

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

FACULTAD DE AGRONOMÍA



**EVALUACIÓN FÍSICOQUÍMICA Y FUNCIONAL DE UN SNACK DE MAÍZ
ENRIQUECIDO CON ORUJO DE UVA (*Vitis vinifera* L.)**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRÍA EN CIENCIAS CON ORIENTACIÓN EN INGENIERÍA EN INDUSTRIAS
ALIMENTARIAS

PRESENTA

ANGÉLICA ALMANZA OLIVEROS

General Escobedo, N. L.

Agosto 2023

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

FACULTAD DE AGRONOMÍA



**EVALUACIÓN FÍSICOQUÍMICA Y FUNCIONAL DE UN SNACK DE MAÍZ
ENRIQUECIDO CON ORUJO DE UVA (*Vitis vinifera* L.)**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRÍA EN CIENCIAS CON ORIENTACIÓN EN INGENIERÍA EN INDUSTRIAS
ALIMENTARIAS

PRESENTA

ANGÉLICA ALMANZA OLIVEROS

General Escobedo, N. L.

Agosto 2023

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE AGRONOMÍA
SUBDIRECCIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO



**EVALUACIÓN FÍSICOQUÍMICA Y FUNCIONAL DE UN SNACK DE MAÍZ
ENRIQUECIDO CON ORUJO DE UVA (*Vitis vinifera* L.)**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRÍA EN CIENCIAS CON ORIENTACIÓN EN INGENIERÍA EN INDUSTRIAS
ALIMENTARIAS

PRESENTA

ANGÉLICA ALMANZA OLIVEROS

General Escobedo, N. L.

Agosto 2023

**ESTA TESIS FUE REVISADA Y APROBADA POR EL
COMITÉ PARTICULAR COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE**

**MAESTRÍA EN CIENCIAS CON ORIENTACIÓN EN INGENIERÍA EN INDUSTRIAS
ALIMENTARIAS**

COMITÉ PARTICULAR

Dr. Guillermo Cristian Guadalupe Martínez Ávila
Director de Tesis

Dra. Cecilia Castro López
Co-directora

Dr. Romeo Rojas Molina
Asesor

Dra. Nancy del Pilar Medina Herrera
Asesora

Dra. Juanita Guadalupe Gutiérrez Soto
Subdirectora de Posgrado e Investigación

DEDICATORIA

Dedico este trabajo a mis padres Rosa Angélica y Jaime por creer en mis convicciones y apoyarme, a mi hermana Marian por alegrarme, a mi hermano Mauricio y mi hermana Clau por estar presentes, a Esteban Chávez Oropeza por acompañarme e inspirarme en este camino y, finalmente, me dedico este trabajo como un regalo que logró alumbrar mi interés por la innovación y el aprovechamiento de los alimentos funcionales.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a mi comité de tesis por el tiempo y esfuerzo brindado, especialmente al Dr. Guillermo Cristian Guadalupe Martínez Ávila por la confianza, tiempo y exigencia en los proyectos realizados, a la M.C. María Dolores González por el apoyo en el laboratorio, al Dr. Romeo Rojas Molina por el apoyo en mi preparación para los seminarios, a la Dra. Cecilia Castro por su guía y participación en el artículo "*Grape pomace—From waste to health and food applications*" y a la Dra. Nancy del Pilar Medina por su compromiso en este trabajo. Agradezco a mis padres por impulsarme a lograr esta meta, así como a Esteban Chávez Oropeza por la motivación y el apoyo brindado en mis actividades escolares. Hago una mención especial a mi gran amigo Néstor Aranda, por ser un maestro para mí. Con el mismo aprecio, agradezco a mis amigas Tere, Brenda y Karen por haber compartido conmigo sus conocimientos y creado un ambiente familiar en el que me brindaron ayuda en los momentos difíciles. Finalmente, agradezco a la Facultad de Agronomía por el préstamo de sus instalaciones y al CONAHCYT por la beca otorgada durante los estudios.

ÍNDICE DE CONTENIDO

ÍNDICE DE CUADROS.....	10
ÍNDICE DE FIGURAS	11
ABREVIATURAS	12
RESUMEN	13
ABSTRACT	14
1. INTRODUCCIÓN	16
1.1 Hipótesis	18
1.2 Objetivos	18
1.2.1 Objetivo General	18
1.2.2 Objetivos Específicos	18
2. REVISIÓN DE LITERATURA.....	19
2.1 Aprovechamiento de subproductos en la industria alimentaria	19
2.2 Composición química y propiedades del orujo de uva	20
2.3 Fermentación del orujo de uva.....	21
2.4 Sub-productos de la uva como fuente de compuestos fenólicos.....	22
2.5 Actividades biológicas demostradas en alimentos debido a la presencia de compuestos fenólicos de la uva	23
2.5.1 Actividad antioxidante	23
2.5.2 Efecto antimicrobiano.....	30
2.5.3 Potencial prebiótico	31
2.5.4 Otras aplicaciones	32
3. MATERIALES Y MÉTODOS	33
3.1 Localización del Estudio.....	33
3.2 Material Vegetal.....	33
3.3 Secado	34
3.4 Molienda y tamizado	35
3.5 Caracterización del orujo de uva	35
3.5.1 Análisis químico proximal de OF y ONF	35
3.5.2 Pruebas físicas de OF y ONF	36

3.5.3	Análisis de actividad antioxidante de OF y ONF	36
3.5.3.1	Extracción de compuestos polifenólicos de OF y ONF	36
3.5.3.2	Espectroscopía FTIR de OF y ONF.....	38
3.5.3.3	Análisis ABTS ^{•+} en OF y ONF.....	38
3.5.3.4	Estudio IC ₅₀ en OF y ONF	39
3.5.3.5	Contenido de flavonoides totales en OF y ONF	39
3.5.3.6	Ensayo FRAP de OF y ONF	40
3.6	Formulación de un <i>snack</i> enriquecido con OU.....	41
3.7	Preparación de un <i>snack</i> enriquecido con OU	41
3.8	Caracterización de un <i>snack</i> enriquecido con OU	42
3.8.1	Análisis químico proximal de un <i>snack</i> enriquecido con OU	42
3.8.2	Análisis de actividad antioxidante de un <i>snack</i> enriquecido con OU.....	42
3.8.2.1	Extracción de compuestos polifenólicos del <i>snack</i> enriquecido.....	42
3.8.2.2	Análisis ABTS ^{•+} del <i>snack</i> enriquecido	43
3.8.2.3	Contenido de flavonoides totales del <i>snack</i> enriquecido	44
3.12.2.4	Ensayo FRAP del <i>snack</i> enriquecido	44
3.12.2.5	Evaluación de lipoperoxidación del <i>snack</i> enriquecido	45
3.9	Diseño Experimental.....	46
4.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	47
4.1	Caracterización del orujo de uva	47
4.1.1	Análisis químico proximal de OF y ONF	47
4.1.2	Pruebas físicas de OF y ONF	48
4.1.3	Análisis de la actividad antioxidante de OF y ONF	49
4.1.3.1	Extracción de compuestos polifenólicos de OF y ONF	49
4.1.3.2	Espectroscopía FTIR de OU y fibra de OU.....	50
4.1.3.2	Análisis ABTS ^{•+} de OF Y ONF.....	54
4.1.3.4	Estudio IC ₅₀ de OF y ONF.....	56
4.1.3.5	Contenido de flavonoides totales de OF y ONF	56
4.1.3.6	Ensayo FRAP de OF y ONF.....	57
4.1.4	Formulación de un <i>snack</i> enriquecido con OU.....	58
4.1.5	Preparación de un <i>snack</i> enriquecido con OU	59
4.1.6	Caracterización de un <i>snack</i> enriquecido con OU	61
4.1.6.1	Obtención de compuestos polifenólicos de un <i>snack</i> enriquecido con OU	61

4.1.6.2	Análisis ABTS ^{•+} de un <i>snack</i> enriquecido con OU	63
4.1.6.3	Contenido de flavonoides totales de un <i>snack</i> enriquecido con OU	64
4.1.6.4	Ensayo FRAP de un <i>snack</i> enriquecido con OU	65
4.1.6.5	Evaluación de lipoperoxidación de un <i>snack</i> enriquecido con OU.....	66
4.1.6.6	Espectroscopía FTIR del <i>snack</i> adicionado.....	67
5.	CONCLUSIÓN	71
6.	BIBLIOGRAFÍA	73
	Apéndice. Principales logros de la investigación	82

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Contenido fenólico total y principales compuestos fenólicos de alimentos adicionados con orujo de uva.....	27
Cuadro 2. Análisis químico proximal de orujo de uva Malbec	476
Cuadro 3. Índice de absorción de leche, agua y aceite.....	47
Cuadro 4. Rendimiento de compuestos polifenólicos de OF a distintas concentraciones de solvente.....	49
Cuadro 5. Rendimiento de compuestos polifenólicos obtenidos de OF y ONF	509
Cuadro 6. Asignación de espectro FTIR de compuestos polifenólicos extraídos de OF y ONF	543
Cuadro 7. Asignación de espectro FTIR de fibra de OF y ONF	543
Cuadro 8. Resultados del porcentaje de inhibición del radical ABTS**	554
Cuadro 9. Resultados del porcentaje de inhibición del radical ABTS**IC₅₀	565
Cuadro 10. Evaluación de actividad antioxidante de OF y ONF	587
Cuadro 11. Rendimiento de compuestos polifenólicos de tostadas adicionadas con OU	6261
Cuadro 12. Resultados de la evaluación de actividad antioxidante de los compuestos polifenólicos de cada muestra.....	63
Cuadro 13. Asignación de espectro FTIR de compuestos polifenólicos extraídos de un snack adicionado con OF y OFN.....	709

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Fuente: Hogervorst et al., 2017	21
Figura 2. Procesamiento de OF y ONF desde la cosecha hasta el tamizado de la muestra	34
Figura 3. Proceso de extracción de compuestos polifenólicos para muestras de OF y ONF	37
Figura 4. Espectros de FTIR de compuestos polifenólicos de OF y ONF	51
Figura 5. Espectro FTIR de la fibra de OF y ONF	52
Figura 6. A)Tostada elaborada con harina Maseca B)Tostada elaborada con harina Naturelo C)Prueba flexibilidad TONF8% D)Prueba flexibilidad TONF12%.	688
Figura 7. Comparación visual de tostadas adicionadas con OU	6959
Figura 8. A1-A3) compuestos polifenólicos TONF12% B1-B3) compuestos polifenólicos TONF8% C1-C3) compuestos polifenólicos TONF4%	62
Figura 9. Espectros de FTIR de compuestos polifenólicos en un snack adicionado con 4%, 8% y 12% de orujo fermentado	67
Figura 10. Espectros de FTIR de compuestos polifenólicos en un snack adicionado con 4%, 8% y 12% de orujo no fermentado	68

ABREVIATURAS

Abreviatura	Significado
°C	Grados centígrados
h	Horas
s	Segundos
OU	Orujo de uva
OF	Orujo de uva fermentado
ONF	Orujo de uva no fermentado
TC0%	Tostada control
TOF4%	Tostada adicionada con 4% de orujo fermentado
TOF8%	Tostada adicionada con 8% de orujo fermentado
TOF12%	Tostada adicionada con 12% de orujo fermentado
TONF4%	Tostada adicionada con 4% de orujo no fermentado
TONF8%	Tostada adicionada con 8% de orujo no fermentado
TONF12%	Tostada adicionada con 12% de orujo no fermentado
TPC	Contenido fenólico total
GAE	Equivalentes de ácido gálico

RESUMEN

El orujo de uva es fuente de compuestos antioxidantes como antocianinas, ácidos fenólicos, flavonoides y sus glucósidos, por lo que ha sido utilizado en la industria alimentaria como aditivo para distintos alimentos. Muestras de orujo fermentado (OF) y orujo no fermentado (ONF) se sometieron a pruebas físicas como absorción de agua, aceite y leche, así como un análisis químico proximal. Se formularon y elaboraron tostadas de maíz adicionadas al 4%, 8% y 12% (p/p) de OF y ONF. A partir de las muestras disueltas en etanol al 80%, se recuperaron los compuestos polifenólicos mediante una extracción asistida por ultrasonido y una posterior purificación por cromatografía en columna. Se identificaron los grupos funcionales por espectroscopía infrarroja (FTIR), se cuantificaron los flavonoides totales y se realizaron actividades antiradicalarias y antioxidantes (ABTS^{•+}, FRAP, lipoperoxidación). El OF y ONF presentaron un elevado contenido de fibra y carbohidratos, además tuvieron un mayor rendimiento de compuestos polifenólicos en comparación el *snack* adicionado. El análisis FTIR justificó la presencia de grupos funcionales característicos de los polifenoles en las muestras que contienen orujo. El ONF mostró la mayor inhibición del radical ABTS^{•+} y potencial de reductor férrico, mientras que la tostada adicionada con 12% de ONF, tuvo el contenido de flavonoides totales más alto. Por lo tanto, este estudio demuestra que el orujo de uva es una alternativa para el aprovechamiento de un subproducto de la industria vitivinícola y la elaboración de un *snack* saludable.

Palabras clave: orujo de uva, compuestos polifenólicos, propiedades funcionales, actividad antioxidante

ABSTRACT

Grape pomace is a source of antioxidant compounds such as anthocyanins, phenolic acids, flavonoids and their glucosides and it has been used in the food industry as an additive for several food products. Fermented pomace (OF) and non-fermented pomace (ONF) samples were subjected to physical tests such as water, oil and milk absorption, as well as a chemical proximal analysis. Likewise, the formulation and elaboration of a corn *snack* added with 4%, 8% and 12% (p/p) of OF and ONF were made. From the samples dissolved in 80% ethanol, the polyphenolic compounds were recovered by ultrasound-assisted extraction and subsequent purification by column chromatography. An FTIR, ABTS^{•+}, IC₅₀, total flavonoid content, FRAP and lipoperoxidation analysis of the extracted polyphenolic compounds was performed. The OF and ONF presented a high fiber and carbohydrates content, in addition they had a higher yield of extracted polyphenolic compounds than the added *snack*. Functional groups were identified by infrared spectroscopy (FTIR), total flavonoids were quantified and antiradical as well as antioxidant activities were evaluated (ABTS^{•+}, FRAP, lipoperoxidation). FTIR analysis justified the presence of functional groups of polyphenols in samples with grape pomace. The ONF showed the highest inhibition of the ABTS^{•+} radical and iron reducing potential, while the *snack* added with 12% ONF had the highest total flavonoid content. Thus, this study proves that grape pomace is an alternative for the use of a by-product from the wine industry and the production of a healthy *snack*.

Keywords: grape pomace, polyphenolic compounds, functional properties, antioxidant activity

1. INTRODUCCIÓN

A pesar de la reciente mejora de los sistemas de gestión de residuos, es notable el desfavorable impacto ambiental del proceso de elaboración del vino y, por lo tanto, es necesario trabajar en impulsar la sostenibilidad del sector vitivinícola (Makris *et al.*, 2007). De acuerdo con el Servicio de Información Agropecuaria y Pesquera (SIAP), México produjo 75,000 toneladas de uva industrial dedicada exclusivamente al sector vitivinícola (SAGARPA, 2022).

Debido a la demanda de los consumidores por alimentos más saludables, la industria alimentaria está dirigiendo el desarrollo de productos adicionados con ingredientes funcionales. Al respecto, la posibilidad de separar fracciones funcionales específicas de los residuos de la industria alimentaria parece prometedora.

