

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA**

**LA MOLINA**

**FACULTAD DE INDUSTRIAS ALIMENTARIAS**



**“ESTABILIDAD TÉRMICA DEL EXTRACTO COLORANTE DE  
ORUJOS DE UVINA (*Vitis aestivalis* – *cinérea* x *vitis vinífera*) EN UNA  
BEBIDA MODELO”**

**Presentada por:**

**MAYRANNETT ALEXANDRA HERRERA ALIAGA**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE  
INGENIERO EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS**

**Lima – Perú**

**2017**

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA**  
**FACULTAD DE INDUSTRIAS ALIMENTARIAS**

“ESTABILIDAD TÉRMICA DEL EXTRACTO COLORANTE DE ORUJOS DE UVINA  
(*Vitis aestivalis* – *cinérea* x *vitis vinífera*) EN UNA BEBIDA MODELO”

**Presentada por:**

MAYRANNETT ALEXANDRA HERRERA ALIAGA

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE**  
**INGENIERO EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS**

Sustentada y aprobada ante el siguiente jurado

---

Carmen Velezmoro Sánchez  
**Presidente**

---

Rosana Chirinos Gallardo  
**MIEMBRO**

---

Indria Betalleluz Pallardel  
**MIEMBRO**

---

Beatriz Hatta Sakoda  
**ASESORA**

**Lima – Perú**

2017

## DEDICATORIA

*A Dios,  
por darme fuerzas para seguir adelante a pesar de las dificultades que se presentaban en el camino.*

*A mis padres,  
por su apoyo e insistencia, por la motivación constante para culminar la tesis; por su amor y ayuda en los momentos difíciles.*

*A mis hermanas,  
por estar siempre presentes, acompañándome; sobre todo a Katy por ayudarme con los análisis de mis muestras y hacer que este largo camino sea más fácil.*

*A mi novio Percy,  
Por apoyarme y creer en mí.*

*A la profesora Beatriz Hatta,  
por su apoyo ofrecido en este trabajo; por su tiempo compartido y por impulsar el desarrollo de nuestra formación profesional.*

*A mis compañeras,  
que estuvieron conmigo a lo largo de mi carrera universitaria,*

*A mis amigas Ana, Andreita y Tita,  
por su compañía durante cada una de las etapas de mi vida, por su cariño y la gran amistad que tenemos.*

*A las profesoras Indira Betalelluz, Rosana Chirinos y Carmen Velezmoro,  
por su apoyo y asesoría.*

*A los técnicos de laboratorio,  
que estuvieron siempre dispuestos a ayudarme y por su grata compañía.*

# ÍNDICE GENERAL

## RESUMEN

## SUMMARY

<b>I. INTRODUCCIÓN</b> .....	12
<b>II. REVISIÓN DE LITERATURA</b> .....	3
2.1. COLORANTE NATURAL Y SU APLICACIÓN .....	3
2.2. TIPOS DE COLORANTES NATURALES .....	3
2.3. ANTOCIANINAS COMO COLORANTE NATURAL .....	6
2.4. ESTRUCTURA QUÍMICA Y CLASIFICACIÓN DE LAS ANTOCIANINAS .....	6
2.5. FACTORES QUE AFECTAN LA ESTABILIDAD DE LAS ANTOCIANINAS .....	7
2.5.1. TEMPERATURA .....	7
2.5.2. PH.....	8
2.5.3. LUZ.....	9
2.5.4. MÉTODO DE EXTRACCIÓN.....	10
2.5.5. OXIGENO .....	10
2.5.6. COPIGMENTACIÓN.....	10
2.5.7. POLIMERIZACIÓN.....	11
2.5.8. AZUCARES Y PRODUCTOS DE DEGRADACIÓN .....	12
2.5.9. ACIDO ASCÓRBICO .....	12
2.5.10. ASOCIACIÓN CON IONES METÁLICOS .....	12
2.6. FUENTES DE ANTOCIANINA .....	12
2.7. MÉTODO DE EXTRACCIÓN Y CONCENTRACIÓN DE ANTOCIANINAS .....	13
2.8. ANTOCIANINAS DE UVA.....	14
2.8.1. DESCRIPCIÓN GENERAL.....	14
2.8.2. POTENCIAL FENÓLICO DE LAS UVAS .....	15
2.8.3. PROPIEDADES FUNCIONALES DE LOS EXTRACTOS DE UVA .....	18
2.8.4. EXTRACCIÓN DE POLIFENOLES DE UVA .....	19
2.8.5. APLICACIONES DEL EXTRACTO DE UVA.....	21

2.9. CINÉTICA DE DEGRADACIÓN.....	22
2.9.1. ORDEN DE REACCIÓN.....	22
2.9.2. PARÁMETROS CINÉTICOS DE DEGRADACIÓN DE ANTOCIANINAS.....	23
<b>III. MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>	<b>24</b>
3.1. LUGAR DE EJECUCIÓN.....	24
3.2. MATERIALES.....	24
3.2.1. MATERIA PRIMA.....	24
3.2.2. EQUIPOS E INSTRUMENTOS.....	24
3.2.3. REACTIVOS.....	25
3.3. MÉTODOS DE ANÁLISIS.....	25
3.3.1. ANÁLISIS FÍSICO QUÍMICOS.....	25
3.3.2. CINÉTICA DE DEGRADACIÓN DE ANTOCIANINAS.....	26
3.3.3. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	27
3.3.4. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL.....	28
<b>IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>	<b>33</b>
4.1. CARACTERÍSTICAS DE LAS BEBIDAS MODELO CON EXTRACTO DE ORUJO DE UVINA.....	33
4.2. ÍNDICE DE CORRELACIÓN ENTRE LOS PRINCIPALES COMPUESTOS DE LAS BEBIDAS MODELO SOMETIDAS A TRATAMIENTO TÉRMICO.....	35
4.3. EFECTO DEL TRATAMIENTO TÉRMICO EN LOS PRINCIPALES COMPUESTOS DE LAS BEBIDAS MODELO.....	36
4.3.1. ANTOCIANINAS.....	36
4.3.2. SEDIMENTO.....	39
4.3.3. TURBIDEZ.....	41
4.3.4. FENOLES TOTALES.....	43
4.3.5. COLOR CIE LAB.....	44
4.3.6. CAPACIDAD ANTIOXIDANTE.....	47
4.3.7. COLOR POLIMÉRICO.....	49
4.3.8. TANINOS CONDENSADOS.....	53
4.4. COMPORTAMIENTO DE LOS PRINCIPALES COMPUESTOS DE LAS BEBIDAS MODELO SOMETIDAS A TRATAMIENTO TÉRMICO, DURANTE EL ALMACENAMIENTO.....	55
4.4.1. ANTOCIANINA.....	55
4.4.2. SEDIMENTO.....	58
4.4.3. TURBIDEZ.....	59
4.4.4. FENOLES TOTALES.....	61

4.4.5. DIFERENCIA COLOR .....	62
4.4.6. ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE .....	65
4.4.7. COLOR POLIMÉRICO .....	66
4.4.8. TANINOS CONDENSADOS .....	71
<b>V. CONCLUSIONES</b> .....	<b>73</b>
<b>VI. RECOMENDACIONES</b> .....	<b>865</b>
<b>VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	<b>87</b>
<b>VIII. ANEXOS</b> .....	<b>84</b>

## ÍNDICE DE TABLAS

Cuadro 1: Principales colorantes naturales y su aplicación	4
Cuadro 2: Fuentes de antocianinas.....	24
Cuadro 3: Diseño experimental.....	32
Cuadro 4: Características de las bebidas modelo elaboradas con los extractos de orujos de uva .....	33
Cuadro 5: Índice de correlación entre los principales compuestos de las bebidas modelo sometidas a tratamiento térmico.....	36
Cuadro 6: Porcentaje de variación del contenido de antocianinas monoméricas en las bebidas modelo.....	39
Cuadro 7: Coeficiente de cinética de degradación de las antocianinas contenidas en las bebidas modelo durante el almacenamiento.....	57
Cuadro 8: Parámetros cinéticos para las bebidas modelo durante el almacenamiento.....	57

## ÍNDICE FIGURAS

Figura 1: Estructura química de los antocianos.....	7
Figura 2: Estructura de las antocianinas a diferentes valores de pH.....	8
Figura 3: Esqueleto básico de un flavonoide.....	16
Figura 4: Contenido total de polifenoles (mg de GAE/g muestra seca) a diferentes pH y concentraciones de etanol.....	20
Figura 5: Flujo de operaciones para la obtención de extracto colorante a partir de orujos de uvina.....	29
Figura 6: Flujo de operaciones para la obtención de extracto colorante a partir de orujos de uvina sin semilla.....	30
Figura 7: Flujo de operaciones para la obtención de néctar.....	31
Figura 8: Contenido de antocianina (mg cianidina-3-glucósido/L) en las bebidas modelo sometidas a los diferentes tratamientos térmicos.....	37
Figura 9: Contenido de sedimento (mg sedimento/ ml) en las bebidas modelo sometidas a los diferentes tratamientos térmicos.....	40
Figura 10: Turbidez (NTU) en las bebidas modelo sometidas a los diferentes tratamientos térmicos.....	42
Figura 11: Contenido de Fenoles totales (mg ácido gálico/L) en las bebidas modelo sometidas a los diferentes tratamientos térmicos.....	43
Figura 12: Diferencia de color en las bebidas modelo sometidas a los diferentes tratamientos térmicos.....	45
Figura 13: Color CIE L*a*b de las bebidas modelo sometidas a los diferentes tratamientos térmicos.....	46
Figura 14: Capacidad antioxidante (mg TEAC/ml) en las bebidas modelo sometidas a los diferentes tratamientos térmicos.....	48
Figura 15: Densidad de color en las bebidas modelo sometidas a los diferentes tratamientos térmicos.....	50
Figura 16: Color polimérico en las bebidas modelo sometidas a los diferentes tratamientos térmicos.....	51
Figura 17: Porcentaje de color polimérico en las bebidas modelo sometidas a los diferentes tratamientos térmicos.....	52



Figura 18: Contenido de taninos condensados (mg catequina equivalente/L) en las bebidas modelo sometidas a los diferentes tratamientos térmicos.....	54
Figura 19: Contenido de antocianinas monoméricas (mg cianidina-3-glucósido/L) en las bebidas modelo tratadas térmicamente durante el almacenamiento.....	55
Figura 20: Contenido de sedimento (mg sedimento/ ml) en las bebidas modelo tratadas térmicamente durante el almacenamiento.....	59
Figura 21: Turbidez (NTU) de las bebidas modelo tratadas térmicamente durante el almacenamiento.....	60
Figura 22: Contenido de fenoles totales (mg GAE/L) en las bebidas modelo tratadas térmicamente durante el almacenamiento.....	62
Figura 23: Diferencia de color de las bebidas modelo tratadas térmicamente durante el almacenamiento.....	64
Figura 24: Capacidad antioxidante (mg TEAC /ml) en las bebidas modelo tratadas térmicamente durante el almacenamiento.....	66
Figura 25: Densidad de color de las bebidas modelo tratadas térmicamente durante el almacenamiento.....	68
Figura 26: Color polimérico de las bebidas modelo tratadas térmicamente durante el almacenamiento.....	69
Figura 27: Porcentaje de color polimérico en las bebidas modelo tratadas térmicamente durante el almacenamiento.....	70
Figura 28: Contenido de taninos condensados (mg catequina eq./L) en las bebidas modelo tratadas térmicamente durante el almacenamiento.....	72

## RESUMEN

El objetivo principal del presente trabajo fue determinar la estabilidad térmica del extracto colorante obtenido de los orujos de uva en una bebida modelo, empleándose temperaturas de pasteurización de 80 °C, 90 °C y ebullición por tiempos de 5, 10, 15 y 20 minutos. Se evaluó los cambios ocurridos en los componentes procedentes del extracto en las bebidas posterior al tratamiento térmico, determinando: contenido de antocianinas monoméricas, fenoles totales, sedimentos y turbidez, capacidad antioxidante, color polimérico, taninos condensados y el color. Los resultados evidenciaron que el extracto colorante aplicado a las bebidas tratadas a temperatura de ebullición presentaron mejor comportamiento, traducido en una menor diferencia de color respecto a las bebidas tratadas a 80 °C y 90 °C, menores valores de turbidez; mayores contenidos de fenoles totales, antocianinas y capacidad antioxidante; sin embargo también presentaron mayor contenido de sedimento. Por otro lado, se determinó que la presencia de semillas en los orujos de uva durante la obtención del extracto colorante, en forma general, ejerció un efecto en el comportamiento de los compuestos estudiados; las bebidas elaboradas a partir de extracto de orujo con semilla y sin semilla partieron del mismo contenido de antocianinas (60,7 mg cianidina-3-glucósido/L bebida); sin embargo las bebidas de extracto de orujo con semilla presentaron una concentración de polifenoles y capacidad antioxidante más alta, antes de iniciar el tratamiento térmico, por lo que, posterior a éste, mostraron mayores incrementos en dichos compuestos y en el contenido de antocianinas. El índice de correlación hallado para el contenido de fenoles totales y la capacidad antioxidante fue de 0,95, mayor al hallado para el contenido de antocianinas y la capacidad antioxidante de 0,72. Durante el almacenamiento ambas bebidas presentaron un comportamiento decreciente en el contenido de antocianinas. Mientras que la capacidad antioxidante mostro un comportamiento diferente, las bebidas modelo con extracto de orujo con semilla presentaron un descenso en la capacidad antioxidante durante el almacenamiento, contrario a las elaboradas con extracto de orujo sin semilla, las cuales tuvieron un leve incremento.

**Palabras clave:** Antocianinas, Capacidad antioxidante, Pasteurización, Fenoles totales, Diferencia de color.

## SUMMARY

The research work aims to determine the thermal stability of a natural pigment from “Uvina” grape pomace (hybrid from *Vitis labrusca* and *Vitis vinifera*) applied to a model beverage under different heat treatments (80 °C, 90 °C and boiling temperature during 5, 10, 15 and 20 minutes). Changes occurred in colorant extract compounds of the heat treated beverage were evaluated: monomeric anthocyanin, total phenolic compounds, sedimentation, antioxidant capacity, turbidity, polymeric color, condensed tannins and color. The results evidence that the colorant extract used in the beverage treated at boiling temperature has better performance after the heat treatment, with lower color differences compared to beverages treated at 80 °C and 90 °C, the color change after the heat treatment would not be perceived by the consumer, lower turbidity values, higher total polyphenol content, anthocyanin content and antioxidant capacity. However, the beverage treated at boiling temperature has higher sediment content. On the other hand, the seed presence or absence in the grape pomace extract had an effect on the behavior of the compounds studied in the model beverage. The beverages elaborated from “Uvina” grape pomace extract, with and without seed, initially had with the same anthocyanin content (60,7 mg cyanidin/L). However, the non-heat-treated beverages containing extract of grape pomace with seed resulted in higher polyphenol concentration and antioxidant capacity, so after the heat treatment they showed an increase of those compounds and the anthocyanin content. The correlation index for total phenolic content and antioxidant capacity was 0,95, higher than the correlation index for anthocyanin content and antioxidant capacity 0,72. During storage, beverages have a similar behavior in anthocyanin content with a decreasing trend. While the antioxidant capacity showed a different behavior, the model drinks with extract of pomace with seed showed a decrease in the antioxidant, contrary to those elaborated with extract of pomace without seed, which had a slight increment.

**Keywords:** Anthocyanin, antioxidant capacity, Pasteurization, Total phenols, Color difference.

## I. INTRODUCCIÓN

En los últimos años, las tendencias mundiales indican un interés acentuado de los consumidores por reemplazar el uso de colorantes artificiales por colorantes de origen natural, que además de ser atractivos aporten beneficios a las funciones biológicas del organismo humano y sean estables en el tiempo.

Entre los colorantes naturales se encuentran las antocianinas las cuales son pigmentos vegetales con gran potencial para el reemplazo competitivo de los colorantes sintéticos, su intenso color rojo-purpura es una fuente atractiva de colorante tanto para la industria alimentaria como para la textil.

Los orujos de uva (*Vitis aestivalis* – *cinérea* x *vitis vinífera*) como subproducto de la producción de vino y de pisco tienen un potencial muy grande como fuente colorante y de polifenoles, siendo una fuente importante a nivel industrial debido a su bajo costo; sin embargo, en el Perú no tiene la importancia que poseen otras fuentes colorantes como el *Zea mays* L variedad morado (maíz morado) de mayor costo.

El interés por conocer la estabilidad térmica del extracto colorante de orujos de uva radica en la falta de estudios acerca del aprovechamiento de los orujos de uva como fuente colorante y de polifenoles, por lo cual aún no despierta el interés de los productores pisqueros para su comercialización.

El objetivo principal de la presente investigación radica en determinar la estabilidad térmica de los principales compuestos funcionales y características de las bebidas modelo elaboradas con extracto colorante obtenido a partir de los orujos de uva en un modelo de bebidas.

Los objetivos específicos fueron:

- Determinar el efecto del tratamiento térmico sobre los principales compuestos funcionales y características de las bebidas modelo elaboradas con extracto

colorante obtenido de los orujos de uvina con semilla aplicado en una bebida modelo

- Determinar el efecto del tratamiento térmico sobre los principales compuestos funcionales y características de las bebidas modelo elaboradas con extracto colorante obtenido de los orujos de uvina sin semilla aplicado en una bebida modelo
- Determinar el comportamiento de los principales compuestos funcionales y características de las bebidas modelo tratadas térmicamente durante el almacenamiento.

## **II. REVISIÓN DE LITERATURA**

### **2.1. COLORANTE NATURAL Y SU APLICACIÓN**

Los pigmentos naturales son utilizados a nivel industrial para conferirle color a los alimentos, medicamentos y para teñir fibras textiles. En la industria alimentaria gozan de una alta demanda para el reemplazo de los colorantes sintéticos como el Rojo 40 y el Rojo 2 prohibidos en algunos países (Cevallos y Cisneros 2004 y Paz y Guevara 2009) debido a que se encuentran asociados a problemas de salud, toxicidad y carcinogénesis (Amelia *et al.*, 2013). Sin embargo, su reemplazo ofrece un gran reto debido a la baja estabilidad y elevado costo que poseen los colorantes naturales frente a los sintéticos (Cevallos y Cisneros 2004).

Generalmente, los pigmentos naturales no se emplean en forma pura a nivel industrial, se aplican en forma de soluciones de diferente concentración, deshidratados o como extractos. Dentro de los colorantes naturales más conocidos se tienen a las antocianinas, betaninas, carotenoides y compuestos fenólicos; también se tiene al annato, ácido carmínico y la curcumina, los cuales han sido menos investigados (Martins *et al.* 2016 y Paz y Guevara 2009).

Los principales colorantes naturales de uso más frecuente en la industria alimentaria se presentan en el Cuadro 1.

### **2.2. TIPOS DE COLORANTES NATURALES**

#### **2.2.1. COLORANTES NATURALES LIPOSOLUBLES**

Los colorantes liposolubles son aquellos que debido a su estructura presentan una baja solubilidad en agua y una alta solubilidad en grasa (Bolaños *et al.* 2003). Los principales colorantes naturales liposolubles descritos por Sánchez (2013) se presentan a continuación:

- Clorofilas (E140 y 141): Color verde. Se extrae químicamente de las plantas verdes. Se considera inocuo.

**Cuadro 1: Principales colorantes naturales y su aplicación**

NOMBRE	OBTENCIÓN	APLICACIÓN	EFECTOS Y LIMITES
Curcumina	Rizoma de la cúrcuma ( <i>Curcuma longa</i> )	Color amarillo intenso (curry). Confituras, postres, mermeladas, etc. Embutidos picados (crudos y cocidos).	Baja absorción en el intestino, Toxicidad reducida. En algunos experimentos con animales presentó efectos teratógenos.
Cochinilla Carmín Ácido carmínico	Hembras del insecto <i>Dactylopus coccus</i> .	Color rojo. Conservas vegetales, mermeladas, helados, productos cárnicos y bebidas alcohólicas y no alcohólicas.	Respuestas alérgicas en sujetos que han consumido bebidas con este colorante. IDA: sin asignar.
Clorofilas	Algas, pasto, espinaca, ortiga	Color verde característico aplicado a chicle, helados y bebidas refrescantes.	Baja absorción intestinal. IDA: sin asignar Actividad antioxidante y antimutagénica
Caramelo	Calentamiento de azúcar (sacarosa y otros)	Productos de bollería, repostería y helados. Bebidas de cola y alcohólicas (ron, coñac, etc.).	El 50 % del caramelo son azúcares asimilables. Dosis de hasta 18 g/día tienen un ligero efecto laxante IDA: sin asignar.
Carotenoides	Capsantina: pimiento rojo y del pimentón Licopeno: tomate.	Fabricación de embutidos, Bebidas refrescantes, helados y postres.	Absorción intestinal muy baja. IDA: 5 mg/Kg peso. Reduce el riesgo de enfermedades cardiovasculares y cáncer, precursores de vitamina A.
Rojo de remolacha Betaína	Remolacha roja ( <i>Beta vulgaris</i> )	Productos de repostería, helados, derivados lácteos, bebidas refrescantes, conservas vegetales y mermeladas.	Baja absorción intestinal. Posee propiedades antioxidantes y efectos protectores contra el cáncer.
Antocianinas	Cascara de uva, repollo rojo, zanahoria negra, etc.	Usos principales en bebidas y alimentos ácidos.	Previene el desarrollo de enfermedades cardiovasculares y cáncer.

FUENTE: Elaborado con base en Downham y Collins 2000; citados por Paz y Guevara 2009 e Ibañez *et al.* 2003.

- Carotenoides (E160): Color naranja amarillento obtenido a partir de extractos vegetales como la zanahoria, algas o sintetizado con microorganismos alterados genéticamente. Son precursores de la vitamina A. Se estabiliza mediante el ácido ascórbico y protege de la podredumbre por oxidación. Sin efectos secundarios.
- Xantofilas (E161): Color naranja procedente de la xantofila de ortigas, alfalfa, aceite de palma o yema de huevo. Se considera inocuo.

### **2.2.2. COLORANTES NATURALES HIDROSOLUBLES**

Los colorantes hidrosolubles presentan una alta solubilidad en agua (Bolaños *et al.* 2003). A continuación, Sánchez (2013) describe los principales colorantes naturales hidrosolubles y sus características:

- Curcumina (E100): Color naranja amarillento, extraído de la raíz de la cúrcuma u obtenido sintéticamente por fermentación con ayuda de bacterias. No presenta toxicidad, salvo predisposición alérgica.
- Riboflavina, lactoflavina o B2 (E101): Color amarillo fluorescente, con un ligero olor. Se obtiene de la levadura de cerveza generalmente sintética y también es producida por la flora intestinal. Se considera inocuo.
- Cochinilla (E120): Color rojo carmín. Se obtiene del caparazón seco de las hembras fecundadas del insecto cochinilla del nopal. Es estable a la luz, al calor y a los ácidos de las frutas. No se conocen sus efectos secundarios, pero es causante de algunas reacciones alérgicas (asma y perturbaciones gastrointestinales). Existe controversia no demostrada sobre si es posible que cause hiperactividad en niños.
- Caramelo (E150): Color marrón. Existen distintos tipos obtenidos por calentamiento de azúcar o almidón, algunos en presencia de amoníaco o sulfito amónico. Se considera inocuo, aunque en algunos experimentos con ratas se han descrito alteraciones sanguíneas.
- Betanina o rojo de remolacha (E162): Color rojo oscuro. Se obtiene por prensado y extracción de la remolacha. Se considera inocuo y en algunos estudios se ha constatado acción anticancerígena.



- Antocianos (E163): colores vegetales de rojo a violeta azulado. Se obtiene por extracción de moras, fresas, grosellas, uvas, frambuesas, maíz negro. No presenta efectos secundarios negativos, posee una alta capacidad antioxidante.

### **2.3. ANTOCIANINAS COMO COLORANTE NATURAL**

Las antocianinas son los colorantes naturales más estudiados, representan el grupo más importante de pigmentos hidrosolubles detectables por el ojo humano (Castañeda y Guerrero 2015) que otorgan tonos rojos, azules o violetas y pueden ser obtenidas a partir de flores, frutas, hojas, etc. (Martins *et al.* 2016).

Las antocianinas deben su importancia a dos razones; la primera por su impacto sobre las características sensoriales de los alimentos, las cuales pueden influenciar su comportamiento tecnológico durante el procesamiento de alimentos; y la segunda, por su implicación en la salud humana (De Pascual y Sánchez 2008; citados por Vázquez 2014).

La propiedad de las antocianinas de ser solubles en agua facilita su incorporación en numerosos sistemas acuosos alimenticios, cualidad que hace que las antocianinas sean colorantes naturales atractivos (Longo y Vasapollo 2006; citados por Arrazola *et al.* 2014). Sin embargo, las antocianinas aisladas son altamente inestables y muy susceptibles a la degradación durante el almacenamiento y el procesamiento (Arrazola *et al.* 2014).

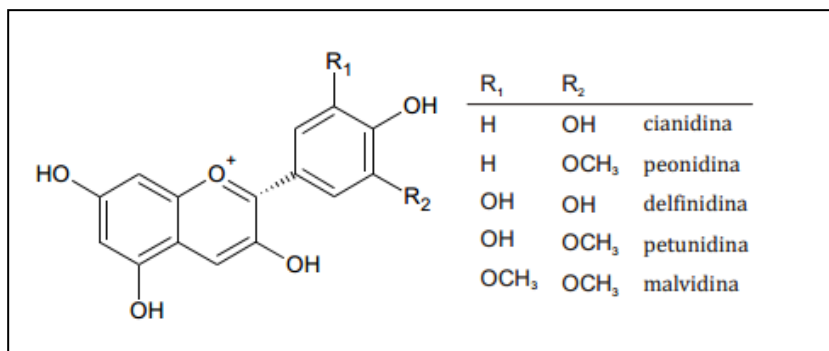
### **2.4. ESTRUCTURA QUÍMICA Y CLASIFICACIÓN DE LAS ANTOCIANINAS**

Existe una gran diversidad de antocianinas en la naturaleza, con variadas estructuras base; se han reportado alrededor de 635 antocianinas diferentes (Castañeda y Guerrero 2015).

Las antocianinas pertenecen a la familia de los flavonoides y están formadas por una molécula de antocianidina, que es la aglicona, a la que se le une un azúcar mediante de un enlace glucosídico. La estructura química básica de estas agliconas es el ion flavilio, llamado también 2-fenil-benzopirilio, el cual consta de dos grupos aromáticos: un benzopirilio y un anillo fenólico; unidos por una cadena de tres átomos de carbono (Aguilera *et al.* 2011). Según Estévez y Mosquera (2009); citados por Castañeda y Guerrero (2015) las variaciones estructurales del anillo B dan lugar a seis antocianinas más frecuentes, encontradas en plantas superiores:

- Pelargonidina: Posee dos sustituyentes hidrogeno y es responsable del color rojo.

- Cianidina: Posee un sustituyente hidroxilo y un hidrogeno, es la más común e imparte color magenta.
- Delfinidina: Posee dos sustituyentes hidroxilo y es responsable del color azul.
- Peonidina: Su estructura es derivada de la cianidina.
- Petunidina: Su estructura basada en la delfinidina.
- Malvinidina: Al igual que la Petunidina, está basada en la delfinidina



**Figura 1: Estructura química de los antocianos**

FUENTE: Tomado de Zapata 2014.

El color y las tonalidades de las antocianinas depende del número y orientación de los grupos hidroxilo y metoxilo de la molécula, incrementos en la hidroxilación producen tonalidades azules mientras que incrementos en las metoxilaciones producen coloraciones rojas (Zapata 2014).

## 2.5. FACTORES QUE AFECTAN EN LA ESTABILIDAD DE LAS ANTOCIANINAS

La estructura de las antocianinas se ve afectada durante el proceso tecnológico, ya sea desde la extracción, el tratamiento térmico o durante el almacenamiento (Zapata 2014), diversos factores como pH, temperatura, luz, entre otros afectan su estabilidad.

### 2.5.1. TEMPERATURA

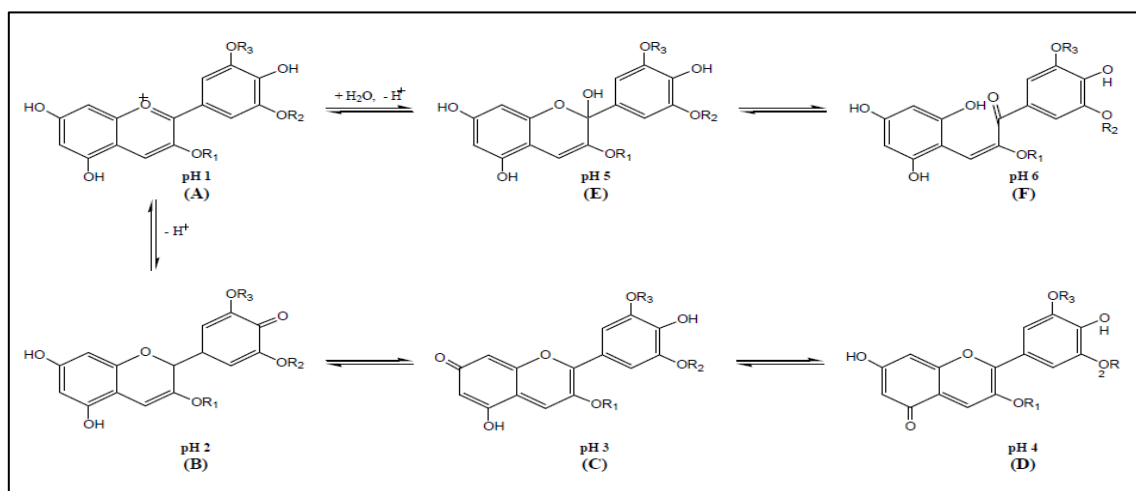
La temperatura de procesamiento es un factor crítico que influye en la degradación de las antocianinas, las cuales poseen una mayor resistencia frente a procesos térmicos a altas temperaturas durante cortos tiempos que menores temperaturas por largos periodos (Zapata 2014); según Fennema (1996) a temperaturas por encima de los 60 °C, se degradan según

una cinética de primer orden. Esta degradación es mayor a pH superiores a 3, coincidiendo con la simultánea conversión del ion flavilio a otras formas más vulnerables (Malién-Aubert *et al.* 2001; Matsufuji *et al.* 2007; citados por Hernández 2014).

