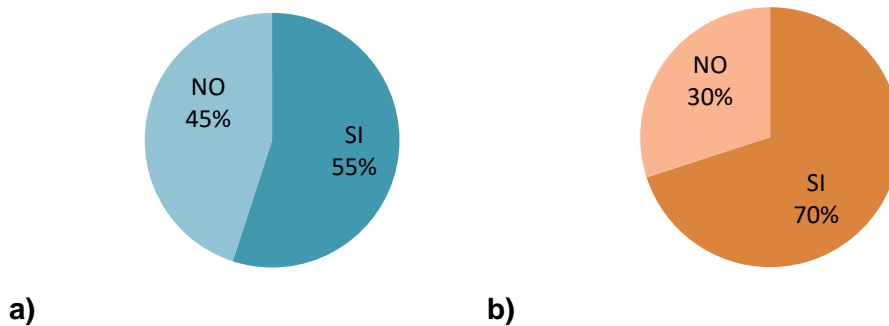
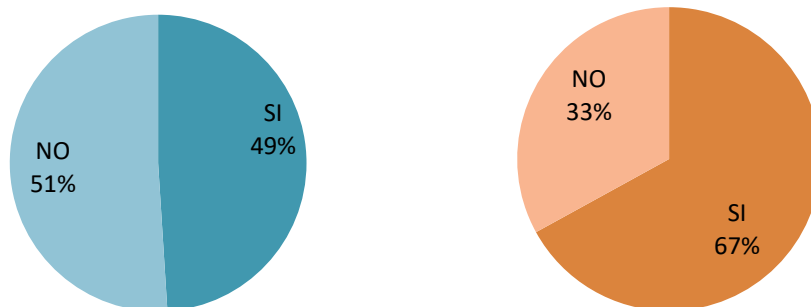


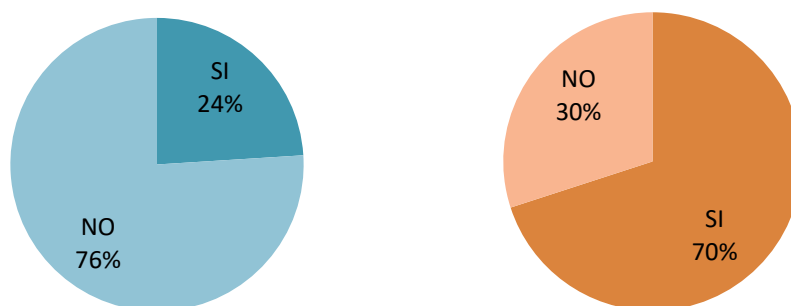
Figura 21: Distribución de personas encuestadas según si consumen magdalenas habitualmente (a), y según si estas son un producto de su gusto o preferencia(b)



a)

b)

Figura 22: Distribución de personas encuestadas según si consumen barras de cereal habitualmente (a), y según si estas son un producto de su gusto o preferencia (b)



a)

b)

Figura 23: Distribución de personas encuestadas según si consumen biscuits habitualmente (a), y según si estos son un producto de su gusto o preferencia (b)

En general, un alto porcentaje de los encuestados afirmaron consumir frecuentemente magdalenas y barras de cereal, no así en el caso de los biscuits, quienes en su mayoría respondieron que no lo consumían en forma habitual. Sin embargo, en todos los casos la mayor parte de la población indicó que estos tres alimentos eran de su gusto.

Finalizando la encuesta se les consultó a los evaluadores si estarían dispuestos a consumir estos alimentos regularmente si le aportasen un beneficio para la salud, manifestando en todos los casos una respuesta mayoritaria afirmativa (Tabla 9 y figura 24).