Un ejemplo de un subproducto que contiene ingredientes funcionales es el “orujo de uva”, el cual representa alrededor del 25% del peso de la uva y se compone de cáscaras, semillas, tallos y hojas (Dweyer *et al.*, 2014). Recientemente las investigaciones se han centrado en la bioactividad del extracto de semilla de uva dado por su contenido de flavanoles de proantocianidinas, polifenoles y ácidos fenólicos, subsecuentemente los ingredientes activos del extracto de semilla de uva tienen actividades antioxidantes, antiinflamatorias, anticancerígenas, neuroprotectoras,

bacteriostáticas e hipotensoras (Chen *et al.*, 2020; Hassan *et al.*, 2022; Marinelli *et al.*, 2018; Meini *et al.*, 2021)

Aunado a esto, la pandemia de COVID-19 se ha convertido en una crisis económica inevitable, por lo que la industria alimentaria enfrenta desafíos relevantes para ofrecer alimentos funcionales económicos adicionados con compuestos bioactivos y antioxidantes que fortalezcan el sistema inmunológico y mejoren la salud del consumidor (Galanakis *et al.*, 2020). Se espera que la demanda del mundo contemporáneo amplíe las oportunidades para el uso comercial de los subproductos de la uva, ya que podría reducir el material de desecho dispuesto e incrementar su valor económico (Pasqualone *et al.*, 2014).

Cabe mencionar que el orujo de la uva también ha despertado un creciente interés en su aplicación en otros sectores de la industria; por ejemplo, la producción de biocombustibles, bebidas alcohólicas por fermentación, alimento para animales y adyuvantes del suelo, entre otros (Muhlack *et al.*, 2018). En el caso de Canadá, se utiliza la mayor parte del orujo como composta o biogás (Dweyer *et al.*, 2014). De acuerdo con Pasqualone *et al.* (2014), a pesar de que el orujo de uva presenta distintas áreas de oportunidad para el mercado, la primordial es el aprovechamiento de sus nutrientes para el consumo humano.

Existe una amplia brecha en la adaptación de la investigación científica y su aplicación en el mercado de consumo, por lo que el presente trabajo tiene como objetivo evaluar fisicoquímica y funcionalmente un *snack* de maíz enriquecido con orujo de uva con la visión de mejorar futuros diseños de productos comestibles adicionados con OU para lograr enriquecer su valor nutricional.

1.1 Hipótesis

La incorporación de orujo de uva como ingrediente bioactivo mejora las propiedades fisicoquímicas y funcionales de un alimento tipo *snack* de maíz.

1.2 Objetivos

1.2.1 Objetivo General

Formular un *snack* de maíz enriquecido con orujo de uva como ingrediente bioactivo y caracterizarlo.

1.2.2 Objetivos Específicos

1. Evaluar las propiedades físicas y la composición químico-proximal del orujo de uva.
2. Determinar las propiedades funcionales del orujo de uva.
3. Formular un *snack* a base de maíz con la adición de orujo de uva.
4. Analizar las propiedades fisicoquímicas y funcionales del *snack* enriquecido con orujo de uva.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Aprovechamiento de subproductos en la industria alimentaria

El maíz es actualmente el único cultivo con presencia en todos los estados de México, con un consumo per cápita promedio de 146 kg/año, principalmente en forma de tortillas (SIAP, 2019). Por ello, en los últimos años se han buscado alternativas para incrementar el valor nutrimental de la tortilla. Un ejemplo es el estudio realizado por Sánchez-Villa *et al.* (2020), donde se elaboraron tortillas suplementadas con proteínas aisladas de harina de frijol rojo (*Phaseolus coccineus L.*) (PC) y harina de huauzontle (*Chenopodium berlandieri* subsp. *Nuttalliae*). La masa de tortilla de maíz nixtamalizada, fortificada con 5% y 10% de PC, aumentó su proteína en 20% y 37%, sin modificar las características reológicas y de textura de la masa y la tortilla. La tortilla suplementada con hasta un 2.5% de PC tuvo una buena aceptación sensorial, alcanzando valores similares a la tortilla convencional. En otra investigación se utilizó harina de moringa en 1, 3 y 5% (p/p) en la preparación de la masa de maíz. Las tortillas con mayor proporción de harina de moringa mostraron mayor contenido de proteína, mientras que el contenido de lípidos aumentó hasta en un 50%. La adición de harina de moringa en las tortillas aumentó significativamente el contenido de fenoles totales en comparación con la tortilla control y la actividad antioxidante incrementó significativamente para dos de las muestras. Así pues, la adición de harina de moringa

es una alternativa para preparar un alimento con mejores características funcionales (Páramo-Calderón *et al.*, 2019).

En este sentido, el desarrollo de nuevos productos utilizando materiales vegetales ricos en compuestos bioactivos, incluido el orujo de uva, incrementan el valor de productos conocidos por el paladar del consumidor.

2.2 Composición química y propiedades del orujo de uva

El orujo de uva es fuente de compuestos antioxidantes como antocianinas, catequinas, glucósidos de flavonoles y ácidos fenólicos (Mazza *et al.*, 1995; Negro *et al.*, 2003; Pasqualone *et al.*, 2014). Los compuestos que son de mayor interés para la recuperación de los residuos y subproductos del procesamiento de la uva son los fenólicos, los cuales se caracterizan por tener propiedades antioxidantes con beneficios potenciales para la salud. Los subproductos del procesamiento de frutas representan una fuente de bajo costo y excepcionalmente rica en componentes que podrían recuperarse y ser utilizados como aditivos alimentarios naturales, nutracéuticos y otros ingredientes funcionales (Hogervorst *et al.*, 2017). Particularmente, las antocianinas se han considerado como uno de los componentes más valiosos en la uva, puesto que se ha demostrado que inhiben la oxidación de las lipoproteínas de baja densidad, impulsando su potencial efecto benéfico sobre enfermedades cardiovasculares (Tamayo *et al.*, 2011).

Otros autores como Marinelli *et al.* (2018), aprovecharon las propiedades antes mencionadas, ya que formularon espagueti con orujo de uva tinta (OUT) mostrando

que los espaguetis enriquecidos con OUT (tamaño de partícula $\leq 125 \mu\text{m}$) y transglutaminasa (OUT/TG) son sensorialmente aceptables, tienen una mayor cantidad de compuestos fenólicos y actividad antioxidante que los espaguetis control. Así mismo, la cocción no afectó estos parámetros nutricionales y la fracción bioaccesible de los espaguetis OUT/TG mostrando una mayor cantidad de polifenoles, incluidas las antocianinas, e indicando una cantidad significativamente menor de glucosa en un modelo de digestión *in vitro*.

Otro estudio demostró que las bacterias ácido-lácticas y bifidobacterias tienen la capacidad de crecer en subproductos de la industria vitivinícola como en el orujo de uva. Conjuntamente, la valorización y reutilización biotecnológica del orujo de uva se basa en la producción de biomasa de bacterias ácido-lácticas y bifidobacterias, así como el suministro de compuestos antioxidantes. Demostró que el orujo de uva actúa como un vector que protege las bacterias ácido-lácticas y las cepas de bifidobacterias en el tránsito del estómago y sus propiedades antioxidantes en las células intestinales podrían mejorarse mediante la producción de ácido láctico (Campanella *et al.*, 2017).

2.3 Fermentación del orujo de uva

La Figura 1 muestra el proceso de elaboración del vino tinto y rosado. Primero, se lleva a cabo la cosecha y el desastillado de la uva, en seguida, la uva destinada para elaborar vino tinto pasa a una primera fermentación durante 7 a 10 días en un tanque de acero inoxidable para después ser prensada y obtener así el orujo fermentado (OF). La uva que será destinada para vino rosado es prensada el mismo día de la cosecha,

dando origen al orujo no fermentado (ONF). Las siguientes etapas serán definidas por el enólogo, debido a que realizan pruebas físico-químicas y sensoriales continuas para la selección del tiempo de fermentación, material y lugar de almacenamiento, así como la definición de mezclas de variedades de uva a utilizar para cada vino.

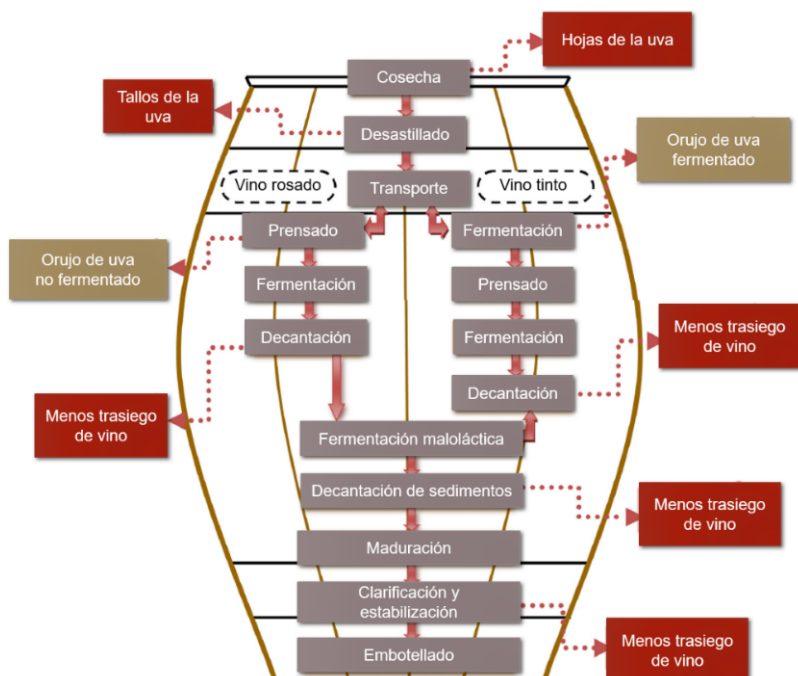


Figura 1. Fuente: Hogervorst *et al.*, 2017

2.4 Sub-productos de la uva como fuente de compuestos fenólicos

Los compuestos polifenólicos son derivados mono o polihídricos donde el grupo hidroxilo está asociado a un radical arilo. El vino, las uvas y sus subproductos contienen principalmente ácidos fenólicos, taninos y antocianos. Al separar el vino del orujo, después de la primera fermentación, alrededor de la mitad del contenido de polifenoles permanece en el orujo de uva (Soceanu *et al.*, 2021). Otros compuestos que se han identificado en el extracto de OU son ácidos hidroxibenzoicos, ácidos

hidroxicinámicos, flavonoles, flavan-3-oles, estilbenos, isoflavonoides, flavanonas, chalconas, taninos hidrolizables, ésteres, alcoholes, terpenoides, compuestos de carbonilo, compuestos furánicos, lactonas, compuestos volátiles fenoles y otros compuestos polares (Chowdhary *et al.*, 2021). Los subproductos de la vinificación se utilizan en la industria alimentaria como fibras, extractos de polifenoles, aceite de semilla de uva o incorporado para producir nuevos alimentos (Gerardi *et al.*, 2020).

2.5 Actividades biológicas demostradas en alimentos debido a la presencia de compuestos fenólicos de la uva

Los productos orientados a la salud se concentran en el desempeño de los componentes esenciales, por lo que es importante determinar cuantitativamente sus principales actividades biológicas (Chen *et al.*, 2020). Esta sección describe las actividades antioxidantes y los principales compuestos fenólicos que se encuentran en los alimentos enriquecidos con OU (Tabla 1), así como su actividad bacteriostática, el potencial prebiótico y otras aplicaciones.

2.5.1 Actividad antioxidante

El orujo puede ayudar en la formulación de productos nutritivos listos para el consumo, dado que la adición de harina de orujo de uva eleva sustancialmente el contenido de fenoles libres biodisponibles que pueden ser deficientes en otras matrices alimentarias (Nakov *et al.*, 2020). En el Cuadro 1 se presenta la comparación entre el modelo de matriz alimentaria, la variedad de uva utilizada, el grado de adición y el tipo de procesamiento del OU, debido al impacto que pueden llegar a presentar estas las

variables en la biodisponibilidad del contenido total de polifenoles (TPC) y fenoles principales. El contenido de polifenoles se afecta por el tipo de secado de la materia en cuestión (Bolenz *et al.*, 2020). Por ejemplo, en una investigación con polvo de orujo de uva roja extraídos con 40 mL de metanol:agua (50:50, v:v) y 40 mL de acetona:agua (70:30, v:v) a diferentes temperaturas de secado (60, 100 y 140 °C), sólo la temperatura de 60 °C no modificó significativamente los polifenoles totales extraíbles y los taninos condensados, mientras que la temperatura de 100 y 140 °C redujo en un 28 y 50%, respectivamente, usando el método del tiocianato férrico. La reducción del contenido fenólico se puede deber al debilitamiento de la unión de los ácidos fenólicos, la degradación parcial de la lignina o la pérdida térmica de los compuestos fenólicos (Larrauri *et al.*, 1997). Otros métodos, como la liofilización han demostrado ser una apropiada alternativa, evitando el uso de altas temperaturas, aire y agua líquida, debido a que reduce la oxidación y el crecimiento microbiano. Es un método adecuado para pigmentos sensibles al calor; sin embargo, a nivel industrial resulta muy costoso (Bolson *et al.*, 2021).

En otro estudio, se evaluó la masa y miga de pan elaborado con harina de semilla de orujo a las 0, 2 y 6 semanas de almacenamiento en congelación, no se presentó una disminución significativa en el contenido de polifenoles totales, determinada por el método de Folin-Ciocalteu (Hoye *et al.*, 2011). En 2017 Sporin *et al.* compararon la harina de OU contra la harina de semilla de OU y la harina de OU mostró un mayor contenido de polifenoles totales. Por ello, las variables mencionadas, tales como la temperatura de almacenamiento, temperatura de cocción y componentes del orujo a utilizar, fueron consideradas para el diseño experimental de este proyecto.

De forma general, la investigación realizada en productos alimenticios enriquecidos con OU ha demostrado un efecto benéfico sobre sus actividades biológicas, en comparación con los productos regulares. En este sentido, se han desarrollado y analizado una amplia cantidad de productos horneados adicionados con OU. Pasqualone *et al.* (2014) midieron el TPC de galletas de trigo control cuyos valores fueron 440 ± 17 mg GAE/kg, mientras que las galletas enriquecidas con OU tuvieron 629 ± 31 mg GAE/kg; además mostraron mayor actividad antioxidante en los análisis DPPH^{*} y ABTS^{**}. En un artículo publicado por Baiano *et al.* (2015), se utilizaron extractos acuosos de hojas y tallos externos de achicoria, apio, col e hinojo, hojas de olivo y orujo de uva reemplazando el agua en la formulación del pan. Las concentraciones máximas de contenido de fenoles se encontraron en el pan enriquecido con orujo de uva y los valores más altos de actividad antioxidante se encontraron en la corteza de pan elaborado con extracto de orujo de uva. Un estudio de panificación dulce publicó que un pastel enriquecido con polvo de OU tuvo un incremento relevante en fenoles libres, antocianinas y polifenoles, altamente biodisponibles y deficientes en pan de trigo (Nakov, 2020). Así también, en análisis cuantitativos, se encontró un incremento del 398.19% en el poder reductor del hierro de pan enriquecido con 5% de OU, en comparación con pan tradicional. La captación de radicales libres determinada en pan con 10% de OU, aumentó alrededor de 642.01% (Rocchetti *et al.*, 2021; Tolve *et al.*, 2021). La especie *Vitis vinifera* cv. Muscat Hamburg, fue evaluada por Nakov *et al.* (2020) y demostró un incremento del 150.81% de la capacidad de reducción férrica en un pastel adicionado con 10 % de OU. Finalmente, un chocolate de leche adicionado con 3.5% de OU, mostró una suma en el contenido de polifenoles y se planteó la oportunidad de reemplazar el licor de cacao

por OU, debido a sus propiedades fisico-químicas (Bolenz *et al.*, 2020). Las investigaciones recién mencionadas demuestran las posibles aplicaciones del OU en alimentos y el aporte nutricional que puede llegar a mejorar debido a la actividad antioxidante que aporta.