La degradación de las antocianinas por efecto de la temperatura ocurre por dos mecanismos: hidrólisis del enlace glucosídico que da lugar a la formación de aglicona o por la ruptura hidrolítica que origina la formación de chalconas (Castañeda y Guerrero 2015). La estructura de las antocianinas afecta su estabilidad térmica, donde las antocianinas altamente hidroxiladas son menos estables térmicamente que las metiladas, glicosidadas o acetiladas (Fennema 2000; citado por Zapata 2014).

### 2.5.2. PH

El pH es un factor que influye en la estructura química de las antocianinas y por lo tanto en su estabilidad. A pH 1 predomina el catión flavilio, la forma más estable de las antocianinas y que es de color rojo, a valores de pH entre 2 y 4 ocurre la pérdida de un protón y adición de agua, encontrándose las antocianinas preferentemente bajo las formas quinodales de color azul. A pH entre 5 y 6 se encuentran las pseudobase carbinol y chalcona, que son incoloras y de color amarillo, respectivamente; ambas bastante inestables. A pH superiores a 7, las antocianinas se degradan rápidamente por oxidación con el aire (Zapata 2014). Estos cambios en la estructura de las antocianinas frente al pH se encuentran representadas en la Figura 2.



**Figura 2: Estructura de las antocianinas a diferentes valores de pH, Donde R1 = H o glúcido, R2 y R3 = H o metilo**

FUENTE: Tomado de Castañeda-Ovando *et al.* 2009; citados por Zapata 2014.

Los alimentos que poseen antocianinas, durante el procesamiento sufren la degradación de estos compuestos; cuanto más bajo es el pH menor es el deterioro; es decir, la acidez tiene un efecto protector sobre la estructura de las antocianinas, mientras que, cuanto más elevado es el pH, aparecen estructuras inestables que se degradan con rapidez (Zapata 2014) donde el ión flavilio es susceptible al ataque nucleofílico por parte del agua, generando inicialmente la pseudobase incolora carbinol y posteriormente chalcona, de color amarillo (Suganya *et al.* 2012; citados por Castañeda y Guerrero 2015). Es por ello que las aplicaciones de las antocianinas en los sistemas alimentarios son usadas preferentemente en alimentos de acidez intermedia para que predomine el catión flavilio (Aguilera *et al.* 2011).

### **2.5.3. LUZ**

La luz es un factor que acelera la degradación de las antocianinas; se ha observado que la sustitución del hidroxilo en el C-5 hace que la antocianina sea más susceptible a la fotodegradación cuando ésta se presenta con flavonas polihidroxiladas, isoflavonas y auronas sulfonadas (Delgado-Vargas *et al.* 2000; citados por Zapata 2014). Sin embargo, la copigmentación retrasa la fotodegradación, al igual que otras condiciones de tratamiento y almacenamiento, como la aplicación de tecnologías de estabilización como la encapsulación, que protegen a las antocianinas (Parra 2010; citado por Castañeda y Guerrero 2015).

Rodríguez y Wolstrad (2001) señalan que las antocianinas debido a su carácter polar, permite su solubilidad en variados solventes, tales como alcoholes, acetona y agua; y que la elección del método de extracción debe maximizar la recuperación de estos pigmentos, con una mínima cantidad de adjuntos y una degradación o alteración mínima del estado natural. Dentro de los métodos más utilizados están la extracción con metanol y la extracción con acetona y cloroformo (Poo 2005).

La extracción de antocianinas comúnmente es llevada a cabo con metanol o etanol conteniendo una pequeña cantidad de ácido (15 %, HCL 1M) con el objetivo de obtener la forma más estable, el catión flavilio (Abdel-Aal y Hucl 1999; citados por Vázquez 2014). Siendo preferible el empleo de etanol debido a su baja toxicidad, particularmente en usos alimenticios y ensayos clínicos. Sin embargo, el ácido puede causar hidrólisis parcial de las fracciones acil en antocianinas aciladas, especialmente en aquellas con ácidos dicarboxílicos tales como ácido malónico, por lo que el uso de ácidos débiles es deseable (Vázquez 2014).

#### **2.5.4. MÉTODO DE EXTRACCIÓN**

- Disolvente. - el uso de disolventes con diferentes polaridades pueden causar cambios en las bandas de absorción. Por ejemplo, en solución de metanol con ácido clorhídrico, la longitud de onda donde la pelargonina presenta máxima absorción es de 520 nm; mientras que en una solución de agua y acetonitrilo con ácido trifluoroacético es de 502 nm (Mazza y Miniati 1993 y Hernández-Herrero y Frutos 2011; citados por Hernández 2014).
- Temperatura. - La temperatura de extracción posee un efecto en la estabilidad de las antocianinas, mostrando una mayor facilidad de degradación aquellas extraídas con altas temperaturas (60 °C) durante el almacenamiento a temperatura ambiente que las extraídas a 25 °C (Kalt *et al.* 2000; citados por Hernández 2014).
- Concentración de antocianinas. - La concentración de antocianinas mejora la intensidad del color como la estabilidad del mismo. Estas mejoras se deben a altas concentraciones, tanto de antocianinas como de otros fenoles, favoreciendo reacciones de copigmentación (Ito *et al.* 2002 y Giusti y Wrolstad 2003; citados por Hernández 2014).

#### **2.5.5. OXIGENO**

Las antocianinas pueden oxidarse por reacción directa con oxígeno, o bien a través de una oxidación indirecta en la que éstas reaccionan con compuestos que han sido previamente oxidados, dando lugar a la formación de productos de color marrón o incoloro (Zapata 2014). El oxígeno tiene la capacidad de formar radicales libres, que reaccionan con otras moléculas generando nuevos radicales, lo cual continúa hasta que se encuentren con sustancias antioxidantes capaces de paralizar estas reacciones, como las antocianinas.

La degradación causada por la oxidación de antocianinas puede ser más importante en zumos y bebidas que en productos con bajo contenido en agua, debido a que en matrices acuosas puede disolverse mayor cantidad de oxígeno (Hernández 2014).

#### **2.5.6. COPIGMENTACIÓN**

La copigmentación es uno de los principales factores de estabilización de las antocianinas (Sari *et al.* 2012; Kopjar *et al.* 2011; Gradinaru *et al.* 2003; citados por Zapata 2014). Las

formas coloreadas de las antocianinas pueden estabilizarse por interacción con componentes, llamados copigmentos. Los cuales pueden ser flavonoides, polifenoles, alcaloides, aminoácidos, ácidos orgánicos y grupos acilo aromáticos, entre otros (Sari *et al.* 2012; Lewis y Walker 1995; citados por Zapata 2014). Estos copigmentos pueden ser tres: otras antocianinas (auto-asociación), compuestos no coloreados conocidos como flavonoides (copigmentación intermolecular) y ácidos hidroxycinámicos (copigmentación intramolecular o acilación) (Hernández 2014).

La interacción entre las moléculas de antocianinas y el copigmento se lleva a cabo mediante enlaces débiles que generan fuerzas hidrofóbicas en el interior de la estructura que protegen los carbonos C2 y C4 del catión flavilio del ataque nucleofílico del agua, así como de otras sustancias (Dangles *et al.*, 1993; Mazza y Miniati 1993; Garzón y Wrolstad 2001; citados por Hernández 2014).

El fenómeno de copigmentación se observa como un cambio batocrómico o como un efecto hipercrómico. El cambio batocrómico también se denomina “efecto de azulado”, ya que el color de la antocianina cambia de rojo a tonalidades azules. Mientras que el efecto hipercrómico la intensidad del color roja se acentúa (Zapata 2014). Donde la copigmentación formada con el catión flavilio es más estable que la formada con la base quinonoidal, lo cual indica que a pHs bajos, donde predomina el catión flavilio, brinda una mayor protección (Malien-Aubert *et al.* 2001; Castañeda-Ovando *et al.* 2009; citados por Hernández 2014).

### **2.5.7. POLIMERIZACIÓN**

Los pigmentos poliméricos consisten en la unión estable de una antocianina con otros compuestos, normalmente polifenoles como flavonoles, taninos, etc. Esta interacción suele producirse mediante enlaces covalentes entre los carbonos C4 y C8, en algunos casos entre los carbonos C4 y C6. El polímero formado puede ser antocianidina-polifenol o polifenol-antocianidina, presentando una mayor estabilidad de color el primer caso.

Este incremento en la estabilidad se debe a que la posición C4 de la antocianina deja de ser libre; por lo tanto, no se encuentra disponible frente al ion bisulfito, cambios de pH, etc. (Boulton 2001; Eiro y Heinonen 2002; Salas *et al.* 2003; He *et al.* 2012; citados por Hernández 2014).

### **2.5.8. AZUCARES Y PRODUCTOS DE DEGRADACIÓN**

Los azúcares a altas concentraciones, como en las conservas de frutas, brindan estabilidad a las antocianinas, debido a la disminución de la actividad de agua. Sin embargo, en bajas concentraciones, ellos o sus productos de degradación pueden acelerar la degradación de las antocianinas. Los azúcares como fructosa, lactosa y sorbosa tienen un efecto de degradación mayor sobre las antocianinas que la glucosa, sacarosa y maltosa (Von Elbe y Schwartz 1996; citados por Hernández 2014).

### **2.5.9. ACIDO ASCÓRBICO**

Las antocianinas y el ácido ascórbico se destruyen en presencia de oxígeno, tanto por mecanismos de condensación, donde el ácido ascórbico reacciona con el C4 de la antocianina; como también por oxidación, donde la antocianina al mostrar mayor capacidad antioxidante, se comporta como protector del ácido ascórbico frente a la oxidación o por que el ácido al oxidarse genera peróxido de hidrógeno que mediante ataques nucleofílicos logra oxidar a las antocianinas a estructuras quinonoideas y chalconas (Lopes *et al.* 2007 y Sun *et al.* 2011; citados por Hernández 2014).

### **2.5.10. ASOCIACIÓN CON IONES METÁLICOS**

Los complejos de antocianinas con metales poseen un efecto de estabilización y estandarización del color que originan. La formación de estos complejos produce un desplazamiento batocrómico que aumenta las tonalidades azuladas en el color percibido (Yosida *et al.* 2006 y Schreiber *et al.* 2010; citados por Hernández 2014). Para aplicarse en alimentos deberían emplearse metales atóxicos y de ser posible esenciales para la dieta (Castañeda-Ovando *et al.* 2009; citados por Hernández 2014).

## **2.6. FUENTES DE ANTOCIANINA**

Las antocianinas están presentes en diferentes órganos de las plantas, tales como frutas, flores, tallos, hojas y raíces (Brouillard 1982; citado por Aguilera *et al.* 2011). Estos pigmentos se encuentran normalmente disueltos uniformemente en la solución vacuolar de células epidérmicas; sin embargo, en ciertas especies, se encuentran localizadas en regiones discretas de la vacuola celular, llamadas antocianoplastos (Peckel y Small 1980; citados por Aguilera *et al.* 2011).

La principal fuente de antocianinas son bayas y uvas rojas, de donde se extrae la enocianina (Mendoza, 2012); otras fuentes de antocianinas son los cereales, principalmente maíz morado (Harbone 1993; Escribano-Bailon *et al.* 2004; citados por Aguilera *et al.* 2011); también se encuentran ampliamente distribuidas en vegetales y frutos rojos, como es el caso de los pigmentos rojos en rábanos, cebollas rojas, cerezas, frambuesas, arándanos, entre otros (Castañeda y Guerrero 2015).

Antal *et al.* (2003) y Wang (1997) citados por Blanco y Troya (2014) presenta las frutas y vegetales más comunes en donde se encuentran grandes contenidos de antocianinas, mostrados en el Cuadro 2.

**Cuadro 2: Fuentes de antocianinas**

Compuesto	Color	Fruta y Vegetal
Cianidina	Naranja a rojo	Mora, fresas, grosella negra, cereza, col morada, arándanos, uva, ciruelas, frambuesas, cebolla paiteña, maíz morado
Delfinidina	Azul a rojo	Arándano, uva
Malvidina	Azul a rojo	Arándano, uva
Petunidina	Rojo	Fresa, uva
Pelargonidina	Naranja	Fresas, maíz
Peonidina	Rojo	Cereza, arándano, camote, ciruelas

FUENTE: Tomado de Antal *et al.* 2003 y Wang 1997; citados por Blanco y Troya 2014

## 2.7. MÉTODO DE EXTRACCIÓN Y CONCENTRACIÓN DE ANTOCIANINAS

Las antocianinas son compuestos polares por lo cual generalmente se emplean mezclas acuosas de metanol, etanol o acetona débilmente acidificada y a temperatura ambiente (kahkonen *et al.* 2011; citados por Hernández 2014), siendo el metanol el disolvente más eficaz (Lee *et al.* 2004; citados por Hernández 2014). Sin embargo, debido a su menor toxicidad, el etanol es el solvente más empleado.

En la actualidad se están investigando nuevas técnicas para mejorar el rendimiento de extracción de las antocianinas, como son el empleo de enzimas pectolíticas que hidrolizan las paredes celulares, o ultrasonidos para favorecer la rotura de las paredes y subsecuente extracción del pigmento (Li *et al.* 2012; Cheoka *et al.* 2012; citados por Hernández 2014).



A nivel de laboratorio, una vez obtenido el extracto puro se procede a realizar una concentración por evaporación del disolvente a baja temperatura, alrededor de 35°C, y empleando condiciones de vacío (Pazmiño-Durán *et al.* 2001; Hernández-Herrero y Frutos, 2011; citados por Hernández 2014). Sin embargo, a nivel industrial; la evaporación se realiza a 70-80 °C obteniéndose un extracto concentrado; o secado por atomización, obteniéndose un polvo rico en antocianinas (Hernández 2014).

## **2.8. ANTOCIANINAS DE UVA**

### **2.8.1. DESCRIPCIÓN GENERAL**

Entre todo el grupo de frutas y vegetales que son fuentes de antocianinas, solo una pequeña proporción de ellas han sido consideradas como potenciales fuentes colorantes por razones de estabilidad, color, disponibilidad, facilidad de extracción, producción económica, propiedades tecnológicas y seguridad desde el punto de vista del gobierno (Francis 1989), las antocianinas utilizadas como colorantes alimentarios deben obtenerse de vegetales comestibles (García 2004). En Estados Unidos, 4 de 26 colorantes de antocianinas están extensos de certificación y están aprobados para el uso alimentario, derivados de: extracto de hollejo de uva, extracto colorante de uva, jugo de fruta y jugo de vegetales (Wrolstad 2004).

Los colorantes de alimentos en base a antocianinas han estado disponibles por largo tiempo, probablemente el más antiguo fue la enocianina, vendido en Italia desde 1879, desarrollado para realzar el color de los vinos tintos y luego extendido a otros alimentos. El cual era producido a partir de los hollejos de uva como producto para la industria de vinos, hasta extenderse a la producción de jugo de frutas y muchos otros productos alimentarios (Francis 1989).

Los hollejos de uva se convirtieron en la mayor fuente para obtención de antocianinas debido a su disponibilidad y familiaridad, siendo una fruta que crece en todo el mundo (Francis 1989); la especie vinífera tiene entre sus características la de adaptarse a gran diversidad de situaciones, lo que hace posible que se encuentren plantaciones de vid desde latitudes elevadas hasta zonas tropicales (Hernández 2014).

Las antocianinas que se han estudiado con mayor detalle son las provenientes de las uvas tintas de la variedad *Vitis vinífera L. subesp. Vinífera*, pues son los pigmentos responsables de la coloración y formación de los polímeros pigmentados que colorean los vinos tintos

(Fulcrand *et al.* 2006; citados por Benito, 2015), las cuales se acumulan en los hollejos durante la maduración de la uva, y su contenido se ha relacionado con diversos factores agroecológicos (Jackson y Lombard 1993 y Esteban *et al.* 2001; citados por Benito 2015), de modo que su concentración es muy variable, incluso tratándose de una misma variedad (Ryan y Revilla 2003 y Revilla *et al.* 2009; citados por Benito 2015).

Actualmente, se considera que el perfil de antocianos de las uvas tintas está determinado genéticamente y es típico de la variedad. En las uvas de las variedades *Vitis vinífera L.* los antocianos presentes son los monoglucosidos de malvidina, delfinidina, peonidina, petunidina o cianidina, según las sustituciones glicosídicas; de forma general, la antocianina mayoritaria es malvidina-3-O-glucósido, aunque hay algunas variedades en las que predomina peonidina-3-O-glucosido (Mattivi *et al.* 2006; citados por Benito 2015). En cuanto a la composición antocianina de vides silvestres, en la bibliografía comúnmente utilizada, no existen datos (Benito 2015).

## **2.8.2. POTENCIAL FENÓLICO DE LAS UVAS**

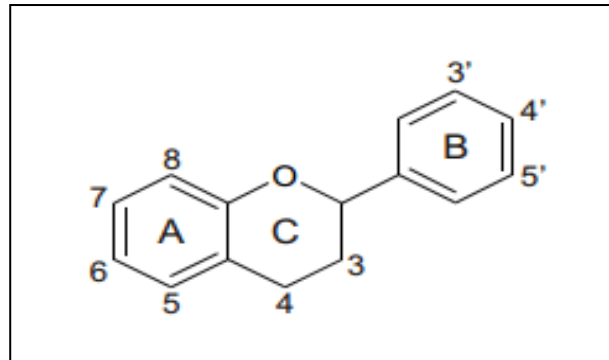
Las uvas no solo son una gran fuente de antocianinas, sino también de diversos compuestos fenólicos que provienen del metabolismo secundario de las plantas, donde cumplen diversas funciones como pigmentación, crecimiento, reproducción y resistencia a organismos patógenos (Lattanzio *et al.* 2008; citados por Cáceres 2013) y que otorgan un gran potencial para su aplicación.

Una de las formas más comunes de clasificación de los compuestos fenólicos, es de acuerdo a su esqueleto carbonado, según el cual puede clasificarse en dos grandes grupos, los compuestos flavonoides (C3-C6-C3) y los no flavonoides (C6-C1, C6-C3) (Taiz y Zeiger 2002; Monagas *et al.* 2005; Ribéreau-Gayon *et al.* 2006; Vermerris y Nicholson 2006; citados por Cáceres 2013). La uva contiene compuestos fenólicos del grupo no flavonoides principalmente en la pulpa, en cambio presenta compuestos flavonoides en los hollejos, las semillas y en el escobajo (Monagas *et al.* 2005; citados por Cáceres 2013).

### **a. COMPUESTOS FLAVONOIDES**

Los flavonoides son compuestos polifenólicos compuestos por una estructura con varios anillos aromáticos y grupos hidroxilo.

Las distintas clases de flavonoides dependen del estado de oxidación que tenga el anillo C. La mayoría de los fenoles en el vino tinto son flavonoides, y provienen de la extracción de los hollejos y las semillas durante el proceso de fermentación, ya que el medio alcohólico favorece este proceso (Rodríguez 2013).



**Figura 3: Esqueleto básico de un flavonoide**

FUENTE: Tomado de Rodríguez 2013.

Dentro de los flavonoides existen Flavanonoles y flavonas, flavanoles, flavonoles y antocianinas:

- **Flavanonoles y flavonas**

Las flavonas presentes en la uva y el vino son apigenina, luteolina y baicaleina, aunque no son muy abundantes en la vid (Monagas *et al.* 2005; citados por Cáceres 2013). En cuanto a los flavanonoles encontrados en la uva se menciona a la astilbina y engeletina, estando presentes en las pieles y el vino de las variedades blancas (Trousdale y Singleton 1983; citados por Cáceres, 2013). En la uva desempeñan un rol contra enfermedades fúngicas, presentando además propiedades funcionales para los seres humanos (Vitrac *et al.* 2001 citados por Cáceres 2013).

- **Flavonoles**

Los flavonoles son pigmentos amarillos, localizados principalmente en las vacuolas de las células epidermales de los hollejos de la uva (Cheynier y Rigaud 1986 citados por Cáceres 2013), aunque también se encuentran en algunas ocasiones en la pulpa (Pereira *et al.* 2006 citados por Cáceres 2013). Estos compuestos actúan como protectores contra los rayos UV, previniendo el daño en los tejidos de las plantas (Flint *et al.* 1985 citados por Cáceres 2013)

y también como copigmentos con los antocianos (Price *et al.* 1995; McDonald *et al.* 1998; Haselgrove *et al.* 2000 citados por Cáceres 2013).

- **Antocianinas**

Las antocianinas o antocianos (del griego *anthos*, flor y *kianos*, azul), son los pigmentos más importantes de las plantas vasculares. En la uva, los antocianos se localizan en las paredes de las células hipodermales de los hollejos, encontrándose también en la pulpa de las variedades tintas y además se presentan en grandes cantidades en las hojas de la vid, hacia el fin de la temporada de crecimiento (Adams 2006; Ribéreau-Gayon *et al.* 2006 citados por Cáceres 2013).

- **Flavanoles**

Los flavanoles o flavan-3-oles son un gran grupo de compuestos que en la vid se encuentran presentes en la madera, tallos y hojas. Dentro de la baya de uva son particularmente abundantes en los hollejos y semillas (Souquet *et al.* 1996; Bogs *et al.* 2005 citados por Cáceres 2013). Estos compuestos participan en la estabilidad del color en vinos tintos, a través de reacciones de copigmentación y/o condensación con los antocianos (Terrier *et al.* 2009; Santos-Buelga y De Freitas 2009 citados por Cáceres 2013), se pueden encontrar en forma monomérica (también llamados catequinas), así como también en formas oligoméricas y poliméricas.

Los flavanoles en su forma oligomérica y polimérica también reciben el nombre de proantocianidinas o taninos condensados. El término tanino se refiere a la capacidad que tienen estos compuestos de interactuar con las proteínas y precipitarlas. Los flavonanoles poseen la capacidad, en un medio ácido y con presencia de calor, de hidrolizarse a antocianidinas. (Porter *et al.* 1986; Hümmel y Schreier 2008; citados por Cáceres 2013).

## **b. COMPUESTOS NO FLAVONOIDES**

Dentro del grupo de compuestos no flavonoides encontrados en la uva podemos destacar los ácidos fenólicos (hidroxibenzóicos e hidroxicinámicos), en sus formas libres y esterificadas y los estilbenos.

- **Ácidos fenólicos**

Los ácidos fenólicos, que se caracterizan por poseer un solo anillo de 6 átomos de carbono, se dividen en dos grupos, los ácidos hidroxibenzóicos y los ácidos hidroxicinámicos (Cáceres 2013).

- Ácidos hidroxicinámicos: están presentes también en frutas y todos los tejidos vegetales, y se hallaron en forma de esteres tartrato en uva y esteres químicos en otras frutas (Rodríguez 2013).

- Ácidos benzoicos: se encuentran normalmente en forma de benzoatos. La hidrólisis de estos produce los ácidos libres en vino (Rodríguez 2013).

- **Estilbenos**

Los estilbenos en forma estructural presentan dos anillos bencénicos, los cuales generalmente están unidos por una cadena de eteno (Ribéreau-Gayon *et al.* 2006 citados por Cáceres 2013). Uno de los más importantes en cuanto a su abundancia y a sus numerosos estudios es el *trans*-resveratrol (3,5,4'-trihidroxiestilbeno).

Estos compuestos se sintetizan en la vid como una respuesta de defensa hacia condiciones de stress, tales como infecciones fúngicas y radiaciones ultravioletas encontrándose en los hollejos, hojas y raíces de la planta y su contenido también depende de factores climáticos, del tipo de uva y de las labores enológicas (Jeandet *et al.* 1994; Vitrac *et al.* 2002; Gambuti *et al.* 2004; Perrone *et al.* 2007 citados por Cáceres 2013).

### **2.8.3. PROPIEDADES FUNCIONALES DE LOS EXTRACTOS DE UVA**

Existen en el mundo alrededor de 70 especies de vides, de las cuales a la mayoría de ellas se le atribuyen propiedades medicinales. Es frecuente, que en la medicina naturista lo utilicen para combatir problemas reumáticos, de gota y enfermedades cardiovasculares. Así como también se emplee como astringente para disminuir inflamaciones, problemas de nutrición, trastornos del tubo digestivo, hígado, la dispepsia y la dureza del vientre; además, para tratar hemorroides, cólicos biliares, hipertrofia del bazo, bronquitis, tisis (tuberculosis), litiasis biliar (cálculos biliares) y afecciones de las vías respiratorias y circulatorias (Salomón 2015).

De todos los principios activos descubiertos en la vid, sin lugar a dudas, los compuestos polifenólicos presentan el mayor interés, debido a sus propiedades farmacológicas y protectoras del sistema cardiovascular (Tobar *et al.* 2007; citados por Solomon 2015).

Los pigmentos antocianicos presentes en la uva durante el paso del tracto digestivo al torrente sanguíneo de los mamíferos, permanecen intactas (Miyazawa *et al.* 1999; citados por Aguilera *et al.* 2011) y ejercen efectos terapéuticos debido a sus propiedades antioxidantes, que incluyen la reducción de la enfermedad coronaria, efectos anticancerígenos, antitumorales, antiinflamatorios y antidiabéticos; además del mejoramiento de la agudeza visual y del comportamiento cognitivo (Aguilera *et al.* 2011).

Adicionalmente, se ha encontrado que el extracto de semilla de uva previene la aparición de cáncer, como el de mama, próstata y colon. El principal componente responsable de esta propiedad es un flavonoide que aparece en la piel de la uva negra o en el vino tinto, conocido como resveratrol (Lu 2005; citado por Salomón 2015).

Sin duda alguna, estos beneficios podrían explicar el gran interés en el uso de extractos de antocianinas provenientes de uva en bebidas y bebidas no alcohólicas (Aguilera *et al.* 2011).

#### **2.8.4. EXTRACCIÓN DE POLIFENOLES DE UVA**

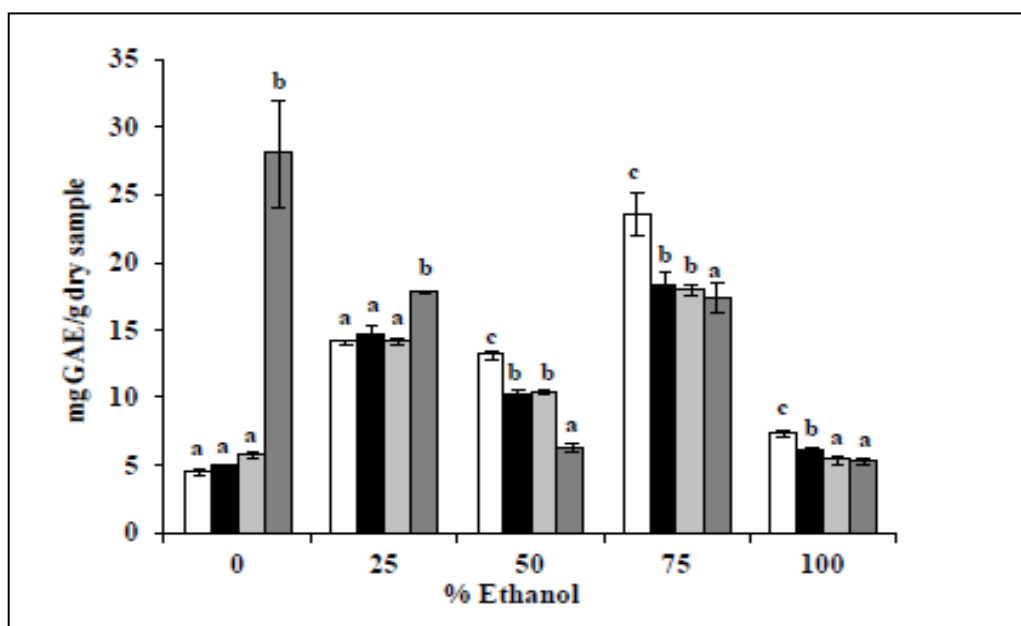
Diferentes autores señalan como mejores condiciones de extracción, concentraciones de etanol cercanas a 50 por ciento, encontrando una disminución en el rendimiento total de polifenoles extraídos con concentraciones más altas. Sugieren que el etanol reduce la constante dieléctrica del solvente, lo cual incrementa la difusión de las moléculas bioactivas con el solvente. Sin embargo, solventes orgánicos de alta pureza, por ejemplo 100 por ciento etanol pueden deshidratar las células vegetales, haciendo difícil la difusión de polifenoles del material vegetal al extracto líquido (Libran *et al.* 2013).

Libran *et al.* (2013) encontraron que la extracción total de polifenoles en uva se veía afectado por la concentración de etanol y el pH. Observaron un incremento del rendimiento de polifenoles totales extraídos con pH básicos para extracciones acuosas (0 % y 25 % etanol) y un cambio en la tendencia para concentraciones mayores de etanol, donde pH ácidos presentaron mejores rendimientos durante la extracción, como se muestra en la Figura 4.

En general, todos los compuestos: flavonoles, flavanoles, ácidos fenólicos y antocianinas mostraron mayores rendimientos de extracción con altas concentraciones de etanol hasta 75

por ciento. Donde del total de polifenoles extraídos, más del 40 por ciento pertenecían al grupo de antocianinas, este comportamiento podría atribuirse al cambio de la solubilidad de los polifenoles, su densidad o la constante dieléctrica de extracción debido a la presencia de etanol (Libran et al. 2013).

Mientras que Paladino (2012) para extractos de semilla de vid, obtenidas posterior al descube de vinos tintos, por lo tanto, sometidas a maceración y fermentación alcohólica; encontraron que el agua es el solvente más adecuado para la extracción de los compuestos reductores, empleando una relación sólido y líquido de 1:10, a temperatura de 90 °C y 3 horas de tratamiento. Durante su investigación evaluaron el poder antioxidante de un extracto concentrado de semillas de uva comparada con otros antioxidantes comerciales como el ácido ascórbico y dióxido de azufre en un sistema real sujeto a oxidación “jugo de manzanas”.