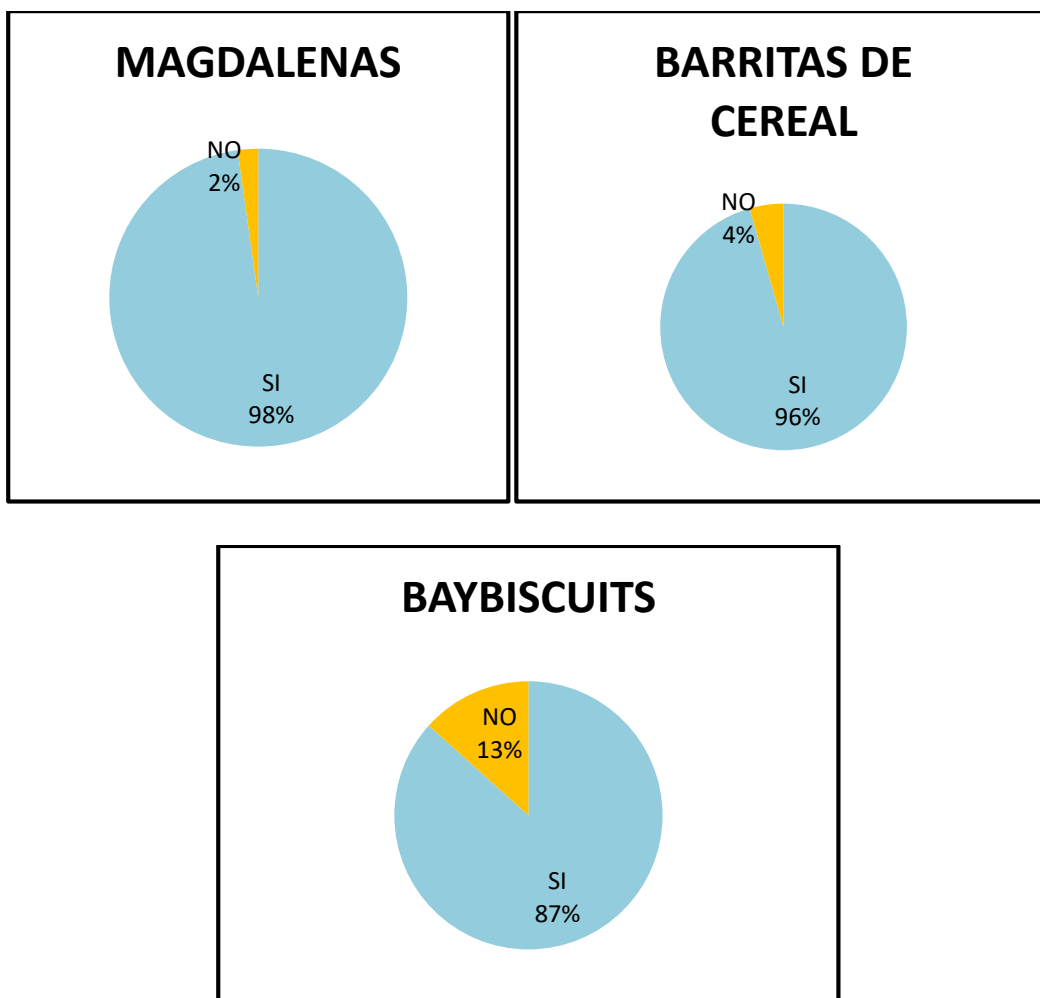


Figura 24: Distribución de frecuencias de los evaluadores con respecto a la disposición para el consumo de los alimentos con orujo

En cuanto a las razones por las cuales los evaluadores consumirían habitualmente los diferentes productos predominaron las siguientes:

- Me gusta mucho la presencia de semillas.
- Tienen buen sabor y es agradable.
- Muy rico el sabor, se siente apenas se come y el sabor perdura.
- Me encantó el sabor y apariencia.
- Se siente algo crocante, en cada mordida sobresale el sabor del vino.
- Es delicioso.
- Es novedoso.
- Tiene buena textura.

Las razones que expresaron aquellos que no consumirían los diferentes productos son las siguientes:

- No me agradó su apariencia, ni textura.
- En los dientes quedan restos que molestan.
- Hay algo duro, como arena.
- El sabor no es rico.
- Molesta al morder.
- Su textura no es agradable al paladar.
- Color poco atractivo.
- Color engañoso, parece chocolate, pero cuando lo probás no lo es.

Capítulo 5

CONCLUSIONES



5. CONCLUSIONES

En el presente estudio se logró incorporar orujo de uva deshidratado cv. Malbec a diferentes alimentos mejorando las propiedades nutricionales y nutracéuticas de los mismos.

El orujo de uva Malbec presenta gran potencial como ingrediente en la formulación de magdalenas, barritas de cereal y biscuits ya que estos presentaron una considerable cantidad de ingredientes funcionales que son aportados por el orujo, mejorando principalmente el contenido de fibra alimentaria y CPs con notable actividad antioxidante, que podrían mejorar aún más si se incrementase el porcentaje de sustitución y/o agregado.

Como se mencionó anteriormente, el contenido de fibra tiene influencia sobre el índice glucémico de los alimentos, por lo que se espera que la incorporación de orujo, por su contenido de fibra, podría también contribuir a una disminución en el índice glucémico de los alimentos.

En líneas generales podemos decir que desde el punto de vista sensorial los diferentes productos con orujo presentaron una notable aceptación por parte de los consumidores por lo cual podrían ser potenciales productos para utilizarlos como base en la elaboración de alimentos funcionales con orujo de uva cv. Malbec.

Estos resultados adquieren gran valor, ya que, al producir alimentos a partir de subproductos de la industria alimentaria, se contribuye al logro de los Objetivos del Desarrollo Sostenible, adoptados por las Naciones Unidas en el año 2015, reduciendo el impacto ambiental mediante técnicas alternativas en la valorización y gestión de los residuos del sector agrícola.

Es así, que cobra gran importancia el empleo de subproductos de la industria alimentaria, en este caso el orujo de uva Malbec, ya que no solo contribuye a un desarrollo sostenible de la producción de alimentos, sino que presenta un amplio aporte de nutrientes y una versatilidad que puede ser empleada como materia prima para la elaboración de diversos alimentos, permitiendo aprovechar al máximo sus propiedades.

De esta forma los resultados obtenidos arrojan que es factible la incorporación de orujo de uva Malbec en los alimentos estudiados ya que se evidencia un incremento en el contenido de compuestos bioactivos en los productos adicionados con orujo y muchos permanecen estables luego del proceso de elaboración. Teniendo en cuenta

la mejora funcional otorgada por el enriquecimiento en CPs del orujo y el incremento de su actividad antioxidante, el presente trabajo podría constituir una potencial aplicación para agregar valor a este subproducto.