El Cuadro 1 muestra que la quercetina, el ácido gálico y la catequina muestran mayor repetitividad en los alimentos analizados.

Cuadro 1. Contenido fenólico total y principales compuestos fenólicos de alimentos adicionados con orujo de uva

Matriz de alimento	Variedad	Procesamiento del OU	Porcentaje de adición (%)	TPC (mg GAE/g DM)	Principales compuestos identificados	Ref.
Bisquet	Uva blanca	Liofilización	10.00	2.11 ± 0.07	Ácido gálico Tirosol γ-Ácido resorcílico Catequina Ácido isovanílico Procianidina B1 ácido <i>trans</i> -Ferúlico ácido <i>p</i> -Cumárico	Mildner-Szkudlarz, 2012
Pan	<i>Vitis vinifera</i> L. cv. Emir	Polvo	5.00	67.51 ± 0.07	NR	Hayta, 2012
Pan	<i>Vitis vinifera</i> L. cv. Pinot Noir	Secado a 40 °C	5.00	≈ 0.70	NR	Walker, 2014
Leche	<i>Vitis vinifera</i> cv. Timorasso	Secado a 60 °C por 48 h	NR	≈ 0.06	NR	Aliakbarian, 2014
Bisquet	<i>Vitis vinifera</i> cv. Sangiovese	Liofilización	≈ 28.80*	0.62 ± 0.31	Delfinidinan 3-O-β-D-glucósido Cianidina 3-O-β-D-glucósido Petunidina 3-O-β-D-glucósido Peonidina 3-O-β-D-glucósido Malvidina 3-O-β-D-glucósido Malvidina-3-O-(6-O- <i>p</i> -coumaroil)-β-D-glucósido	Paqualone 2014
Pan	NR	Horno de microondas doméstico	≈ 34.50*	0.95 ± 0.15	NR	Baiano, 2015

Leche	<i>Vitis vinifera</i> cv. Pinot Noir	Extracción hidroalcohólica	2.00*	≈ 0.05	NR	Dos Santos, 2017
Pan	<i>Vitis vinifera</i> cv. Zelen	Secado a 80 °C por 3 h	6.00	2.42 ± 0.41	NR	Sporin, 2017
Pasta	NR	Secado a 30-35 °C por 48 h	15.00	2.11 ± 0.15	NR	Marinelli, 2018
Leche	<i>Vitis vinifera</i> cv. Barbera	Secado a 65 °C por 72 h	≈ 3.70	≈ 0.08	NR	Oliveira, 2018
Galleta	<i>Vitis vinifera</i> cv. Muscat	Secado a 60 °C por 12 h	6.00	4.03 ± 0.37	NR	Theagarajan, 2019
Fibra	<i>Vitis vinifera</i> cv. Alicante Bouschet	Secado a 60 °C por 20 h	100.00*	0.02	NR	Costa, 2019
Pastel	<i>Vitis vinifera</i> cv. Muscat Hamburg	Secado a 60 °C por 48 h	4.00	0.094 ± 0.003	Tirosol Catequina Ácido gálico Quercetina Derivado de epicatequina Ácido procatequico Kaempferol Apigenina Derivado de catequina	Nakov, 2020
Bebida	<i>Vitis vinifera</i> cv. Primitivo	Secado a 50 °C por 48 h	2.00	≈ 0.20 ± 0.17	NR	Gerardi, 2020
Chocolate	NR	Secado a 60 °C	7.50	0.52 ± 0.11	NR	Bolenz, 2020

Pasta	<i>Vitis vinifera</i> cv. Gamay	Secado a 65 °C	7.00	0.06	Quercetina	Balli, 2021
					Maldivina-3-O-glucósido Maldivina-3-O(6-O-P-coumaroyl)glucósido Peonidina-3-O-glucósido Kaempferol Peonidina-3-O(6-O-P-coumaroyl) Petunidina-3-O-glucósido Cianidina-3-O-glucósido Delfinidina-3-O-glucósido	
Pan	<i>Vitis vinifera</i> cv. Corvina	Prensado y secado al vacío a 40 °C y 30 kPa	5.00	1.01 ± 0.07	NR	Tolve, 2021

DM = materia seca; NR = no reportado; *= Extracto de orujo; El porcentaje de adición seleccionado obtuvo las mejores características sensoriales

2.5.2 Efecto antimicrobiano

Los compuestos polifenólicos de la uva han demostrado un efecto inhibitorio sobre la actividad de varias enzimas y proteínas, que incluyen constituyentes bacterianos. Por un lado, los taninos de uva restringen enzimas microbianas como peroxidasa, pectinasas, lactasa, celulasas y xilanasas, debido al cambio en su estructura terciaria. Mientras que los flavonoides de la uva forman estructuras con las proteínas, que podrían cambiar el enlace microbiano, y se ha demostrado que los compuestos polifenólicos de la uva influyen en la integración de las paredes celulares de las bacterias Gram-positivas y en la degeneración de las membranas externas de las bacterias Gram-negativas (Hassan *et al.*, 2019). Un estudio exhibió que el extracto de orujo de uva tuvo actividad bactericida evidente en bacterias como *Bacillus subtilis* y *Staphylococcus aureus* y también cierta actividad antibacteriana contra *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumonia* (Ghendov *et al.*, 2022).

La aplicación del OU en la industria alimentaria es prometedora, puesto que implica efectos menos peligrosos en comparación con compuestos antioxidantes sintéticos de uso habitual (Chowdhary *et al.*, 2021). Una de las aplicaciones más comunes del OU en la industria alimentaria ha sido en la producción de biopelículas para envases, las cuales alargaron su vida útil por 12 días en comparación con los 8 días de la efectividad habitual (Saurabh *et al.*, 2018). También se ha utilizado en la producción de medicamentos, logrando la "homología de medicamentos y alimentos" en productos alimenticios con extracto de semilla de uva que no tienen efectos tóxicos al ser de grado alimenticio (Chen, 2020). Otro uso, es la encapsulación del extracto de OU que

puede brindar protección contra el tracto gastrointestinal y mejorar la inhibición de los microorganismos patógenos intestinales (Costa *et al.*, 2021).

2.5.3 Potencial prebiótico

Un prebiótico es un sustrato que es utilizado por un microorganismo y tiene un efecto beneficioso sobre el consumidor, un ejemplo de sustratos que forman parte de la familia de los carbohidratos son los polifenoles (Meini *et al.*, 2021). Los componentes vegetales tienen proporciones relevantes de compuestos polifenólicos unidos en formas insolubles y esterificadas, adheridas a la pared celular y el tratamiento enzimático puede degradar la pared celular o biotransformarse por fermentación de microorganismos en los rendimientos de extracción de polifenoles antioxidantes, siendo una transformación ecológica. En el 2017, Campanella *et al.* publicaron que el orujo de uva fermentado por bacterias ácido-lácticas y cepas de bifidobacterias presentó una supervivencia celular mejorada bajo una simulación del tracto gastrointestinal, lo que puede probar que el OU puede ser utilizado como medio para el desarrollo de probióticos. Recientemente, se han desarrollado varias bebidas con propiedades prebióticas y probióticas; por ejemplo, una bebida funcional a base de coco que contiene extracto de OU encapsulado en micropartículas de quitosano y alginato, las cuales permiten que las moléculas bioactivas lleguen al tracto gastrointestinal con pérdidas insignificantes durante la digestión (Costa *et al.*, 2021).

Otros compuestos como los oligosacáridos podrían considerarse un "ingrediente funcional" innovador con potencial actividad prebiótica frente a *Lactobacillus acidophilus* con una mejora del crecimiento durante la fermentación *in vitro* (Bordiga *et al.*, 2019).

2.5.4 Otras aplicaciones

Los compuestos polifenólicos extraídos del OU tienen numerosas aplicaciones biotecnológicas, además de posible potencial antiviral (Annunziata *et al.*, 2020). Se han evaluado extractos de tallo de uva y la mayoría demostraron tener una gran capacidad para prevenir la oxidación de la lipoproteína LDL en concentraciones menores y mostró una relación directa con el contenido polifenólico del extracto (Anastasiadi *et al.*, 2012). Las proantocianidinas en extractos de semilla de uva presentan actividad biológica relevante e influyen en su estructura molecular. Sin embargo, compuestos como (+)-catequinas, galatos de epigallocatequina, (-)-epicatequinas y galatos no han reconocido las mismas bioactividades que las antocianinas. La eficiencia de su función puede mejorarse si su estructura molecular se modificara en proantocianidinas (Chen *et al.*, 2020). En consecuencia, otro estudio utilizó la extracción de compuestos polifenólicos de orujo, mediante plasma frío atmosférico de alto voltaje y mejoró la capacidad antioxidante (16,7-34,7 %) al producir diferentes perfiles fenólicos con una mayor concentración de antocianinas. El rendimiento de los extractos fenólicos se elevó entre un 10,9 % y un 22,8 % (Bao *et al.*, 2020).

Es por todo lo anterior que la presente investigación se desarrolló siguiendo la metodología que se describe a continuación.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Localización del Estudio

La presente investigación se llevó a cabo en el Laboratorio de Química y Bioquímica, Facultad de Agronomía, Universidad Autónoma de Nuevo León, localizado en Francisco I. Madero S/N, Ex Hacienda el Cañada, 66050 Cd General Escobedo, N.L., durante el periodo enero 2021 a diciembre 2022.

3.2 Material Vegetal

El viñedo Bodega Cedros ubicado en Camino al Cedrito S/N, El Cedrito, Arteaga, Coahuila, proporcionó orujo de uva (OU) de la variedad *Vitis vinifera L. cv. Malbec* tanto de orujo fermentado como de orujo no fermentado. Ambos orujos provienen de vides maduras plantadas en el año 2009, que dieron fruto a su primer vino en noviembre del 2012.

Las uvas destinadas a la producción de vino tinto fueron cosechadas en agosto del 2021, en seguida, se llevó a cabo el desastillado y las uvas fueron colocadas en un tanque de acero inoxidable con una capacidad de 50,000 L durante siete días para efectuar su primer fermentación. El octavo día se realizó el prensado, obteniendo así el orujo de uva fermentado.

Las uvas utilizadas en la producción de vino rosado fueron cosechas en septiembre del 2021, desastilladas y prensadas el mismo día, dando origen al orujo de uva no fermentado. Una hora después del prensado, ambos tipos de orujo fueron transportados del viñedo al Laboratorio de Química y Bioquímica de la Facultad de Agronomía y congelados a una temperatura de -10 °C aislado de la luz solar. La materia en cuestión se descongeló durante 30 min a temperatura ambiente, se extendió de manera uniforme y se removió el exceso de tallos que no se eliminaron durante el primer desastillado.

3.3 Secado

Previo a su deshidratación, el ONF tuvo un doble lavado con agua bidestilada estéril (Bautista-Hernández *et al.*, 2021) para remover compuestos no deseados, debido a la posible afectación que su alto contenido de azúcares pudiera presentar durante la purificación de sus compuestos polifenólicos. Tanto el OF como el ONF fueron deshidratados en un horno de convección *Jeio Tech ON-12 Natural Convection Oven* a 55 °C durante 60 h.

3.4 Molienda y tamizado

El orujo deshidratado se pulverizó con un molino eléctrico multifuncional (Homend, HC-500 tipo vertical de alta velocidad), se tamizó hasta obtener un tamaño de partícula de 212 - 425 μm . La Figura 2 muestra el tratamiento que se le dio a la materia prima de las muestras después de ser cosechadas.



Figura 2. Procesamiento de OF y ONF desde la cosecha hasta el tamizado de la muestra

3.5 Caracterización del orujo de uva

3.5.1 Análisis químico proximal de OF y ONF

La caracterización proximal se realizó de acuerdo con las metodologías descritas por la Asociación de Químicos Analíticos Oficiales (AOAC) (Horwitz, 1980) para la determinación de proteína (14.006), cenizas (14.006), grasas (7.056) y fibra bruta (7.065), y el contenido de carbohidratos se determinó usando la siguiente ecuación:

$$\text{Hidratos de carbono} = 100\% - (\% \text{proteína} + \% \text{cenizas} + \% \text{grasa} + \% \text{fibra cruda})$$

3.5.2 Pruebas físicas de OF y ONF

Con la finalidad de evaluar el uso potencial de residuos de uva, se obtuvo el índice de absorción de agua, aceite y leche, siguiendo la metodología utilizada por Martínez-Ávila *et al.* en el 2011. Para la evaluación de absorción de agua, en un tubo Falcon de 50 mL, se colocaron 1.5 g de OF y 15 mL de agua destilada, la suspensión se mezcló durante 10 min y se centrifugó a 3000 rpm por 15 min, se removió el sobrenadante y el peso del gel fue reportado por gramo de materia seca. Para la prueba de absorción de aceite, en un tubo de 50 mL, se colocaron 1.5 g de OF y 15 mL de aceite de soya. La suspensión se agitó durante 10 min y se centrifugó a 3000 rpm por 15 min, se removió el sobrenadante y el peso del gel fue reportado por gramo de materia seca. Para la absorción de leche se colocaron 1.5 g de OF y 15 mL de leche entera en un tubo Falcon, la suspensión se mezcló durante 10 min y se centrifugó a 3000 rpm por 15 min, se removió el sobrenadante y el peso del gel fue reportado por gramo de materia seca. Cada análisis se realizó por triplicado tanto para el OF como para el ONF.

3.5.3 Análisis de actividad antioxidante de OF y ONF

3.5.3.1 Extracción de compuestos polifenólicos de OF y ONF

Se realizó una prueba previa a la obtención de los compuestos para seleccionar la solución más eficiente. Para cada muestra se pesaron 5 g de OF y 25 mL de solución. La muestra 1 se hizo al 80:20 (v/v) etanol/agua, la muestra 2 al 50:50 (v/v) etanol/agua,

la muestra 3 al 20:80 (v/v) etanol/agua y la muestra 4 se mezcló con 25 mL de agua bidestilada.

Siguiendo la metodología utilizada por Bautista-Hernández *et al.*, 2021, se realizó la extracción de los compuestos mezclando 10 g de la muestra (OF y ONF) con 40:10 (v/v) etanol/agua, la solución fue colocada en el ultrasonido Digital Ultrasonic Cleaner CO-Z, durante 30 minutos dentro de un rango de temperatura entre 30 y 35 °C.

Posteriormente, cada muestra se centrifugó (Hermle Z 400 K) por 10 min/5000 rpm a 20°C, se filtró en matraz Kitasato usando filtro Watman Núm. 41 y al final se eliminó el etanol con un rotavapor (Heidolph, Water bath BM200) a 60°C/80 rpm/12 min.

Las muestras se purificaron por medio de cromatografía en columna (Figura 3). La Amberlita XA D16 fue activada con metanol durante 30 min a 180 rpm. Cada columna se lavó con 60 mL de etanol, el etanol fue sustituido con 100 mL de agua para posteriormente colocar 5 mL de muestra. En el caso del OF la muestra fue lavada con 200 mL de agua, mientras que el ONF fue lavado con 400 mL de agua. Finalmente, se eluyó con 40 mL de etanol para obtener la muestra purificada. Se removió el etanol en un horno de convección *Jeio Tech ON-12 Natural Convection Oven* a 55 °C por 60 h para obtener su rendimiento en masa.