**Figura 4: Contenido total de polifenoles (mg de GAE/g muestra seca) a 2 horas y 25 °C con diferentes pH y concentraciones de etanol. □, ■, □, ■: pH = 2, pH = 5.33, pH = 8.66 y pH = 12, respectivamente; a, b, c y d representan diferencias significativas entre los grupos ( $p < 0.05$ )**

FUENTE: Tomado de Libran *et al.* 2013.

Para descartar posibles interferencias en la determinación de polifenoles debido a lípidos que puedan ser extraídos durante el proceso, se realizó un análisis de polifenoles totales sobre el extracto de semillas desgrasado con h-hexano frente a un extracto sin desgrasar empleando

el micro método Folin Ciocalteu, encontrando que no existía diferencias significativas, lo cual indica que los lípidos posiblemente extraídos de la semilla de la vid no constituyen interferencia para la determinación de polifenoles totales.

Además, hallaron que el extracto de semillas de vid obtenido, aplicado como antioxidante en jugo de manzanas, inhibió el desarrollo de oxidación en un 31,51 por ciento, considerando 24 horas el tiempo de tratamiento. Este desempeño supera al ácido ascórbico que, en iguales condiciones, inhibió el desarrollo de la oxidación en un 2,6 por ciento. Pero en las condiciones de trabajo, el dióxido de azufre resulta mejor antioxidante que ambos, ya que logró inhibir el desarrollo de la oxidación en un 97,40 por ciento.

### **2.8.5. APLICACIONES DEL EXTRACTO DE UVA**

El extracto de uva (*Vitis labrusca*) posee una mezcla de cinco diferentes aglicones, acilados y no acilados con ácido p-cumérico (Giusti y Wrolstad 2002).

La mayoría de antocianinas en las uvas europeas (*Vitis vinífera*) son 3-glucosido, 3-acetilglucosido y 3-P-cumarilo-glucósido de malvidina, Peonidina, Delfinidina, petunidina y cianidina (Wulf y Nagel 1978; citado por Bridle y Timberlake 1997). Siendo la malvidina glucosida la principal antocianina de las uvas, la cual es la que posee mayor estabilidad de color, debido a la dimetoxilación en la molécula (Davies y Mazza 1993; citado por Bridle y Timberlake 1997). Durante la extracción y procesamiento, la proporción de estas antocianinas monoméricas se degradan y condensan con otros flavonoides para formar pigmentos poliméricos (Bridle y Timberlake 1997).

Las antocianinas presentan un color rojo en soluciones ácidas, por lo que el uso de los pigmentos de uva se emplean principalmente en bebidas y refrescos. También se emplea en la elaboración de confitería y golosinas, particularmente en condiciones de ácidos media (pH 4) donde los colores impartidos por el extracto son ajustados con colorantes obtenidos de otras frutas (Bridle y Timberlake 1997).

Otras aplicaciones en productos de consumo diario y helados, donde imparte un color negro malva debido a su pH (Rayner 1991; citado por Bridle y Timberlake 1997); además de preparaciones ácidas de frutas, mermeladas y conservas.



El extracto de uva presenta algunos problemas de precipitación, que pueden producirse por la interacción de las antocianinas con proteínas. Por lo tanto, los extractos que poseen un alto contenido de compuestos fenólicos o pigmentos oligoméricos no pueden utilizarse para colear jaleas, a medida que forman precipitados con gelatina. Sin embargo, en general la estabilidad de los extractos de antocianinas al 2% es buena y se emplean para colorear todas las clases de productos alimenticios, incluyendo dulces de alto punto de ebullición y productos de panadería (Bridle y Timberlake 1997).

Algunas aplicaciones investigadas del extracto de uva fueron en jugo de manzana como antimicrobiano junto con extracto de oliva (Serra *et al.* 2008; citado por Sivarooban *et al.* 2007), en carne de ternera cruda donde el extracto de semilla de uva (1%) junto con oleoresina de romero (1%) redujeron la proliferación de E.Coli O157:H7, S. tiphimurium y L. monocitogeno después de 9 días (Ahn *et al.* 2005; citado por Sivarooban *et al.* 2007).

Karaaslan *et al.* (2011) emplearon extracto de alcohol acidificado de cuatro diferentes variedades de uva (Cabernet Sauvignon, Chardonnay, Shyrah y Merlot) y tallo de uva en yogurt como ingrediente funcional, obteniendo altos contenidos de antocianinas y fenólicos.

## **2.9. CINÉTICA DE DEGRADACIÓN**

### **2.9.1. ORDEN DE REACCIÓN**

La cinética de degradación trata principalmente del estudio de la velocidad en que se llevan a cabo las reacciones de degradación.

Según el orden de la reacción, la evolución de la concentración con el tiempo puede ser descrita mediante diferentes ecuaciones (Casp y Abril, 1999; Oliveira F. y Oliveira J., 1999 citado por Zapata 2014). Así, para una reacción de orden cero sería la ecuación 1; para una de primer orden, la ecuación 2 y para una de segundo orden, la ecuación 3.

La mayoría de las reacciones de degradación, en que se ven involucrados los alimentos en la industria, son de primer orden, lo que significa que la velocidad de reacción depende de la concentración del reactante (Rebolledo 2007).

- Modelo cinético de orden cero

$$[A] = [A_0] \pm kt \text{ (Ec. 1)}$$

- Modelo cinético de primer orden

$$[A] = [A_0] e^{\pm kt} \text{ (Ec. 2)}$$

- Modelo cinético de segundo orden

$$1/[A] = 1/[A_0] \pm k \cdot t \text{ (Ec. 3)}$$

Dónde:  $[A_0]$  es la concentración inicial del atributo medido y  $[A]$  la concentración del atributo medido a un tiempo  $t$ , y  $k$  es una constante de velocidad (Zapata *et al.* 2016).

### 2.9.2. PARÁMETROS CINÉTICOS DE DEGRADACIÓN DE ANTOCIANINAS

- Constante de velocidad de degradación ( $k$ ). - Se calcula a partir de la pendiente de la curva que describe la variación de la concentración del atributo ( $A$ ) en función del tiempo de almacenamiento ( $T$ ), se halla de acuerdo al orden de reacción (Ec.1, Ec.2 o Ec. 3).
- Tiempo de vida media ( $t/2$ ). - El tiempo de vida media es el tiempo necesario para que la concentración de un reactivo descienda a la mitad de su valor inicial (Zapata *et al.* 2016).

$$t = t_{1/2} \rightarrow [A]_{t_{1/2}} = [A]_0/2$$

Donde:

$$\text{orden cero: } t_{1/2} = \frac{(A)_0}{2k}$$

$$\text{orden 1: } t_{1/2} = \frac{\ln 2}{k}$$

$$\text{orden 2: } t_{1/2} = \frac{1}{k (A)_0}$$

### **III. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **3.1. LUGAR DE EJECUCIÓN**

La presente investigación se realizó en los laboratorios de Biotecnología y de Investigación de la Facultad de Industrias Alimentarias-Universidad Agraria La Molina.

#### **3.2. MATERIALES**

##### **3.2.1. MATERIA PRIMA**

Se empleó orujos de uvina, sub-producto procedente de la industria de pisco, secado un día bajo el sol, específicamente de la bodega San Fernando en Lunahuana.

##### **3.2.2. EQUIPOS E INSTRUMENTOS**

- Balanza analítica OHAUS Pionner<sup>®</sup>
- Balanza de 50 kg de capacidad OHAUS<sup>®</sup>
- Baño María Memmert<sup>®</sup>
- Estufa Termaks<sup>®</sup>
- Campana extractora fabricación nacional
- Centrífuga Hettech<sup>®</sup>
- Turbidímetro Hanna Instruments<sup>®</sup>
- Agitador Vortex Velp Scientifica<sup>®</sup>
- Alcoholímetro Alla France<sup>®</sup>
- Bomba de vacío Buchi<sup>®</sup>
- Termómetro Hanna Instruments<sup>®</sup>
- Espectrofotómetro UV-Visible Genesys<sup>®</sup> 6
- Potenciómetro Hanna Instruments<sup>®</sup>
- Refractómetro Hanna Instruments<sup>®</sup>
- Rotavapor RII Buchi<sup>®</sup>
- Refrigeradora Frigidaire<sup>®</sup>

- Agitador magnético Velp Scientifica<sup>®</sup>
- Agitador orbital Lab. Companion SK-300
- Colorímetro Minolta<sup>®</sup>
- Secador de bandejas fabricación nacional
- Papel filtro Whatman N° 1
- Micropipeta Eppendorf Research 50ul-200ul y 500ul-1000ul
- Material de vidrio diversos: todos los necesarios para la realización de los diferentes ensayos entre los que se puede citar: erlenmeyers, fiolas, pipetas, probetas, tubos de ensayo y vasos de precipitado.

### 3.2.3. REACTIVOS

- Agua destilada
- *Buffer* pH 1,0 (Cloruro de potasio 0,025M Merck)
- *Buffer* pH 4,5 (Acetato de sodio 0,4M Carlo Erba RPE)
- Reactivo DPPH Sigma
- Ácido clorhídrico concentrado Merck
- Estándar de Trolox Sigma
- Etanol 96° Purol
- Folin-Ciocalteu Merck
- Carbonato de sodio anhidro Merck
- Éstandar ácido gálico Sigma
- Vainillina Sigma
- Estándar de catequina Sigma
- Metanol Merck
- Metabisulfito de potasio Merck

### 3.3. MÉTODOS DE ANÁLISIS

#### 3.3.1. ANÁLISIS FÍSICO QUÍMICOS

**Determinación del contenido de compuestos fenólicos:** Método de Folin – Ciocalteu reportado por Singleton & Rossi (1965), expresado como mg ácido gálico equivalente (GAE)/ L.

**Sedimento:** Para la cuantificación de sedimentos se procedió a filtrar las muestras, empleando papel filtro Whatman previamente pesado (Harris 2001), expresado como mg sedimento/L.

**Diferencia de color:** Se empleó el colorímetro Hunter Lab, escala CIE L\*a\*b\*, y los rangos de diferencia de color de Mokrzycki y Tatol (2012).

**pH:** Método potenciométrico (AOAC 1995).

**Antocianinas:** Método de pH diferencial de Giusti y Wroslad (2001), expresado como mg cianidina-3-glucósido/L.

**Color polimérico:** Método de decoloración de antocianinas monoméricas con bisulfito, de Giusti y Wroslad (2001), expresado como porcentaje de color polimérico.

**Actividad antioxidante:** Método de 2,2 – Diphenyl – 1- picrylhydrazyl (DPPH) de Brand – Williams *et al.* (1995), expresado como mg Trolox equivalente (TEAC) /L.

**Taninos condensados:** Método de la vainillina reportado por García (2009), expresado como Catequina equivalente/L.

**Turbidez:** Se determinó mediante el empleo de turbidímetro (Muthuraman y Sasikala; 2014), expresados como NTU.

### 3.3.2. CINÉTICA DE DEGRADACIÓN DE ANTOCIANINAS

El orden de la cinética de degradación de las antocianinas se determinó teniendo en cuenta su variación en las bebidas modelo en función del tiempo de almacenamiento, para ello se emplearon los modelos de orden cero, primer y segundo orden. Tomando como referencia el coeficiente de correlación para seleccionar el modelo que describe mejor la degradación de las antocianinas en el tiempo de almacenamiento.

- Modelo cinético de orden cero

$$[A] = [A0] \pm kt \text{ (Ec. 1)}$$

- Modelo cinético de primer orden

$$[A] = [A0] e^{\pm kt} \text{ (Ec. 2)}$$

➤ Modelo cinético de segundo orden

$$1/[A] = 1/[A_0] + k \cdot t \text{ (Ec. 3)}$$

Dónde:  $[A_0]$  es la concentración inicial del atributo medido y  $[A]$  la concentración del atributo medido a un tiempo  $t$ , y  $k$  es una constante de velocidad (Zapata *et al.* 2016).

Así mismo se procedió a calcular el tiempo de vida media ( $t/2$ ):

$$t = t_{1/2} \rightarrow [A]_{t_{1/2}} = [A]_0/2$$

Donde:

$$\text{orden cero: } t_{1/2} = \frac{(A)_0}{2k}$$

$$\text{orden 1: } t_{1/2} = \frac{\ln 2}{k}$$

$$\text{orden 2: } t_{1/2} = \frac{1}{k (A)_0}$$

### 3.3.3. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para el análisis de los principales compuestos funcionales y características sensoriales de las bebidas modelo elaboradas con extracto de orujo tratadas térmicamente, se empleó un diseño de bloques completos al azar con estructura factorial de 3 x 4. Los factores que se analizaron fueron temperatura (80 °C, 90 °C y Ebullición) y tiempo (5 min, 10 min, 15 min y 20 min) y los bloques estuvieron formados por las muestras de bebida modelo elaborada a partir de extracto de orujo de uva con semilla y sin semilla. El *software* empleado fue R Studio<sup>®</sup> versión 2.15.0.

Para los coeficientes de correlación de los principales compuestos y características de las bebidas modelo, se consideró como criterio general, las recomendaciones de George y Mallery (2003), donde:

- Coeficiente correlación > 0,9 es excelente
- Coeficiente correlación > 0,8 es bueno
- Coeficiente correlación > 0,7 es aceptable
- Coeficiente correlación > 0,6 es cuestionable

- Coeficiente correlación > 0,5 es pobre

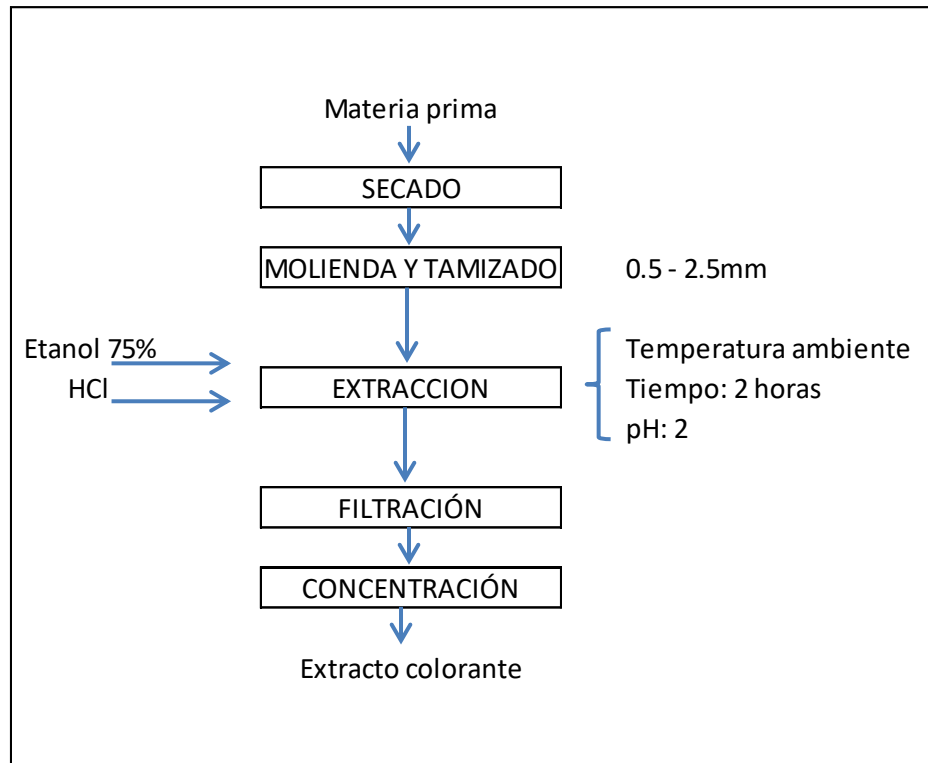
Adicionalmente se realizó la prueba de Duncan para las comparaciones múltiples, a un nivel de significancia  $p < 0.05$ . El *software* empleado fue Statgraphic Centurion<sup>®</sup> XVII.

### 3.3.4. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

#### a. OBTENCIÓN DEL EXTRACTO COLORANTE CON SEMILLA

Para la obtención del Extracto colorante a partir de orujos de uva se empleó la metodología descrita por Librán *et al.* (2013). El flujo de operaciones se muestra en la Figura 5, y se describe a continuación:

- **Secado:** La materia prima fue colocada en bandejas y llevada al secador (velocidad de aire de 1,5m/s a una temperatura de 60 °C), hasta una humedad menor a 10 por ciento.
- **Molienda y Tamizado:** Los orujos de uva secos, fueron molidos y tamizados con tamiz número 10.
- **Extracción sólido líquido:** Se empleó una relación muestra: solvente de 1:25; empleando como solvente etanol 75 por ciento acidificado con HCl hasta un pH de 2, a temperatura ambiente por un periodo 2 horas.
- **Filtración:** La muestra fue filtrada empleando papel Whatman N°1, previamente pesado.
- **Concentración:** El extracto fue concentrado en un rotavapor a 50°C hasta la completa evaporación del etanol.



**Figura 5: Flujo de operaciones para la obtención de extracto colorante a partir de orujos de uva**

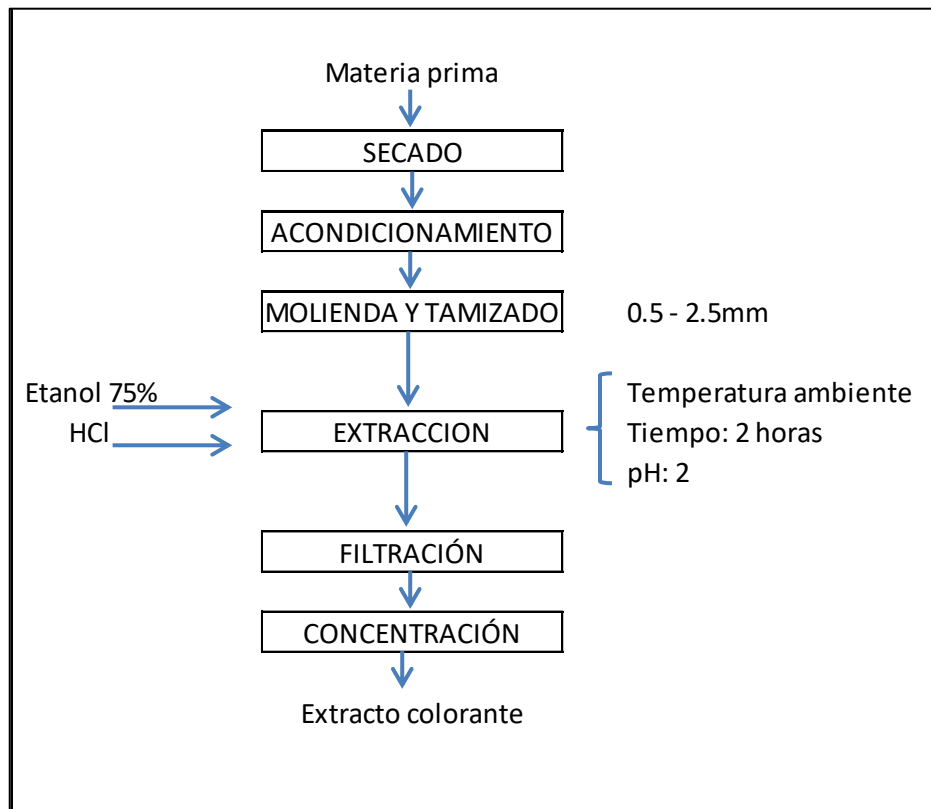
#### **b. OBTENCIÓN DEL EXTRACTO COLORANTE SIN SEMILLA**

El flujo de operaciones se muestra en la Figura 6, y se describe a continuación:

- **Secado:** La materia prima fue colocada en bandejas y llevada al secador (velocidad de aire de 1,5m/s a una temperatura de 60 °C), hasta una humedad menor a 10 por ciento.
- **Acondicionamiento:** Se retiraron las semillas del resto del orujo de uva.
- **Molienda y Tamizado:** Los orujos de uva secos sin semilla, fueron molidos y tamizados con tamiz número 10.
- **Extracción sólido líquido:** Se empleó una relación muestra: solvente de 1:25; empleando como solvente etanol 75 por ciento acidificado con HCl hasta un pH de 2, a temperatura ambiente por un periodo 2 horas.



- **Filtración:** La muestra fue filtrada empleando papel Whatman N°1, previamente pesado.
- **Concentración:** El extracto fue concentrado en un rotavapor a 50°C hasta la completa evaporación del etanol.



**Figura 6: Flujo de operaciones para la obtención de extracto colorante a partir de orujos de uva**

### c. ELABORACIÓN DE LA BEBIDA MODELO

Se elaboró un sistema modelo con las condiciones de pH y °Brix característicos de una bebida, empleando los insumos y parámetros reportados por Duangmal, *et al.* (2008).

Los ingredientes usados para elaborar 100 ml de bebida fueron: 10 g de azúcar, ácido cítrico para regular a un pH de 3.6 y extracto colorante obtenido de los orujos de uva suficiente para lograr un contenido de 60,70 mg de cianidina-3-glucosido/L, concentración hallada por Danisman *et al.* (2015) para jugo de uva.

El flujo de operaciones se muestra en la Figura 7 y se describe a continuación:

- **Pesado:** Se llevó a cabo el pesado del agua, azúcar, ácido cítrico y extracto colorante.

- **Mezclado y estandarizado:** Se mezclaron los insumos para la bebida modelo.
- **Pasteurizado:** Para esta operación se emplearon tres temperaturas 80 °C, 90 °C y temperatura de ebullición (97°C), en combinación con cuatro tiempos (5, 10, 15 y 20 min), rango empleado usualmente para pasteurización, temperaturas y tiempos utilizados por Elham y Shahriar (2013) y Gómez (2009). El tratamiento mínimo evaluado de 80 °C por 5 minutos, es suficiente para disminuir la concentración de hongos totales, responsables del deterioro microbiológico de este tipo de productos, según Stückrath y Petzold (2007).
- **Envasado:** Los envases de vidrio resistentes al calor con tapa rosca fueron llenados al finalizar el tratamiento térmico.
- **Enfriado:** El producto fue rápidamente enfriado, colocando las muestras en agua helada.
- **Almacenamiento:** Las muestras fueron almacenadas a temperatura ambiente por un periodo de cuatro semanas, siendo el tiempo empleado por Martínez *et al.* (2011); tiempo en el cual se evaluó el comportamiento de los compuestos principales semanalmente.



**Figura 7: Flujo de operaciones para la obtención de néctar**

#### d. DISEÑO EXPERIMENTAL

A continuación, se presenta el diseño experimental del presente estudio.

**Cuadro 3: Diseño experimental**

BEBIDA MODELO	ESTABILIDAD EN PROCESO		ESTABILIDAD EN ALMACENAMIENTO
CARACTERIZACIÓN	T° (°C)	Tiempos (min)	Tiempo
<p>Bebida modelo elaborada a partir de extracto de uvina con semilla</p>	<p>80</p> <p>90</p> <p>T° ebull.</p>	<p>5</p> <p>10</p> <p>15</p> <p>20</p> <p>5</p> <p>10</p> <p>15</p> <p>20</p> <p>5</p> <p>10</p> <p>15</p> <p>20</p>	<p>1 Semana</p> <p>2 Semanas</p> <p>3 Semanas</p> <p>4 Semanas</p>
<p>Bebida modelo elaborada a partir de extracto de uvina sin semilla</p>	<p>80</p> <p>90</p> <p>T° ebull.</p>	<p>5</p> <p>10</p> <p>15</p> <p>20</p> <p>5</p> <p>10</p> <p>15</p> <p>20</p> <p>5</p> <p>10</p> <p>15</p> <p>20</p>	<p>1 Semana</p> <p>2 Semanas</p> <p>3 Semanas</p> <p>4 Semanas</p>
<p>Antocianinas Monoméricas Fenoles totales Capacidad antioxidante Taninos condensados Color polimérico Color Turbidez Sedimentación</p>	<p>Antocianinas Monoméricas Fenoles totales Capacidad antioxidante Taninos condensados Color polimérico Color Turbidez Sedimentación</p>	<p>Antocianinas Monoméricas Fenoles totales Capacidad antioxidante Taninos condensados Color polimérico Color Turbidez Sedimentación</p>	

## IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1. CARACTERÍSTICAS DE LAS BEBIDAS MODELOS CON EXTRACTO DE ORUJO DE UVINA

Los extractos concentrados de orujos de uva con y sin semilla presentaron un contenido de antocianinas de 242,1 y 617 mg de cianidina-3-glucósido/L, respectivamente. A partir de estos se formuló las bebidas modelos cuyas características se muestran en el Cuadro 4.

**Cuadro 4: Características de las bebidas modelo elaboradas con los extractos de orujos de uva**

Bebida modelo	Extracto de Orujo con semilla	Extracto de Orujo sin semilla
<b>Análisis</b>		
<b>Antocianina (mg cianidina-3-glucósido/L muestra)</b>	60 ± 0.740	61,1 ± 0.549
<b>Sedimento (mg/ ml)</b>	13,3 ± 0.029	13,3 ± 0.005
<b>Turbidez (NTU)</b>	21,4 ± 1.974	15,8 ± 1.216
<b>Fenoles (mg ácido gálico/L (mgGAE/L))</b>	448,2 ± 9.269	237,1 ± 23.75
<b>Color (L*a*b)</b>	<b>L*</b>	21,7 ± 0.545
	<b>a*</b>	20,7 ± 0.32
	<b>b*</b>	6,1 ± 0.285
<b>Capacidad antioxidante (mg TEAC/ml)</b>	1060,6 ± 14.710	426,3 ± 23.477
<b>Taninos (mg catequina equivalente/L)</b>	29,4 ± 4.9	40,5 ± 5.98
<b>Color polimérico (%)</b>	60 % ± 0.011	70 % ± 0.009
<b>pH</b>	3,6	3,6

El contenido de antocianina para ambas bebidas partió de valores muy similares, empleando como referencia el contenido hallado por Danisman *et al.* (2015) para jugo de uva (60,7 mg cianidina-3-glucósido/L muestra).

El pH de las bebidas modelo fue de 3,6, valor por encima del ideal para la estabilidad de las antocianinas (pH 2), lo cual origina su transformación en compuestos sin color y luego en pigmentos de color café que son insolubles (Kopjar y Pilizota 2011; citado por Blanco y Troya 2014), razón por la que incluso antes del tratamiento térmico la bebida presenta sedimento.

En lo que respecta al contenido de fenoles, la bebida modelo elaborada a partir de extracto de orujo de uva se encuentran por debajo del rango hallado por Muñoz *et al.* (2007); para diferentes variedades de vinos producidos en Perú, los cuales van de 627,5 a 3321,67 mgGAE/L; al igual que de bebidas comerciales con arándanos en el mercado argentino y español que se encuentran entre los 789,8 y 3075,6 mg GAE/L (Castagnini 2014).

Las bebidas modelo elaboradas con extracto de orujo de uva con semilla presentaron 2,5 veces más actividad antioxidante que la bebida elaborada sin semilla medido como mg TEAC /ml. Estos resultados coinciden con lo reportado por Paladino (2012); quien sostiene que los extractos de semillas de uva tienen una mayor capacidad antioxidante frente a los extractos de hollejos, debido a la presencia de pigmentos poliméricos (procianidinas dímeras, trímeras y oligómeras) sumados a los monómeros.

En cuanto a los taninos, se obtuvo un menor contenido de taninos en la bebida modelo elaborada a partir de extracto de orujo con semilla en comparación con la bebida a partir de orujo sin semilla. Lo cual podría deberse a que la velocidad de difusión de los flavanoles provenientes de las pieles es mayor que los de las semillas (Di Stefano 1995). Esto se debería a que los taninos presentes en las semillas tienen un alto grado de polimerización en comparación con los hollejos por lo que presentan una mayor dificultad de extracción (Ribereau-Gayón 1971; citado por Aleixandre 2011 y Vila, *et al.* 2005) y a la necesidad de una eliminación previa de los lípidos presentes en estas (Glories y Saucier 2000; citados por Romero 2008).

Ambas bebidas modelo parten con un contenido de antocianinas poliméricas mayor al 60 por ciento, lo que indica que la mayoría de las antocianinas extraídas de los orujos tanto con y sin semilla son poliméricas, esto posiblemente se deba a que las antocianinas monoméricas son extraídas en primer lugar durante la maceración para la obtención del vino (Romero 2008) lo cual también ocurriría en el proceso de elaboración de pisco, lo que significa que

del remanente de antocianos en los orujos, la mayor parte se encontrarían en su forma polimerizada. También podría deberse a la hidrólisis de las antocianinas monoméricas durante la extracción ácida y subsecuente polimerización, como fue reportado por Vatai *et al.* (2009) durante la extracción de componentes fenoles en sauco y diferentes orujos de uva.

Por otra parte, existe una diferencia en los valores de turbidez presentada por las bebidas modelo, reportando un mayor valor para la bebida obtenida a partir del extracto de orujo con semilla, lo cual se explicaría por la presencia de aceite en las semillas de la uva (Murga *et al.* 2000; citados por Paladino 2012), que fue extraído por solvente hidroalcohólico empleado para la obtención del extracto, formando una emulsión con lo que aumenta la presencia de partículas en suspensión (Salazar 2012). Así como también por la posible presencia de proteínas en el extracto obtenido, debido a que estas se encuentran en las semillas de uva en un 11% (Murga *et al.* 2000; citado por Paladino 2012).

Las coordenadas Cie Lab obtenidas para las bebidas modelo presentan diferencia; donde L, \*a y \*b para la bebida elaborada a partir de orujo con semilla es 21,72, 20,67 y 6,13 frente a 19,22, 15,57 y 3,8 para la elaborada sin semilla. El menor valor de L para la muestra sin semilla indicaría que posee una menor luminosidad, siendo más oscura en comparación a la muestra con semilla; mientras que un menor valor de \*a y \*b para la muestra sin semilla representa tonos más verdes azules en comparación con la muestra con semilla que presentaría tonos más rojos amarillos (Mokrzycki y Tatol 2012).