Capítulo 6

BIBLIOGRAFÍA

6. BIBLIOGRAFÍA CONSULTADA

- Ajila, C., Brar, S., Verma, M., Tyagi, R., Godbout, S., Valero, J. (2011). Extraction and analysis of polyphenols: recent trends. *Critical reviews in biotechnology*, 31(3), 227-249.
- Angarita Dávila, L., Escobar, M. C., Garrido, M., Carrasco, P., López-Miranda, J., Aparicio, D., & Bermúdez, V. (2016). Comparación del efecto de la fibra sobre el índice glicémico y carga glicémica en distintos tipos de pan. *Archivos Venezolanos de Farmacología y Terapéutica*, 35(4), 100-106.
- Anlló, G., Añón M., Basso, S. (2016). *Bioteconología argentina al año 2030: Llave estratégica para un modelo de desarrollo tecno-productivo*. Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación Productiva. Buenos Aires. Argentina. Disponible en: http://www.mincyt.gob.ar/_post/descargar.php?idAdjuntoArchivo=50571 [Consulta: Marzo 2019]
- Antoniolli, A., Fontana, A.R., Piccoli, P., Bottini, R. (2015). Characterization of polyphenols and evaluation of antioxidant capacity in grape pomace of the cv. Malbec. *Food Chemistry*. 178: 172-178.
- Antoniolli, A. (2018). *Metabolitos secundarios en orujos de uvas tintas (Vitis vinifera L.) cv. Malbec y sus aplicaciones biotecnológicas*. (Tesis Doctoral, PROBIOL, Universidad Nacional de Cuyo.
- Ashwell M. (2005). Conceptos sobre Alimentos Funcionales. *ILSI Europe Concise Monograph Series*. International Life Sciences Institute. Disponible en: <https://www.chilebio.cl/wp-content/uploads/2015/09/Conceptos-sobre-alimentos-funcionales.pdf> [Consulta: diciembre 2021]
- Asociación Gastronómica Francesa en Argentina. (2012). Pâtisserie et Biscuit. *Lucullus*. Disponible en: <http://www.lucullus.com.ar/noticias/patisserie-et-biscuit/> [Consulta: diciembre 2021]
- Balli, D., Cecchi, L., Innocenti, M., Bellumori, M., Mulinacci, N. (2021) Food by-products valorisation: Grape pomace and olive pomaceas sources of phenolic compounds and fiber for enrichment of tagliatelle pasta. *Food Chemistry*. 355. 129642.
- Berli, F.J., Fanzone, M., Piccoli, P., Bottini, R. (2011). Solar UV-B and ABA are involved in phenol metabolism of vitis vinifera L. Increasing biosynthesis of berry skin polyphenols. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(9), 4874-4884
- Berli, F. J., Alonso, R., Bressan-Smith, R., Bottini, R. (2012). UV-B impairs growth and gas exchange in grapevines grown in high altitude. *Physiologia Plantarum*, 149(1), 127-140.
- Bizerra Brito, A. L., Rodriguez Brito, L., Araújo Honorato, F., Cohelo Pontes, M. J., Becerra Lira, L. (2013). Classification of cereal bars using near infrared

- spectroscopy and linear discriminant analysis. *Food research international*, 51(2), 924-928.
- Bordiga, M., Travaglia, F., Locatelli, M., Coisson, J.D., Arlorio, M. (2011). Characterization of polymeric skin and seed proanthocyanidins during ripening in six *Vitis vinifera* L. cv. *Food Chemistry*, 127, 180–187.
- Bordiga, M., Travaglia, F., Meyrand, M. (2012). Identification and characterization of complex bioactive oligosaccharides in white and red wine by a combination of mass spectrometry and gas chromatography. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60, 3700–3707.
- Bordiga, M., Coisson, J. D., Locatelli, M., Arlorio, M., & Travaglia, F. (2013). Pyrogallol: an alternative trapping agent in proanthocyanidins analysis. *Food Analytical Methods*, 6(1), 148-156.
- Bordiga, M., Travaglia, F., Locatelli, M., Arlorio, M., & Coisson, J. D. (2015). Spent grape pomace as a still potential by-product. *International journal of food science & technology*, 50(9), 2022-2031.
- Bordiga, M., Meudec, E., Williams, P., Doco, T., Montella, R., Coisson, J. D., & Travaglia, F. (2018). The impact of distillation process on prebiotic activity of different oligosaccharidic fractions extracted from grape seeds. In 7. *International Symposium on Macromolecules and Secondary Metabolites of Grapevine and Wine, MACROWINE2018* (p. np).
- Bordiga, M., Travaglia, F., & Locatelli, M. (2019). Valorisation of grape pomace: an approach that is increasingly reaching its maturity—a review. *International Journal of Food Science & Technology*, 54(4), 933-942.
- Cannet Romero, R; Ledesma Osuna, A; Robles R; Morales Castro, R; León Martínez, L, Leòn-Galvez, R. (2004) Caracterización de galletas elaboradas con cascarilla de orujo de uva. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 54(1), 93-99. Disponible en: http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S000406222004000100014&lng=es&tlng=es. [Consulta: octubre de 2021]
- Ceballos, Y.; Figueroa, A.; Giraldo, D.; Gómez, A.; Montañó D.; Velasco, M.; Mazo, C.; Martínez-Correa, H.; Vanegas, P. (2016) Elaboración de pan con adición de harina de orujo de uva Isabella (*Vitis labrusca* L.) como componente funcional. *Agronomía Colombiana* 34 (1 Supl.), S1046-S1049.
- Código Alimentario Argentino. [en línea]. Disponible en: <https://www.argentina.gob.ar/anmat/codigoalimentario> [Consulta: diciembre 2021]
- Cortés, R.; Chiralt, B.; Puente, D. (2005). Alimentos Funcionales: Una historia con mucho presente y futuro. *Vitae, Revista de la Facultad de Química Farmacéutica*, 12, (1), 5-14.