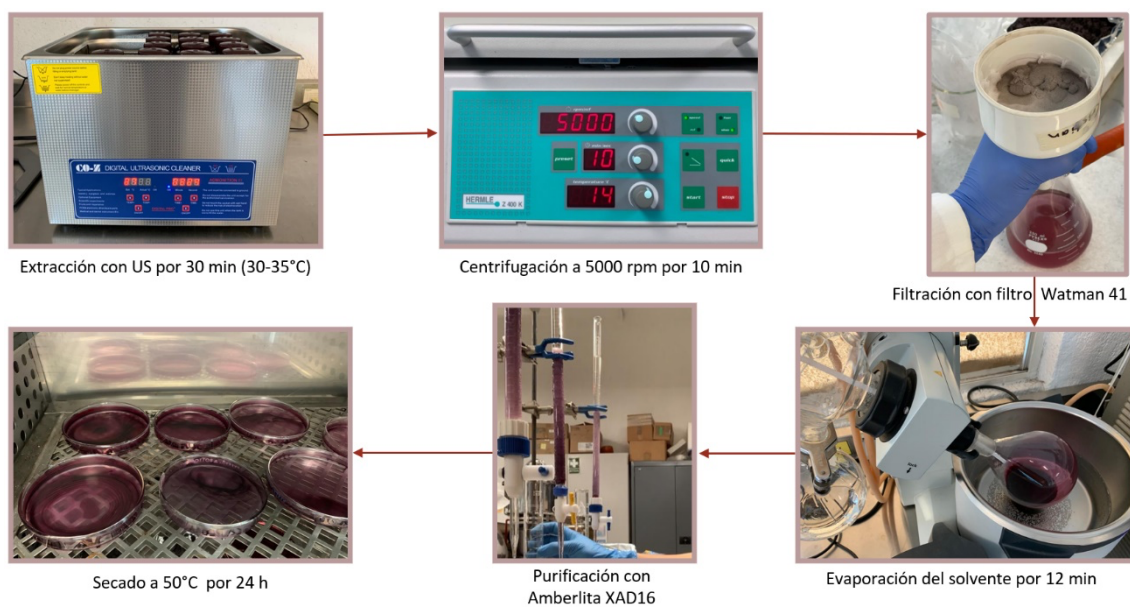


Figura 3. Proceso de extracción de compuestos polifenólicos para muestras de OF y ONF

3.5.3.2 Espectroscopía FTIR de OF y ONF

De acuerdo con lo reportado por Butista-Hernández *et al.* (2021) se pesaron 6 mg de los compuestos polifenólicos extraídos del OF y ONF, así como las fibras que fueron subproducto de ambas extracciones. Todas las muestras fueron analizadas en estado sólido. Se calibró el equipo Agilent Cary 630 FTIR en un rango espectral de 4000 a 650 cm^{-1} , con un ciclo de 32 escaneos y una resolución de 2 cm^{-1} , posteriormente se colocó la muestra y se obtuvieron los resultados por medio del Software Micro Lab. Los resultados fueron graficados con el programa Origin 2019.

3.5.3.3 Análisis ABTS^{•+} en OF y ONF

El ensayo de capacidad de inhibición de los radicales ABTS^{•+} se llevó a cabo de acuerdo con lo reportado por Castro-López, *et al.*, (2019) con algunas modificaciones.

Se preparó una solución al 7 mM de ABTS^{•+} (2'2-Azino-bis-3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid-2NH₄) y 2.45 mM de persulfato de potasio (2:1), se dejó en reposo por 12 h a temperatura ambiente sin luz solar y se ajustó con etanol absoluto hasta alcanzar una absorbancia de 0.700 ± 0.002 nm, medida con un espectrofotómetro SP-830 Barnstead Turner. Posteriormente, se colocaron 5 µL de cada muestra a 0, 100, 200, 300, 400 y 500 ppm y 95 µL de la solución. Se agitó de forma orbital durante 10 s y después de 1 min, se midió la absorbancia a 734 nm en un lector multimodal Synergy HTX Biotek.

3.5.3.4 Estudio IC₅₀ en OF y ONF

Siguiendo la metodología de Castro-López *et al.*, (2019) se realizó el mismo procedimiento que en el análisis ABTS^{•+} con un ajuste en las concentraciones de la muestra a 0, 30, 60, 90, 120, 150, 180 y 210 ppm, tanto para el OF como para el ONF. Se determinó mediante un análisis de regresión lineal simple y la capacidad de inhibición del radical fue calculada con la siguiente ecuación sus los resultados fueron expresados como la concentración necesaria para alcanzar una inhibición del 50% del radical:

$$\text{Inhibición \%} = \frac{A_{\text{control}} - A_{\text{muestra}}}{A_{\text{control}}} \times 100$$

3.5.3.5 Contenido de flavonoides totales en OF y ONF

Se preparó una curva de calibración de quercetina. Se colocaron 31 μL de la curva de quercitina y de la muestra de OF a 150 ppm y de ONF a 120 ppm, se agregaron 9.3 μL de NaNO_2 al 5% y 9.3 μL de agua bidestilada, se mezcló manualmente y se incubó 3 min a 40 °C en la incubadora Luzeren®. Se colocó Cloruro de aluminio al 10% y se incubó nuevamente 3 min a 40 °C. Por último, se agregaron 125 μL de NaOH 0.5 M y se incubó 30 min en un cuarto oscuro a temperatura ambiente. Se registró la absorbancia a una lectura de 510 nm (Bautista-Hernández *et al.*, 2022).

3.5.3.6 Ensayo FRAP de OF y ONF

Se prepararon 2 mL de la muestra de OF a 150 ppm y 2 mL de la muestra de ONF a 120 ppm. Se realizó una curva de calibración de ácido gálico (0, 20, 50, 70, 90, 110, 150 ppm) y se añadieron 5 μL de cada concentración de la curva de calibración, 5 μL de cada muestra por triplicado, se le agregaron 12 μL de buffer de fosfatos pH 7 y 22 μL de una solución de ferrocianuro de potasio al 1%, se homogenizó durante 1 min en forma orbital en el lector multimodal. Se incubó a 50 °C durante 15 min en la incubadora Luzeren®. Posteriormente, se agregaron 12 μL de una solución de ácido tricloroacético al 10%, se agregaron 45 μL de agua bidestilada y 10 μL de cloruro férrico al 0.1% a cada concentración de la curva de calibración y muestra a analizar. Finalmente se leyó a una longitud de onda de 700 nm en el lector multimodal (Synergy HTX Biotek). El procedimiento anterior se realizó de acuerdo con lo reportado por Bautista-Hernández *et al.*, (2022).

3.6 Formulación de un *snack* enriquecido con OU

Primeramente, se compararon las características organolépticas de la harina de maíz Maseca® y la harina de maíz Naturelo®. Posteriormente, se hizo una prueba previa de una tortilla con 8% OF y se le añadió goma xantana para evaluar la flexibilidad de la tortilla, enrollándola recién cocida y después del enfriamiento. Con los resultados obtenidos, se realizaron las formulaciones finales de las tostadas. Para las tostadas adicionadas con 4% de OF (TOF/TONF4%) se agregaron 100 g de harina Naturelo®, 136 mL de agua purificada, 2.08 g de OF/ONF y 2 g de sal. Mientras que las tostadas adicionadas con 8% de OF (TOF/TONF8%) se elaboraron con 100 g de harina Naturelo®, 138 mL de agua purificada, 4.16 g de OF/ONF y 2 g de sal. Finalmente, las tostadas adicionadas con 12% de OF (TOF/TONF12%) se hicieron con 100 g de harina Naturelo®, 140 mL de agua purificada, 6.24 g de OF y 2 g de sal.

3.7 Preparación de un *snack* enriquecido con OU

Se pesaron todos los ingredientes secos con una báscula (Micro JPM, I-2000) y se mezclaron de forma homogénea en un contenedor metálico con una cuchara de madera por 5 min. Luego, se agregó agua y se integró hasta formar una masa. Se pesaron 20 g de masa, se amasó en forma de esfera y se colocó en una prensa de tortillas. Después del prensado, se coció en un comal de teflón a fuego medio-bajo durante 40 s por cada lado. Se dejaron enfriar las tortillas y, por último, se secaron en una freidora de aire caliente Cuisinart® a 220 °C por 30 min.

3.8 Caracterización de un *snack* enriquecido con OU

3.8.1 Análisis químico proximal de un *snack* enriquecido con OU

La caracterización proximal se realizó de acuerdo a las metodologías descritas por la Asociación de Químicos Analíticos Oficiales (AOAC) (Horwitz, 1980) para la determinación de proteína (14.006), cenizas (14.006), grasas (7.056) y fibra (7.065), y el contenido de carbohidratos se determinó utilizando la siguiente ecuación:

$$\text{Hidratos de carbono} = 100\% - (\% \text{proteína} + \% \text{cenizas} + \% \text{grasa} + \% \text{fibra cruda})$$

3.8.2 Análisis de actividad antioxidante de un *snack* enriquecido con OU

3.8.2.1 Extracción de compuestos polifenólicos del *snack* enriquecido

De acuerdo con lo descrito en la sección 3.9.3.1 y siguiendo la metodología utilizada por Bautista-Hernández *et al.*, 2021, se realizó la extracción de los compuestos mezclando 30 g de las muestras deshidratadas (TC0%, TF4%, TF8%, TF12%, TNF4%, TNF8%, TNF12%, cada una por triplicado) con 120 mL de etanol absoluto y 30 mL de agua bidestilada y se colocó en el ultrasonido Digital Ultrasonic Cleaner CO-Z, durante 30 minutos dentro de un rango de temperatura entre 30 – 35 °C. Para la concentración de los compuestos, se retiró el exceso de materia seca y se filtró con un matraz Kitasato y un filtro Watman Núm. 41, eliminando el etanol con un rotavaporador (Heidolph, Water Bath BM200) a 50 °C / 80 rpm / 12 min. La fibra restante se colocó

en la estufa por 24h a 50 °C. Para la obtención de polifenoles, se purificó por medio de cromatografía en columna. La Amberlita XA D16 fue activada en un agitador con metanol durante 30 min a 180 rpm. Cada columna se lavó con 60 mL de etanol, el etanol fue sustituido con 100 mL de agua para después colocar 15 mL de muestra y lavar con 200 mL de agua. Finalmente, se eluyó con 40 mL de etanol para obtener la muestra purificada. Se removió el etanol y se registró su rendimiento en g de compuestos por g de masa.

3.8.2.2 Análisis ABTS^{•+} del *snack* enriquecido

De acuerdo con la sección 3.9.3.3 el ensayo de capacidad de inhibición de los radicales ABTS^{•+} se llevó a cabo de acuerdo con lo reportado por Castro-López *et al.*, (2019) con algunas modificaciones. Se mezcló una solución que contiene 7 mM de ABTS^{•+} (2'-Azino-bis-3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid-2NH₄) y 2,45 mM de persulfato de potasio (2:1), se dejó en reposo por 12 h a temperatura ambiente y se ajustó con etanol absoluto hasta alcanzar una absorbancia de 0.700 ± 0.002 nm, medida con un espectrofotómetro SP-830 Barnstead Turner. Posteriormente, se colocaron 5 µL de cada muestra a 150 ppm (TC0%, TOF4%, TOF8%, TOF12%, TONF4%, TONF8%, TONF12%) y 95 µL de la solución. Se agitó de forma orbital durante 10 s y después de 1 min, se midió la absorbancia a 734 nm en un lector multimodal Synergy HTX Biotek. Los resultados fueron expresados como la mitad de la concentración inhibitoria máxima según la curva de calibración preparada, usando compuestos polifenólicos purificados del *snack* enriquecido con orujo de uva.

3.8.2.3 Contenido de flavonoides totales del *snack* enriquecido

Se preparó una curva de calibración de quercetina. Se colocaron 31 μL de la curva de quercetina (0, 50, 100, 150, 200, 300, 400, 500, 600 ppm) o de las muestras a 150 ppm (TC0%, TOF4%, TOF8%, TOF12%, TONF4%, TONF8%, TONF12%), se agregaron 9.3 μL de NaNO_2 al 5% y 9.3 μL de agua bidestilada, se mezcló manualmente y se incubó 3 min a 40 °C en incubadora Luzeren®. Se colocó cloruro de aluminio al 10% y se incubó nuevamente 3 min a 40 °C. Por último, se agregaron 125 μL de NaOH 0.5 M y se incubó 30 min en un cuarto oscuro a temperatura ambiente. Se registró la absorbancia a una lectura de 510 nm. El análisis de contenido de flavonoides totales fue similar al descrito en la sección 3.9.3.5 (Bautista-Hernández *et al.*, 2022).

3.12.2.4 Ensayo FRAP del *snack* enriquecido

Se prepararon 2 mL de las muestras a 150 ppm (TC0%, TOF4%, TOF8%, TOF12%, TONF4%, TONF8%, TONF12). Se realizó una curva de calibración de ácido gálico (0, 20, 50, 70, 90, 110, 150 ppm) y se añadieron 5 μL de cada concentración de la curva de calibración, 5 μL de cada muestra por triplicado, se le agregaron 12 μL de un tampón de fosfatos a pH 7 y 22 μL de una solución de ferrocianuro de potasio al 1%, se homogenizó durante 1 min en forma orbital en el lector multimodal. Se incubó a 50 °C durante 15 min en la incubadora Luzeren®. Posteriormente, se agregaron 12 μL de una solución de ácido tricloroacético al 10%, se agregaron 45 μL de agua bidestilada

y 10 µL de cloruro férrico al 0.1% a cada concentración de la curva de calibración y muestra a analizar. Finalmente se leyó a una longitud de onda de 700 nm en el lector multimodal Synergy HTX Biotek. El análisis anterior se realizó de acuerdo con la sección 3.9.3.6 siguiendo lo reportado por Bautista-Hernández *et al.*, (2022).

3.12.2.5 Evaluación de lipoperoxidación del *snack* enriquecido

La metodología utilizada se ajustó de acuerdo con lo reportado por Castro-López *et al.*, (2019). Como fuente de lípidos se diluyó 0.6 g de ácido linoleico y 1.5 g de reactivo tween en 8 mL de etanol. Se añadió 1500 µL de una solución buffer de ácido acético a una concentración de 0.02 M y pH 4 en cada tubo de ensayo, se le agregaron 50 µL de cada muestra a 150 ppm, 100 µL de ácido linoleico y se incubó durante 2 minutos a 37 °C. Posteriormente se agregaron 750 µL de cloruro ferroso a 50 mM y se transfirieron 250 µL de cada blanco y muestra para añadirles 1 mL de solución de hidróxido de sodio 0.1 M, se homogenizó y se diluyó con 2.5 mL de una solución de etanol al 10%. Finalmente se leyó a una longitud de onda de 232 nm con una celdilla %de cuarzo. Después de 24 h se repitió el mismo procedimiento a partir de que se transfirió cada blanco y muestra. La siguiente ecuación muestra el porcentaje de inhibición de la oxidación de ácido linoleico:

$$\% \text{ Inhibición} = \frac{(A - B)}{A} * 100$$

Donde A es la diferencia entre la absorbancia del control (24 h y 0 h), y B es la diferencia entre la absorbancia de cada muestra (24 h y 0 h) de incubación.