#### **4.2. ÍNDICE DE CORRELACIÓN ENTRE LOS PRINCIPALES COMPUESTOS EN LAS BEBIDAS MODELO SOMETIDAS A TRATAMIENTO TÉRMICO**

Según las recomendaciones de George y Mallery (2003) para evaluar los coeficientes de correlación se determinó que existe una excelente correlación ( $R > 0,9$ ) entre la actividad antioxidante con el contenido de fenoles y los parámetros de color  $L^* a^* b^*$ ; una buena correlación ( $R > 0,8$ ) entre el contenido de antocianinas monoméricas y contenido de fenoles; y una aceptable correlación ( $R > 0,7$ ) entre el contenido de antocianinas monoméricas y actividad antioxidante.

**Cuadro 5: Índice de correlación entre los principales compuestos de las bebidas modelo sometidas a tratamiento térmico**

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1		0,81	0,72	0,65	0,23	0,69	-0,37	0,64	0,63	0,66
2	0,81		0,95	0,44	0,09	0,52	0,49	0,42	0,35	0,26
3	0,72	0,95		0,28	0,13	0,37	-0,31	0,91	0,95	0,94
4	0,65	0,44	0,28		0,11	0,52	-0,42	0,31	0,25	0,29
5	0,23	0,09	0,13	0,11		0,47	0,08	-0,04	-0,06	-0,05
6	0,69	0,52	0,37	0,52	0,47		-0,48	0,24	0,21	0,25
7	-0,37	0,49	-0,31	-0,42	0,08	-0,48		-0,25	-0,26	-0,27
8	0,64	0,42	0,91	0,31	-0,04	0,24	-0,25		0,97	0,97
9	0,63	0,35	0,95	0,25	-0,06	0,21	-0,26	0,97		0,99
10	0,66	0,26	0,94	0,29	-0,05	0,25	-0,27	0,97	0,99	

1: Contenido de Antocianinas monoméricas; 2: Contenido de fenoles totales; 3: Actividad antioxidante; 4: Contenido de sedimentos; 5: Turbidez; 6: Contenido de taninos condensados; 7: Porcentaje de color polimérico; 8: Luminosidad (L); 9: coordenada rojo-verde (a\*); 10: coordenada amarillo-azul (b\*)

El contenido de antocianinas monoméricas posee una correlación, aunque cuestionable con el contenido de sedimentos, el contenido de taninos condensados y los parámetros de color L\* a\* b\*; debido al coeficiente de correlación hallado ( $R > 0,6$ ) (George y Mallery 2003).

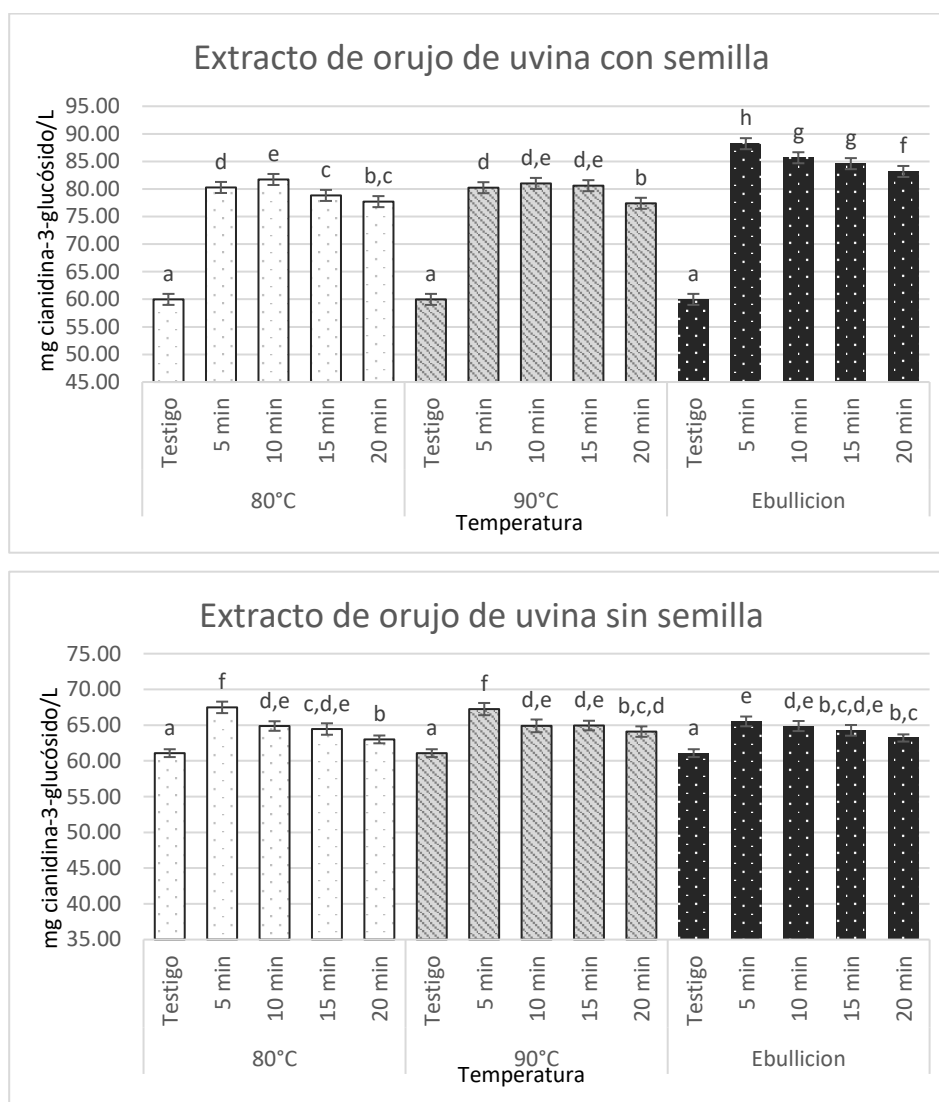
#### **4.3. EFECTO DEL TRATAMIENTO TÉRMICO EN LOS PRINCIPALES COMPUESTOS DE LAS BEBIDAS MODELO**

##### **4.3.1. ANTOCIANINAS**

En la Figura 8 se muestra el contenido de antocianinas en las bebidas modelo sometidas a los diferentes tratamientos térmicos.

A un nivel de confianza del 95 %, se encontró que todas las bebidas modelo sometidas a tratamiento térmico presentan una diferencia significativa con la bebida testigo, presentando incrementos en el contenido de antocianinas contrario al comportamiento

descrito por Fennema (1996) para temperaturas por encima de 60 °C, el cual indica que se degradan siguiendo una cinética de primer orden. Así mismo, se determinó que la presencia de semillas durante la obtención del extracto ejerce un efecto significativo en el contenido de antocianinas durante el tratamiento térmico, al igual que el tiempo de tratamiento térmico.



**Figura 8: Contenido de antocianina (mg cianidina-3-glucósido/L) en las bebidas modelo sometidas a los diferentes tratamientos térmicos**

Los incrementos en el contenido de antocianinas posterior al tratamiento térmico se podrían deber a la presencia de compuestos provenientes del extracto de orujos de uva como los taninos, principalmente las procianidinas, capaces de liberar antocianinas, por la ruptura de las uniones intermonoméricas, en medio ácido y en caliente (Blanco 2013), las cuales se encuentran localizados principalmente en las semillas y en cantidades inferiores en los



hollejos (Elejalde 1999) siendo extraídos durante el proceso de extracción; lo cual explicaría mayores contenidos de antocianinas en las bebidas modelo obtenidas del extracto con semilla sometidas a tratamiento térmico en comparación a los obtenidos del extracto sin semilla, pese a haber partido de contenidos similares.

Para ambas muestras se puede observar un menor contenido de antocianinas en las bebidas sometidas a tratamiento termico conforme el tiempo de tratamiento se incrementa, lo cual indicaría que posterior al incremento de antocianinas por la conversión de las procianidinas, estaría ocurriendo una degradación de parte de estas, debido a las altas temperaturas y aumento del tiempo de exposicion según lo expuesto por Zapata (2014), donde las antocianinas disminuyen su resistencia frente a periodos de tratamiento termico más largos, resultando en la perdida del azucar glicosilante en la posicion 3 de la molecula y apertura del anillo con consecuente produccion de chalconas incoloras (Timerlake 1980 citado por Zapata 2014).

En cuanto a las temperaturas empleadas para el tratamiento térmico, se determinó que este factor solo ejerce un efecto significativo al 95% de confianza, en el contenido de antocianinas de las bebidas elaboradas con extracto de orujo con semilla. Encontrándose que una mayor temperatura de tratamiento en las bebidas presenta mayores contenidos de antocianinas, siendo así la bebida sometida a temperatura de ebullición la que muestra mayores incrementos en comparación con las otras temperaturas; lo cual podría deberse en parte al proceso de evaporación y por lo tanto concentración que tiene lugar durante la ebullición.

El contenido total de antocianinas monoméricas para las bebidas modelo obtenidas a partir del extracto con semilla sometidas a tratamiento térmico fueron mayores a 77,40 mg cianidina-3-glucósido/L muestra, representando incrementos mayores al 29 por ciento respecto al testigo (59,98 mg cianidina/L muestra). Mientras que para las muestras sin semilla presentaron valores mayores de 63,00 mg cianidina-3-glucósido/L, con incrementos mayores a 3,1 por ciento.

**Cuadro 6: Porcentaje de variación del contenido de antocianinas monoméricas en las bebidas modelo**

T (°C)	Tiempo (min)	Porcentaje de incremento antocianinas monoméricas (mg cianidina / L )	
		Con semilla	Sin semilla
Testigo		0%	0%
80	5	34%	10%
80	10	36%	6%
80	15	31%	6%
80	20	30%	3%
90	5	34%	10%
90	10	35%	6%
90	15	34%	6%
90	20	29%	5%
T eb.	5	47%	7%
T eb.	10	43%	6%
T eb.	15	41%	5%
T eb.	20	39%	3%

Como se muestra en el Cuadro 6, el mayor incremento para las bebidas modelo elaboradas a partir de orujo con semilla fue de 47,1 por ciento correspondiente a la muestra sometida a temperatura de ebullición por 5 minutos, con un 88,21mg cianidina-3-glucósido/L; y de 10,5 por ciento para las bebidas modelo a partir de orujo sin semilla, con un 67,48 cianidina-3-glucósido/L de muestra.

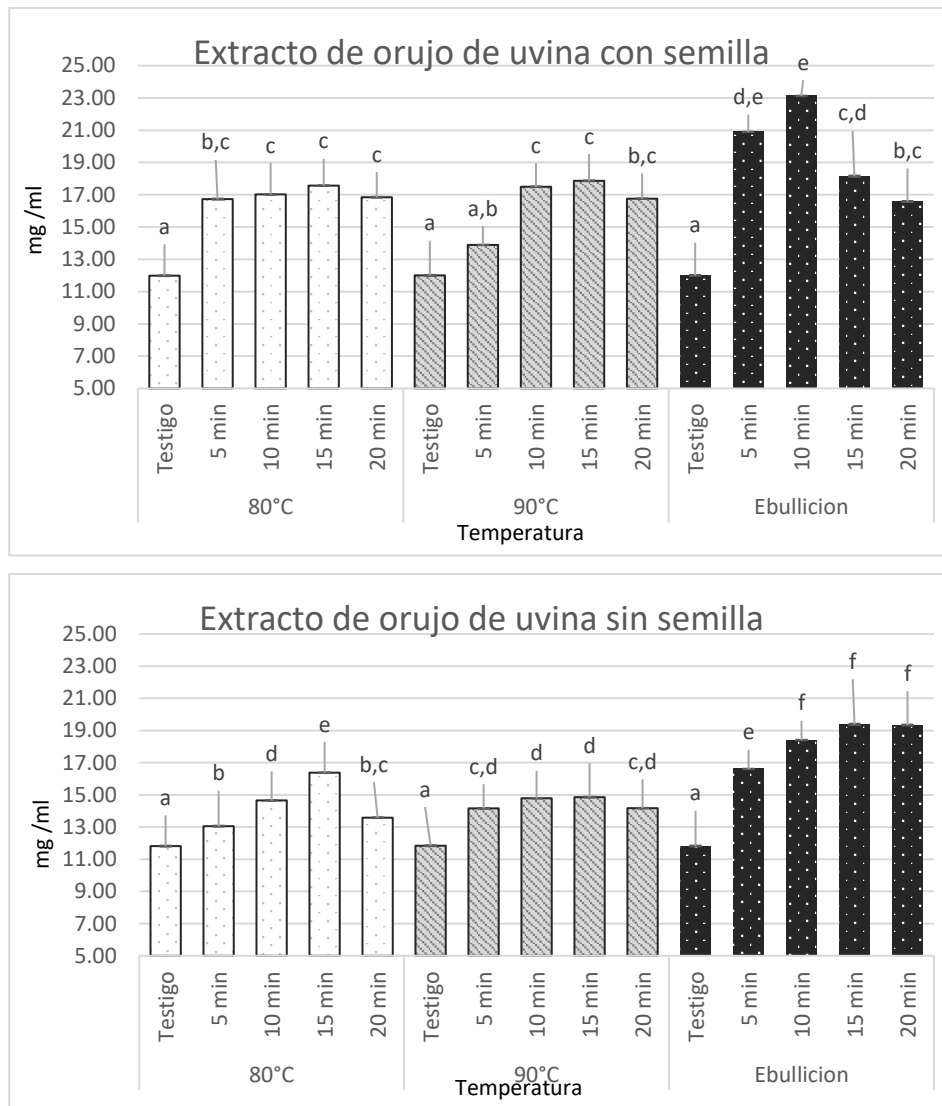
#### **4.3.2. SEDIMENTO**

La cantidad de sedimento en las bebidas modelo sometidas a los diferentes tratamientos térmicos se muestra en la Figura 9.

A un nivel de confianza del 95% se encontró que la presencia de semillas durante la obtención del extracto de orujo para la elaboración de la bebida modelo ejerce un efecto significativo en la cantidad de sedimento durante el tratamiento térmico. Al igual que el tiempo y temperatura empleada durante el procesamiento.

Posterior al tratamiento térmico, la cantidad de sedimento para las bebidas modelo con extracto de orujo con y sin semilla se incrementó; mostrando una diferencia significativa

respecto a la bebida testigo a un 95 % de confianza, con excepción de la bebida modelo elaborada de extracto de orujo con semilla sometida a 90 °C por 5 minutos.



**Figura 9: Contenido de sedimento (mg sedimento/ ml) en las bebidas modelo sometidas a los diferentes tratamientos térmicos**

Para ambas bebidas, los mayores contenidos de sedimento se presentaron para la temperatura de ebullición en comparación con las otras temperaturas estudiadas.

Se aprecia que conforme aumenta el tiempo de tratamiento térmico, para la bebida modelo elaborada de extracto de orujo con semilla, la cantidad de sedimento se incrementa hasta los 10 minutos de tratamiento, manteniéndose constante hasta los 15 minutos, para decrecer a los 20 minutos; con excepción de la temperatura de ebullición, la cual sufre una drástica caída en la cantidad de sedimentos a los 15 y 20 minutos. Esto pudo deberse a que, durante

el tratamiento a temperatura de ebullición, la bebida formaba burbujas típicas de esta temperatura, que arrastraron materiales insolubles hacia la superficie, originando que estas se queden adheridas a las paredes del recipiente empleado reportando por lo tanto una menor cantidad de sedimento.

Por otro lado, para la bebida modelo sin semilla, la cantidad de sedimentos para la temperatura de ebullición se incrementa hasta los 10 minutos, sin mostrar diferencia significativa a los 15 y 20 minutos de tratamiento.

Dentro de los compuestos que sedimentan durante el tratamiento térmico de las bebidas modelo están las antocianinas, así como también los taninos, los cuales están sujetos a destrucción por oxidación, condensación y precipitación (Vila *et al.* 2005). Vivas *et al.* (2002) y Zamora (2003); citados por Favre *et al.* (2013), indican que los procesos de polimerización pueden conducir a la formación de moléculas suficientemente grandes como para precipitar. Es decir, en los sedimentos presentes en las bebidas modelo, se encontrarían antocianinas degradadas, taninos insolubles y antocianinas y/o taninos polimerizados de gran tamaño, entre otros compuestos insolubles.

La mayor presencia de sedimentos en las bebidas elaboradas a partir de extracto de orujos con semilla concuerda con lo expuesto por Vila *et al.* (2005), quien indica que un mayor contacto con las semillas de uva proporciona contenidos más altos de taninos precipitables, debido a que se encuentran representados por moléculas grandes, muy polimerizadas y galoiladas (mayor presencia de ácido gálico).

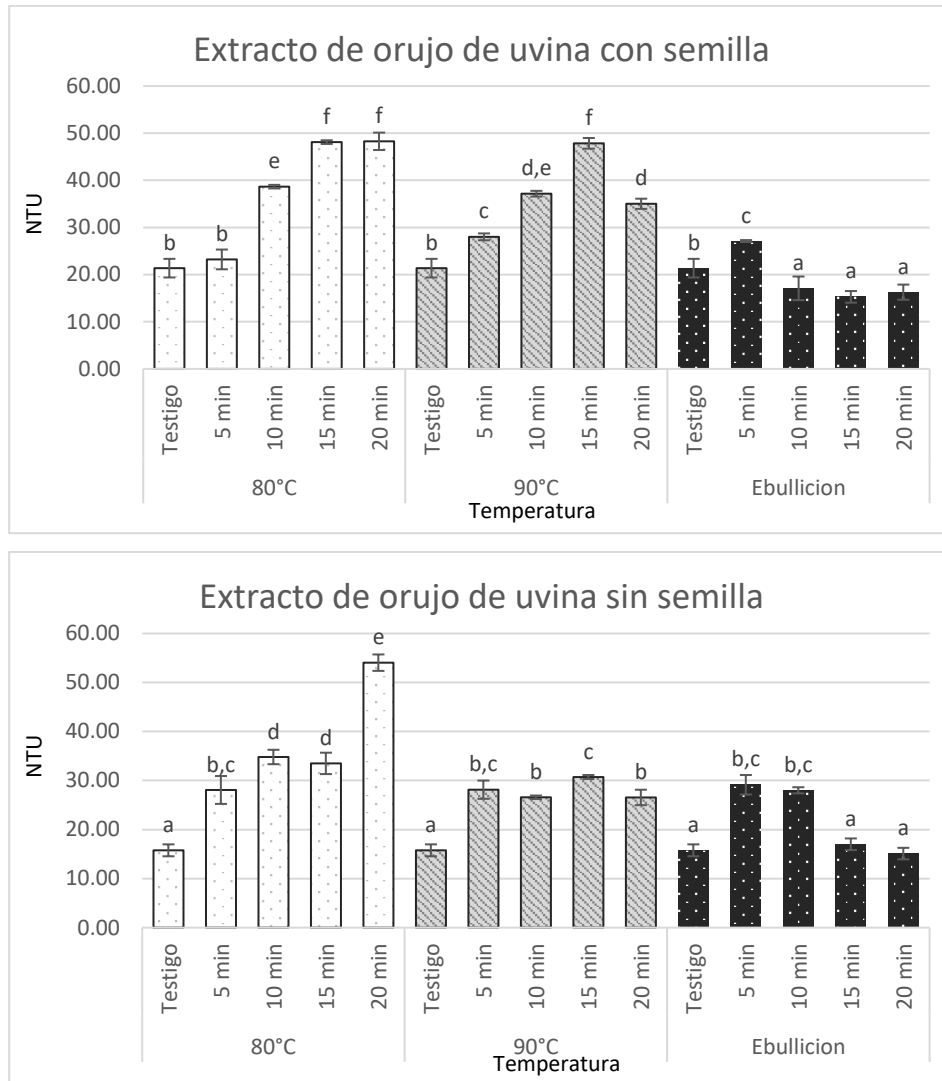
#### **4.3.3. TURBIDEZ**

En la Figura 10 se muestra el comportamiento de la turbidez en las bebidas modelo sometidas a los diferentes tratamientos térmicos.

A un nivel de confianza del 95 % se encontró que la presencia de semillas durante la obtención del extracto de orujo para la elaboración de la bebida modelo ejerce un efecto significativo en la cantidad de sedimento durante el tratamiento térmico, al igual que el tiempo y temperatura empleada durante el procesamiento.

La turbidez de las bebidas modelo elaboradas a partir de orujo con semilla sometidas a las temperaturas de 80 °C y 90 °C presentan una tendencia creciente conforme aumenta el tiempo de tratamiento térmico, mientras que la bebida sometida a temperatura de ebullición

presentó un incremento a los 5 minutos de tratamiento térmico, posterior al cual decrece, con valores inferiores al testigo, manteniéndose constante entre los tiempos de 10 y 20 minutos, sin mostrar una diferencia significativa a un 95 % de confianza.

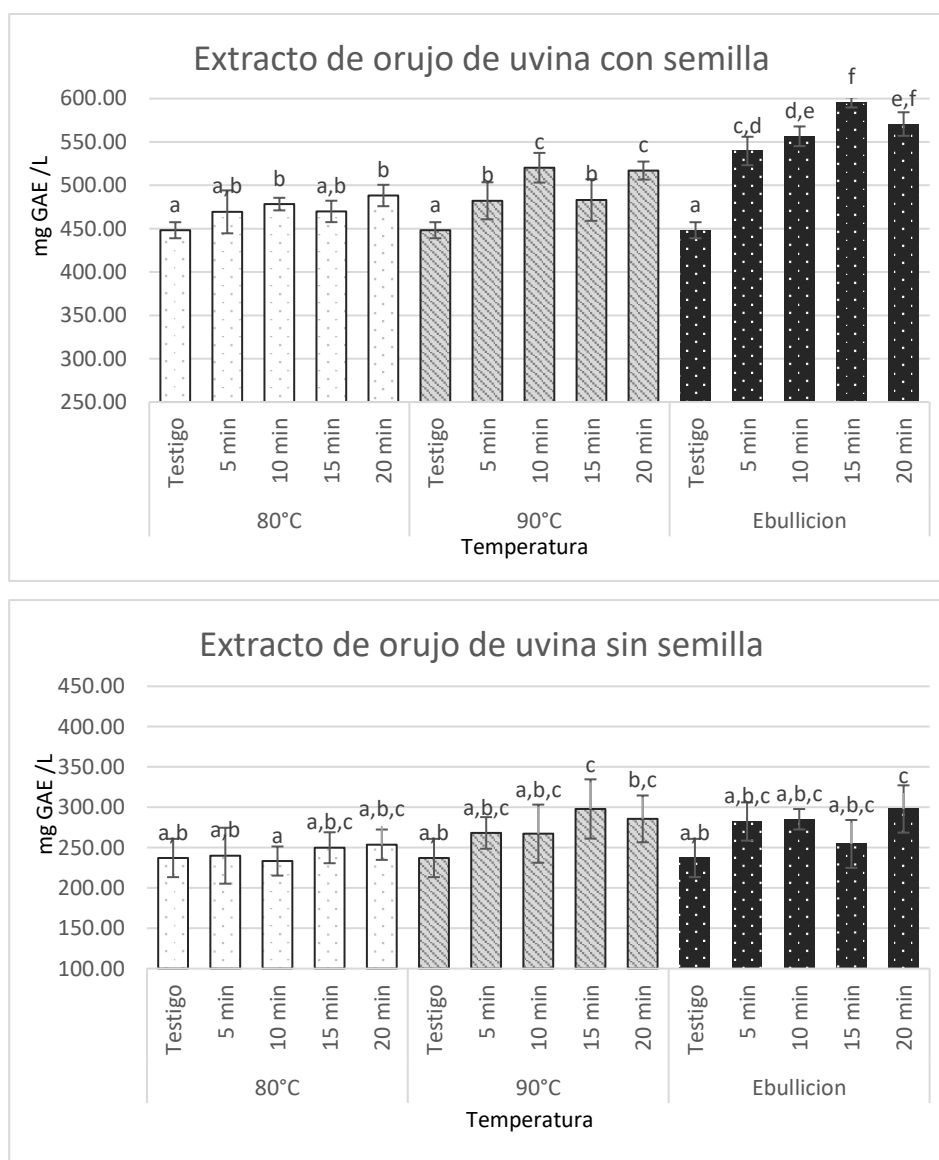


**Figura 10: Turbidez (NTU) en las bebidas modelo sometidas a los diferentes tratamientos térmicos**

En relación a los resultados obtenidos para las muestras elaboradas de orujo de uvina sin semilla, la turbidez se incrementó posterior al tratamiento térmico, mostrando mayores valores en comparación con el testigo para todos los tratamientos térmicos, con excepción de las bebidas sometidas a ebullición por 15 y 20 minutos, los cuales no presentaron diferencia significativa con el testigo.

#### 4.3.4. FENOLES TOTALES

En la Figura 11 se muestra el contenido de fenoles totales en las bebidas modelo sometidas a los diferentes tratamientos térmicos.



**Figura 11: Contenido de Fenoles totales (mg ácido gálico/L) en las bebidas modelo sometidas a los diferentes tratamientos térmicos**

A un nivel de confianza del 95 % se encontró que la presencia de semillas durante la obtención del extracto de orujo para la elaboración de la bebida modelo tuvo un efecto significativo en el contenido de fenoles totales (mg GAE/L) durante el tratamiento térmico; al igual que el tiempo, temperatura y la interacción de ambos factores empleados durante el procesamiento.

Se observa, para ambos casos, un incremento en el contenido de fenoles posterior al tratamiento térmico, respecto al testigo. Sin embargo, para la bebida modelo elaborada a partir de extracto de orujo sin semilla los incrementos no son significativos para ninguno de los tiempos a temperatura de 80 °C. Para la bebida sometida a temperatura de 90 °C este incremento es significativo a los 15 y 20 minutos de tratamiento térmico, mientras que para la bebida tratada a temperatura de ebullición el incremento es significativo recién a los 20 minutos de tratamiento.

Por otro lado, en la bebida modelo elaborada con extracto de orujo con semilla, todos los tratamientos con excepción de 80 °C por 5 y 15 minutos, presentaron incrementos significativos respecto al testigo; mostrando mayores incrementos conforme se aumenta la temperatura de tratamiento térmico. Las bebidas sometidas a temperatura de ebullición fueron las que presentaron mayores contenidos de fenoles totales, alcanzando hasta un 33 por ciento de incremento a los 15 minutos.

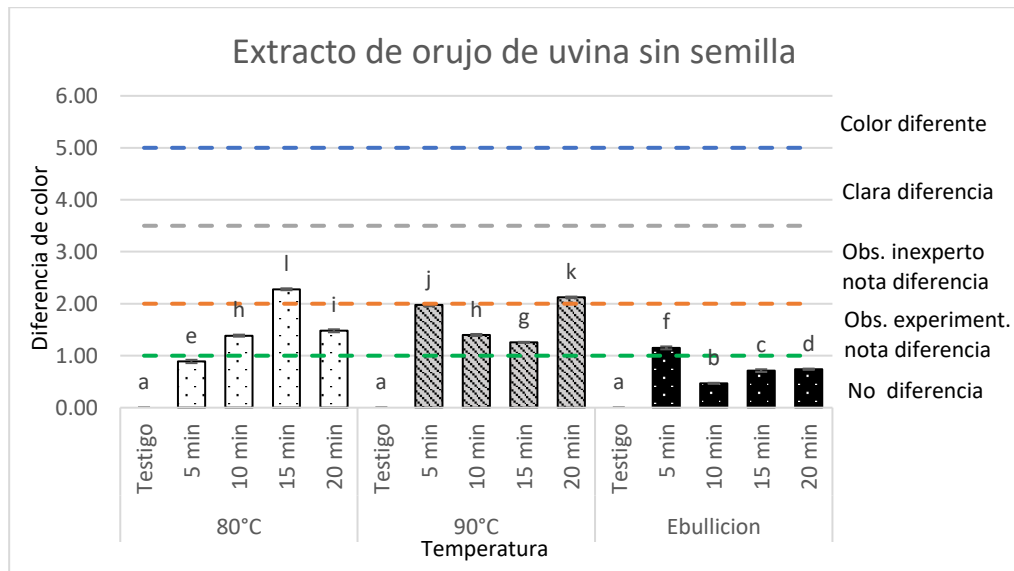
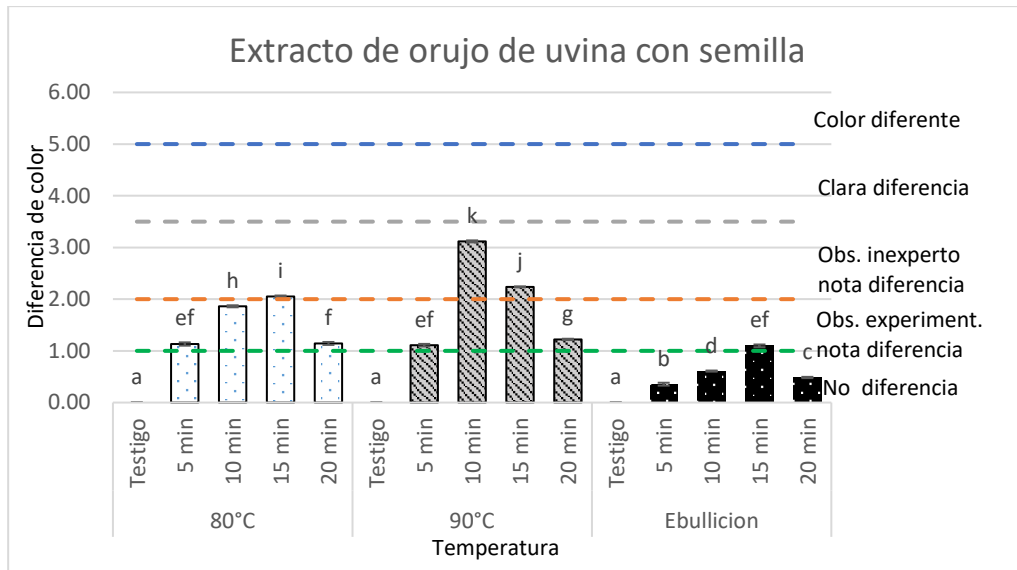
Para las bebidas analizadas, estos incrementos en el contenido de polifenoles totales podrían asociarse directamente con el aumento de las antocianinas producto de la transformación de las proantocianinas por el tratamiento térmico y a la polimerización de las antocianinas monoméricas, que produce polímeros detectados como fenoles (Wu *et al.* 2010; citados por Camelo y Sotelo 2012).