- Deng, Q., Penner, M.H., Zhao, Y. (2011). Chemical composition of dietary fibre and polyphenols of five different varieties of wine grape pomace skins. *Food Research International*, 44, 2712–2720.
- Devesa-Rey, R., Vecino, X., Varela-Alende, J. L., Barral, M. T., Cruz, J. M., Moldes, A. B. (2011). Valorization of winery waste vs. the costs of not recycling. *Waste Management*, 31, 2327–2335.
- Doco, T., Williams, P., Meudec, E., Cheynier, V. Sommerer, N. (2015). Complex carbohydrates of red wine: characterization of the extreme diversity of neutral oligosaccharides by ESI-MS. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63, 671–682.
- EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA), (2011). Scientific opinion on the substantiation of health claims related to polyphenols in olive oil and protection of LDL particles from oxidative damage. *EFSA Journal*, 9 (4): 2033, Disponible en: <http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/2033.htm>.
- FAO. (2019). FAOSTAT-FAO Statistical Database. Disponible en: <http://www.fao.org>. [Consulta: Enero 2020]
- FDA. Food and Drug Administration. Disponible en: https://www.accessdata.fda.gov/scripts/InteractiveNutritionFactsLabel/assets/InteractiveNFL_DietaryFiber_March2020.pdf
- Ferreira, S., Bottini, R., Fontana, A. (2021). Tandem absorbance and fluorescence detection following liquid chromatography for the profiling of multiclass phenolic compounds in different winemaking products. *Food Chemistry*, 338, 128030.
- Fiori, L., Lavelli, V., Duba, K.S., Sri Harsha, P.S.C., Mohamed, H. B., Guella, G. (2014). Supercritical CO₂ extraction of oil from seeds of six grape cultivars: modeling of mass transfer kinetics and evaluation of lipid profiles and tocol contents. *Journal of Supercritical Fluids*, 94, 71–80.
- Flamini, R., Mattivi, F., Rosso, M.D., Arapitsas, P., Bavaresco, L. (2013). Advanced knowledge of three important classes of grapephenolics: anthocyanins, stilbenes and flavonols. *International Journal of Molecular Sciences*, 14, 19651–19669.
- Fontana A R, Antonioli A, Bottini, R. (2013). Grape pomace as a sustainable source of bioactive compounds: extraction, characterization and biotechnological applications of phenolics. *Journal of Agricultural Food Chemistry*. 61, 8987-9003.
- Fontana, A. R., Bottini, R. (2014). High-throughput method based on quick, easy, cheap, effective, rugged and safe followed by liquid chromatography-multi-wavelength detection for the quantification of multiclass polyphenols in wines. *Journal of Chromatography A*, 1342, 44-53.

- Fontana, A.R., Antonioli, A., D'Amario Fernández, M.A., Bottini, R. (2017). Phenolics profiling of pomace extracts from different grape varieties cultivated in Argentina. *The Royal Society of Chemistry*, 7, 29446–29457.
- Fuentes-Alventosa J.M., Rodríguez-Gutiérrez, G., Jaramillo-Carmona, S., Espejo-Calvo J., Rodríguez-Arcos, R., Fernández-Bolaños, J., Guillén-Bejarano, R., Jiménez-Araujo, A. (2009). Effect of extraction method on chemical composition and functional characteristics of high dietary fibre powders obtained from asparagus by-products. *Food Chemistry*, 113, 665-671.
- Gazzola, D., Vincenzi, S., Gastaldon, L., Tolin, S., Pasini, G., Curioni, A. (2014). The proteins of the grape (*Vitis vinifera* L.) seed endosperm: fractionation and identification of the major components. *Food Chemistry*, 155, 132–139.
- Giacomino S.M., Pellegrino N., Olivera-Carrión M. (2011) Perfil Nutricional de Barras de Cereales Comerciales según distribución energética de la grasa. *Aceites y Grasas 2011*, 82 (I): 104-7.
- González-Centeno, M. R., Rosselló, C., Simal, S., Garau, M. C., López, F., & Femenia, A. (2010). Physico-chemical properties of cell wall materials obtained from ten grape varieties and their byproducts: grape pomaces and stems. *LWT-Food Science and Technology*, 43 (10), 1580-1586.
- Granito, M., Pérez, S., & Valero, Y. (2014). Calidad de cocción, aceptabilidad e índice glicémico de pasta larga enriquecida con leguminosas. *Revista chilena de nutrición*, 41(4), 425-432.
- Grossi, G. V., Ohaco Domínguez, E. H., & De Michelis, A. (2015). Determinación de fibra dietética total, soluble e insoluble en hongos comestibles de cultivo *Pleurotus ostreatus*. *Instituto de tecnología agropecuaria*, 4.
- Guerra-Rivas, C., Gallardo, B., Lavín, P., Mantecón, Á. R., Manso, T. (2013). El orujo de uva en la alimentación del ganado ovino: composición química, degradabilidad de la materia seca, PH y N-NH3 Ruminal.
- Gul, H., Acun, S., Sen, H., Nayir, N. Turk, S. (2013). Antioxidant activity, total phenolics and some chemical properties of Okuzgozu and Narince grape pomace and grape seed flour. *Journal of Food, Agriculture and Environment*, 11, 28–34.
- Iacopini, P., Baldi, M., Storchi, P., & Sebastiani, L. (2008). Catechin, epicatechin, quercetin, rutin and resveratrol in red grape: Content, in vitro antioxidant activity and interactions. *Journal of Food Composition and Analysis*, 21(8), 589-598.
- Igartuburu, J. M., del Río, R. M., Massanet, G. M., Montiel, J. A., Pando, E., & Luis, F. R. (1991). Study of agricultural by-products. Extractability and amino acid composition of grapeseed (*Vitis vinifera*) proteins. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 54(3), 489-493.
- Illanes, A. (2015). Alimentos funcionales y biotecnología. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 17 (1), 5-8.