3.9 Diseño Experimental

Para todas las pruebas se realizaron réplicas técnicas por triplicado, para el OF, ONF, TC0%, TOF4%, TOF8%, TOF12%, TONF4%, TONF8%, TONF12%. Los resultados de cada prueba diseñada tanto para los orujos como para las tostadas adicionadas fueron analizados mediante un análisis de varianza ANOVA de una vía realizado en Excel con la función de Análisis de Datos ($p \leq 0.05$). Además, se utilizó el software de análisis estadístico Minitab17 para llevar a cabo una comparación de Tuckey entre los resultados de cada análisis antioxidante con un nivel de significancia de ($p \leq 0.05$) completamente al azar.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Caracterización del orujo de uva

4.1.1 Análisis químico proximal de OF y ONF

En el Cuadro 2 se muestran los resultados del análisis químico – proximal. Otros autores reportan resultados similares en el contenido de cenizas (6.51 %) pero para *Vitis vinifera cv. Muscat* (Nakov *et al.*, 2020). Así mismo, en fibra valores de 54.4 %. El contenido de lípidos es menor a lo reportado que va de 14 – 17 % (García *et al.*, 2017). Esto puede deberse a la variabilidad del tamaño de la semilla dependiente del tipo de uva evaluada ya que la mayoría de los lípidos se encuentran en la semilla. Finalmente, los valores de proteína son similares a lo reportado que va de 6 .15 % (García *et al.*, 2017).

Cuadro 2. Análisis químico proximal de orujo de uva Malbec

Tipo de OU	Ceniza (%)	Proteína (%)	Grasa (%)	Fibra cruda (%)	Carbohidratos (%)
OF	4.98±0.39 ^a	2.53±0.16 ^b	7.99±1.86 ^a	46.82±1.96 ^a	37.65±2.81 ^a
ONF	3.43±0.29 ^b	6.39±0.22 ^a	5.48±2.50 ^a	47.19±1.39 ^a	37.48±3.63 ^a

^{ab}Para cada estudio realizado, diferentes literales indican diferencia significativa (P<0.05). La comparación de medias se realizó entre ambos orujos por cada análisis.

4.1.2 Pruebas físicas de OF y ONF

En el Cuadro 3 se presentan los resultados de absorción para el OF y ONF en leche, aceite y agua. La absorción de agua para el OF fue de 2.71 ± 0.11 ggel/g y para el ONF fue de 2.99 ± 0.06 ggel/g. Otros autores reportan un índice de absorción de agua de 2.16 ± 0.073 ggel/g de muestra seca y dicho valor es atribuido a su alto contenido en fibra (Martínez-Ávila *et al.*, 2011). Así mismo, la capacidad de unión de aceite de las proteínas es un índice para expresar la capacidad de absorber y retener aceite que influye en su comportamiento en los productos alimenticios. Es relevante para las harinas destinadas al desarrollo de alimentos donde la capacidad de hidratar y la presencia de alguna otra grasa puede ser deseable (Rajesh *et al.*, 2015). Se observa que la absorción del aceite fue el parámetro más bajo y se verá reflejado en la estructura del *snack*. Por otro lado, los índices de absorción de leche tuvieron un valor de 3.26 a 3.51 ggel/g y no se encontraron referencias que discutieran información comparable en el rubro del orujo de uva. Este análisis fue una prueba preliminar antes de decidir la matriz de alimento que sería utilizada en el *snack* por lo que, al elegir el maíz como ingrediente, ya no fue necesario el uso de leche en la formulación.

Cuadro 3. Índice de absorción de leche, agua y aceite

Tipo de OU	Solución	Absorción (ggel/g)		
OF	Leche	3.26 ^b	±	0.08
	Aceite	1.54 ^b	±	0.02
	Agua	2.71 ^b	±	0.11
ONF	Leche	3.51 ^a	±	0.09

Aceite	1.72 ^a	±	0.03
Agua	2.99 ^a	±	0.06

^{ab}Para cada estudio realizado, diferentes literales indican diferencia significativa (P<0.05). La comparación de medias se realizó entre cada solución.

4.1.3 Análisis de la actividad antioxidante de OF y ONF

4.1.3.1 Extracción de compuestos polifenólicos de OF y ONF

Se realizó una prueba previa a la extracción de compuestos polifenólicos de las muestras con el objetivo de definir la concentración de etanol con la que se obtendrá el mayor rendimiento de compuestos polifenólicos extraídos. Los resultados de la extracción de compuestos polifenólicos obtenidos por medio de ultrasonido y cromatografía en columna, mostraron que la concentración de etanol usada es directamente proporcional al rendimiento de polifenoles, como se muestra en el Cuadro 4. Por lo tanto, la solución al 80:20 (v/v) etanol/agua obtuvo el mejor rendimiento de recuperación de compuestos polifenólicos, siendo 20.1 mg/g muestra. Usando una concentración de etanol al 80%, el Cuadro 5 presenta el rendimiento de compuestos obtenidos de 10 g de muestra tanto de OF como de ONF, siendo el ONF la muestra con mayor cantidad de compuestos polifenólicos extraídos con 31.41 mg/g de muestra. González-Sosa *et al.*, 2023 reportó un rendimiento de polifenoles totales de 58.0 mg/g muestra para la cáscara de mango *Mangifera indica* var. Ataulfo, 15.8 mg/g muestra para la semilla de mango y 8.3 mg/g muestra para el cotiledón de mango. Considerando que el orujo contiene tanto cáscara como semillas, el valor del

rendimiento de compuestos polifenólicos se encuentra dentro de los valores obtenidos a partir de los subproductos del mango *Mangifera indica* var. Ataulfo.

Cuadro 4. Rendimiento de compuestos polifenólicos de OF a distintas concentraciones de solventes

Concentración (v/v)	Rendimiento (mg / g muestra)
Etanol 80%	20.10 ^a ± 4.912
Etanol 50%	17.58 ^a ± 2.338
Etanol 20%	6.46 ^b ± 1.124
Agua	3.48 ^b ± 0.486

Para cada estudio realizado, diferentes literales indican diferencia significativa (P<0.05)

Cuadro 5. Rendimiento de compuestos polifenólicos obtenidos de OF y ONF

Tipo de OU	Rendimiento (mg / g muestra)
OF	20.92 ^a ± 2.745
ONF	31.41 ^a ± 6.062

Para cada estudio realizado, diferentes literales indican diferencia significativa (P<0.05)

4.1.3.2 Espectroscopía FTIR de OU y fibra de OU

La Figura 4 muestra los espectros FTIR de compuestos polifenólicos extraídos con etanol al 80% v/v, tanto de OF como de ONF. No se identificaron bandas de grupos funcionales diferentes entre ambos tipos de OU. El Cuadro 6 señala la asignación representativa que se le asignó a cada banda. La banda alrededor de 3294 (OF) y 3300 (ONF) cm⁻¹ indica la vibración de estiramiento –OH en la estructura fenólica del orujo de uva (Zhao *et al.*, 2015). Los compuestos polifenólicos determinados en el área de la huella dactilar se distinguen en la banda 1340 (OF) y 1332 (ONF) cm⁻¹ conocida

por la deformación en el plano del enlace O-H que forma polifenoles (Ping *et al.*, 2012). La banda en 1274 (OF) y 1269 (ONF) cm^{-1} es particular de los flavonoles (Torres & Brachi., 2019). Los picos 857 (OF) y 816 (ONF) cm^{-1} fueron identificados en el ácido gálico como resultado del estiramiento C-O y balanceo del CH_2 (Aydogdu *et al.*, 2019).

La Figura 5 muestra los espectros FTIR del subproducto obtenido después de la extracción de compuestos polifenólicos, es decir el remanente contenido en el filtro Watman 41. Es notable que los grupos químicos presentes en ambas fibras de OU coinciden con las señales reportadas en la Figura 4. En el Cuadro 7 se muestran las asignaciones de cada grupo identificado. El rango de 2920 y 2850 cm^{-1} es atribuido al estiramiento de enlaces C-H en grupos metilo y metileno. Ambos picos de 1436 cm^{-1} corresponden al plano interior antisimétrico de la flexión de $-\text{CH}_3$ (Zhao *et al.*, 2015). La región sombreada con una longitud de onda menor a 2000 cm^{-1} muestra la huella dactilar representante de polifenoles (Aguiar *et al.*, 2020).

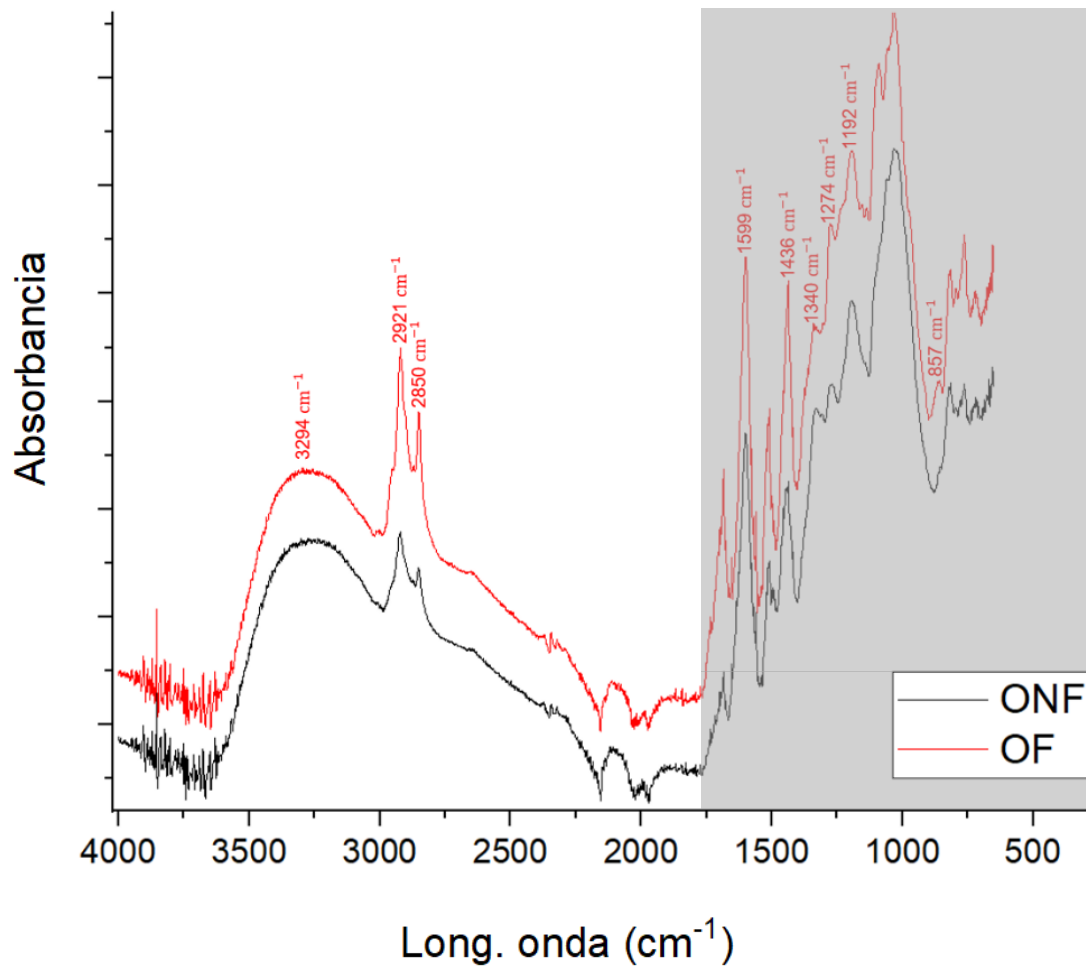


Figura 4. Espectros de FTIR de compuestos polifenólicos de OF y ONF

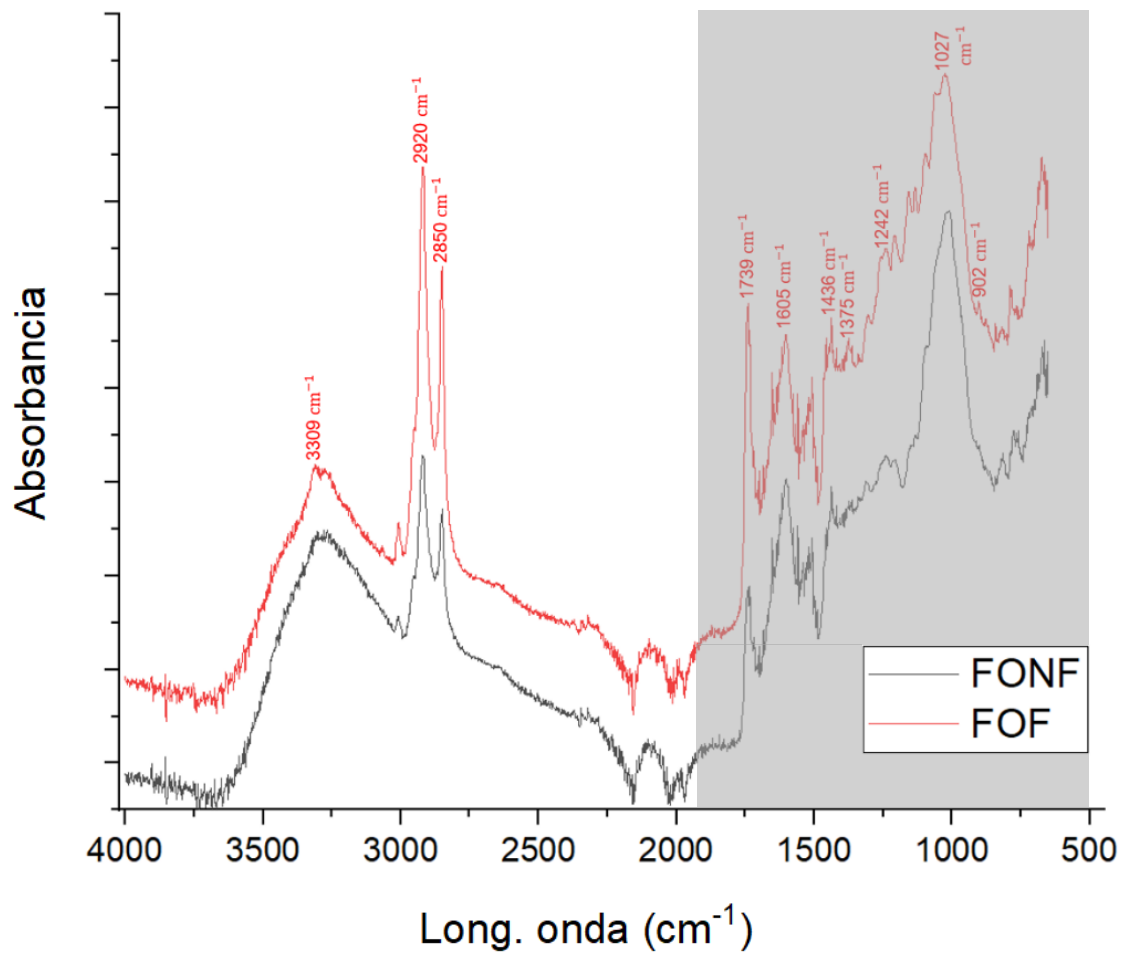


Figura 5. Espectro FTIR de la fibra de OF y ONF

Cuadro 6. Asignación de espectro FTIR de compuestos polifenólicos extraídos de OF y ONF

Long. Onda OF (cm⁻¹)	Núm. Onda ONF (cm⁻¹)	Asignación
3294	3300	Enlaces OH (alcohol/fenol)
2921, 2810, 2850	2922, 2874, 2852	Grupos CH ₃ y CH ₂
1869	1868	Formación del enlace C=O
1684, 1599, 1506	1684, 1600, 1506	Enlaces aromáticos CH
1436	1436	Deformación CH y anillo aromático
1340	1332	CH saturado en plano doblado
1274	1269	Estiramiento del grupo C-C o C-O
1192	1196	Aromático CH en plano doblado
857	816	Estiramiento C-O