En cuanto al índice de correlación obtenido para el contenido de antocianinas y el contenido de polifenoles totales en las bebidas modelo a partir de extracto de orujo fue de 0,81; lo cual confirmaría que poseen una fuerte relación.

#### **4.3.5. COLOR CIE LAB**

La diferencia de color respecto al testigo ( $\Delta E$ ) en las bebidas modelo sometidas a los diferentes tratamientos térmicos se muestra en la Figura 12, en la cual se representan los rangos mencionados por Mokrzycki y Tatol (2012).

A un nivel de confianza del 95 %, se determinó que la presencia de semillas durante la obtención del extracto no ejerce un efecto significativo en la diferencia de color de la bebida tratada térmicamente, con respecto al testigo. Mientras que los factores temperatura y tiempo si presentan un efecto significativo.



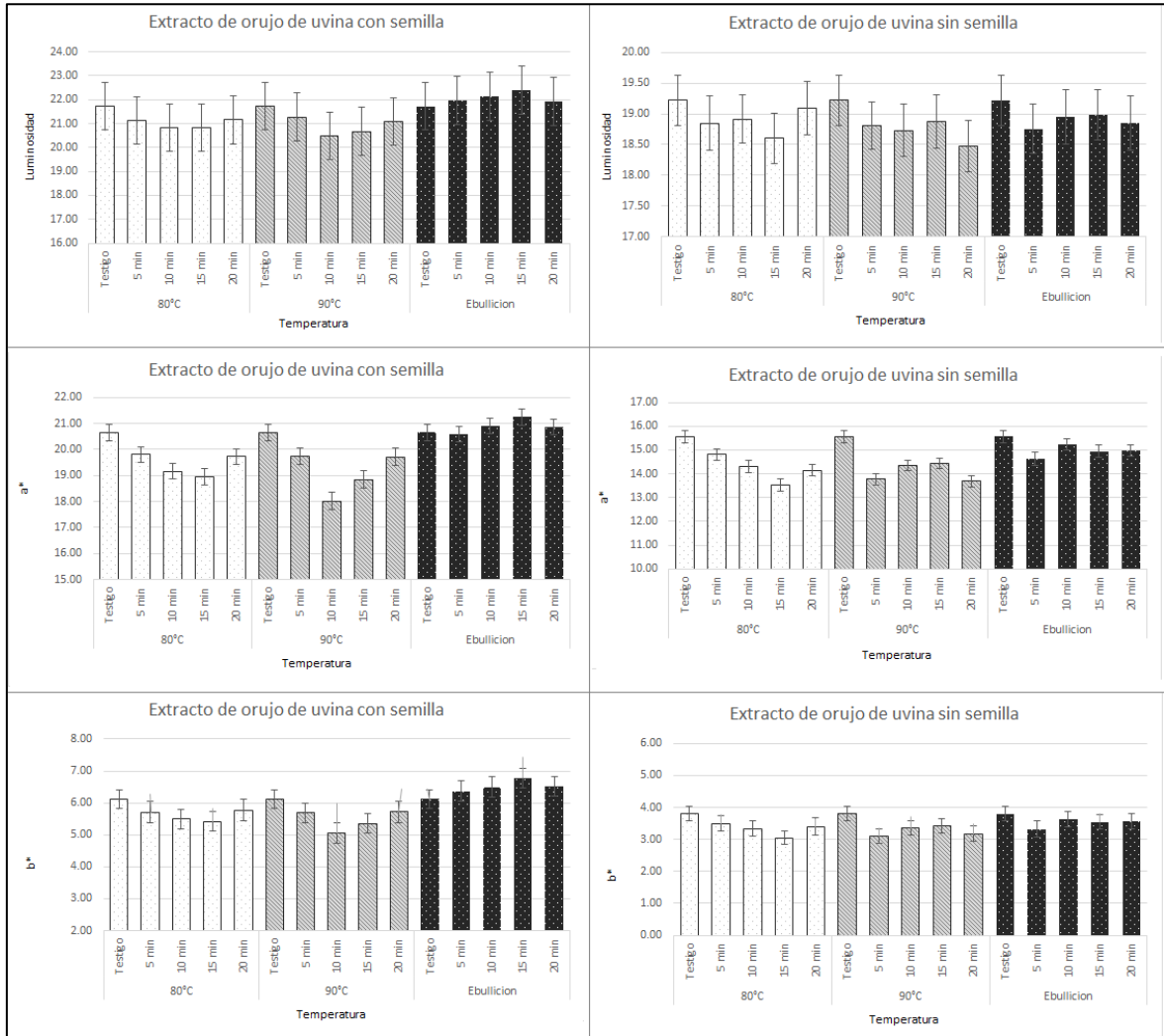
**Figura 12: Diferencia de color en las bebidas modelo sometidas a los diferentes tratamientos térmicos**

Ambas bebidas modelo presentan fluctuaciones en la diferencia de color respecto al testigo ( $\Delta E$ ); sin embargo, para ambos casos no llega a sobrepasar el límite donde el observador nota una clara diferencia de color ( $3,5 < \Delta E < 5$ ), por lo cual podría afirmarse que el color de las bebidas modelo es relativamente estable al tratamiento térmico.

Incluso al comparar las temperaturas empleadas, las bebidas sometidas a temperatura de ebullición presentan una menor diferencia de color tanto para las obtenidas con extracto de orujo con semilla como sin semilla, encontrándose en el rango donde un observador experimentado podría notar la diferencia, pero un observador inexperto no lograría percibirla.



Estos pequeños cambios de color podrían deberse principalmente al aumento en el contenido de antocianinas producto de la transformación de las procianidinas durante el tratamiento térmico (Blanco 2013) y a la degradación y polimerización de las mismas con taninos, formando pigmentos oligoméricos y poliméricos, que son más estables, pero producen cambios a colores rojos pardos (Monagas *et al.* 2006; citados por Reyes 2013).



**Figura 13: Color CIE L\*a\*b de las bebidas modelo sometidas a los diferentes tratamientos térmicos**

Los parámetros de color L\*a\*b de las bebidas modelo elaboradas con extracto de orujo de uvina con semilla sometidas a tratamiento térmico a 80 °C y 90 °C presentaron una disminución respecto al testigo; es decir, se tornaron más oscuras e incrementaron las tonalidades verdes y azules; mientras que las bebidas sometidas a ebullición incrementaron el valor de dichos parámetros, tornándose más claras incrementando las tonalidades rojas y amarillas. Lo cual según Zapata (2014) se debería a que el tratamiento térmico en alimentos

que contienen antocianinas, causa la ruptura de los enlaces covalentes y modificaciones en el número y arreglos de los grupos hidroxilados y glicosilados de las antocianinas, generando incrementos en la hidroxilación lo cual produce tonalidades azules o incrementando las metoxilaciones produciendo coloraciones rojas.

Por otra parte, las bebidas elaboradas con extracto de orujo de uva sin semilla sometidas a tratamiento térmico presentaron una disminución en los parámetros de color  $L^*a^*b$  para todas las temperaturas estudiadas; lo cual indica que las bebidas se tornaron más oscuras e incrementaron las tonalidades verdes y azules.

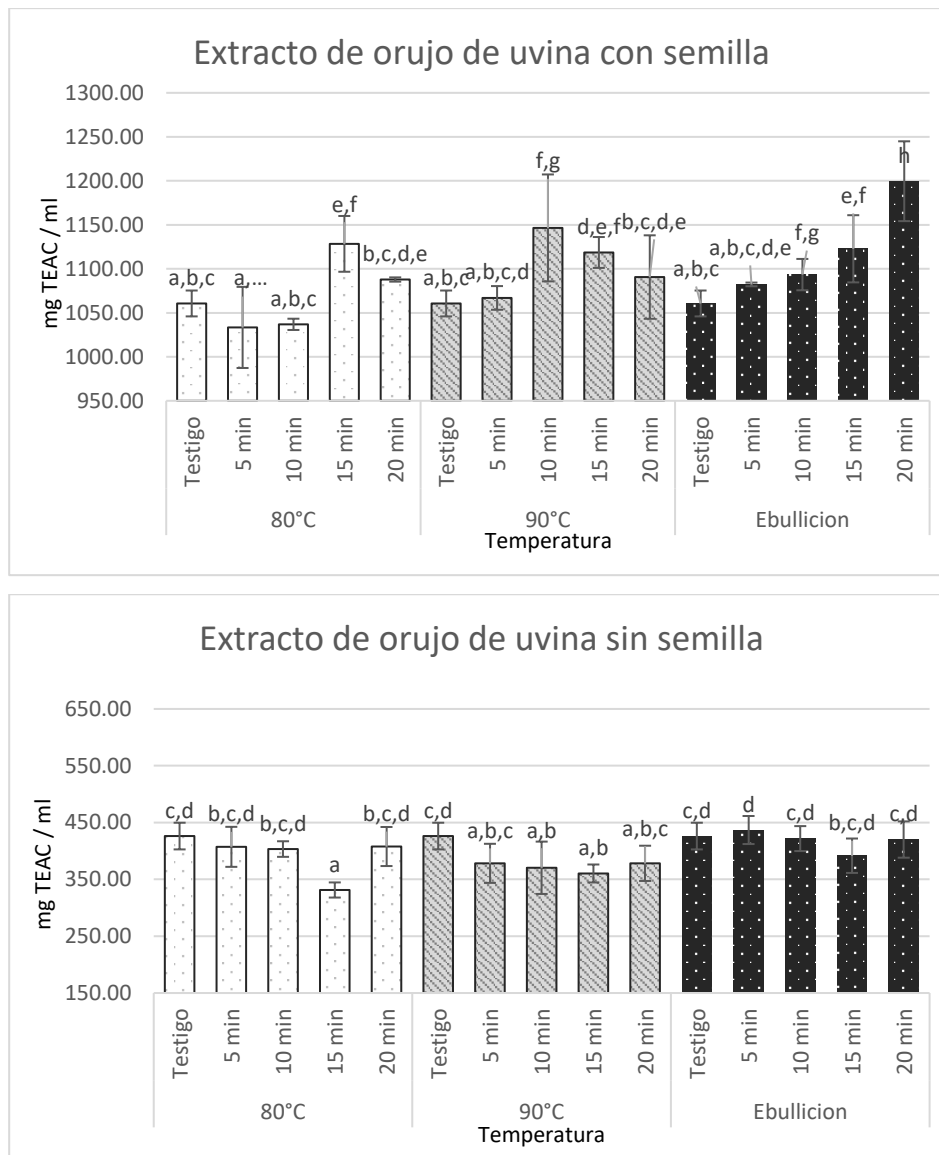
#### **4.3.6. CAPACIDAD ANTIOXIDANTE**

La capacidad antioxidante en las bebidas modelo sometidas a los diferentes tratamientos térmicos se muestra en la Figura 14.

A un nivel de confianza del 95 %, se determinó que la presencia de semillas durante la obtención del extracto, al igual que la temperatura de tratamiento térmico ejerce un efecto significativo en la capacidad antioxidante (mg TEAC / ml) de la bebida tratada térmicamente con respecto al testigo. Mientras que el factor tiempo de tratamiento no presenta un efecto significativo en dicha propiedad.

En cuanto al efecto del tratamiento térmico en las bebidas modelo, se observa dos comportamientos distintos para las muestras con orujo de uva con semilla y sin semilla. En el primer caso, se aprecia un incremento en la capacidad antioxidante posterior al tratamiento térmico, respecto al testigo; con excepción de las muestras tratadas a 80°C por 5 y 10 minutos, las cuales presentan una disminución no significativa respecto al testigo. Los mayores incrementos se presentaron para las muestras tratadas a ebullición, llegando a alcanzar un aumento de 13 por ciento, a los 20 minutos.

Por otro lado, la muestra del extracto sin semilla presenta una disminución en la capacidad antioxidante para las temperaturas de 80 °C y 90 °C. Sin embargo, la muestra sometida a temperatura de ebullición mostró un aumento no significativo en los primeros 5 minutos de tratamiento, tiempo después del cual empieza a disminuir hasta valores cercanos al testigo, los cuales no presentan diferencia significativa a un 95 % de confianza con el testigo. La mayor pérdida de capacidad antioxidante fue de 11 por ciento para la muestra tratada a 90°C por 20 minutos.



**Figura 14: Capacidad antioxidante (mg TEAC/ml) en las bebidas modelo sometidas a los diferentes tratamientos térmicos**

Estos cambios en la actividad antioxidante de las bebidas modelo, podría deberse a la degradación térmica de las antocianinas, lo cual pudo dar lugar a la formación de compuestos derivados que también presentaron propiedades antioxidantes (Oliveira *et al.* 2010; citados por Claudio y Nájera 2012) o compuestos con menor potencial antioxidante, Al respecto, Azofeifa (2015) sostiene que los tratamientos térmicos causan ruptura de los enlaces covalentes y modificaciones en el número y arreglos de los grupos hidroxilados y glicosilados de las antocianinas, la severidad y naturaleza de estas reagrupaciones determinaría la pérdida o aumento de la actividad de las antocianinas.

Los índices de correlación hallados para el contenido de antocianinas y fenoles totales con la actividad antioxidante de las bebidas modelo fue de 0,72 y 0,95 respectivamente; lo cual indica que el contenido de antocianinas presenta una baja correlación con la actividad antioxidante frente al contenido de polifenoles con la actividad antioxidante. Estos resultados concuerdan por lo reportado por Arnous *et al.* (2001); citados por Larrea (2012), quienes exponen que las propiedades antioxidantes de los vinos se suelen correlacionar con su contenido en flavanoles, antocianos y ácido tánico, pero estas propiedades se correlacionan mejor con los fenoles totales que con los compuestos individuales.

En cuanto al aumento o disminución de la capacidad antioxidante por tratamientos térmicos, no existe un consenso entre los autores, Claudio y Nájera (2012) reportaron un aumento en la actividad antioxidante después de someter arándano, a tratamiento de cocción. Mientras que Sánchez *et al.* (2015) encontraron que el jugo de zarzamora disminuía su actividad antioxidante luego de ser sometido a pasteurización.

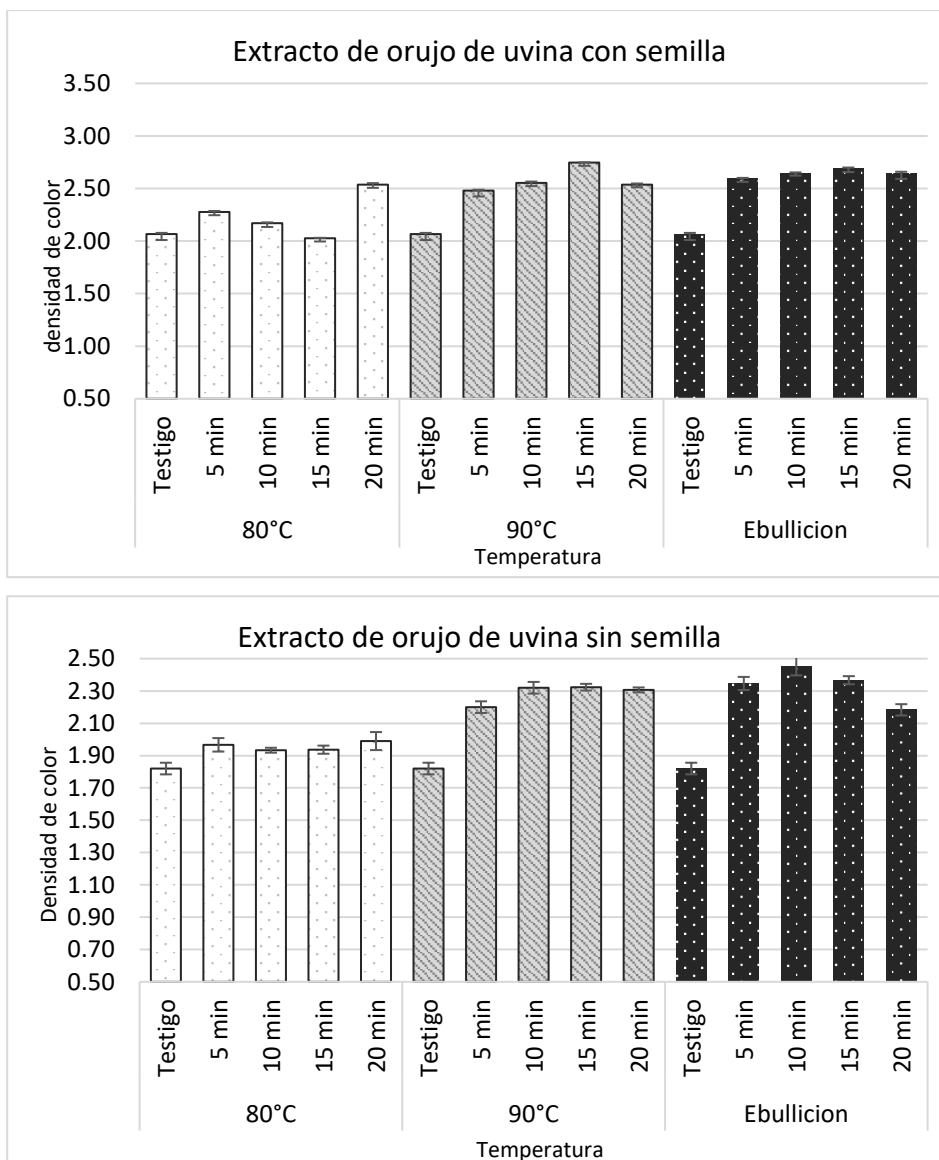
#### **4.3.7. COLOR POLIMÉRICO**

Los resultados para densidad de color, color polimérico y porcentaje de color polimérico para las bebidas modelo sometidas a los diferentes tratamientos se muestran en la Figura 15, 16 y 17.

Las bebidas modelo a partir de orujo con y sin semilla en términos generales presentan un incremento de la densidad de color conforme se prolonga el tiempo de tratamiento térmico, con excepción de las bebidas de extracto de orujo con semilla tratadas por 10 y 15 minutos a 80°C, presentando valores inferiores al testigo.

Siendo para ambos casos el menor aumento en la densidad de color presentado por las bebidas modelo tratadas a 80°C, mientras que aquellas tratadas a temperaturas de 90°C y ebullición presentaron los mayores incrementos.

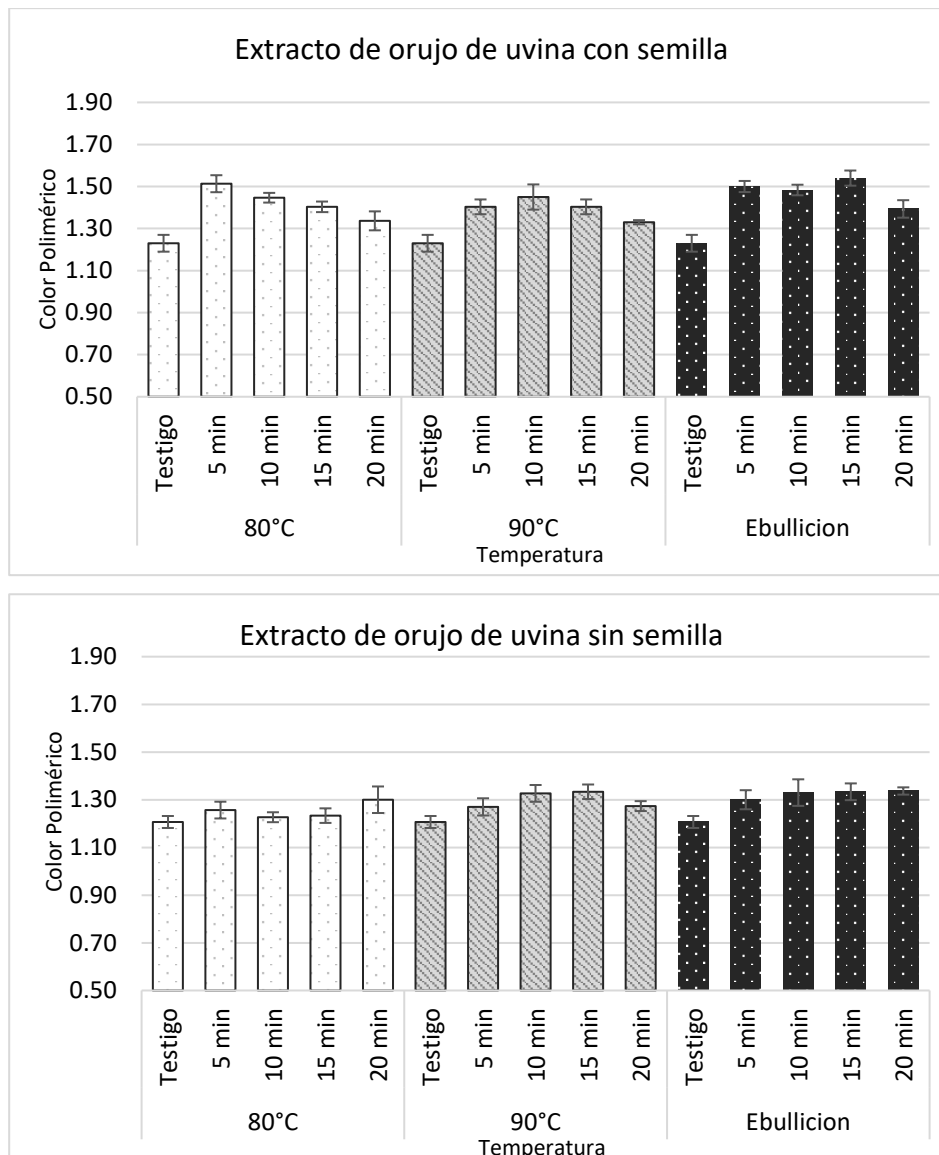
Estos incrementos según Saldaña (2004) en sistemas modelo con extracto de ciruela, sería debido a las antocianinas monoméricas, a los polímeros y otros productos de reacción, formados durante el tratamiento térmico, lo cual tendría relación con los resultados obtenidos para antocianinas monoméricas en las bebidas modelo elaboradas a partir de extracto de orujo de uvina, las cuales presentaron incrementos, posterior al tratamiento térmico.



**Figura 15: Densidad de color en las bebidas modelo sometidas a los diferentes tratamientos térmicos**

Por otra parte, el color polimérico para las bebidas modelo experimenta un leve incremento, respecto al testigo.

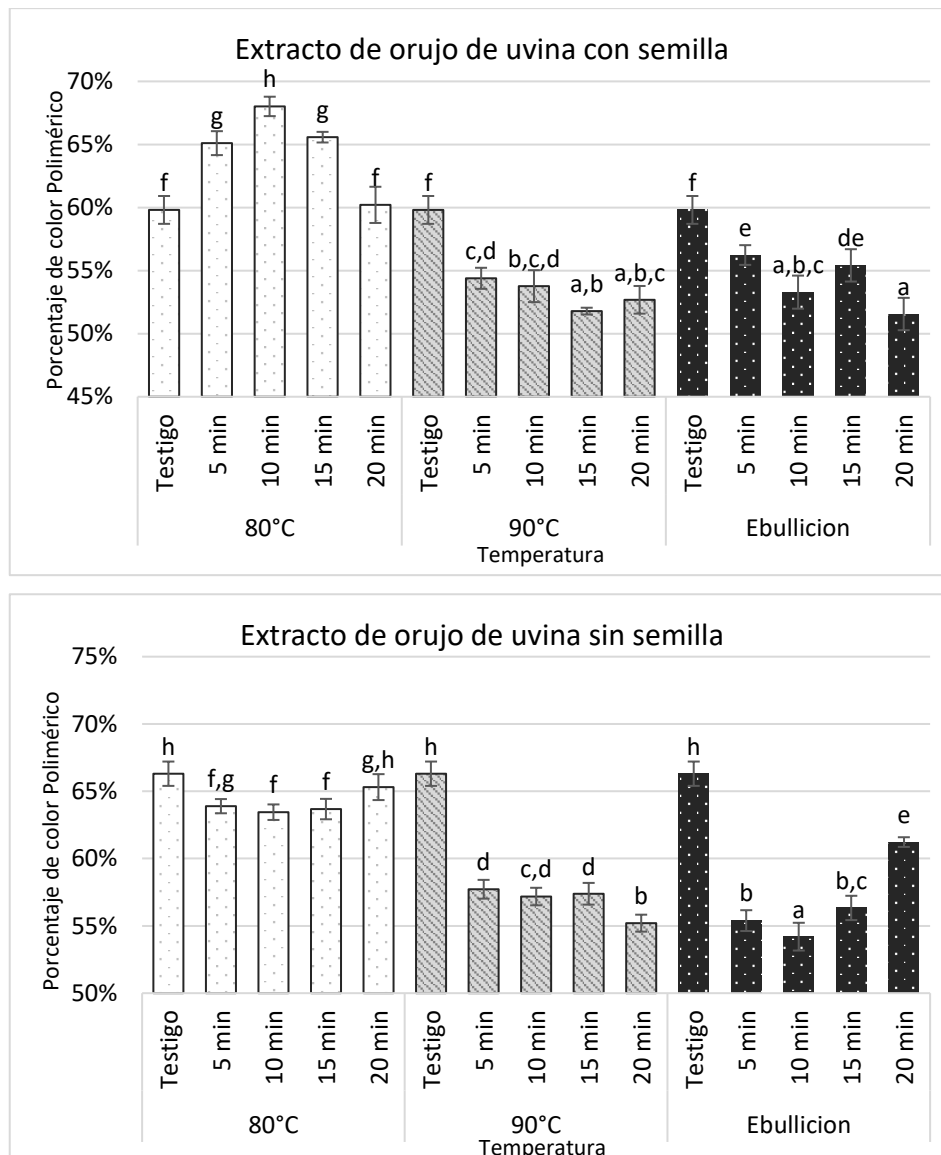
La bebida elaborada a partir de orujo con semilla sometida a temperatura de ebullición presenta mayores incrementos; mientras que las bebidas sometidas a la temperatura de 90 °C, muestran una disminución del color polimérico después de los 10 minutos. Estos aumentos podrían deberse a que durante el tratamiento térmico se llevaron a cabo reacciones de polimerización, que condujeron al aumento y al mismo tiempo precipitación de algunos de estos compuestos por sus altos grados de polimerización (Hermosín 2007).



**Figura 16: Color polimérico en las bebidas modelo sometidas a los diferentes tratamientos térmicos**

En cuanto al porcentaje de color polimérico a un nivel de confianza del 95 %, se determinó que la presencia de semillas durante la obtención del extracto, al igual que la temperatura y tiempo de tratamiento térmico, tienen un efecto significativo en el porcentaje de color polimérico de la bebida tratada térmicamente, con respecto al testigo.

Las bebidas modelo a partir de extracto de orujo con y sin semilla tratadas térmicamente presentan una tendencia a disminuir, respecto al testigo; con excepción de las bebidas de orujo con semilla expuestas a la temperatura de 80 °C, en la cual el porcentaje de color polimérico aumenta para todos los tiempos de tratamiento, salvo en la bebida tratada por 20 minutos, la cual no presenta diferencia significativa con el testigo.



**Figura 17: Porcentaje de color polimérico en las bebidas modelo sometidas a los diferentes tratamientos térmicos**

Por otra parte, la bebida de orujo sin semilla sometida a 80 °C, pese a mostrar un menor porcentaje de color polimérico respecto al testigo; con excepción de la bebida tratada por 20 minutos (la cual no presenta diferencia significativa); contiene un mayor porcentaje de color polimérico en comparación con las bebidas sometidas a los demás tratamientos.

Los menores porcentajes de color polimérico para las muestras sometidas a temperaturas de 90 °C y ebullición tendría relación con el aumento de las antocianinas monoméricas producto del tratamiento térmico de las bebidas, lo cual se vio reflejado en el incremento de la densidad de color; mientras que el color polimérico se mostró relativamente estable, con leves aumentos. Por lo tanto, un mayor incremento de las antocianinas monoméricas y un

moderado incremento de las poliméricas se tradujeron en un menor porcentaje de antocianinas poliméricas en las bebidas estudiadas.

#### **4.3.8. TANINOS CONDENSADOS**

En la Figura 18, se muestran la cantidad de taninos condensados en las bebidas modelo sometidas a los diferentes tratamientos térmicos.

A un nivel de confianza del 95 %, se determinó que la presencia de semillas durante la obtención del extracto, al igual que la temperatura y tiempo de tratamiento térmico, tiene un efecto significativo en el contenido de taninos de la bebida tratada térmicamente, con respecto al testigo.

Para ambas bebidas, se obtiene un incremento en la cantidad de taninos, al ser sometidas a tratamiento térmico. Mostrando en la bebida elaborada a partir de orujo con semilla, una diferencia significativa, respecto al testigo para todos los tratamientos; mientras que en las bebidas elaboradas a partir de orujo sin semilla, los aumentos para los tratamientos de 80 °C por 5 y 10 minutos, al igual que ebullición por 20 minutos no presentan una diferencia significativa.