- INSTITUTO NACIONAL DE TECNOLOGÍA INDUSTRIAL (INTI) Programa de ensayos y asistencia técnica. (2011). *Programa Pruebas de Desempeño de Productos: Barritas de cereal*. Buenos Aires. Argentina
- INV (2019). Instituto Nacional de Vitivinicultura. Informe anual cosecha y elaboración 2019 argentina. Disponible en: <https://www.argentina.gob.ar/inv/estadisticas-vitivincolas/cosecha/anuarios>.
- Kammerer, D., Claus, A., Carle, R., Schieber, A. 2004. Polyphenol Screening of Pomace from Red and White Grape Varieties (*Vitis vinifera* L.) by HPLC-DAD-MS/MS. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 52, 4360-4367.
- Kammerer, D., Claus, A., Schieber, A., Carle, R. (2005). A novel process for the recovery of polyphenols from grape (*Vitis vinifera* L.) pomace. *Journal of Food Science*, 70 (2), C157-C163.
- Kammerer, D. R., Kammerer, J., Valet, R., y Carle, R. (2014). Recovery of polyphenols from the by-products of plant food processing and application as valuable food ingredients. *Food Research International*, 65, Part A (0), 2-12.
- Kris-Etherton, P. M., Hecker, K. D., Bonanome, A., Coval, S. M., Binkoski, A. E., Hilpert, K. F., Etherton, T. D. (2002). Bioactive compounds in foods: their role in the prevention of cardiovascular disease and cancer. *The American journal of medicine*, 113(9), 71-88.
- Lachman, J., Hejtmánková, A., Hejtmánková, K., Horníčková, Š., Pivec, V., Skala, O., Přebyl, J. (2013). Towards complex utilisation of winemaking residues: Characterisation of grape seeds by total phenols, tocopherols and essential elements content as a by-product of winemaking. *Industrial Crops and Products*, 49, 445-453.
- Leal, M., Anzolovich, D., Lizaso, F., Paz, P. (2016). Estudio panorámico de vigilancia tecnológica e inteligencia competitiva: alimentos funcionales. *Revista del Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación Productiva de Buenos Aires*. Buenos Aires, 27-29.
- Lezcano, A. E. (2008). Galletitas y Bizcochos. *Alimentos Argentinos*, 41.
- Lezcano, A. E. (2009). Cereales para el desayuno. *Alimentos Argentinos*, 49.
- Lezcano, A. E. (2010). Análisis de producto: Cereales para el desayuno. Disponible en: http://www.alimentosargentinos.gob.ar/contenido/sectores/farinaceos/Productos/CerealesDesayuno_2010_11Nov.pdf [Consulta: diciembre 2021]
- Llobera, A., Canellas, J. (2007). Dietary fibre content and antioxidant activity of Manto Negro red grape (*Vitis vinifera*): pomace and stem. *Food chemistry*, 101 (2), 659-666.
- Martínez Cervera, S. (2013). *Reemplazo de grasa y azúcar en magdalenas. Efecto sobre las propiedades reológicas, térmicas, de textura y sensoriales* (Doctoral dissertation, Universitat Politècnica de València).

- Martins, S., Mussatto, S. I., Martínez-Avila, G., Montañez-Saenz, J., Aguilar, C. N., Teixeira, J. A. (2011). Bioactive phenolic compounds: production and extraction by solid-state fermentation. A review. *Biotechnology advances*, 29(3), 365-373.
- Mironeasa, S., Codină, G. G., Mironeasa, C. (2016). Optimization of wheat-grape seed composite flour to improve alpha-amylase activity and dough rheological behavior. *International Journal of Food Properties*, 19(4), 859-872.
- Mazza, G. (2000). Alimentos funcionales. Aspectos nutricionales y de procesado.
- Melero, M. A., Michel, D. (2020). *Harina de semilla de uva, análisis del perfil nutricional y su aplicación en la elaboración de muffins* (Bachelor's thesis).
- Mézes, M., Erdélyi, M. (2018). Az élelmiszerek rosttartalmának antioxidáns hatása= Antioxidant effect of the fibre content of foods. *Orvosi hetilap*, 159 (18), 709-712.
- Mildner-Szkudlarz, S., Zawirska-Wojtasiak, R., Szwengiel, A., Pacyński, M. (2011). Use of grape by-product as a source of dietary fibre and phenolic compounds in sourdough mixed rye bread. *International Journal of Food Science & Technology*, 46(7), 1485-1493.
- Mildner-Szkudlarz, S., Bajerska, J., Zawirska-Wojtasiak, R., Górecka, D. (2013). White grape pomace as a source of dietary fibre and polyphenols and its effect on physical and nutraceutical characteristics of wheat biscuits. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93(2), 389-395.
- MSN Ministerio de Salud de la Nación. Guías Alimentarias para la Población Argentina, Buenos Aires 2020. Disponible en: <https://bancos.salud.gob.ar/recurso/guias-alimentarias-para-la-poblacion-argentina>. Consulta: 5 enero 2022
- Moon, J. K., Shibamoto, T. (2009). Antioxidant assays for plant and food components. *Journal of agricultural and food chemistry*, 57(5), 1655-1666.
- Morales, M. C. Z. (2005). *Caracterización de fibra dietaria en orujo y capacidad antioxidante en vino, hollejo y semilla de uva* (Tesis doctoral, Universidad de Chile).
- Moreno, C. (2012). Un tema complejo. Normativa y alimentos funcionales. *Alimentos Argentinos*, 55, 60-63.
- Moya García, C. R. (2017). Extracción y caracterización de aceite vegetal de las semillas de uva borgoña (*Vitis vinífera*) utilizando enzimas.
- Nakov, G., Brandolini, A., Hidalgo, A., Ivanova, N., Stamatovska, V., Dimov, I. (2020). Effect of grape pomace powder addition on chemical, nutritional and technological properties of cakes. *LWT*, 134, 109950.
- O'connell, J. E., Fox, P. F. (2001). Significance and applications of phenolic compounds in the production and quality of milk and dairy products: a review. *International Dairy Journal*, 11(3), 103-120.