Cuadro 7. Asignación de espectro FTIR de fibra de OF y ONF

Long. Onda FOF (cm⁻¹)	Núm. Onda FONF (cm⁻¹)	Asignación
3309	3302	Enlaces OH (alcohol/fenol)
2920, 2878, 2850	2920, 2879, 2851	Grupos CH ₃ y CH ₂
1870	1844	Formación del enlace C=O
1739, 1605, 1506	1740, 1601, 1506	Enlaces aromáticos CH
1436	1436	Deformación CH y anillo aromático
1375	1312	CH saturado en plano doblado
1242	1241	Estiramiento del grupo C-C o C-O
902	813	Estiramiento C-O

4.1.3.2 Análisis ABTS^{•+} de OF Y ONF

Los resultados del porcentaje de inhibición del radical ABTS^{•+} para el OF y ONF publicados en el Cuadro 8, indican que a partir de la concentración de 200 ppm ambas muestras inhiben arriba del 50%, estableciendo un antecedente para realizar un

análisis de concentración media inhibitoria (IC₅₀) a posteriori. En el Cuadro 10 la muestra del ONF mostró mayor actividad inhibitoria del radical ABTS^{•+} con un valor de 1380.07 μmol TE (equivalentes de Trolox)/g, en comparación con el OF que obtuvo un valor de 795.61 μmol TE/g. En un estudio anterior se evaluó la semilla de orujo de uva desgrasada que había sido extraída con etanol absoluto (1:4, p/v) en un baño de agua con agitación orbital a 150 rpm durante 1 h a 70 ± 1 °C y reflejó un valor de 147 μmol TE/g. La diferencia en los resultados comparados se puede deber a que no se incluyeron las cáscaras, tallos, hojas ni el aceite de la semilla del orujo en el estudio (Costa *et al.*, 2019). En otro ensayo el orujo de uva deshidratado a 50 °C fue tratado con metanol-etanol (80:20, v/v) y extraído a temperatura ambiente durante 16 h en agitación continua, obteniendo un valor de 150 μmol TE/g. La baja actividad registrada se puede deber a la afectación del método de extracción y la variedad de uva utilizada, la cual es *Vitis vinifera cv. Malbec* contra *Vitis vinifera cv. Negramaro* (Gerardi *et al.*, 2020).

Cuadro 8. Resultados del porcentaje de inhibición del radical ABTS^{•+}

Concentración (ppm)	OF	ONF
100	41.32%	29.91%
200	67.05%	54.63%
300	85.42%	75.16%
400	86.57%	85.80%
500	87.83%	87.20%

4.1.3.4 Estudio IC₅₀ de OF y ONF

En el Cuadro 9 se observa que el OF inhibe más del 50% del radical libre a una concentración de 150 ppm, mientras que el ONF supera el 50% de inhibición a 120 ppm. En consecuencia, para los siguientes análisis de actividad antioxidante se usará una concentración de 120 ppm para el ONF y 150 ppm para el OF.

Cuadro 9. Resultados de porcentaje de inhibición del radical ABTS^{•+} IC₅₀

Concentración (ppm)	OF	ONF
0	0.00%	0.00%
30	7.78%	9.62%
60	16.34%	26.79%
90	26.46%	45.85%
120	32.10%	58.68%
150	50.97%	61.70%
180	56.03%	61.32%
210	59.73%	65.66%

4.1.3.5 Contenido de flavonoides totales de OF y ONF

El Cuadro 10 muestra los resultados de las evaluaciones antioxidantes, donde se indica que la cantidad de flavonoides totales más elevada se dio en el ONF, este resultado se le atribuye al mayor contenido de cáscara que presentó la muestra de ONF, debido a que la cáscara contiene más antocianinas las cuales pertenecen al grupo de los flavonoides. El OF mostró un valor de 308 mg EQ/L y el ONF de 349 mg EQ/L. Bajo el mismo método de extracción, Serna-Méndez *et al.*, 2022 reportó un valor

de 330.66 mg EQ/L en un grano de maíz población roja. De acuerdo con Nakov *et al.*, 2020 un estudio de harina de orujo de uva obtuvo un valor de 1461 mg.kg⁻¹ de flavonoides totales y su extracción fue con una doble suspensión en 80% etanol, un baño de hielo por 15 min y centrifugación (11178 g, 10 min, 8 °C). En otro estudio se evaluó un extracto de orujo de uva y se identificaron 1613 mg (+)-catequina/L, la variedad de uva utilizada fue *Vitis vinifera cv. Sangiovese* y se extrajo con 85:15 etanol absoluto/1 M ácido cítrico en agitación orbital a 250 rpm por 1 h (Pasqualone *et al.*, 2014).

4.1.3.6 Ensayo FRAP de OF y ONF

La muestra de OF tuvo un menor potencial de reducción férrica en comparación con el ONF y concuerda con el análisis de flavonoides realizado anteriormente, debido a la actividad antioxidante que provocan dichos compuestos (Cuadro 10). La actividad registrada para ambos orujos es un valor cercano al obtenido a partir de un extracto de tallos de orujo de uva, dónde se registró una actividad de 1488 µmol TE/g (Anastasiadi *et al.*, 2012). De la misma manera, Bolenz *et al.*, en el 2021 obtuvo un valor de 607.1 µmol TE/g al analizar una muestra de orujo de uva y el resultado fue menor debido a que sólo se analizó el orujo y no el extracto.

Cuadro 10. Evaluación de actividad antioxidante de OF y ONF

	ABTS⁺ ($\mu\text{mol TE/g}$)	Flavonoides ($\mu\text{mol EQ/g}$)	FRAP ($\mu\text{mol GAE/g}$)
OF	795.61(± 0.00)	6804.84(± 0.03)	1841.84(± 1.61)
ONF	1380.07(± 0.00)	7698.18(± 0.03)	2547.22(± 3.33)

4.1.4 Formulación de un *snack* enriquecido con OU

En la Figura 6 A) y B) se muestra la comparación visual de dos marcas de harina de maíz distintas. En cuanto al color, la tostada Naturelo mostró un tono amarillo y con partículas brillantes, mientras que la tostada Maseca fue blanca y con una textura uniforme. Con base en la prueba de flexibilidad y textura, se decidió utilizar harina Naturelo, debido a que no contiene aditivos y mostró buenas características físicas. En la Figura 6 C) se muestra una prueba de flexibilidad de la tortilla adicionada con OF al 8%, se modificó la cantidad de agua de la formulación y la temperatura de cocción hasta conseguir la consistencia deseada como se muestra en la Figura 6 D).



Figura 6. A)Tostada elaborada con harina Maseca B)Tostada elaborada con harina Naturelo
C)Prueba flexibilidad TOF8% D)Prueba flexibilidad TONF12%

4.1.5 Preparación de un *snack* enriquecido con OU

En la Figura 7 se aprecia la coloración del *snack* de maíz adicionado con orujo fermentado (TOF) con tonos vinos y púrpuras menos intensos que el *snack* adicionado con orujo no fermentado (TONF), la diferencia se puede deber a la reducción del contenido de antocianinas al ser eluidas durante la separación del orujo fermentado y el jugo de uva con 10 días de fermentación, ya que se produjo etanol durante esa fermentación de la producción de vino. De la misma manera, en la Figura 7 las muestras TOF presentan una textura heterogénea debido a que el OF mostró un

contenido más elevado de semillas, incluso en el análisis químico proximal obtuvo un contenido de grasa de $7.99 \pm 1.86 \%$ a diferencia de $5.48 \pm 2.50 \%$ presente en el ONF. Por otra parte, se distingue el incremento en la intensidad del tono púrpura del *snack* al aumentar el contenido de orujo, dado que contiene mayor cantidad de compuestos polifenólicos, particularmente antocianinas. En el 2020 Bolenz *et al.* evaluó barras de chocolate adicionadas con 7.5% de orujo de uva, donde la evaluación descriptiva no se vio afectada por el color más oscuro otorgado por el orujo (Bolenz, 2020). Debido al alto consumo de maíz en México se espera que el consumidor mexicano promedio considere aceptable la tonalidad púrpura, similar a la de una tortilla de maíz azul, morado o rojo.

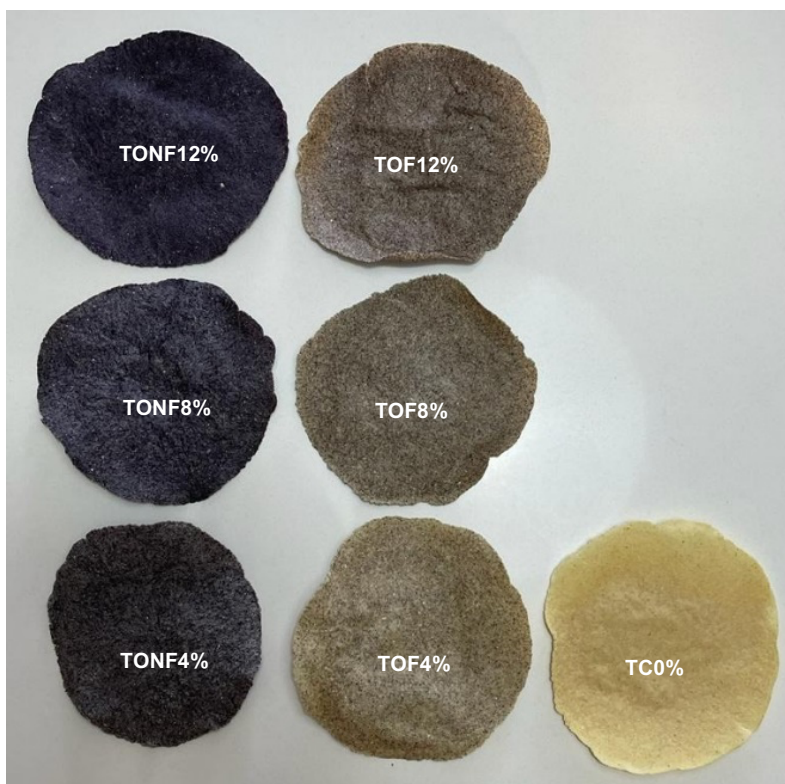


Figura 7. Comparación visual de tostadas adicionadas con OU

4.1.6 Caracterización de un *snack* enriquecido con OU

4.1.6.1 Obtención de compuestos polifenólicos de un *snack* enriquecido con OU

El Cuadro 11 expone los rendimientos de los componentes polifenólicos obtenidos a partir de 30 g de cada muestra. Las muestras de orujo fermentado y no fermentado tuvieron un rendimiento significativamente mayor en comparación con las tostadas de maíz adicionadas y esto se puede deber al elevado contenido de polifenoles en el orujo, de acuerdo con Chen, *et al.*, el orujo de uva contiene principalmente 15 compuestos fenólicos, tales como (+)-catequina, (-)-epicatequina, proantocianidinas, galatos, flavonoles, entre otros compuestos (2020).

En el Cuadro 11 se observa que la tostada con mayor rendimiento fue la adicionada con 12% de orujo no fermentado (2.41 mg / g muestra), mientras que el menor rendimiento se dio en la tostada control (1.35 mg / g muestra). Estos rendimientos concuerdan con lo reportado por Serna-Méndez *et al.* en el 2022 dónde los compuestos extraídos de un totopo elaborado con una variedad de maíz blanco obtuvieron 1.91 mg de compuestos por gramo de muestra, mientras que un totopo elaborado con una variedad de maíz de una población morada tuvo un rendimiento de 2.29 mg / g de muestra. Considerando los datos anteriores, al analizar los rendimientos que presentan los *snacks* los resultados coinciden de manera proporcional a la adición de orujo presente a la tostada, sin embargo, las muestras del *snack* presentan una pequeña pérdida de compuestos que se puede deber a la disminución de eficiencia en

el proceso de purificación, ya que se lavó con más agua la columna de Amberlita XAD16, debido a la alta cantidad de azúcares presentes en el maíz.

Cuadro 11. Rendimiento de compuestos polifenólicos de tostadas adicionadas con OU

Muestra	Rendimiento (mg / g muestra)
OF	20.92 ± 2.7450 ^a
ONF	31.41 ± 6.0620 ^b
TC0%	1.3478 ± 0.3872 ^c
TOF4%	1.8333 ± 0.1422 ^c
TOF8%	1.8811 ± 0.9916 ^c
TOF12%	1.7567 ± 0.8679 ^c
TONF4%	1.3689 ± 0.3865 ^c
TONF8%	1.4889 ± 0.3743 ^c
TONF12%	2.4122 ± 0.0479 ^c

Para cada estudio realizado, diferentes literales indican diferencia significativa ($P < 0.05$). La comparación de medias se realizó entre todas las muestras.

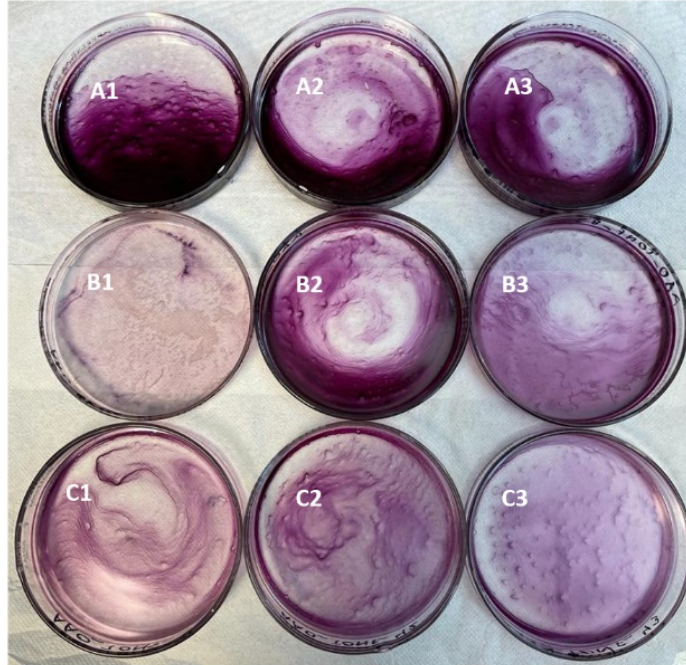


Figura 8. A1-A3) compuestos polifenólicos TONF12% B1-B3) compuestos polifenólicos TONF8% C1-C3) compuestos polifenólicos TONF4%

4.1.6.2 Análisis ABTS^{•+} de un *snack* enriquecido con OU

En el Cuadro 12 la muestra con menor inhibición fue la TOF4%, mientras que las muestras de ambos orujos tuvieron la inhibición más alta y no existe diferencia significativa entre ellos. La muestra del *snack* enriquecido con mayor inhibición del radical ABTS^{•+} fue la TONF12% y al ser la muestra con mayor adición coincide con otro estudio dónde se establece que la captación de radicales libres incrementó alrededor de 642.01% en una muestra de pan adicionado con 10% de orujo de uva (Rocchetti, 2021; Tolve, 2021).