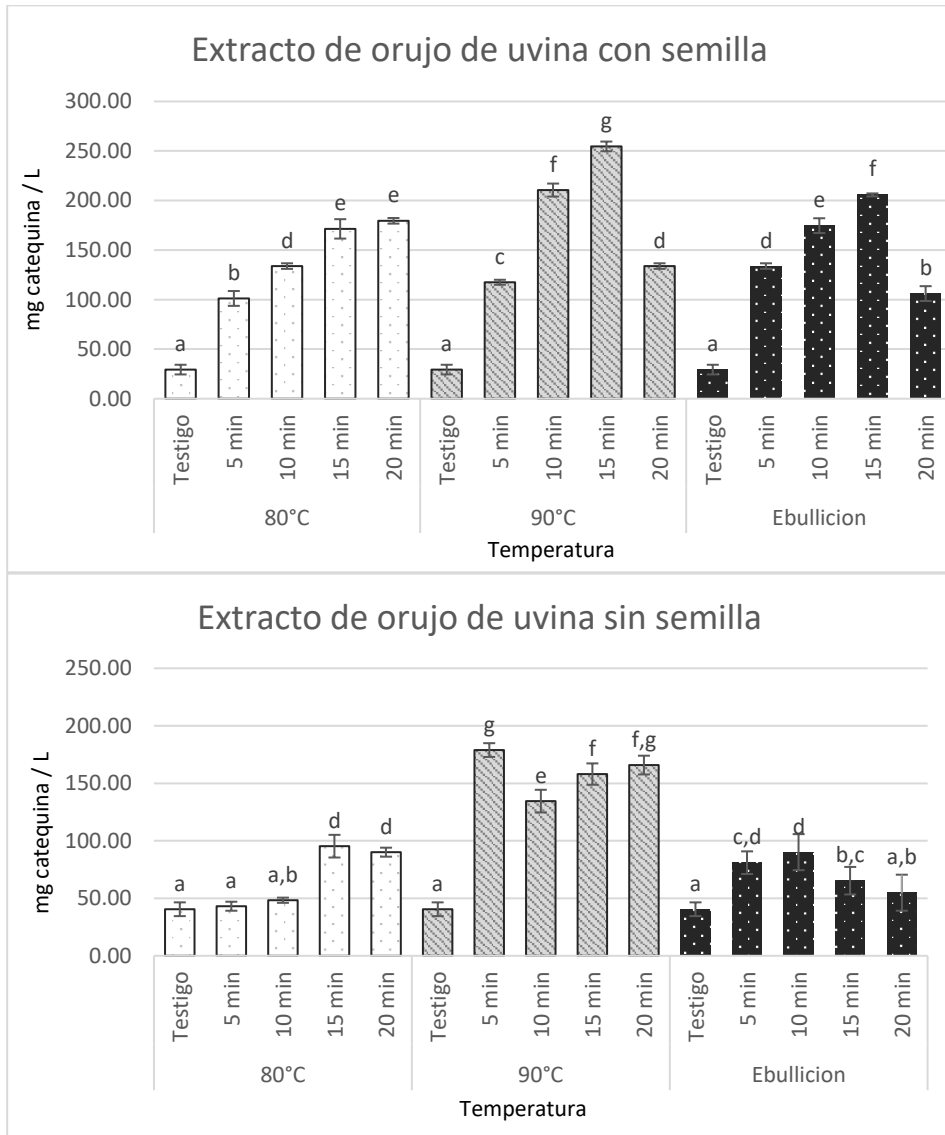
Los mayores incrementos para ambas bebidas se presentaron para el tratamiento térmico a temperatura de 90 °C; siendo incluso en la bebida modelo con extracto de orujo con semilla hasta 7,67 veces más que el testigo para el tratamiento a 90°C por 15 minutos; mientras que para la bebida con extracto de orujo sin semilla, el mayor incremento fue de 3,42 veces para el tratamiento a 90°C por 5 minutos.

Este comportamiento concuerda con lo reportado por Fuleki y Ricardo-Da-Silva (2003), quienes encontraron que el tratamiento térmico de pasteurización en jugo de uva incrementó el contenido de procianidinas, al igual que Khanal *et al.* (2007) durante la extrusión de pulpa de arándano, Estos investigadores sostienen, que durante el tratamiento térmico se llevan a cabo reacciones de degradación, polimerización y despolimerización, esta última sería la responsable de la conversión de las procianidinas oligoméricas y poliméricas en dímeros, monómeros y oligómeros inferiores, es decir del aumento del contenido de procianidinas de bajo peso molecular a costa de las procianidinas de alto peso molecular.

Esto también explicaría los mayores incrementos en el contenido de taninos para la bebida con extracto de orujo con semilla respecto a la obtenida de extracto sin semilla, ya que las



procianidinas provenientes de las semillas contienen una elevada cantidad de taninos con alto grado de polimerización (Ribereau-Gayón 1971; citado por Aleixandre 2011), por lo que la despolimerización de estas; producto del tratamiento térmico, originaría mayor cantidad de dímeros y monómeros.



**Figura 18: Contenido de taninos condensados (mg catequina equivalente/L) en las bebidas modelo sometidas a los diferentes tratamientos térmicos**

#### **4.4. COMPORTAMIENTO DE LOS PRINCIPALES COMPUESTOS DE LAS BEBIDAS MODELO SOMETIDAS A TRATAMIENTO TÉRMICO, DURANTE EL ALMACENAMIENTO**

##### **4.4.1. ANTOCIANINA**

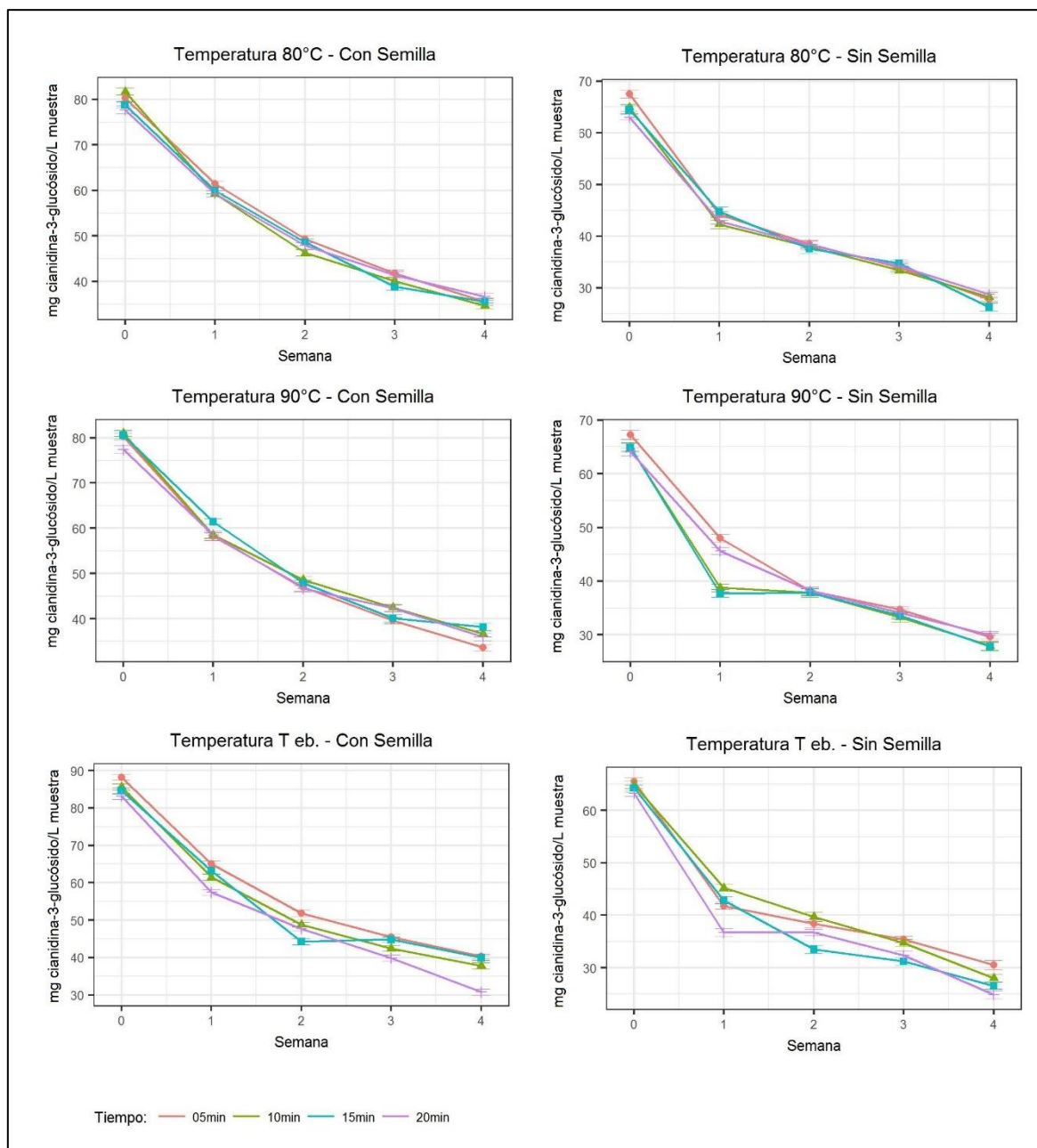
En la Figura 19 se muestra el contenido de antocianinas monoméricas en las bebidas modelo tratadas térmicamente durante el almacenamiento. A lo largo del periodo de almacenamiento, el contenido de antocianinas en ambas bebidas muestra una clara tendencia a disminuir, alcanzando valores mínimos en la cuarta semana. Para todas las bebidas tratadas térmicamente el porcentaje de pérdida de antocianinas al finalizar el periodo de almacenamiento fue mayor a 50%.

La tendencia para las bebidas modelo elaboradas a partir de orujo con semilla durante el almacenamiento es bastante similar para todas las temperaturas y tiempo de tratamiento térmico a los que fueron sometidas; de igual forma ocurre en las bebidas elaboradas a partir de orujo sin semilla.

La disminución del contenido de antocianinas monoméricas ocurrida durante el almacenamiento, se debería a la degradación y consecuente precipitación de las antocianinas (Delgado-Vargas 2000; citado por Hernández 2014) y a la polimerización como mecanismo de estabilización con otros compuestos fenólicos presentes en las bebidas modelo (Reyes 2013). La degradación causada por la oxidación de antocianinas se vería potenciada por el alto contenido de agua que posee la bebida; ya que en este tipo de matrices acuosas puede disolverse mayor cantidad de oxígeno (Zapata, 2014).

En cuanto a la cinética de degradación de las antocianinas durante el almacenamiento, los coeficientes de determinación ( $R^2$ ) más altos obtenidos para las bebidas modelo elaborada a partir de extracto de uvina con semilla (0,9984; 0,9968 y 0,9902) se obtuvieron al evaluar la cinética de degradación de las antocianinas con el modelo de segundo orden para las temperaturas de 80 °C, 90 °C y ebullición, respectivamente.

De igual forma, para las bebidas elaboradas a partir del extracto sin semilla, se observa que los coeficientes de determinación ( $R^2$ ) más altos corresponden a una cinética de segundo orden (0,974; 0,980 y 0,979) para las temperaturas de 80 °C, 90 °C y ebullición.



**Figura 19: Contenido de antocianinas monoméricas (mg cianidina-3-glucósido/L) en las bebidas modelo tratadas térmicamente durante el almacenamiento**

Los coeficientes de correlación ( $R^2$ ) fueron, próximos a 1 señalando una fuerte relación lineal entre las variables ( $1/C$ ) y el tiempo de almacenamiento; a medida que el tiempo de almacenamiento aumentó, menor fue la concentración de antocianinas en las bebidas.

**Cuadro 7: Coeficiente de cinética de degradación de las antocianinas contenidas en las bebidas modelo durante el almacenamiento**

Cinética de degradación	Temperatura		
	80°C	90°C	Ebullición
	R2	R2	R2
Orden 0	Con Extracto de orujo con semilla		
	0,9319	0,9174	0,8991
	0,9773	0,9697	0,9576
Orden 1	<u>0,9984</u>	<u>0,9968</u>	<u>0,9902</u>
Orden 2	Con extracto de orujo sin semilla		
Orden 0	0,8777	0,8553	0,8656
Orden 1	0,9425	0,9255	0,9336
Orden 2	<u>0,9757</u>	<u>0,972</u>	<u>0,9719</u>

Los parámetros cinéticos encontrados para las bebidas modelo se muestran en el cuadro 8.

**Cuadro 8: Parámetros cinéticos para las bebidas modelo durante el almacenamiento**

Bebida modelo elaborada con extracto de orujo	Temperatura (°C)	Orden de Reacción	K (semanas <sup>-1</sup> )	t1/2 (Semanas)	Modelo cinético
Con semilla	80	Segundo	0,0039	3,31	CA=0,0039t + 0,0129
	90	Segundo	0,0039	3,33	CA=0.0039t+0.013
	Ebullición	Segundo	0,0039	3,18	CA=0.0039t+0.0124
Sin semilla	80	Segundo	0,0046	3,61	CA =0,0046t + 0,0166
	90	Segundo	0,0044	3,82	CA = 0.0044t + 0.0168
	Ebullición	Segundo	0,0046	3,65	CA = 0.0046t + 0.0168

La velocidad del proceso de degradación de antocianinas (k) para las bebidas modelo elaboradas a partir de extracto de uva con semilla tratadas térmicamente durante el almacenamiento, no presentó diferencia para las temperaturas 80°C, 90°C y ebullición, siendo de 0.0039 semanas<sup>-1</sup>. Mientras que, para la bebida elaborada con extracto sin semilla tratadas térmicamente, las velocidades de degradación presentan pequeñas diferencias siendo 0,0046, 0,0044 y 0,0046 semanas<sup>-1</sup> para las temperaturas de 80°C, 90°C y ebullición.

El pequeño valor fue debido a que la cinética de degradación durante el almacenamiento, fue baja; lo que significa que el deterioro de las antocianinas fue relativamente lento durante dicho periodo. Siendo incluso menor para las bebidas elaboradas a partir de extracto de uva con semilla frente a las que fueron elaboradas a partir de extracto sin semilla, lo cual indicaría

que la presencia de semillas durante la obtención del extracto disminuye la velocidad de degradación de las antocianinas durante el almacenamiento. Esto podría deberse a la estructura de las antocianinas, siendo la malvidina la antocianina principal en las uvas, la cual tiene derivados acilados, que le brindan mayor estabilidad (Zapata 2014).

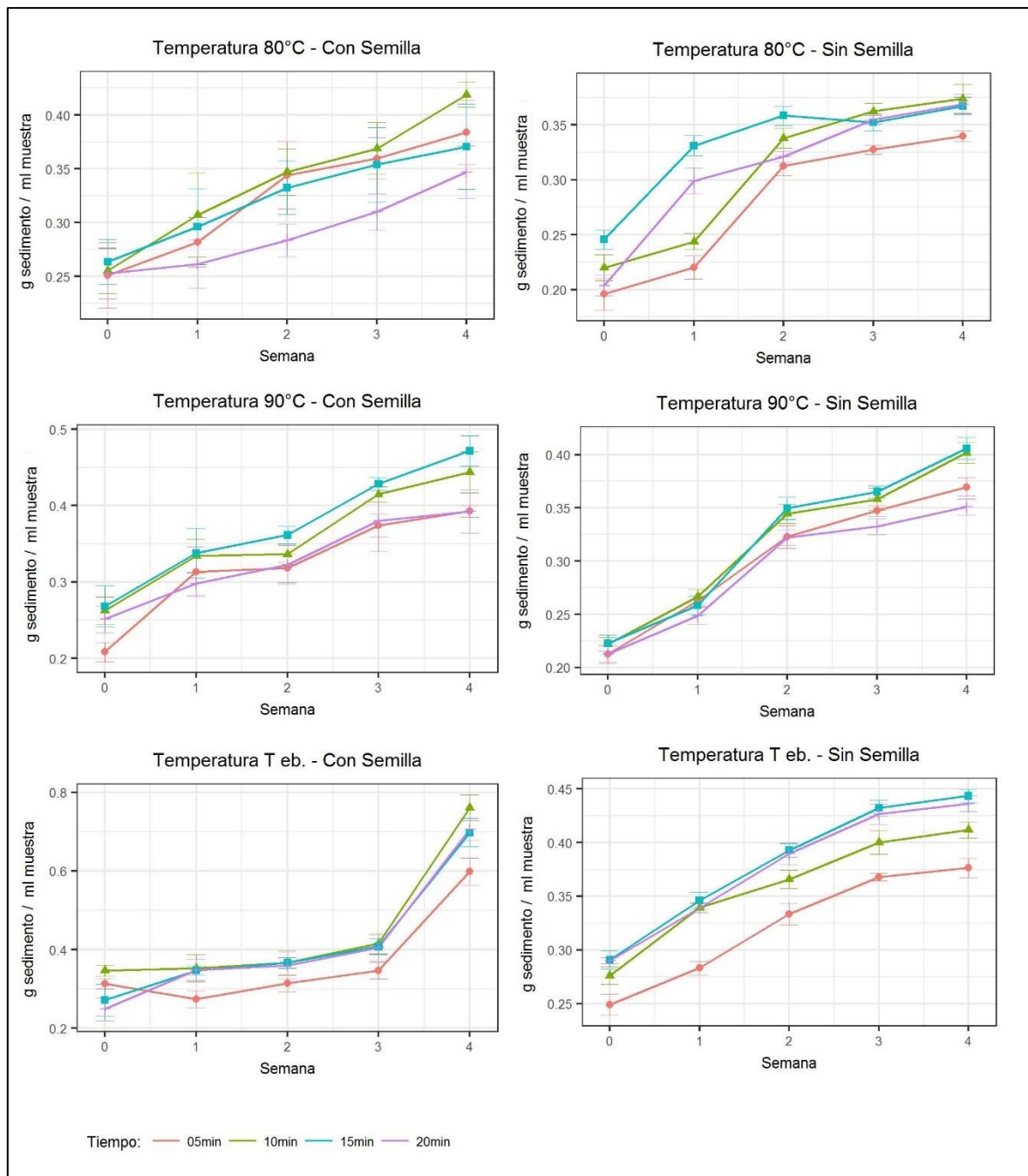
#### **4.4.2. SEDIMENTO**

En la Figura 20 se muestra el contenido de sedimento en las bebidas modelo tratadas térmicamente, durante las cuatro semanas de almacenamiento.

El contenido de sedimento durante este periodo presenta una tendencia creciente para todas las muestras, esto se debe a que continúan las reacciones de degradación y polimerización, que provocan la precipitación de las antocianinas monoméricas, poliméricas y de taninos (Vila *et al.* 2005).

Para las bebidas modelo obtenidas a partir de extracto de orujo de uva con semilla, este incremento en el contenido de sedimentos se acentúa conforme aumenta la temperatura de tratamiento térmico, mostrando una tendencia creciente más pronunciada para la temperatura de ebullición entre la tercera y cuarta semana.

De igual forma, las bebidas modelo elaboradas a partir de orujo sin semilla, también presentan una tendencia creciente en la cantidad de sedimento durante el periodo de almacenamiento. Sin embargo, este incremento es inferior a los presentados por las bebidas modelo a partir de orujo con semilla. Lo que significa que, la presencia de semillas de uva durante la obtención del extracto, genera una mayor cantidad de sedimentos durante el almacenamiento en comparación con las obtenidas a partir de orujos sin semilla, lo cual se ve potenciado por temperaturas de ebullición.



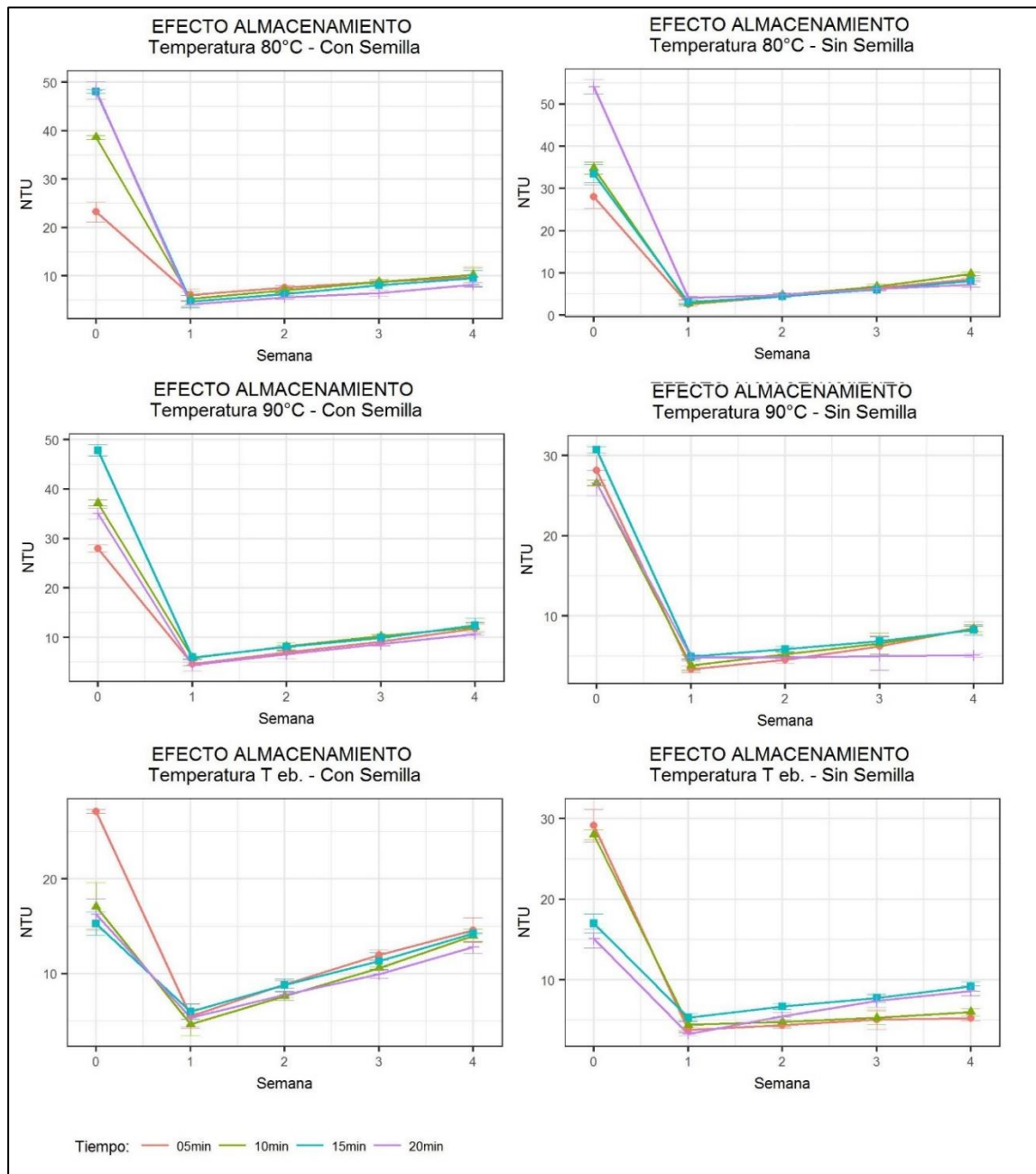
**Figura 20: Contenido de sedimento (mg sedimento/ ml) en las bebidas modelo tratadas térmicamente durante el almacenamiento**

#### 4.4.3. TURBIDEZ

En la Figura 21 se muestra el comportamiento de la turbidez en las bebidas modelo tratadas térmicamente durante el almacenamiento.

Para las muestras de las bebidas modelo elaboradas con extracto de orujo con semilla, pese a partir de diferentes valores de turbidez al inicio del periodo de almacenamiento como

resultado del tratamiento térmico; al transcurrir la primera semana los valores se igualan; tanto para los diferentes tiempos de tratamiento como temperaturas estudiada, mientras que durante el resto del periodo; entre la primera y tercera semana, se tiene una tendencia creciente bastante similar para las tres temperaturas.



**Figura 21: Turbidez (NTU) de las bebidas modelo tratadas térmicamente durante el almacenamiento**

De igual forma ocurre para las muestras de bebidas elaboradas a partir de orujo sin semilla, donde los valores de turbidez disminuyen drásticamente para la primera semana, periodo después del cual mantiene una tendencia creciente muy similar para las tres temperaturas

evaluadas y los tiempos de tratamiento térmico. Estos incrementos durante la primera y cuarta semana se deberían al aumento de partículas en suspensión en las bebidas modelo (Ramírez 2007).

#### **4.4.4. FENOLES TOTALES**

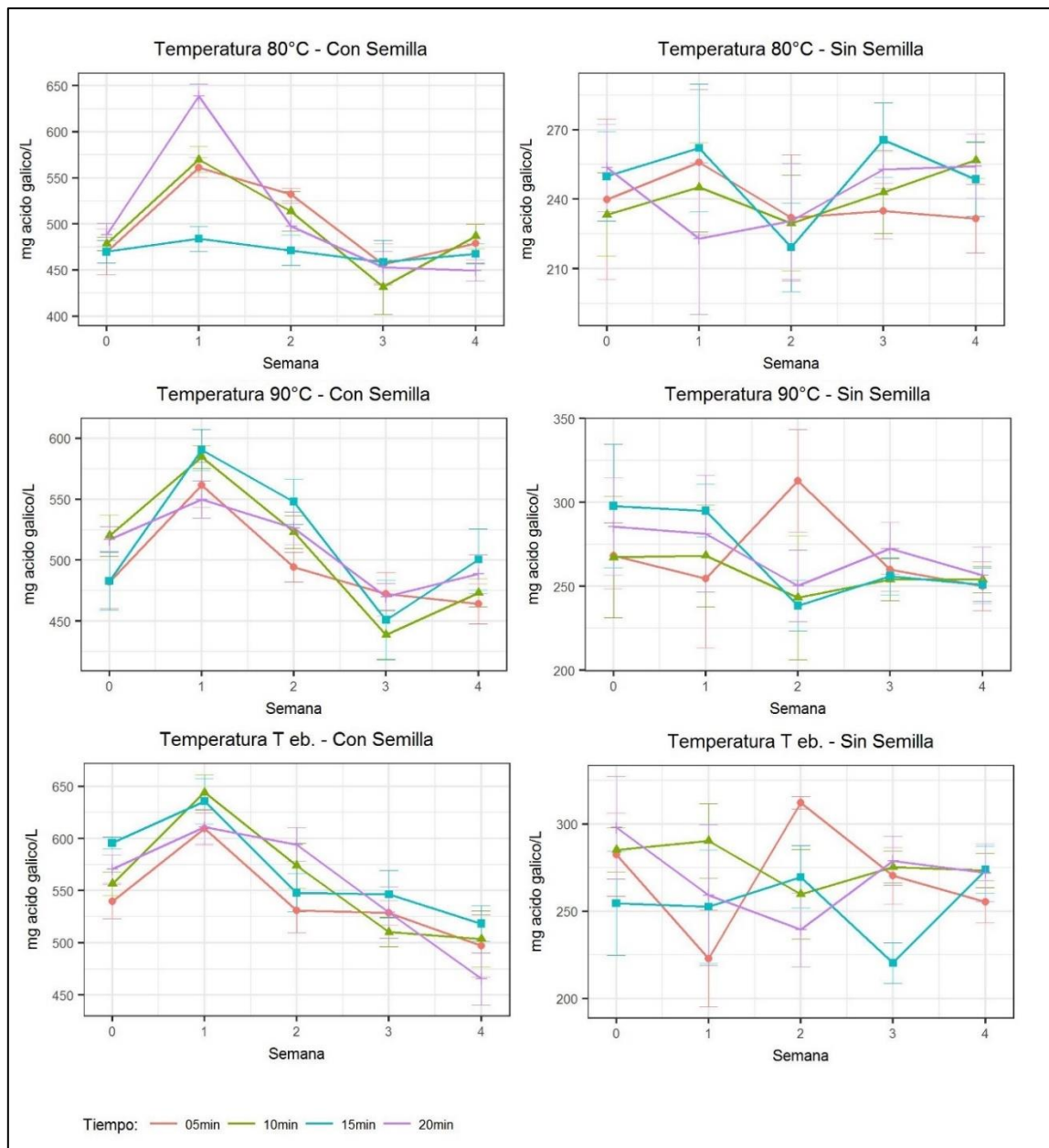
En la Figura 22 se muestra el contenido de fenoles totales en las bebidas modelo tratadas térmicamente, durante el almacenamiento.

La bebida modelo elaborada a partir de extracto de orujo con semilla presenta un incremento en el contenido de fenoles totales durante la primera semana, para todas las temperaturas estudiadas; después de la cual disminuye hasta valores cercanos al inicial, con excepción de las bebidas sometidas a ebullición, las cuales al finalizar el periodo alcanzan contenidos de fenoles totales inferiores al inicial, pese a haber partido de mayores contenidos en comparación con las otras temperaturas.

Para la bebida modelo de orujo sin semilla, el contenido de fenoles totales durante el almacenaje presentó varios incrementos y subsecuentes descensos. Para las muestras sometidas a 80 °C la tendencia es bastante homogénea para todos los tiempos, donde todas las muestras al final del periodo alcanzaron valores similares al inicial. Sin embargo, conforme aumenta la temperatura las muestras presentan una tendencia más errática para los diferentes tiempos de tratamiento térmico.

Como las antocianinas son uno de los principales compuestos fenólicos presentes en la uva y por ende en la bebida modelo desarrollada, se esperaba un comportamiento similar por parte del contenido de polifenoles al de las antocianinas durante el almacenamiento. Sin embargo, una menor reducción de los polifenoles en comparación al de las antocianinas puede deberse a la polimerización de las antocianinas monoméricas, lo que produce polímeros detectados como fenoles (Wu *et al.* 2010; citados por Camelo y Sotelo 2012). Adicionalmente, al igual que los vinos durante el envejecimiento, los cambios en el contenido de fenoles en las bebidas modelo se deberían no solo formación de compuestos polímeros sino también oxidación, hidrólisis y otras transformaciones (Arnous *et al.* 2001; citados por Riquelme *et al.* 2013).





**Figura 22: Contenido de fenoles totales (mg GAE/L) en las bebidas modelo tratadas térmicamente durante el almacenamiento**

#### 4.4.5. DIFERENCIA COLOR

La diferencia de color durante el almacenamiento emplea como estándar a las bebidas modelo tratadas térmicamente antes de que iniciara dicho periodo, los resultados se muestran en la Figura 23.