- OIV. (2019). 2019 Statical Report on World Vitiviniculture. International Organisation of Vine and Wine Intergovernmental Organisation. Disponible en: https://www.google.com/url?sa=t&source=web&rct=j&url=https://www.oiv.int/public/medias/6782/oiv-2019-statistical-report-on-world-vitiviniculture.pdf&ved=2ahUKEwj7qHjmtX1AhUZK7kGHQoaB7kQFnoECBAQAQ&usg=AOvVaw1wealu3gICA2u_TjSNSdhe
- Olivera Carrión, M., Giacomino, S. M., Pellegrino, N., Sambucetti, M. E. (2009) Composición y perfil nutricional de barras de cereales comerciales Nutrient Profile and Composition of Store-Bought Cereal Bars.
- Olivera, M., Ferreyra, V., Giacomino, S., Curia, A., Pellegrino, N., Fournier, M., Apro, N. (2012). Desarrollo de barras de cereales nutritivas y efecto del procesado en la calidad proteica. *Revista chilena de nutrición*, 39(3), 18-25.
- OMS., S. D. I. T. (2003). *Dieta, nutrición y prevención de enfermedades crónicas*. OMS (Organización Mundial de la Salud).
- OMS. (2018) La OMS planea eliminar los ácidos grasos trans de producción industrial del suministro mundial de alimentos. [en línea] Disponible en: <https://www.who.int/es/news/item/14-05-2018-who-plan-to-eliminate-industrially-produced-trans-fatty-acids-from-global-food-supply#:~:text=La%20OMS%20recomienda%20que%20la,una%20dieta%20de%202000%20calor%C3%ADas>. [Consulta: Enero 2022]
- Ortega-Heras, M., Gómez, I., de Pablos-Alcalde, S., González-Sanjosé, M. L. (2019). Application of the just-about-right scales in the development of new healthy whole-wheat muffins by the addition of a product obtained from white and red grape pomace. *Foods*, 8(9), 419.
- Ou, B., Hampsch-Woodill, M., Prior, R. L. (2001). Development and validation of an improved oxygen radical absorbance capacity assay using fluorescein as the fluorescent probe. *Journal of agricultural and food chemistry*, 49(10), 4619-4626.
- Padilla, F. C., Rincón, A. M., Bou-Rached, L. (2008). Contenido de polifenoles y actividad antioxidante de varias semillas y nueces. *Archivos latinoamericanos de nutrición*, 58(3), 303-308.
- Panche, A. N., Diwan, A. D., Chandra, S. R. (2016). Flavonoids: an overview. *Journal of nutritional science*, 5.
- Paulos, K., Costa, J., Portugal, P., Spranger, M., Sun, B., Moreira, O., Dentinho, M. Caracterización química y nutricional de los subproductos de la vinificación para aplicación en la alimentación de rumiantes.
- Pinto Fontanillo, J. A., Carbajal Azcona, Á. (2003). La dieta equilibrada, prudente o saludable. Servicio de Promoción de la Salud, Instituto de Salud Pública, Consejería de la Sanidad, Madrid, España.

- Pozuelo, M. J., Agis-Torres, A., Hervert-Hernández, D., Elvira López-Oliva, M., Muñoz-Martínez, E., Rotger, R., Goni, I. (2012). Grape antioxidant dietary fiber stimulates *Lactobacillus* growth in rat cecum. *Journal of food science*, 77(2), H59-H62.
- Prandi, B., Faccini, A., Lambertini, F., Bencivenni, M., Jorba, M., Van Droogenbroek, B., Sforza, S. (2019). Food wastes from agrifood industry as possible sources of proteins: A detailed molecular view on the composition of the nitrogen fraction, amino acid profile and racemisation degree of 39 food waste streams. *Food chemistry*, 286, 567-575.
- Pycarelle, S. C., Winnen, K. L., Bosmans, G. M., Van Haesendonck, I., Pareyt, B., Brijs, K., Delcour, J. A. (2019). Wheat (*Triticum aestivum* L.) flour free lipid fractions negatively impact the quality of sponge cake. *Food chemistry*, 271, 401-409.
- Reynier A. (1989). Manual de viticultura. 4º ed. Madrid: Editorial Mundi-Prensa,
- Roberfroid, M. B. (2002). Functional foods: concepts and application to inulin and oligofructose. *British Journal of Nutrition*, 87(S2), S139-S143.
- Rodríguez Lanzi, C. R., Perdicaro, D. J., Antonioli, A., Fontana, A. R., Miatello, R. M., Bottini, R., & Prieto, M. A. V. (2016). Grape pomace and grape pomace extract improve insulin signaling in high-fat-fructose fed rat-induced metabolic syndrome. *Food & function*, 7(3), 1544-1553.
- Rodríguez-Rodríguez, R., Justo, M. L., Claro, C. M., Vila, E., Parrado, J., Herrera, M. D., De Sotomayor, M. A. (2012). Endothelium-dependent vasodilator and antioxidant properties of a novel enzymatic extract of grape pomace from wine industrial waste. *Food chemistry*, 135(3), 1044-1051.
- Rosales Soto, M. U., Brown, K., Ross, C. F. (2012). Antioxidant activity and consumer acceptance of grape seed flour-containing food products. *International Journal of Food Science and Technology*, 47, 592–602.
- Saito, M. (2007). Role of FOSHU (food for specified health uses) for healthier life. *Yakugaku Zasshi: Journal of the Pharmaceutical Society of Japan*, 127(3), 407-416.
- Sánchez-Alonso, I., Jiménez-Escrig, A., Saura-Calixto, F., Borderías, A. J. (2008). Antioxidant protection of white grape pomace on restructured fish products during frozen storage. *LWT-Food science and Technology*, 41(1), 42-50.
- Saura-Calixto, F. (1998). Antioxidant dietary fiber product: a new concept and a potential food ingredient. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(10), 4303-4306.
- SERNAC, 2004, Alimentos funcionales. [en línea] Disponible en: <http://www.administracion.usmp.edu.pe/institutoconsumo/wp-content/uploads/2013/08/Alimentos-funcionales.-2004-SENARC.pdf> [Consulta: Diciembre 2021]