Cuadro 12. Resultados de la evaluación de actividad antioxidante de los compuestos polifenólicos extraídos de cada muestra

	ABTS** (TE µg/mL)	Flavonoides (EQ µg/mL)	FRAP (GAE µg/mL)	LPO (%)
OF	44.77 ^d	253.34 ^{de}	53.16 ^b	8.67 ^d
ONF	49.04 ^d	304.45 ^{bc}	77.27 ^a	37.64 ^b
TC0%	85.91 ^b	278.89 ^{cd}	12.27 ^d	54.21 ^a
TOF4%	101.59 ^a	215.01 ^f	5.90 ^d	10.14 ^{cd}
TOF8%	86.64 ^b	275.01 ^{de}	11.19 ^d	19.46 ^c
TOF12%	81.22 ^b	333.34 ^b	16.29 ^{cd}	58.62 ^a
TONF4%	89.24 ^b	246.12 ^e	8.54 ^d	10.59 ^{cd}
TONF8%	70.49 ^c	251.12 ^{de}	11.78 ^d	39.42 ^b
TONF12%	68.20 ^c	408.89 ^a	23.65 ^c	57.80 ^a

^{abcdef} Los parámetros que comparten literal tienen una media significativamente igual (Prueba Tuckey $\alpha < 0.05$). La comparación de medias se realizó entre todas las muestras por cada análisis.

4.1.6.3 Contenido de flavonoides totales de un *snack* enriquecido con OU

Todas las muestras fueron evaluadas a una concentración de 150 ppm y se presentan los resultados de la prueba de flavonoides totales como EQ µg / mL (Cuadro 12). Se determinó que la tostada control tiene 278.89 µg equivalentes de quercetina / mL,

siendo un valor cercano a 206.61 $\mu\text{g EQ} / \text{mL}$ obtenido por Serna-Méndez *et al.*, 2022 en los compuestos polifenólicos extraídos de un totopo elaborado con una variedad de maíz blanco nixtamalizado. Cabe mencionar, que la tostada control obtuvo un resultado dentro del mismo rango que los orujos de uva. Consecuentemente, la tostada adicionada con 12% de ONF fue la muestra con mayor contenido de flavonoides totales, debido a que se ha demostrado que el maíz es una fuente rica en flavonoides (Zondo *et al.*, 2020) y su interacción con el orujo de uva, rico en compuestos polifenólicos, puede ser la causa del incremento en el contenido de flavonoides totales. En el Cuadro 12 es notable que los *snacks* con mayor contenido de adición de orujo de uva muestran un aumento en el contenido de flavonoides totales en comparación con los *snacks* con menor contenido de adición de orujo de uva, de la misma manera Pasqualone *et al.* en el 2014 reportó que un bisquit adicionado con extracto de OU presentó 15.52 veces más contenido total de flavonoides que el bisquit control.

4.1.6.4 Ensayo FRAP de un *snack* enriquecido con OU

El Cuadro 12 muestra los valores del análisis FRAP realizado en las muestras del *snack* adicionado con orujo de uva, es evidente que el incremento de adición de orujo suma de manera proporcional la capacidad de reducción de iones de fierro. La muestra con mayor potencial de reductor férrico fue el ONF (3028.06 $\mu\text{mol GAE} / \text{g}$), la cual presentó diferencia significativa en contraste con la muestra de OF (2083.24 $\mu\text{mol GAE} / \text{g}$). La actividad registrada para un extracto de tallos de orujo de uva, registró una actividad de 1488 $\mu\text{mol TE/g}$ (Anastasiadi *et al.*, 2012), cabe mencionar que sólo se evaluaron los tallos y no se incluyó la cáscara del orujo en este estudio. De la misma

manera, en el Cuadro 12 es notable que la cantidad de GAE $\mu\text{g/mL}$ incrementa al aumentar la adición de orujo. La tostada enriquecida con 12% de orujo no fermentado obtuvo un valor de 926.80 $\mu\text{mol GAE / g}$, paralelamente un pan adicionado con 10% de orujo obtuvo un valor de potencial de reductor férrico 7.87 veces mayor que el pan no adicionado (Rocchetti *et al.*, 2021).

4.1.6.5 Evaluación de lipoperoxidación de un *snack* enriquecido con OU

Los resultados obtenidos para el estudio de lipoperoxidación de compuestos polifenólicos presentes en OU y tostadas adicionadas con OU, se presentan en el Cuadro 12 como porcentaje de inhibición. Existe una tendencia ascendente en la inhibición de las tostadas adicionadas con mayor cantidad de orujo de uva, siguiendo el orden $\text{TOF12\%} > \text{TONF12\%} > \text{TONF8\%} > \text{TOF8\%} > \text{TONF4\%} > \text{TOF4\%}$. Los compuestos polifenólicos obtenidos de las tostadas adicionadas obtuvieron el porcentaje inhibitorio más alto con valores entre 57.80 – 58.62 %, esta actividad se debe a la actividad antioxidante debido a los compuestos presentes, tanto maíz como orujo, y su estabilidad al calor. Se llevó a cabo una prueba estadística de Tuckey, donde se definió que existe diferencia significativa entre la inhibición del OF y el ONF. La muestra control mostró un alto potencial inhibitorio representado por un 54.21 %. Bennato en el 2020 comparó muestras de carne de pollo suplementados con 2.5, 5 y 7% de OU, mostró que la suplementación dietética con orujo reduce la oxidación de lípidos de forma dosis dependiente. En las muestras del 5 y 7% se observó un grado de oxidación significativamente menor con respecto a la carne obtenida de animales

alimentados con la dieta estándar y pollo alimentado la suplementación dietética de 2.5% de OU en base a materia seca.

4.1.6.6 Espectroscopía FTIR del *snack* adicionado

La Figura 9 muestra los espectros FTIR de compuestos polifenólicos extraídos con etanol al 80% v/v de un *snack* adicionado con 4, 8 y 12% de OF, mientras que la Figura 10 muestra los espectros de un *snack* adicionado con 4, 8 y 12% de ONF. El Cuadro 13 indica la asignación que se le otorgó a cada banda de acuerdo con su grupo funcional característico. La banda alrededor de 3290 (TOF) y 3295 (TONF) cm^{-1} representa la vibración de estiramiento –OH en la estructura fenólica del orujo de uva (Zhao, 2015). Los compuestos polifenólicos determinados en el área de la huella dactilar se distinguen en la banda 1380 (TOF) y 1370 (TONF) cm^{-1} conocida por la deformación en el plano del enlace O-H que forma polifenoles (Ping *et al.*, 2012). La banda en 1150 cm^{-1} es particular de los flavonoles (Torres & Brachi, 2019). Los picos 820 (TOF) y 825 (ONF) cm^{-1} fueron identificados en el ácido gálico como resultado del estiramiento C-O y balanceo del CH_2 (Aydogdu *et al.*, 2019). El rango de 2920 y 2855 cm^{-1} es atribuido al estiramiento de enlaces C–H en grupos metilo y metileno. Ambos picos de 1460 cm^{-1} corresponden al plano interior antisimétrico de la flexión de $-\text{CH}_3$ (Zhao *et al.*, 2015). La región sombreada con una longitud de onda menor a 2000 cm^{-1} muestra la huella dactilar representante de polifenoles (Aguiar *et al.*, 2020).

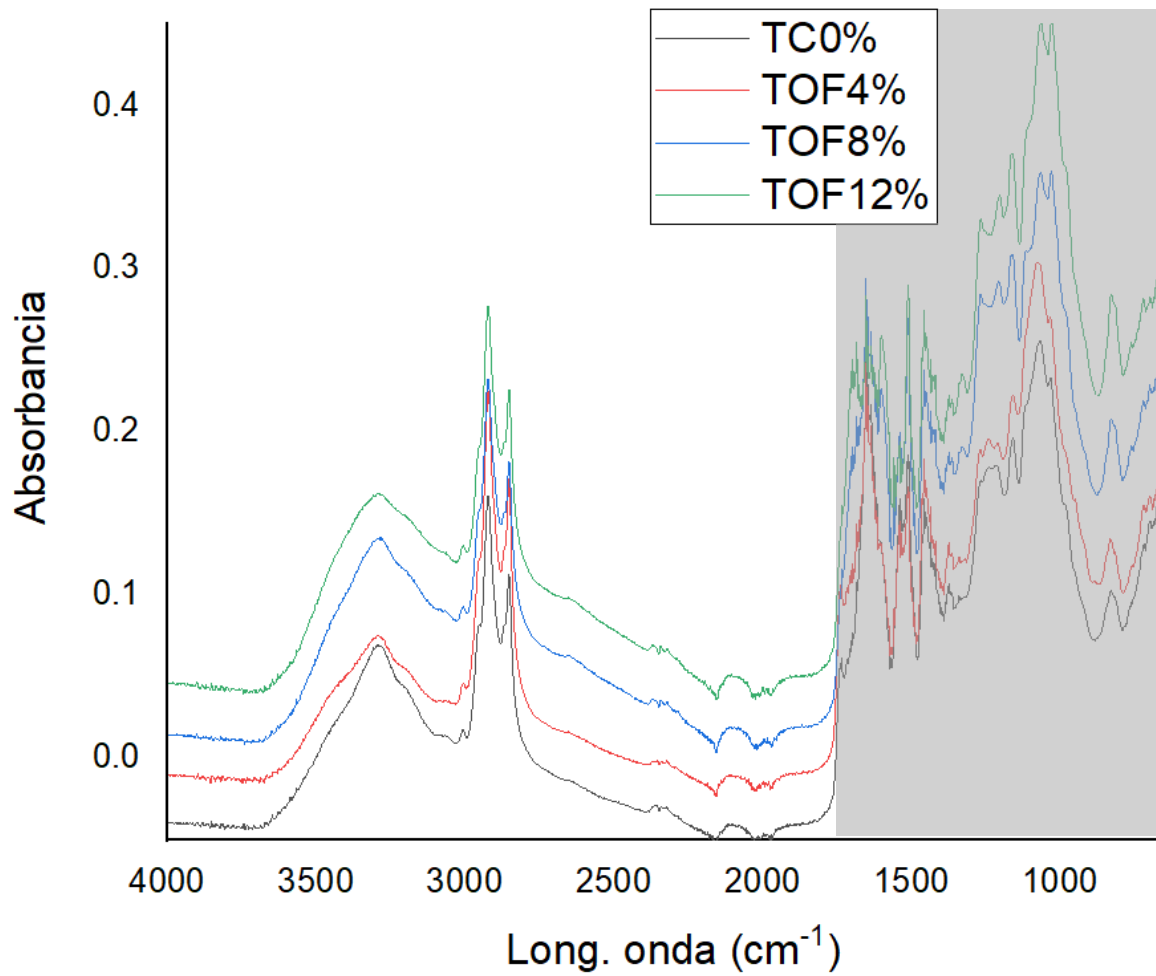


Figura 9. Espectros de FTIR de compuestos polifenólicos en un snack adicionado con 4%, 8% y 12% de orujo fermentado

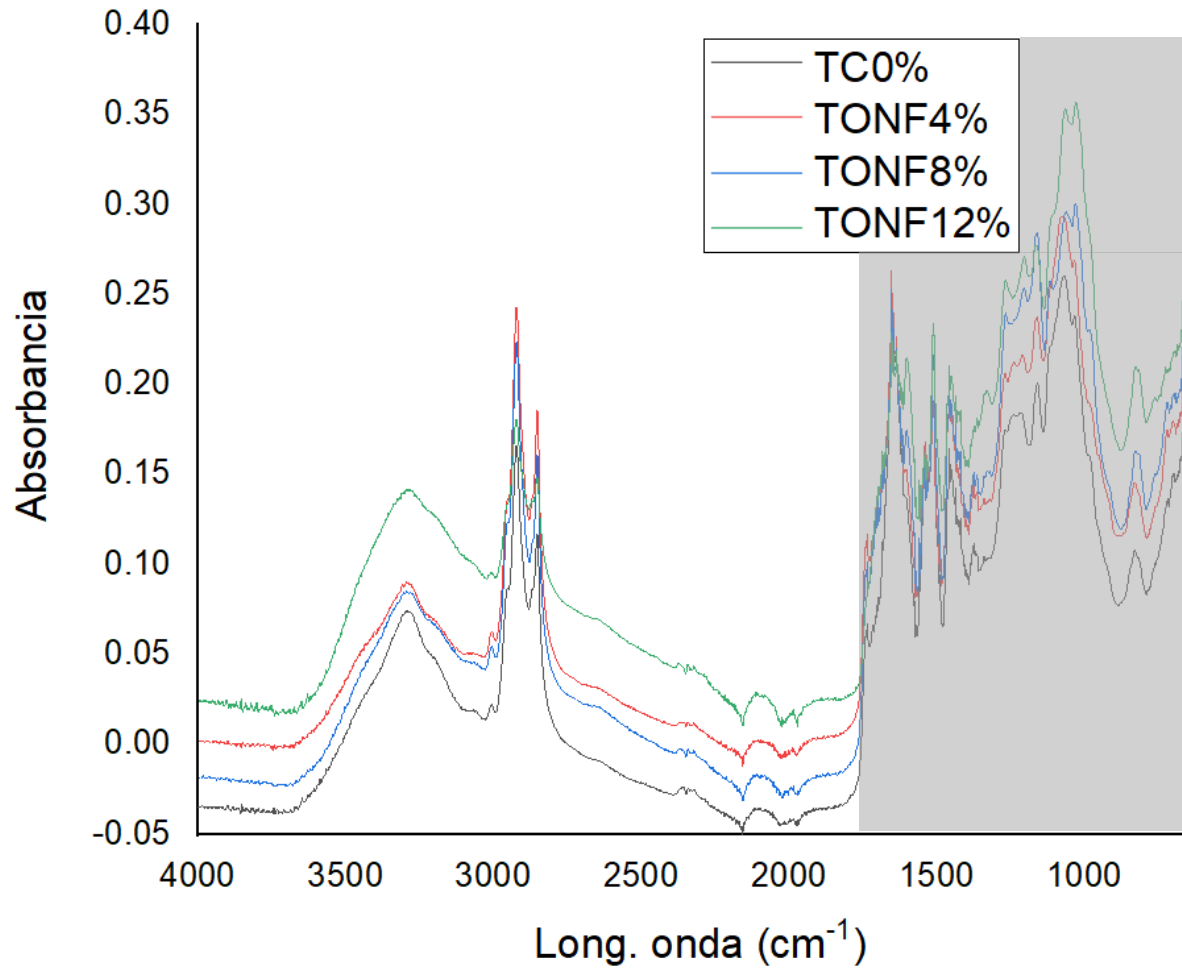


Figura 10. Espectros de FTIR de compuestos polifenólicos en un snack adicionado con 4%, 8% y 12% de orujo no fermentado

Cuadro 13. Asignación de espectro FTIR de compuestos polifenólicos extraídos de un *snack* adicionado con OF y ONF

Long. Onda TOF (cm^{-1})	Núm. Onda TONF (cm^{-1})	Asignación
3290	3295	Enlaces OH (alcohol/fenol)
2920, 2855	2920, 2850	Grupos CH_3 y CH_2
1735	1730	Formación del enlace C=O
1650, 1515	1650, 1510	Enlaces aromáticos CH
1460	1460	Deformación CH y anillo aromático
1380	1370	CH saturado en plano doblado
1150	1150	Estiramiento del grupo C-C o C-O
820	825	Estiramiento C-O

5. CONCLUSIÓN

El orujo de uva presenta un contenido importante de fibra y carbohidratos, debido a que está compuesto de cáscaras, semillas, tallos y hoja. El bajo índice de absorción de aceite tiene un efecto favorable en la producción de un *snack* bajo en grasa. El espectro IR de las muestras de OU y fibra de OU analizadas justifica la presencia de grupos funcionales característicos de los polifenoles. El OF inhibe más del 50% del radical ABTS^{•+} al estar a una concentración de 150 ppm (795.61 $\mu\text{mol TE/g}$), mientras que el ONF a 120 ppm (1380.07 $\mu\text{mol TE/g}$). Es notable que la adición de OF y ONF al *snack* de maíz, incrementa la cantidad de pigmentos que pertenecen a la familia de los flavonoides y se refleja en la actividad antioxidante. Las muestras de orujo fermentado y no fermentado tuvieron un rendimiento de compuestos polifenólicos significativamente mayor en comparación con las muestras de *snack* de maíz adicionadas. El ONF mostró la mayor inhibición del radical ABTS^{•+} y el potencial de reductor férrico más alto de manera significativa. La tostada adicionada con 12% de ONF, tuvo el mayor contenido de flavonoides totales, dado que tanto el maíz como el orujo son una fuente rica en flavonoides. La tostada adicionada con 4% de OF, tuvo la menor actividad antioxidante en todas las evaluaciones antioxidantes. Existe una tendencia ascendente en el porcentaje de inhibición de lipoperoxidación del *snack* adicionado al incrementar la cantidad de orujo de uva añadido al *snack*. Por lo tanto,

este estudio demuestra que el orujo de uva es una alternativa para el aprovechamiento de un subproducto de la industria vitivinícola y la elaboración de un *snack* saludable.