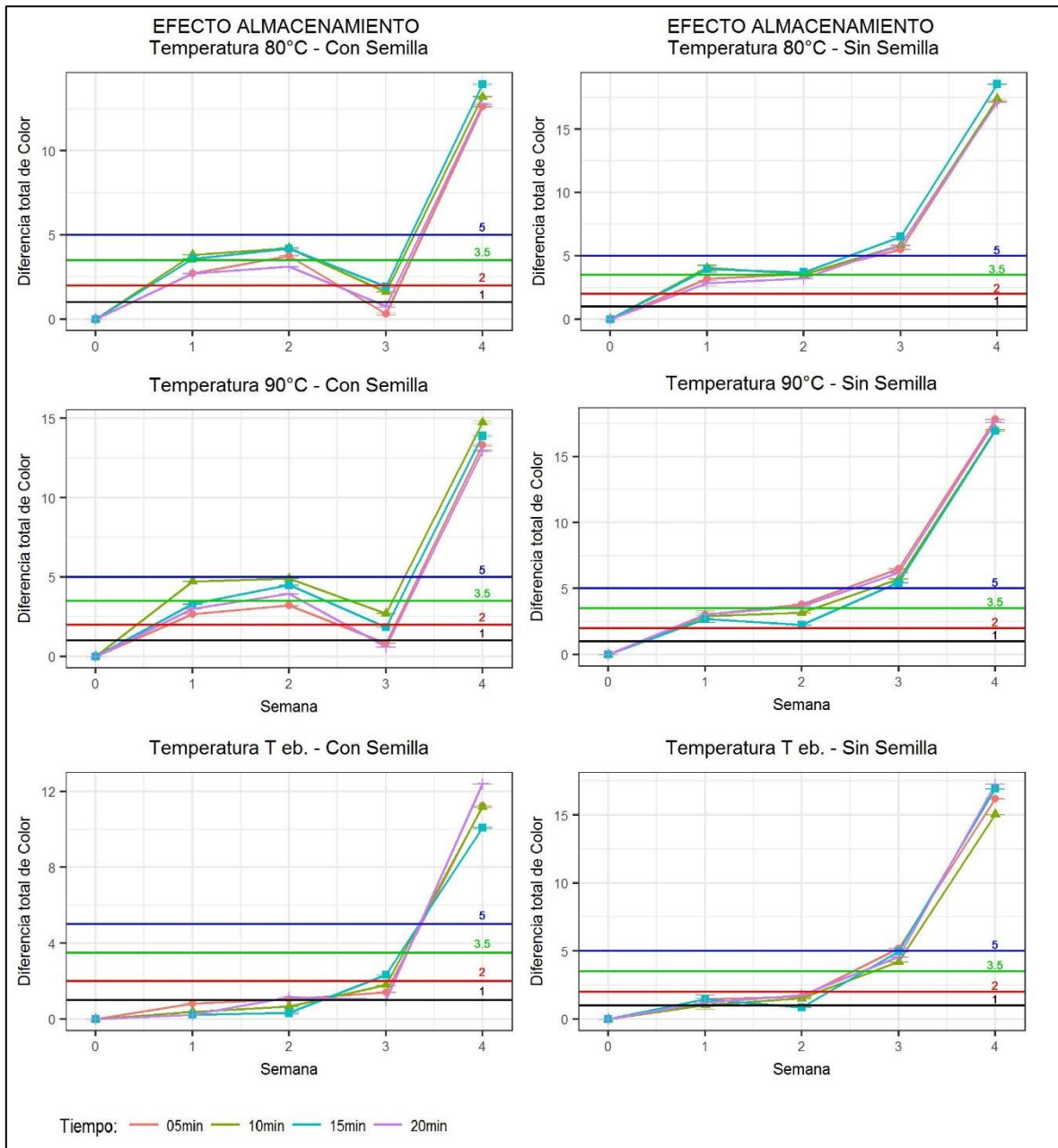
Durante el almacenamiento la diferencia de color ( $\Delta E$ ) para la bebida modelo a partir de extracto de orujo con semilla se incrementa; es decir los cambios de color con respecto a las

bebidas al inicio del periodo se hacen más evidentes conforme transcurren las semanas. Esta diferencia de color en las bebidas disminuye al aumentar la temperatura de tratamiento térmico, siendo así que las bebidas sometidas a 80 °C y 90 °C presentaron mayores valores de diferencia de color, donde un observador no experimentando en la primera semana notaría al menos una diferencia (2-3,5) con respecto a la bebida recién elaborada, llegando incluso a notar una clara diferencia (3,5-5) para algunos tiempos de tratamiento térmico; mientras que las bebidas sometidas a temperatura de ebullición para todos los tiempos presentan una diferencia de color inferior a las otras temperaturas, encontrándose hasta la segunda semana dentro del rango en el cual el observador no nota diferencia, para la tercera semana este cambio llega a ser apreciable por observadores experimentados, siendo recién en la cuarta semana donde la diferencia de color observada por el consumidor es percibida como otro color, es decir diferente al inicio del periodo de almacenamiento.

De igual manera, la bebida modelo a partir de extracto sin semilla presenta una menor diferencia de color conforme aumenta la temperatura de tratamiento térmico, donde la bebida sometida a temperatura de ebullición mostró un menor cambio de color en comparación a las otras temperaturas evaluadas. En la cual, hasta la segunda semana, el observador común logra apreciar una diferencia en el color de la bebida, pero sin llegar al rango en el cual esta diferencia es bastante clara a diferencia de las bebidas tratadas a 80 °C y 90 °C. Estos cambios de color en las bebidas modelo durante el almacenamiento, se deben a la degradación de las antocianinas y otros fenoles, además de las reacciones de polimerización de estas con los taninos (Monagas *et al.* 2006; citados por Reyes 2013).

En cuanto a las coordenadas CIELAB, las bebidas modelo durante el periodo de almacenamiento incrementaron su luminosidad, para todos los tratamientos, lo cual indica que las muestras se hicieron más clara. Las coordenadas de \*a y \*b para las bebidas obtenidas a partir de orujo con y sin semilla experimentan un aumento durante el almacenamiento.

Estos aumentos indican incrementos en el color rojo y amarillo, traducido en un aumento de tonalidades marrones, lo cual es coherente con los cambios típicos de las reacciones de degradación y polimerización ya explicados, originando tonos pardos (Monagas *et al.* 2006; citados por Reyes 2013).



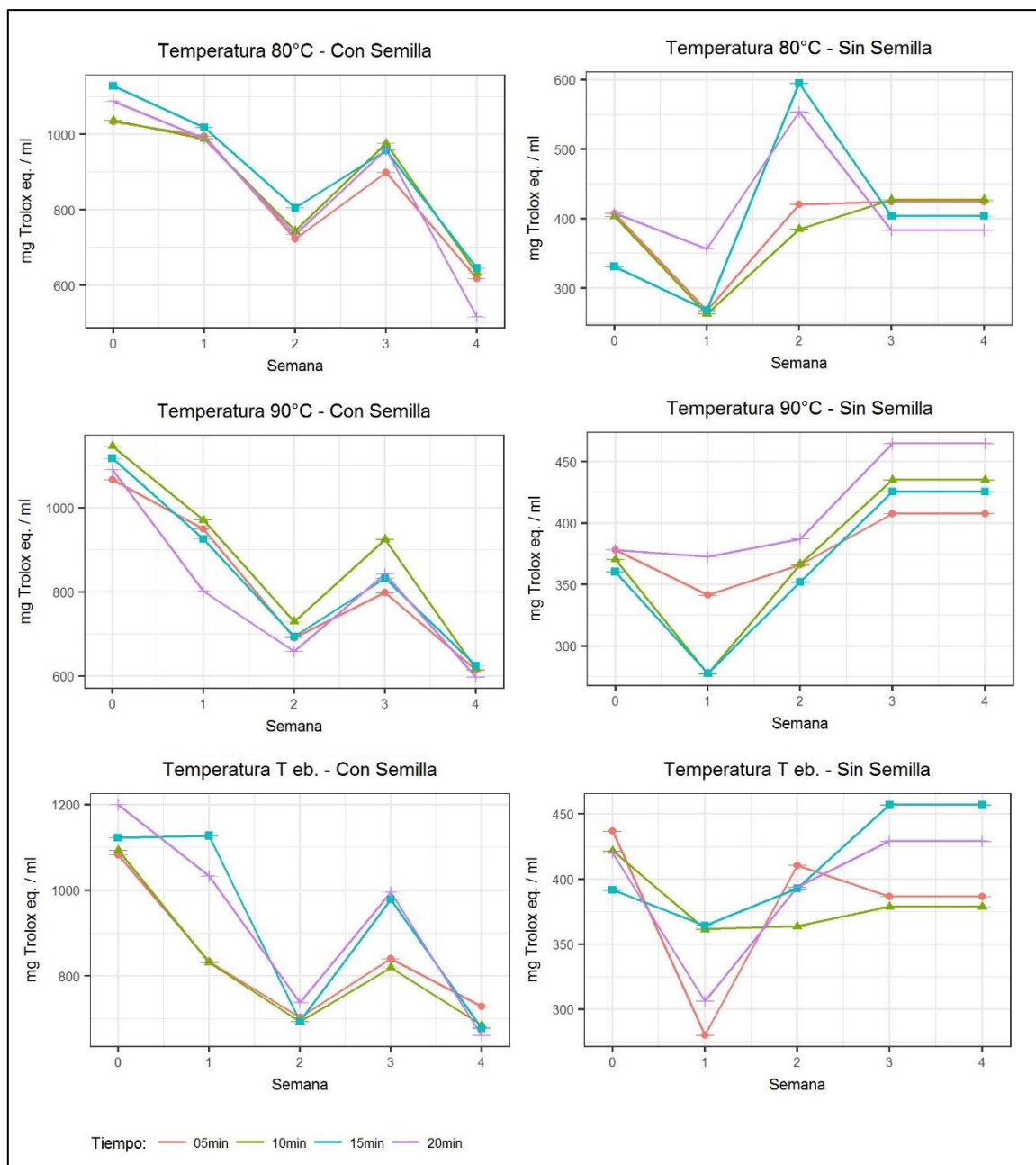
**Figura 23: Diferencia de color de las bebidas modelo tratadas térmicamente durante el almacenamiento**

#### **4.4.6. ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE**

En la Figura 24 se muestra el comportamiento de la actividad antioxidante en las bebidas modelo tratadas térmicamente, durante el almacenamiento.

Durante el periodo de almacenaje las muestras de bebidas presentan dos tendencias distintas, Por un lado, las bebidas modelo elaboradas con orujo de uva con semilla muestran una clara tendencia decreciente en la capacidad antioxidante conforme transcurre el almacenamiento. Teniendo una máxima pérdida a la cuarta semana de 52 por ciento para el tratamiento de 20 minutos a 80 °C y una mínima de 33 por ciento para los 5 minutos en ebullición; mientras que la bebida modelo con extracto de orujo sin semilla muestra un leve aumento en la capacidad antioxidante al culminar el periodo de almacenamiento.

Estos distintos comportamientos entre las bebidas modelo elaboradas a partir de orujo con semilla y sin semilla, se debe a diferencias en su composición. Los leves aumentos en la actividad antioxidante de la bebida con extracto de orujo sin semilla pueden ser explicados por la tendencia del polifenol a sufrir reacciones de polimerización, lo que hace que los oligómeros resultantes posean áreas más grandes disponibles para la deslocalización de la carga (Zapata y Cardona 2014); mientras que la disminución ocurrida en la bebida modelo con extracto de orujo con semilla se debería a que al iniciar el periodo de almacenamiento, presentó mayores contenidos de fenoles y antocianinas; dando lugar a mayor número de reacciones de polimerización entre dichas moléculas, a lo cual Zapata y Cardona (2014) explican que cuando el grado de polimerización excede un valor crítico, el aumento de la complejidad molecular y el impedimento estérico a reducir la disponibilidad de grupos hidroxilo provocan una disminución resultante en la capacidad antirradical.



**Figura 24: Capacidad antioxidante (mg TEAC /ml) en las bebidas modelo tratadas térmicamente durante el almacenamiento**

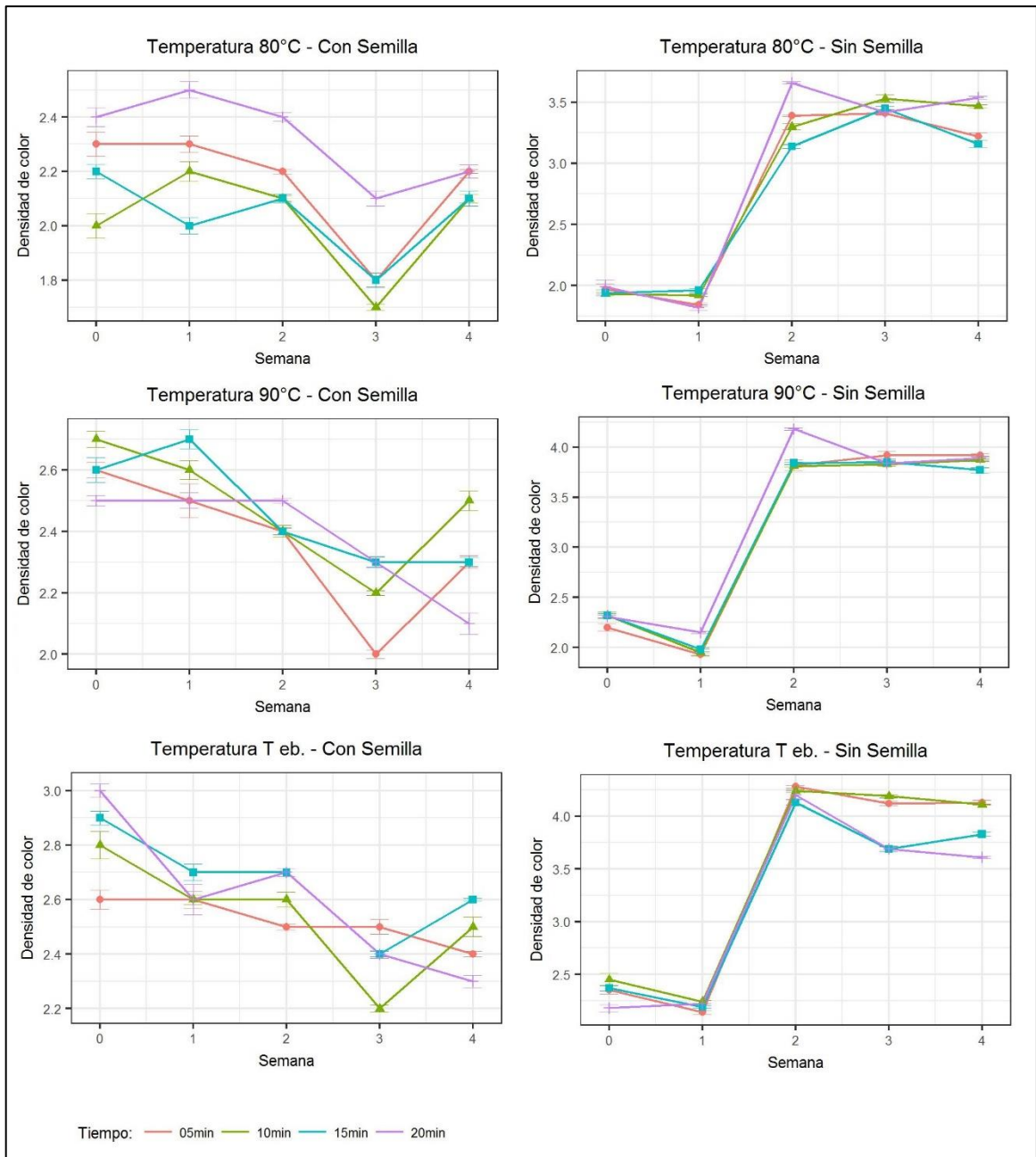
#### 4.4.7. COLOR POLIMÉRICO

En las Figuras 25, 26 y 27 se muestran los cambios ocurridos en la densidad de color, color polimérico y porcentaje de color polimérico en las bebidas modelo tratadas térmicamente, durante el almacenamiento.

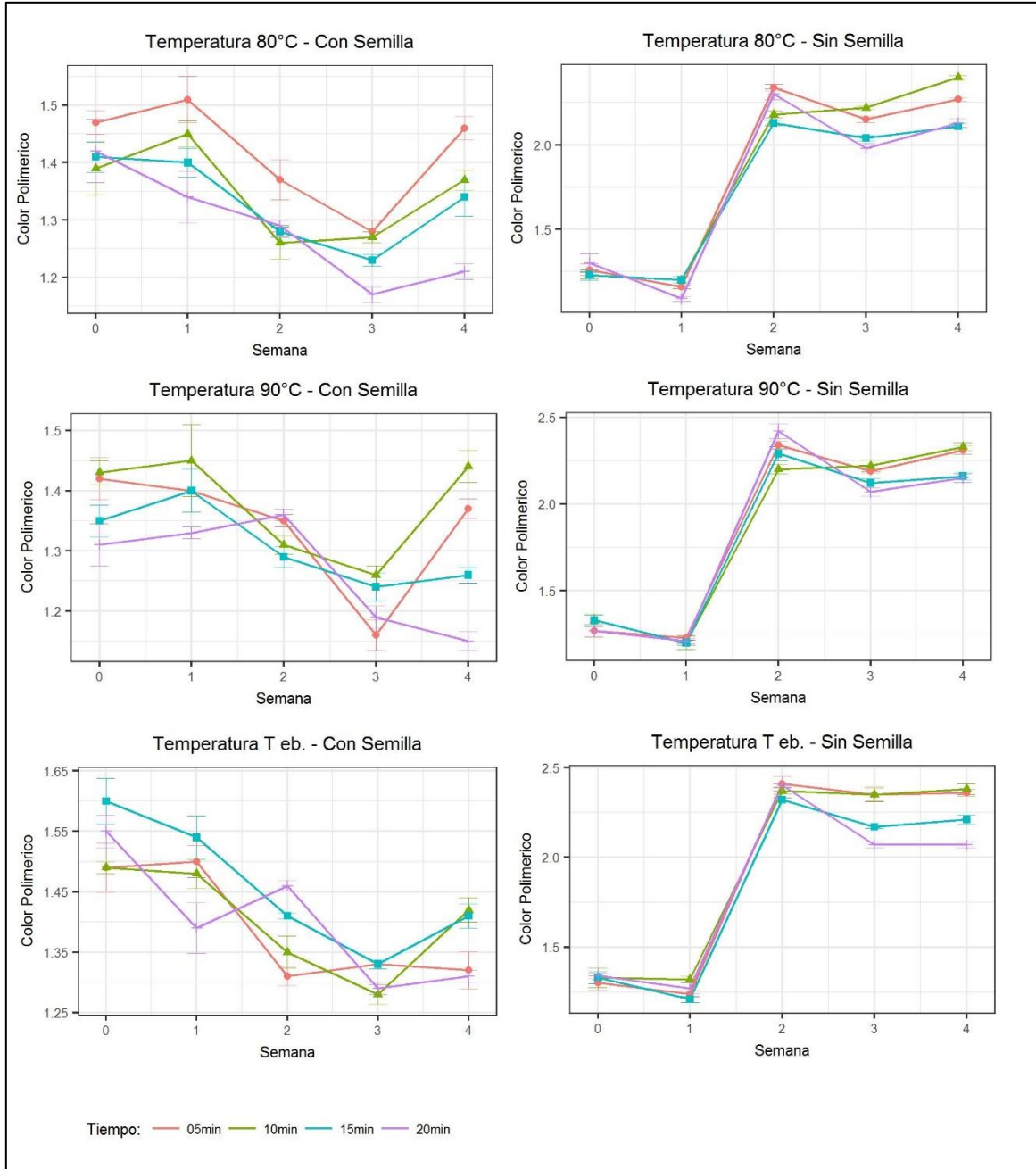
Para las bebidas modelo a partir de extracto de orujo de uva con semilla, la densidad de color presenta una tendencia a disminuir durante el periodo de almacenamiento para todas las temperaturas y tiempos evaluados; mientras que las bebidas a partir de extracto de orujo sin semilla presentan una tendencia creciente, experimentando para todas las temperaturas entre la primera y segunda semana un gran crecimiento.

El color polimérico en las bebidas modelo a partir del extracto de orujo con semilla presenta una tendencia decreciente para todas las temperaturas. Por otro lado, la bebida modelo con extracto de orujo sin semilla; de igual forma que para la densidad de color, el color polimérico presenta una clara tendencia creciente entre la primera y segunda semana, periodo después del cual tiende a disminuir. Esto significa un aumento en el contenido de antocianinas copolimerizadas (Aguilar 2002; citado por Saldaña 2004) producto de reacciones de polimerización como mecanismo de estabilización.

El porcentaje de color polimérico para ambas muestras no presenta una tendencia definida, a excepción de la bebida modelo obtenida a partir de extracto de orujo con semilla sometida a 80 °C por un tiempo de 20 min. Los demás tratamientos térmicos presentan incrementos y descensos en el porcentaje de color polimérico durante el almacenamiento. Los incrementos durante este periodo indican una disminución de las antocianinas libres, producto de reacciones de degradación (Hermosín 2007) y un aumento de la polimerización de las antocianinas (Brownmiller *et al.* 2008; citados por López 2016) como mecanismo de estabilización; mientras que la disminución en el porcentaje de color polimérico se debería a los altos grados de polimerización alcanzados por algunas de estas, volviéndose insolubles y precipitando (Hermosín 2007).

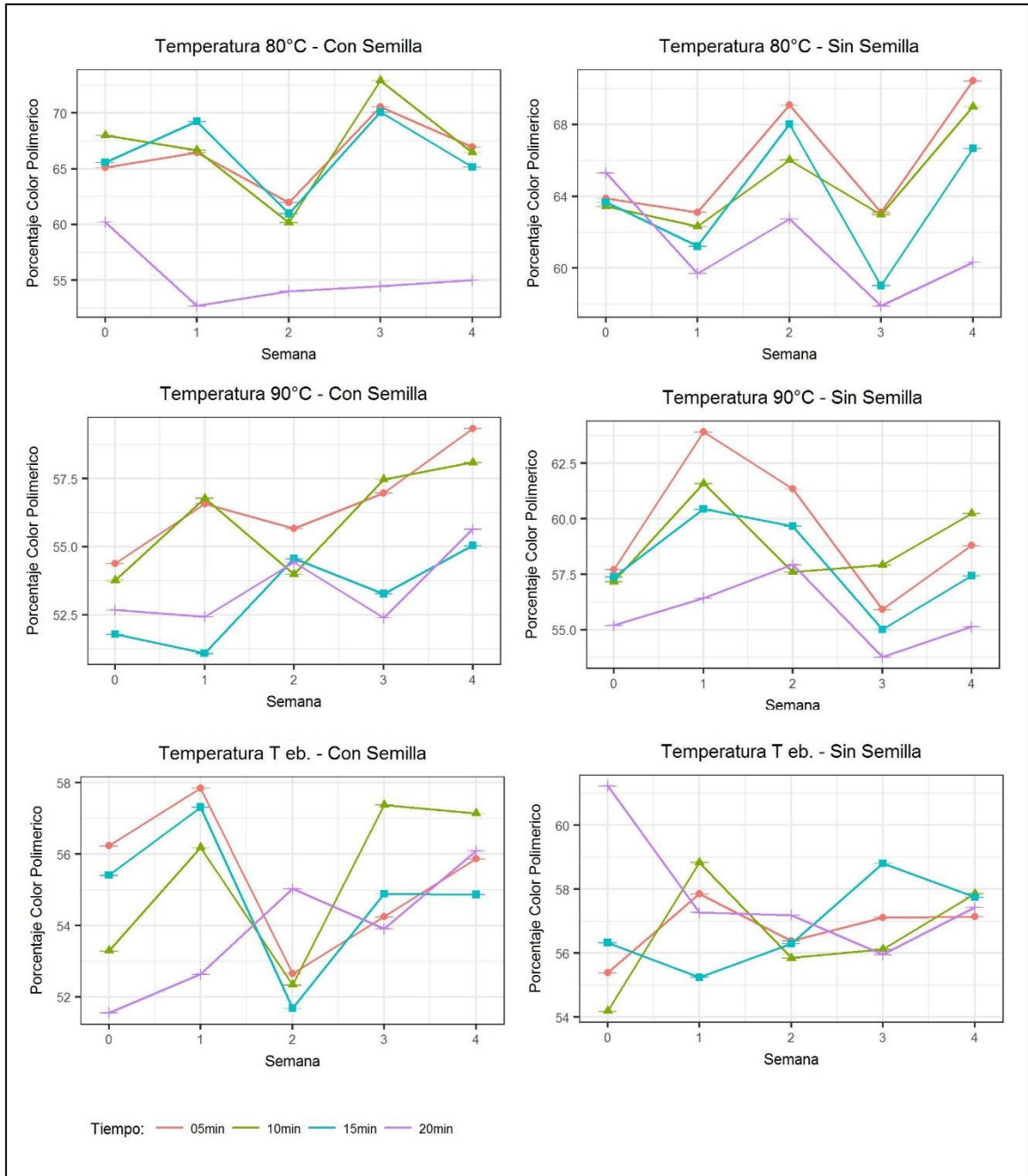


**Figura 25: Densidad de color de las bebidas modelo tratadas térmicamente durante el almacenamiento**



**Figura 26: Color polimérico de las bebidas modelo tratadas térmicamente durante el almacenamiento**





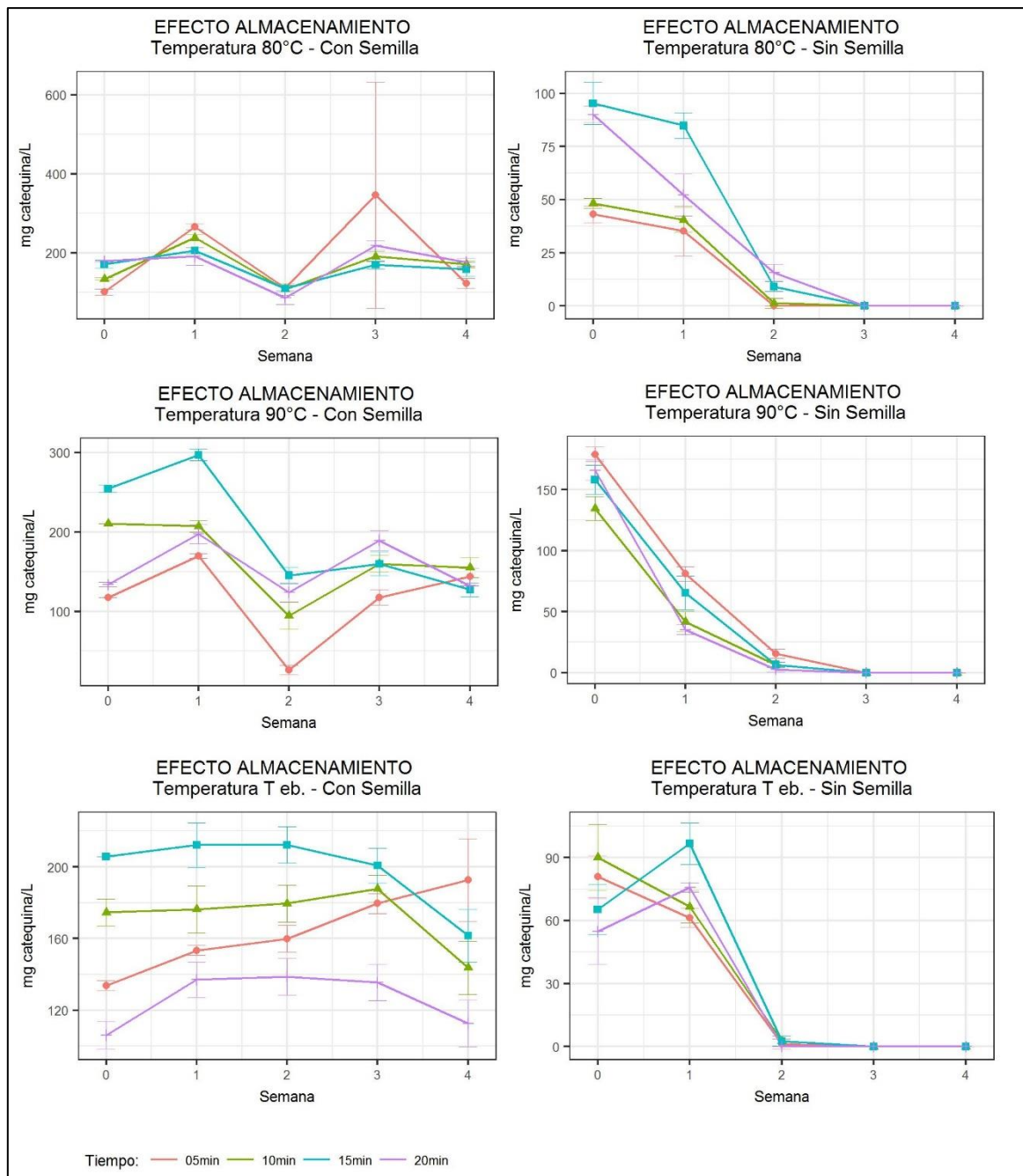
**Figura 27: Porcentaje de color polimérico en las bebidas modelo tratadas térmicamente durante el almacenamiento**

#### **4.4.8. TANINOS CONDENSADOS**

El comportamiento de los taninos condensados en las bebidas modelo tratadas térmicamente, durante el almacenamiento, se muestran en la Figura 27.

Las bebidas modelo elaboradas a partir de orujo sin semilla presentan una tendencia decreciente durante el periodo de almacenamiento en el contenido de taninos, hasta incluso no ser detectados por el método de vainillina, reportándose como ausencia.

Para la bebida a partir de orujo con semilla durante el periodo analizado muestra una tendencia diferente para cada temperatura empleada. Para la temperatura de 80 °C la curva experimenta aumentos y descensos en el contenido de taninos; por otra parte, la temperatura de 90 °C presenta un incremento para la primera semana, después del cual el contenido de taninos desciende; mientras que la temperatura de ebullición muestra una tendencia casi constante para todos los tiempos de tratamiento térmico.