- Silva, M. L., Macedo, A. C., Malcata, F. X. (2000). Steam distilled spirits from fermented grape pomace Revision: Bebidas destiladas obtenidas de la fermentación del orujo de uva. *Food Science and Technology International*, 6(4), 285-300.
- Spigno, G., Tramelli, L., De Faveri, D. M. (2007). Effects of extraction time, temperature and solvent on concentration and antioxidant activity of grape marc phenolics. *Journal of food engineering*, 81(1), 200-208.
- Struck, S., Gundel, L., Zahn, S., Rohm, H. (2016). Fiber enriched reduced sugar muffins made from iso-viscous batters. *LWT-Food Science and Technology*, 65, 32-38.
- Tolve, R., Pasini, G., Vignale, F., Favati, F., & Simonato, B. (2020). Effect of grape pomace addition on the technological, sensory, and nutritional properties of durum wheat pasta. *Foods*, 9(3), 354.
- Tomás-Barberán, FA. 2003. Los Polifenoles de los Alimentos y la Salud. *Alimentación, Nutrición y Salud Instituto Danone*. 10, (2): 41-53. Disponible en: <https://digital.csic.es/bitstream/10261/18042/3/lecturaPDF.pdf>
- Tsao, R. (2010). Chemistry and biochemistry of dietary polyphenols. *Nutrients*, 2(12), 1231-1246.
- Ulloa, F., Shirley, M. (2015). Ingesta de lácteos enteros y alimentos ricos en fibra (CHÍA) y su influencia sobre los niveles de la glucemia sanguínea en los pacientes con diabetes mellitus tipo II que acuden a la Asociación de Voluntariado Hospitalario del Guayas en el periodo 2014-2015.
- Valenzuela B, Alfonso, Valenzuela, Rodrigo, Sanhueza, Julio, & Morales I, Gladys. (2014). Alimentos funcionales, nutraceuticos y foshu: ¿vamos hacia un nuevo concepto de alimentación? *Revista chilena de nutrición*, 41(2), 198-204.
- Vallejo-Zamudio, E., Rojas-Velázquez, A., & Torres-Bugarin, O. (2017). Una poderosa herramienta en la medicina preventiva del cáncer: los antioxidantes. *El Residente*, 12(3), 104-111.
- Varela, G., Ruiz-Roso, B., & Fernández-Valderrama, C. (1993). Bollería, ingesta grasa y niveles de colesterol en sangre. *Serie divulgación*, (14).
- Vidal, N. (2018). Alimentación saludable, la gran tendencia de consumo actual. 7 claves orientativas. *AINIA*. [En línea]. Disponible en: <https://www.ainia.es/tecnoalimentalia/consumidor/alimentacion-saludable-la-gran-tendencia-de-consumo-actual-7-claves-orientativas>. [Consulta: diciembre 2021].
- Xu, Y. (2001). Perspectives on the 21st century development of functional foods: bridging Chinese medicated diet and functional foods. *International journal of food science & technology*, 36(3), 229-242.
- Xu, H., Liu, X., Yan, Q., Yuan, F., Gao, Y. (2015). A novel copigment of quercetagenin for stabilization of grape skin anthocyanins. *Food chemistry*, 166, 50-5

- Yu, J., Ahmedna, M. (2013). Functional components of grape pomace: their composition, biological properties and potential applications. *International Journal of Food Science & Technology*, 48(2), 221-237.5.
- ZAKY, A. A., Asiamah, E. B. E. N. E. Z. E. R., El-Faham, S. Y., Ashour, M. M., Sharaf, A. (2020). Utilization of grape pomace extract as a source of natural antioxidant in biscuits. *European Academic Research*, 8(1), 108-26.
- Zúñiga Morales, M. C. (2005). Caracterización de fibra dietaria en orujo y capacidad antioxidante en vino, hollejo y semilla de uva.

Capítulo 7

ANEXOS

7. ANEXOS

ANEXO 1

Tabla 9: Composición nutricional de los alimentos estudiados (g/100g materia fresca)

| MUESTRAS | PROTEÍNA | LÍPIDOS | FIBRA | CARBOHIDRATOS | CENIZAS |
|-------------------------------------|----------|---------|-------|---------------|-------------|
| Magdalenas con orujo | 7,2 | 21,9 | 1,9 | 46,27 | 1,22 ± 0,05 |
| Magdalenas testigo | 8,2 | 20,8 | 1,6 | 54,02 | 0,68 ± 0,15 |
| Barritas de cereal con orujo | 5,8 | 0,9 | 2,9 | 69,02 | 0,84 ± 0,06 |
| Barritas de cereal testigo | 4,4 | 1,2 | 2 | 77,8 | 0,4 ± 0,02 |
| Biscuits con orujo | 11,8 | 15,8 | 4,4 | 52,31 | 1,91 ± 0,27 |
| Biscuits testigo | 12,9 | 14 | 0,3 | 65,55 | 1,21 ± 0,18 |

ANEXO 2

Tabla 10: Niveles de CPs de bajo peso molecular en los alimentos ($\mu\text{g g}^{-1} \pm \text{SD}$ materia fresca)