6. BIBLIOGRAFÍA

Agatonovic-Kustrin, S. (2013). The Use of Fourier Transform Infrared (FTIR) Spectroscopy and Artificial Neural Networks (ANNs) to Assess Wine Quality. *Modern Chemistry & Applications*, 01(04).

Aguiar, J., Gonçalves, J., Alves, V., & Câmara, J. S. (2020). Chemical Fingerprint of Free Polyphenols and Antioxidant Activity in Dietary Fruits and Vegetables Using a Non-Targeted Approach Based on QuEChERS Ultrasound-Assisted Extraction Combined with UHPLC-PDA. *Antioxidants*, 9(4), 305.
<https://doi.org/10.3390/antiox9040305>

Anastasiadi, *et al.* (2012). Grape stem extracts: Polyphenolic content and assessment of their in vitro antioxidant properties. *LWT - Food Science and Technology*, 48(2), 316–322.

Annunziata, G., Arnone, A., Ciampaglia, R., Tenore, G.C., Novellino, E. (2020). Fermentation of foods and beverages as a tool for increasing availability of bioactive compounds. Focus on short term fatty acids. *Foods* 9.

Aydogdu, A., Sumnu, G., & Sahin, S. (2019). Fabrication of gallic acid loaded Hydroxypropyl methylcellulose nanofibers by electrospinning technique as active packaging material. *Carbohydrate Polymers*, 208, 241–250.

Baiano, A., Viggiani, I., Terracone, C., Romaniello, R., & Del Nobile, M. (2016). Physical and sensory properties of bread enriched with phenolic aqueous extracts from vegetable wastes. *Czech Journal of Food Sciences*, 33(No. 3), 247–253.

Bao, Y., Reddivari, L., Huang, J. Y. (2020). Enhancement of phenolic compounds extraction from grape pomace by high voltage atmospheric cold plasma. *El Sevier*.

Bautista-Hernández, I., Aranda-Ledesma, N. E., Rojas, R., Tafolla-Arellano, J. C., & Martínez-Ávila, G. C. G. (2021). Antioxidant activity of polyphenolic compounds obtained from *Euphorbia antisiphilitica* by-products. *Heliyon*, 7(4), e06734. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e06734>

Bautista-Hernández, I., Aguilar, C. N., Martínez-Ávila, G. C. G., Torres-León, C., Ilyina, A., Flores-Gallegos, A. C., Verma, D. K., & Chávez-González, M. L. (2021). *Mexican Oregano* (*Lippia graveolens* Kunth) as Source of Bioactive Compounds: A Review. *Molecules*, 26 (17), 5156. <https://doi.org/10.3390/molecules26175156>

Bautista-Hernández, I., Aguilar, C. N., Martínez-Ávila, G. C. G., Ilyina, A., Torres-León, C., Verma, D. K., & González, M. (2022). Phenolic compounds and antioxidant activity of *Lippia graveolens* Kunth residual leaves fermented by two filamentous fungal strains in solid-state process. *Food and Bioproducts Processing*, 136, 24–35. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2022.09.001>

Bennato, F., Di Luca, A., Martino, C., Ianni, A., Marone, E., Grotta, L., Ramazzotti, S., Cichelli, A., & Martino, G. (2020). Influence of Grape Pomace Intake on Nutritional Value, Lipid Oxidation and Volatile Profile of Poultry Meat. *Foods*, 9(4), 508. <https://doi.org/10.3390/foods9040508>

Bolenz, S., *et al.* (2020). Technological and nutritional aspects of milk chocolate enriched with grape pomace products. *European Food Research and Technology*, 247(3), 623–636.

Bolson, K.I., Beutinger, A.B., Picolli, L. (2021). Green extraction methods and microencapsulation technologies of phenolic compounds from grape pomace: A review. Springer Nature.

Bordiga, M., Meudec, E., Williams, P., Montella, R., Travaglia, F., Arlorio, M., Coisson, J. D., & Doco, T. (2019). The impact of distillation process on the chemical composition and potential prebiotic activity of different oligosaccharidic fractions extracted from grape seeds. *Food Chemistry*, 285, 423–430.

Castro-López, C., Bautista-Hernández, I., González-Hernández, M. F., Martínez-Ávila, G. C. G., Rojas, R., Gutiérrez-Díez, A., Medina-Herrera, N., & Aguirre-Arzola, V. E. (2019). Polyphenolic Profile and Antioxidant Activity of Leaf Purified Hydroalcoholic Extracts from Seven Mexican *Persea americana* Cultivars. *Molecules*, 24(1), 173. <https://doi.org/10.3390/molecules24010173>

Chen, Y., Wen, J., Deng, Z., Pan, X., Xie, X., Peng, C. (2020). Effective utilization of food wastes: Bioactivity of grape seed extraction and its application in food industry. El Sevier.

Chowdhary, P., Gupta, A., Gnansounou, E., Pandey, A. (2021). Current trends and possibilities for exploitation of Grape pomace as a potential source for value addition. El Sevier.

Costa, G. N., *et al.* (2019). Grape seed pomace as a valuable source of antioxidant fibers. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 99(10), 4593–4601.

Dietary Preferences/Dietary Restrictions. (2021). Passport Euromonitor International.

Dwyer, K., Hosseinian, F., Rod, M., 2014. The market potential of grape waste alternatives. *J. Food Res.* 3, 91-106.

Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2016. FAOSTAT Data: <https://www.fao.org/3/i7042e/i7042e.pdf> (Accessed 20 January 2021).

Galanakis, C.M. (2012). Recovery of high-added-value components from food wastes: Conventional, emerging technologies and commercialized applications. *El Sevier*.

Galanakis, C.M. (2020) The food systems in the era of the coronavirus (COVID-19) pandemic crisis. *Foods* 9.

García-Lomillo, J., & González-San José, M. L. (2017, enero). Applications of Wine Pomace in the Food Industry: Approaches and Functions. *Comprehensive reviews in Food science and Food safety*, 17(1).

Garrido, M. D., *et al.* (2011). Effect of two different red grape pomace extracts obtained under different extraction systems on meat quality of pork burgers. *LWT - Food Science and Technology*, 44(10), 2238–2243.

Gerardi, C., *et al.* (2020). Strategies for Reuse of Skins Separated From Grape Pomace as Ingredient of Functional Beverages. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 8.

Ghendov, A., Cojocari, D., Balan, G., Patras, A., Lung, I., Soran, M., Opris, O., Cristea, E., Sturza, R. Chemometric optimization of biologically active compounds extraction from grape marc: composition and antimicrobial activity. *Molecules* 2022, 27, 1610.

Gloria, A., Contri, A., Grotta, L., Carluccio, A., Robbe, D., Ianni, A., Martino, G. (2019). Effect of dietary grape marc on fresh and refrigerated boar semen. *Animal Reproduction Science*. doi:10.1016/j.anireprosci.2019.03.016

González-Sosa, A., Martínez-Ávila, G.C.G.^a, Medina-Herrera, N.^a, Tafolla-Arellano, J.C.^b, Rojas-Molina, R.^{a*}. (2023). Extracción y caracterización parcial de polifenoles de cáscara, semilla y cotiledón de mango Ataulfo. *Revista Internacional De Investigación E Innovación Tecnológica RIIIT*. Vol. 10, No. 60.

Hassan, Y. I., Kosir, V., Yin, X., Ross, K., & Diarra, M. S. (2019). Grape Pomace as a Promising Antimicrobial Alternative in Feed: A Critical Review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 67(35), 9705–9718.

Hogervorst, J. C., Miljic, U., & Puskas, V. (2017). Extraction of bioactive compounds from grape processing by-products. *Science Direct*, 105–135.

Hoye, C., Ross, C. F. (2011). Total Phenolic Content, Consumer Acceptance, and Instrumental Analysis of Bread Made with Grape Seed Flour. *Journal of Food Science*, 76(7), S428–S436.

Larraurui, J.A., Rupérez, P., Saura-Calixto, F. (1997). Effect of drying temperature on the stability of polyphenols and antioxidant activity of red grape pomace peels. *Journal of agricultural and food chemistry*.

Makris, D.P., Boskou, G., Andrikopoulos, N.K., 2007. Polyphenolic content and in vitro antioxidant characteristics of wine industry and other Agri-food solid waste extracts. *J. Food Comp. Anal.* 20, 125–132.

Marinelli, V., Padalino, L., Conte, A., Del Nobile, M. A., & Briviba, K. (2018). Red Grape Marc Flour as Food Ingredient in Durum Wheat Spaghetti: Nutritional Evaluation and Bioaccessibility of Bioactive Compounds. *Food Science and Technology Research*, 24(6), 1093–1100.

Martínez-Ávila, G. C., Aguilera-Carbó, A. F., Rodríguez-Herrera, R., & Aguilar, C. N. (2011). Fungal enhancement of the antioxidant properties of grape waste. *Annals of Microbiology*, 62(3), 923–930.

Moreno, A. D., Ballesteros, M., & Negro, M. J. (2021). Biorefineries for the valorization of food processing waste. *The Interaction of Food Industry and Environment*, 155–190.
Doi:

Muhlack, R. A. *et al.*, (2018). Sustainable wineries through waste valorisation: A review of grape marc utilization for value-added products. *El Sevier*.

Nakov, G., *et al.* (2020). Effect of grape pomace powder addition on chemical, nutritional and technological properties of cakes. *LWT*, 134, 109950.

Oprea, O. B., & Gaceu, L. (2020). Consumer acceptance and sensorial analysis of bread with grape seed flour. *E3S Web of Conferences*, 215, 01005.

Páramo-Calderón, D., Aparicio-Saguilán, A., Aguirre-Cruz, A., Carrillo-Ahumada, J., Hernández-Uribe, J., Acevedo-Tello, S., & Torruco-Uco, J. (2019). Tortilla added with

Moringa oleifera flour: Physicochemical, texture properties and antioxidant capacity. LWT, 100, 409–415.

Pasqualone, A., Bianco, A. M., Paradiso, V. M., Summo, C., Gambacorta, G., & Caponio, F. (2014). Physico-chemical, sensory and volatile profiles of biscuits enriched with grape marc extract. Food Research International, 65, 385–393.

Ping, L., Pizzi, A., Guo, Z. D., & Brosse, N. (2012). Condensed tannins from grape pomace: Characterization by FTIR and MALDI TOF and production of environment friendly wood adhesive. Industrial Crops and Products, 40, 13–20.

Rocchetti, G., Rizzi, C., Cervini, M., Rainero, G., Bianchi, F., Giuberti, G., Lucini, L., Simonato, B. (2021). Impact of Grape Pomace Powder on the Phenolic: Bioaccessibility and on In Vitro Starch Digestibility of Wheat Based Bread. Foods 2021, 10, 507.

Sánchez-Villa, C. E., Zepeda-Bautista, R., Ramírez-Ortiz, M. E., & Corzo-Ríos, L. J. (2020). Nixtamalized tortillas supplemented with proteins isolated from Phaseolus coccineus and huauzontle (Chenopodium berlandieri subsp. Nuttalliae) flour: Rheological, textural, and sensorial properties. International Journal of Gastronomy and Food Science, 22, 100274.

Santos, M. C., Toson, N. S., Pimentel, M. C., Bordignon, S. A., Mendez, A. S., & Henriques, A. T. (2020). Polyphenols composition from leaves of Cuphea spp. and inhibitor potential, in vitro, of angiotensin I-converting enzyme (ACE). Journal of Ethnopharmacology, 255, 112781.

Segura, C., Guerrero, C., Posada, E., Mojica, J., & Pérez, W. (2015). Caracterización de residuos de la industria vinícola del valle de Sáchica con potencial nutricional para

su aprovechamiento después del proceso agroindustrial. In Conference Paper (pp. 1-7).

Serna-Méndez, T., Martínez-Ávila, G., Medina-Herrera, N., Rojas-Molina, R. (2022). Caracterización química y funcional del maíz pigmentado y su aplicación en el desarrollo de un alimento tipo *snack*. UANL.

<http://eprints.uanl.mx/24919/1/1080328748.pdf>

Soceanu, A., Dobrinas, S., Sirbu, A., Manea, N., Popescu, V. (2021). Economic aspects of wastes recovery in the wine making industry. A multidisciplinary approach. El Sevier.

Sporin, M., Avbelj, M., Kovac, B., Mozina, S. (2018). Quality characteristics of wheat flour dough and bread containing grape pomace flour. Food science and technology international.

Tamayo, L. M., Jiménez, C., & Londono, J. (2011). Aprovechamiento de residuos agroindustriales para mejorar la calidad sensorial y nutricional de productos avícolas. Scielo, 6(1), 108–127.

Tolve, R., Simonato, B., Rainero, G., Bianchi, F., Rizzi, C., Cervini, M., Giuberti, G. (2021). Wheat Bread Fortification by Grape Pomace Powder: Nutritional, Technological, Antioxidant, and Sensory Properties. Foods 2021, 10, 75.

Torres-Garcia, E., & Brachi, P. (2019). Non-isothermal pyrolysis of grape marc. Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 139(2), 1463–1478.

Walker, R., Tseng, A., Cavender, G., Ross, A., & Zhao, Y. (2014). Physicochemical, Nutritional, and Sensory Qualities of Wine Grape Pomace Fortified Baked Goods. *Journal of Food Science*, 79 (9), S1811–S1822.

Zhao, X., Zhu, H., Zhang, G., & Tang, W. (2015). Effect of superfine grinding on the physicochemical properties and antioxidant activity of red grape pomace powders. *Powder Technology*, 286, 838–844.

(2019, 26 septiembre). Maíz, la planta sagrada de México para el mundo. SAGARPA, SIAP.

(2022). Producción de uva en México 2022. SAGARPA, SIAP.

Apéndice. Principales logros de la investigación

Los resultados reportados en el presente estudio, en conjunto con investigación de literatura centrada en el orujo de uva y su aplicación en la industria alimentaria, fueron expuestos en el Congreso de Ciencia de los alimentos, Biotecnología y Seguridad Latin Food 2022 impartido por la Asociación Mexicana de Ciencia de los Alimentos, AMECA, A.C. en Puebla, México. Con la investigación “Chemical analysis and functional properties of grape marc and its evaluation as a *snack* ingredient”. Este proyecto se realizó en paralelo con elaboración del artículo “Grape pomace— From waste to health and food applications” para su publicación en una revista científica.