| Compuesto | MAGDALENA ORUJO | MAGDALENA TESTIGO | BARRITA ORUJO | BARRITA TESTIGO | BISCUIT ORUJO | BISCUIT TESTIGO |
|--------------------------------------|-----------------|-------------------|---------------|-----------------|---------------|-----------------|
| Ácidos hidroxibenzoicos | | | | | | |
| Ácido siríngico | 55,4±2,7 | n/d | 45,5±1,8 | 4,4±1,3 | 107,8±2,4 | n/d |
| Total ácidos hidroxibenzoicos | 55,4 | | 45,5 | 4,4 | 107,8 | |
| Ácidos hidroxicinámicos | | | | | | |
| Ácido cafeico | 60,6±3,03 | n/d | 48,4±1,8 | 20,8±2,0 | 99,3±3,5 | 6,8±0,8 |
| Ácido p-cumárico | 35,2±1,7 | n/d | 23,2±1,1 | n/d | 35,0±1,5 | n/d |
| Ácido ferúlico | 3,8±0,2 | n/d | 6,5±0,1 | n/d | 10,0±0,4 | n/d |
| Ácido clorogénico | 29,6±1,5 | n/d | 121,8± 0,1 | n/d | n/d | n/d |
| Total ácidos hidroxicinámicos | 129,2 | | 199,9 | 20,8 | 144,3 | 6,8 |
| Estilbenos | | | | | | |
| <i>trans</i> -resveratrol | 2,7±0,1 | n/d | 2,0±0,1 | n/d | 4,5±0,1 | n/d |
| Total estilbenos | 2,7 | | 2,0 | | 4,5 | |
| Flavan3-oles | | | | | | |
| (+)-catequina | 44,8±2,2 | n/d | 60,1±1,3 | 1,4±0,0 | 51,6±3,5 | n/d |
| (-)-galocatequina | 253,4±12,7 | 162,8±8,1 | 53,2±23,7 | 105,3±23,7 | 162,3±23,9 | 58,2±1,1 |
| Total flavanoles | 298,2 | 162,8 | 113,3 | 106,7 | 213,9 | 58,2 |
| Flavonoles | | | | | | |
| Quercetina-3-glucósido | 103,7±5,2 | 126,6±6,3 | 11,0±1,7 | 44,3±8,2 | 194,8±1,7 | 285,0±5,3 |
| Quercetina | n/d | n/d | 4,7±0,8 | 4,0±0,2 | 3,9±0,2 | n/d |
| Miricetina | 4,2±0,2 | n/d | 7,6±0,2 | 5,4±0,2 | 8,0±1,1 | n/d |
| Rutina | 62,8±3,1 | 4,1±0,2 | 51,1±1,2 | 3,4±0,3 | 80,5±0,5 | n/d |
| Astilbina | 315,1±15,8 | 397,2±19,9 | 35,3±10,2 | 135,2±12,7 | 587,8±6,0 | 912,9±26,6 |
| Total flavonoles | 485,8 | 527,9 | 109,7 | 192,3 | 875 | 1197,9 |
| Otros compuestos | | | | | | |
| OH-Tirosol | 8,6±0,4 | n/d | 6,9± 0,6 | n/d | 13,3± 1,2 | n/d |
| Total otros compuestos | 8,6 | | 6,9 | | 13,3 | |
| Total CPs | 983,5 | 696,3 | 477,3 | 329,5 | 1358,8 | 1274,5 |

ANEXO 3

PLANILLA DE EVALUACIÓN SENSORIAL

Fecha: **Sexo:** F - M **Edad:**

Método: Escala Hedónica **Producto:**

Por favor, sírvase degustar los productos que se presentan a continuación y marque con una cruz su opinión en cuanto a la apariencia, sabor, textura, color e indique su evaluación global sobre el producto.

| Muestra..... | <i>me gusta mucho</i> | <i>me gusta moderadamente</i> | <i>no me gusta ni me disgusta</i> | <i>me disgusta moderadamente</i> | <i>me disgusta mucho</i> |
|---|-----------------------|-------------------------------|-----------------------------------|----------------------------------|--------------------------|
| APARIENCIA | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> |
| SABOR | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> |
| TEXTURA – CONSISTENCIA | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> |
| COLOR | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> |
| ¿QUÉ OPINIÓN GENERAL TIENE DE LA MUESTRA? | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> |

COMENTARIOS:.....

| Muestra..... | <i>me gusta mucho</i> | <i>me gusta moderadamente</i> | <i>no me gusta ni me disgusta</i> | <i>me disgusta moderadamente</i> | <i>me disgusta mucho</i> |
|---|-----------------------|-------------------------------|-----------------------------------|----------------------------------|--------------------------|
| APARIENCIA | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> |
| SABOR | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> |
| TEXTURA – CONSISTENCIA | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> |
| COLOR | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> |
| ¿QUÉ OPINIÓN GENERAL TIENE DE LA MUESTRA? | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> |

COMENTARIOS:.....

COMENTARIOS:.....

¿Consume habitualmente este producto? SI NO

Este alimento ¿es un producto de su gusto o preferencia? SI NO

¿Estaría dispuesto usted a consumir habitualmente este producto si tuviera un beneficio para su salud? SI NO

ANEXO 4

PLANILLA DE EVALUACIÓN SENSORIAL

Análisis sensorial: alimentos funcionales formulados con orujo de uva cv. Malbec

Por favor, sírvase degustar los productos que se presentan a continuación y seleccione su opinión en cuanto a la apariencia, sabor, textura, color e indique su evaluación global sobre el producto.

*Obligatorio

1. Correo *

2. Sexo *

Marca solo un óvalo.

Masculino

Femenino

3. Edad *

4. Alimento: MAGDALENAS. MUESTRA P2B *

Marca solo un óvalo por fila.

| | Me gusta mucho | Me gusta moderadamente | No me gusta mi me disgusta | Me disgusta moderadamente | Me disgusta mucho |
|---|-----------------------|------------------------|----------------------------|---------------------------|-----------------------|
| Apariencia | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> |
| Sabor | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> |
| Textura/consistencia | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> |
| Color | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> |
| ¿Qué opinión general tiene de la muestra? | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> |

5. COMENTARIOS

6. Alimento: MAGDALENAS. MUESTRA P2O *

Marca solo un óvalo por fila.

| | Me gusta mucho | Me gusta moderadamente | No me gusta mi me disgusta | Me disgusta moderadamente | Me disgusta mucho |
|---|-----------------------|------------------------|----------------------------|---------------------------|-----------------------|
| Apariencia | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> |
| Sabor | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> |
| Textura/consistencia | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> |
| Color | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> |
| ¿Qué opinión general tiene de la muestra? | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> | <input type="radio"/> |

7. COMENTARIOS

8. ¿consume habitualmente estos productos? *

Marca solo un óvalo.

SI

NO

9. las magdalenas ¿son un producto de su gusto o preferencia? *

Marca solo un óvalo.

SI

NO

10. ¿estaría dispuesto usted a consumir habitualmente este producto si tuviera un beneficio para su salud? *

Marca solo un óvalo.

SI

NO