**Figura 27: Contenido de taninos condensados (mg catequina equivalente/L) en las bebidas modelo tratadas térmicamente, durante el almacenamiento**

## V. CONCLUSIONES

1. El tratamiento térmico tuvo un efecto significativo a un 95 % de nivel de confianza, en los principales compuestos de las bebidas modelo obtenidas a partir de extracto colorante de orujo de uva con y sin semilla.
2. El contenido de antocianinas monoméricas, sedimentos, fenoles totales y taninos condensados mostraron un incremento posterior al tratamiento térmico en las bebidas modelo elaboradas a partir de extracto de orujo con y sin semilla.
3. Las bebidas modelo elaboradas con extracto de orujo de uva con semilla mostraron un incremento medio de 36% en el contenido de antocianinas monoméricas frente a un 6% de las bebidas con extracto sin semilla.
4. La turbidez en las bebidas modelo elaboradas a partir de extracto de orujo con semilla y sin semilla; al igual que el porcentaje de color polimérico, disminuyó conforme aumentó la temperatura del tratamiento térmico.
5. La presencia de semillas en el extracto empleado para la elaboración de las bebidas no tuvo efecto significativo en la diferencia de color posterior al tratamiento térmico a un nivel de confianza del 95 %; mientras que los factores de temperatura y tiempo sí presentaron un efecto significativo; siendo la bebida modelo tratada a temperatura de ebullición, la que presentó menor diferencia de color.
6. La capacidad antioxidante de las bebidas modelo elaboradas a partir de extracto de orujo con semilla, mostró un incremento posterior al tratamiento térmico, a diferencia de las bebidas modelo elaboradas a partir de extracto de orujo sin semilla, las cuales mostraron una disminución posterior al tratamiento.
7. Durante el almacenamiento el contenido de antocianinas monoméricas en las bebidas modelo elaboradas a partir de extracto de orujo de uva con y sin semilla presentaron una clara tendencia decreciente al igual que la capacidad antioxidante en las bebidas elaboradas a partir de extracto de orujo con semilla, contrario al comportamiento presentando en las

bebidas a partir de extracto de orujo sin semilla, las cuales presentaron un leve incremento en su capacidad antioxidante.

8. Durante el almacenamiento el contenido de taninos condensados para las bebidas elaboradas a partir de extracto de orujo sin semilla presentaron una tendencia decreciente hasta no ser detectado a la segunda semana de almacenamiento. Mientras que para la bebida elaborada a partir de extracto con semilla el contenido de taninos condensados presentó diferentes comportamientos de acuerdo a las temperaturas que fueron empleadas durante el tratamiento térmico.

9. Durante el almacenamiento el contenido de sedimentos presentó una tendencia creciente para las bebidas modelo a partir de extracto de orujo con y sin semilla; al igual que la diferencia de color, la cual únicamente para las bebidas modelo sometidas a ebullición se encuentran dentro del rango en el cual un consumidor no podría notar dicha diferencia hasta la segunda semana de almacenamiento.

10. El contenido de fenoles en la bebida modelo elaborada a partir de extracto de orujo con y sin semilla presenta incrementos y descensos durante el almacenamiento, alcanzando valores similares al inicial al finalizar este periodo.

11. Durante el almacenamiento el porcentaje de color polimérico para las bebidas modelo elaboradas a partir de extracto de orujo con y sin semilla no presentó una tendencia definida, con varios incrementos y descensos durante dicho periodo.

## **VI. RECOMENDACIONES**

1. Se recomienda estudiar la estabilidad térmica del extracto colorante atomizado empleando microencapsulación.
2. Estudiar la estabilidad térmica del extracto colorante en bebidas, empleando métodos de pasteurización lenta y rápida a nivel industrial.
3. Investigar sobre mecanismos de estabilización de los principales compuestos presentes en bebidas elaboradas con extracto colorante de uvina.

## VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- A.O.A.C. (Association of Official Analytical Chemists). 1995. Official Methods of Analysis. Washington, D.C., USA. 325p.
- Aguilera, M; Reza, M; Chew, R; Meza, J. 2011. Propiedades funcionales de las antocianinas. Rev. Ciencias Biológicas y de la Salud 8(2):16-22.
- Aleixandre, J. 2011. Influencia de los fenómenos de copigmentación sobre la calidad fenólica de los vinos tintos de tempranillo. Tesis Mg. Valencia, España, Universidad Politécnica de Valencia. 27p.
- Amelia, F; Nur Afnani, G; Musfiroh, A; Nur Fikriyani; A; Ucche, S; Murrkumihadi, M. 2013. Extraction and Stability Test of Anthocyanin from Buni Fruits (*Antidesma Bunius L*) as an Alternative Natural and Safe Food Colorants. Journal of Food and Pharmaceutical Sciences (1):49- 53.
- Arrazola, G; Herazo; I; Alvis, A. 2014. Obtención y Evaluación de la Estabilidad de Antocianinas de Berenjena (*Solanum melongena L.*) en Bebidas. Información Tecnológica 25 (3):43- 52.
- Azofeifa, G. 2015. Pasteurization of blackberry juice preserves polyphenol-dependent inhibition for lipid peroxidation and intracellular radicals. Journal of Food Composition and Analysis 42 (2015):56-62.
- Benito, A. 2015. Caracterización de poblaciones de vid silvestre de la Península Ibérica. Tesis Ph.D. Madrid, España, Universidad Politécnica de Madrid. 249p.
- Blanco, D. 2013. Formación y evaluación de pigmentos de tipo piranoantociano en la elaboración de vinos tintos y rosados. Tesis Ph.D. Castilla, España, Universidad de Castilla la Mancha. 358p.

- Blanco, N; Troya, R. 2014. Evaluacion de metodos no termicos sobre la estabilidad de las antocianinas del maiz morado (*Zea Mays L.*) frente a la temperatura de pasteurización. Tesis Ing. Alimentos. Quito, Ecuador, Universidad San Francisco de Quito. 114p.
- Bolaños, N; Lutz, G; Herrera,C. 2003. Química de alimentos: Manual de laboratorio. San José, Costa Rica, Universidad de Costa Rica. 143p.
- Brand – Williams, W; Cuvelier, M.E; Berset.1995. use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm. Wiss. U. Technol.* 28:25-30.
- Bridle, P. y Timberlake, C. F. 1997. Anthocyanins as natural food colours – Selected aspects. *Food Chemistry* 58 (1-2):103-109
- Cáceres, A. 2013. Flavanoles de bayas y vinos y la influencia de factores enológicos sobre sus características químicas y sensoriales. Tesis Ph.D. Tarragona, España, Universidad Rovira I Virgili. 215p.
- Castagnini, J. 2014. Estudio del proceso de obtención de zumo de arándanos y su utilización como ingrediente para la obtención de un alimento funcional por impregnación a vacío. Colección Tesis Doctorales. Editorial Universitat Politècnica de Valencia. Valencia – España.
- Castañeda, A.; Guerrero, J.A. 2015. Pigmentos en frutas y hortalizas rojas: Antocianinas. *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos* 9:25-33.
- Cevallos, B; Cisneros, L. 2004. Stability of anthocyanin- based aqueous extracts of Andean purple corn and red- fleshed sweet potato compared to synthetic and natural colorants. *Food Chemistry* (86):69- 77.
- Claudio, R; Nájera, J. 2012. Evaluación de la actividad antioxidante del mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth) sometido a tratamiento térmico. Tesis Ing. Alimentos. Quito, Ecuador, Universidad San Francisco de Quito. 18p.
- Danisman, G; Arslan, E; Toklucu, A.K.. 2015. Kinetic Analysis of anthocyanin degradation and polymeric color formation in grape juice during heating. *Food Chemistry* 33 (2):103-108.



- Di Stefano, R. 1995. Extraction of phenolics from grape solids during fermentation. *Acta Horticulturae* 388:163-170.
- Duangmal, K; Saicheua, B; Sueeprasan, S. 2008. Color evaluation of freeze-dried roselle extract as a natural food colorant in a model sistem of a drink. *Food Science and techonology* 41 (8):1437-1445.
- Elejalde, E. 1999. Extracción y caracterización de antocianos y procianidinas de distintas variedades de uva empleadas en la elaboración del txakoli tinto de Bizkaia. *Formula* 5:67-82.
- Elham, G. y Shahriar, S. 2013. Comparison of stability of black carrot anthocyanins in various fruit juices under varying conditions of temperature, heating and time of storage. *World of Sciences Journal* 1(9):93-99.
- Favre, G; Charamelo, D; González-Neves; G. 2013. Empleo de taninos enológicos y maceración prefermentativa en frio en una experiencia de elaboración de vinos tintos Tannat. *Agrociencia Uruguay* 17 (1):65-73.
- Fennema, O. 1996. *Food Chemistry*. 3 ed. New York, USA, Marcel Dekker. 1071p.
- Francis, F. 1989. Food Colorants: Anthocyanins. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 28 (4):273-314.
- Fuleki, T; Ricardo-Da-Silva, R. 2003. Effects of cultivar and processing method on the contents of catechins and procyanidins in grape juice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51(3):640–646.
- García, L. 2009. Contenido total de taninos condensados en las varieades Pinto Zapata, Azufrado Higuera, Negro 8025 y Bayo Madero de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) cocidas por calentamiento óhmico. Tesis Mg. Santiago de Queretato, México. Instituto Politécnico Nacional. 56p.
- García, R. 2004. Extracción, cuantificación y estabilidad de antocianinas en fuentes vegetales para su potencial aplicación en la industria alimentaria. Tesis Ing. Ciencia y Tec. Alimentos. Saltillo, México, Universidad Autónoma Agraria “Antonio Narro”. 52p.

- Giusti, M; Wrolstad, R. 2001. Characterization and measurement of anthocyanins by UV-Visible spectroscopy. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry* (2001):F1.2.1-F1.2.13.
- Giusti, M y Wrolstad, R. 2002. Acylated anthocyanins from edible sources and their applications in food systems. *Biochemical Engineering Journal* 14 (2003):217-225.
- Gómez, A. 2009. Evaluación del efecto térmico sobre los atributos de calidad del néctar de manzana. Tesis Ing. Ciencia y tecn. de alim. Buenavista, México, Universidad Autónoma Agraria “Antonio Narro”. 78p.
- Harris, D. 2001. *Análisis Químico Cuantitativo*. Barcelona, España, Reverte. 959p.
- Henderson, C; Yapias, E. 2014. Determinación de la cantidad de polifenoles y su actividad antioxidante en el zapallo loche (*Cucurbita moschata Duchesne*) fresco, sancochado y frito procedente del departamento de Lambayeque. Tesis Lic. Lima, Perú, Universidad Peruana de Ciencias Aplicadas. 38p.
- Hermosín, I. 2007. Copigmentación y piranoantocianos: El papel de los flavonoles y los ácidos hidroxicinámicos en el color del vino tinto. *ACE revista de enología* 79:12–20.
- Hernández, J. 2014. Estudio y caracterización de antocianinas en diferentes materiales vegetales y su estabilidad al procesado. Tesis Ph.D. Elche, España, Universidad Miguel Hernández de Elche. 129p.
- Ibañez, F; Torre, P; Irigoyen, A. 2003. *Aditivos Alimentarios. Nutrición y Bromatología*. Universidad Pública de Navarra. p. 1- 10.
- Karaaslan, M; Ozden, M; Vardin, H. y Turkoglu, H. 2011. Phenolic fortification of yogurt using grape and callus extracts. *Food Science and technology* 44 (2011) 1065-1072.
- Khanal, R; Howard, I; Brownmiller, C; Prior, R. 2007. Influence of extrusion processing on procyanidin composition and total antchocyanin contents of blueberry pomace. *Journal of Food Science* 74 (2):52-58.
- Larrea, J. 2012. Obtencion de extractos polifenólicos a partir de uva para uso alimentario. Tesis Mg. Navarra, España, Universidad Pública de Navarra. 98p.

- Libran, C; Mayor, L; García-Castello, E; Vidal-Brotons, D. 2013. Polyphenol extraction from grape wastes: Solvent and pH effect. *Agricultural Sciences* 4 (9B):56-62.
- López, R. 2016. Compuestos bioactivos en bebidas con capacidad antioxidante. Tesis Ph.D. Madrid, España, Universidad Complutense de Madrid. 257p.
- Ludeña, M. 2015. Evaluación de antioxidantes provenientes de subproductos en productos procesados (bebidas). Tesis Ing. Ind. Agropecuarias. Loja, Ecuador, Universidad Técnica Particular de Loja. 43p.
- Martínez, J; Rojas, H; Borda, G.C; Hastamorir, A; Medina, M. 2011. Estabilidad de antocianinas en jugo y concentrado de Agraz (*Vaccinium Meridionale* SW.) *Revista Facultad Nacional de Agronomía, Medellín* 64 (1):6015-6022.
- Martins, N; Lobo Roriz, C; Morales, P; Barros, L; C.F.R. Ferrerira, I. 2016. Food colorants: Challenges, opportunities and current desires of agro- industries to ensure consumer expectations and regulatory practices. *Trends in Food Science & Technology* 52:1-15.
- Mendoza, C. 2012. Las antocianinas del maíz: su distribución en la planta y producción. Tesis Mg. Texcoco, México. Instituto de Enseñanza e Investigación en Ciencias Agrícolas. 109p.
- Mokrzycki, W; Tatol, M. 2012. Color difference Delta E – A survey. *Machine Graphics and Vision* 20 (4):383-411.
- Muñoz, A; Fernandez, A; Ramos, E. y Alvarado-Ortiz, C. 2007. Evaluación de la actividad antioxidante y contenido de compuestos fenolicos en vinos producidos en Perú. *Revista Sociedad Química del Perú* 73 (1):30-40
- Muthuraman, G; Sasikala, S. 2014. Removal of turbidity from drinking water using natural coagulants. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry* 20 (4):1727-1731.
- Paladino, S. 2012. Actividad antioxidante de los compuestos fenólicos contenidos en las semillas de la vid (*Vitis vinífera* L.). Tesis Mg. Mendoza, España., Universidad Nacional de Cuyo. 100p.
- Paz, J; Guevara, J. 2009. Subproductos hortofrutícolas con aplicación tecnológica. *Horticultura Global* (286):40- 45.

- Poo, S. 2005. Concentración de Antocianinas en Jugo de Cranberries (*Vaccinium macrocarpon Ait.*) mediante Nanofiltración. Tesis Lic. Valdivia, Chile, Universidad Austral de Chile. 62p.
- Ramírez, M. 2007. Avances en Ciencias y Técnicas Enológicas: Transferencia de tecnología de red GIENOL al sector vitivinícola. Badajoz, España, Junta de Extremadura: Consejería de Economía y Trabajo. 513p.
- Reyes, G. 2013. Efecto de pasteurización y almacenamiento en la estabilidad química y antioxidante de jugo de acaí (*Euterpe oleracea Mart.*). Zamorano, Honduras, Escuela Agrícola Panamericana. 24p.
- Riquelme, R; Berradre, M; Páez, G; Sulbarán, B. 2013. Evaluación y control de polifenoles en mosto y vino tinto. Revista Facultad Agronomía 30:90-113.
- Rodríguez, F. 2013. Aplicación de técnicas de imagen para la evaluación de la madurez fenólica de semillas de uva. Tesis Ph.D. Facultad de Farmacia. Sevilla, España, Universidad de Sevilla. 237p.
- Rodríguez, L. y Wrolstad, R. 2001. Extraction, Isolation, and Purification of Anthocyanins. Current Protocols in Food Analytical Chemistry F1.1.1-F1.1.11.
- Romero, I. 2008. Extracción de compuestos fenólicos de la uva al vino: papel de las enzimas de maceración. Tesis Ph.D. Murcia, España, Universidad de Murcia. 253p.
- Salazar, E. 2012. Efecto del empleo de fibra dietaria en la composición de dos bebidas con diferentes tipos de edulcorantes. Tesis Mg. Guayaquil, Ecuador, Escuela Superior Politécnica del Litoral. 115p.
- Saldaña, L. 2004. Efecto de la copigmentación sobre la expresión de color en sistemas modelo de ciruela (*Prunus domestica*). Tesis Lic. Puebla, México, Universidad de las Américas Puebla. 98p.
- Salomon, J. 2015. Alternativas de uso agroindustrial de uva silvestre (*Vitis cinérea*). Tesis Mg. Toluca, México, Universidad Autónoma del Estado de México. 114p.
- Sánchez, R. 2013. La química del color en los alimentos. Rev. Química Viva (3):234-244.

- Sánchez, J; Ramírez, E; Cansino, N; Manríquez, J; Ayala, A. 2015. Compuestos fenólicos, actividad antioxidante y bioaccesibilidad intestinal in vitro en jugo de zarzamora termoultrasonificado. *Educación y Salud Boletín Científico de Ciencias de la Salud del ICSA* 4 (7):25-33.
- Singleton, V; Rossi, J. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture* 16:144-158.
- Sivarooban, T., Hettiarachchy, N.S., Johnson, M.G., 2007. Inhibition of *Listeria monocytogenes* using nisin with grape seed extract on turkey frankfurters stored at 4 and 10 degrees C. *Journal of Food Protection* 70(4):1017-20.
- Stückrath, R; Petzold, G. 2007. Formulación de una pasta gelificada a partir del descarte de Arándanos (*Vaccinium corymbosum*). *Revista Información tecnológica* 18 (2):53-60.
- Vatai, T; Skerget, M; Knez, Z. 2009. Extraction of phenolic compounds from Elder Berry and different grape marc varieties using organic solvents and/or supercritical carbon dioxide. *Journal of Food Engineering* 90 (2009):246-254.
- Vázquez, B. 2014. Extracción y uso potencial de las antocianinas del bagazo de café (*Coffea arábica* sp.) como colorantes en bebidas. Tesis Ing. Mecánico Agrícola, Buenavista, México, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. 43p.
- Vila, H; Catania, C; Ojeda, H. 2005. Influencia del tiempo de maceración sobre el color, la composición tánica y la astringencia de vinos Cabernet Sauvignon y Malbec de Argentina. *Rev. FCA UNCuyo* 37 (1):97-111.
- Wrolstad, R. 2004. Interaction of natural colors with other ingredients: Anthocyanin pigments-Bioactivity and coloring properties. *Food Chemistry and Toxicology* 69 (5):419-425.
- Zapata, C. y Cardona, M. 2014. Estudio de la biodisponibilidad de los antioxidantes hidrosolubles tipo flavonoide para su utilización en la industria de las bebidas. Tesis Ing. Alimentos y Nutrición. Medellín, Colombia, Corporación Universitaria Lasallista. 44p.

Zapata, L. 2014. Obtención de extracto de antocianinas a partir de arándanos para ser utilizado como antioxidante y colorante en la industria alimentaria. Tesis Ph.D. Valencia, España, Universidad Politécnica de Valencia. 204p.

## VIII. ANEXOS

### ANEXO 1: CONTENIDO DE ANTOCIANINA (mg cianidina-3-glucósido/L) EN LA BEBIDA MODELO ELABORADA A PARTIR DE ORUJO CON SEMILLA

T (°C)	Tiempo (min)	SEMANA 0			SEMANA 1			SEMANA 2			SEMANA 3			SEMANA 4		
		R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
80	0	60,04	60,69	59,22	53,89	54,55	53,21	45,76	46,41	44,96	35,99	36,62	35,34	29,12	29,75	28,40
80	5	80,30	80,95	79,57	61,49	62,10	60,83	49,37	50,14	48,52	41,78	42,55	40,95	35,63	36,40	34,78
80	10	81,75	82,49	80,94	59,32	60,00	58,53	46,30	46,95	45,57	40,15	40,81	39,34	34,72	35,32	33,95
80	15	78,85	79,52	78,13	60,04	60,71	59,30	48,65	49,33	47,86	38,88	39,59	38,08	35,63	36,24	34,95
80	20	77,77	78,51	76,85	59,32	59,94	58,61	47,93	48,53	47,16	41,42	42,13	40,62	36,71	37,37	35,87
90	0	60,04	60,69	59,22	53,89	54,55	53,21	45,76	46,41	44,96	35,99	36,62	35,34	29,12	29,75	28,40
90	5	80,30	80,93	79,48	58,24	59,03	57,25	47,02	47,76	46,16	39,61	40,34	38,87	33,64	34,33	32,84
90	10	81,02	81,66	80,33	58,60	59,27	57,82	48,65	49,26	47,95	42,50	43,26	41,63	36,71	37,36	35,91
90	15	80,66	81,40	79,75	61,49	62,11	60,85	47,93	48,54	47,26	40,15	40,91	39,30	38,16	38,94	37,37
90	20	77,41	78,20	76,60	58,60	59,32	57,72	46,66	47,29	46,01	42,32	43,08	41,53	35,99	36,73	35,11
T eb,	0	60,04	60,69	59,22	53,89	54,55	53,21	45,76	46,41	44,96	35,99	36,62	35,34	29,12	29,75	28,40
T eb,	5	88,26	89,01	87,38	65,11	65,87	64,29	51,91	52,66	51,02	45,58	46,24	44,71	40,33	40,96	39,68
T eb,	10	85,72	86,48	84,78	61,49	62,29	60,68	48,83	49,45	48,18	42,50	43,20	41,69	37,80	38,59	36,98
T eb,	15	84,64	85,39	83,75	63,30	64,09	62,36	44,31	45,11	43,38	44,85	45,48	44,17	39,97	40,64	39,20
T eb,	20	83,23	84,03	82,25	57,51	58,23	56,63	47,75	48,38	47,09	39,97	40,64	39,13	30,75	31,51	30,00

R1: Repetición 1, R2: Repetición 2, R3: Repetición 3

**ANEXO 2: CONTENIDO DE ANTOCIANINA (mg cianidina-3-glucósido/L) EN LA BEBIDA MODELO ELABORADA A PARTIR DE ORUJO SIN SEMILLA**

T (°C)	Tiempo (min)	SEMANA 0			SEMANA 1			SEMANA 2			SEMANA 3			SEMANA 4		
		R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
80	0	61,11	61,62	60,52	46,58	47,29	45,79	40,06	40,58	39,22	38,38	38,89	37,60	36,97	37,59	36,09
80	5	67,52	68,27	66,66	44,23	44,73	43,71	38,46	39,15	37,74	33,97	34,70	33,15	27,78	28,31	27,18
80	10	64,95	65,50	64,17	42,31	43,03	41,51	37,93	38,48	37,30	33,44	33,99	32,79	28,31	29,00	27,33
80	15	64,53	65,22	63,62	44,87	45,59	43,89	37,61	38,42	36,72	34,83	35,36	34,17	26,39	26,98	25,55
80	20	63,03	63,54	62,44	42,95	43,47	42,36	38,35	39,00	37,66	34,29	35,01	33,39	28,74	29,33	28,02
90	0	61,11	61,62	60,52	46,58	47,29	45,79	40,06	40,58	39,22	38,38	38,89	37,60	36,97	37,59	36,09
90	5	67,31	68,07	66,36	48,08	48,77	47,25	38,14	38,94	37,44	34,72	35,32	34,06	29,59	30,39	28,77
90	10	64,95	65,76	63,99	38,89	39,46	38,03	37,93	38,57	37,00	33,33	34,11	32,37	27,99	28,79	27,13
90	15	64,96	65,61	64,27	37,82	38,38	36,94	37,93	38,54	37,24	33,65	34,21	32,91	27,88	28,56	26,96
90	20	64,10	64,83	63,36	45,72	46,30	44,92	38,25	38,84	37,43	34,19	34,82	33,24	30,02	30,58	29,19
T eb,	0	61,11	61,62	60,52	46,58	47,29	45,79	40,06	40,58	39,22	38,38	38,89	37,60	36,97	37,59	36,09
T eb,	5	65,60	66,16	64,81	41,88	42,39	41,11	38,46	39,04	37,65	35,47	36,03	34,79	30,55	31,38	29,62
T eb,	10	64,92	65,56	64,15	45,30	45,90	44,56	39,74	40,49	38,82	34,83	35,33	33,99	28,10	28,65	27,28
T eb,	15	64,28	65,02	63,52	42,95	43,50	42,16	33,55	34,26	32,67	31,30	31,88	30,44	26,60	27,16	25,86
T eb,	20	63,21	63,71	62,70	36,75	37,45	35,94	36,75	37,30	36,12	32,37	33,14	31,47	24,89	25,61	24,09

R1: Repetición 1, R2: Repetición 2, R3: Repetición 3



**ANEXO 3: CONTENIDO DE SEDIMENTO (mg/ ml) EN LA BEBIDA MODELO ELABORADA A PARTIR DE ORUJO CON SEMILLA**

T (°C)	Tiempo (min)	SEMANA 0			SEMANA 1			SEMANA 2			SEMANA 3			SEMANA 4		
		R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
80	0	12,29	13,75	9,96	18,29	19,27	17,01	20,53	22,40	18,16	22,07	22,47	21,12	23,13	23,87	22,17
80	5	16,97	18,62	14,61	19,03	20,21	17,17	22,92	25,01	20,83	24,37	25,03	22,54	25,82	27,49	23,51
80	10	17,11	18,40	15,57	20,72	22,95	17,75	23,15	24,56	21,69	24,61	26,18	22,98	27,93	28,69	27,14
80	15	17,59	18,94	16,17	19,93	21,99	17,30	22,27	23,77	20,45	23,68	25,85	21,23	25,09	27,11	21,90
80	20	17,05	18,29	15,21	17,51	18,90	15,89	19,12	19,78	17,81	21,00	21,56	19,43	23,33	24,65	21,43
90	0	12,29	13,77	9,96	18,29	19,25	17,01	20,53	22,44	18,17	22,07	22,47	21,10	23,13	23,89	22,18
90	5	14,00	14,67	13,01	21,01	22,97	18,65	21,33	22,36	19,89	25,33	25,69	23,82	26,36	26,59	25,61
90	10	17,79	18,51	16,19	22,40	23,69	20,75	22,67	23,03	21,60	27,67	28,30	26,97	30,00	31,15	27,63
90	15	18,00	19,57	16,03	22,60	24,66	20,31	24,11	24,87	23,31	28,63	29,11	27,91	31,67	32,64	30,02
90	20	16,94	17,82	15,52	20,00	20,77	18,77	21,33	23,27	19,89	25,67	27,89	22,48	26,40	27,89	24,17
T eb,	0	12,29	13,75	9,97	18,29	19,24	17,04	20,53	22,41	18,19	22,07	22,47	21,08	23,13	23,89	22,15
T eb,	5	21,35	21,44	19,90	18,67	19,46	16,69	21,00	22,31	19,55	23,66	24,23	21,54	40,20	42,02	37,51
T eb,	10	23,55	23,79	22,04	23,77	25,69	21,09	24,67	26,40	22,32	27,79	29,36	25,94	51,19	52,65	48,35
T eb,	15	18,49	20,67	15,29	23,27	23,72	22,32	24,53	25,31	23,47	27,21	28,62	25,81	46,97	48,69	43,89
T eb,	20	16,80	18,39	14,57	23,33	24,95	21,42	24,00	26,25	21,77	27,28	28,95	24,69	47,10	48,83	45,25

R1: Repetición 1, R2: Repetición 2, R3: Repetición 3

**ANEXO 4: CONTENIDO DE SEDIMENTO (mg/ ml) EN LA BEBIDA MODELO ELABORADA A PARTIR DE ORUJO SIN SEMILLA**

T (°C)	Tiempo (min)	SEMANA 0			SEMANA 1			SEMANA 2			SEMANA 3			SEMANA 4		
		R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
80	0	11,73	12,21	11,52	16,56	17,13	16,17	20,41	20,99	19,91	21,27	21,63	21,14	22,13	22,40	21,87
80	5	12,95	14,05	12,17	14,63	15,43	14,02	20,85	21,46	20,27	21,78	22,13	21,59	22,67	22,97	22,33
80	10	14,59	15,47	13,91	16,19	16,78	15,79	22,60	23,10	21,89	24,09	24,68	23,71	25,07	25,74	23,99
80	15	16,29	17,01	15,85	22,01	22,73	21,50	23,87	24,51	23,35	23,50	24,00	22,97	24,45	25,03	23,95
80	20	13,51	14,26	12,99	19,97	20,71	19,17	21,33	21,77	21,11	23,70	23,91	23,39	24,67	25,18	23,97
90	0	11,73	12,26	11,54	16,56	17,11	16,17	20,41	20,94	19,93	21,27	21,65	21,16	22,13	22,41	21,88
90	5	14,07	14,77	13,65	17,56	17,79	17,17	21,60	22,19	20,76	23,12	23,51	22,85	24,64	25,21	24,09
90	10	14,67	15,29	14,43	17,80	18,23	17,35	22,94	23,56	22,38	23,93	24,55	23,13	26,73	27,47	26,17
90	15	14,87	15,37	14,35	17,20	17,83	16,66	23,40	23,96	22,58	24,27	24,77	24,02	27,13	27,69	26,34
90	20	14,05	14,71	13,76	16,60	17,14	16,04	21,33	22,03	21,08	22,00	22,73	21,75	23,47	23,87	22,85
T eb,	0	11,73	12,23	11,51	16,56	17,12	16,17	20,41	20,95	19,93	21,27	21,67	21,16	22,13	22,44	21,89
T eb,	5	16,57	17,27	15,99	18,77	19,35	18,52	22,27	22,88	21,56	24,47	24,78	24,34	25,09	25,70	24,51
T eb,	10	18,49	18,91	17,84	22,60	22,91	22,39	24,33	24,98	23,84	26,74	27,38	25,93	27,41	27,97	26,96
T eb,	15	19,38	19,95	18,82	23,00	23,64	22,57	26,17	26,63	25,77	28,76	29,34	28,35	29,49	30,01	29,18
T eb,	20	19,27	19,55	19,21	22,67	22,89	22,27	25,87	26,68	25,36	28,42	29,06	27,81	29,14	29,54	28,57

R1: Repetición 1, R2: Repetición 2, R3: Repetición 3

**ANEXO 5: TURBIDEZ (NTU) EN LA BEBIDA MODELO ELABORADA A PARTIR DE ORUJO CON SEMILLA**

T (°C)	Tiempo (min)	SEMANA 0			SEMANA 1			SEMANA 2			SEMANA 3			SEMANA 4		
		R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
80	0	21,33	23,36	19,42	5,08	6,21	4,74	5,90	7,19	5,59	6,72	7,51	6,71	7,30	8,79	6,08
80	5	23,00	25,42	21,25	6,10	7,34	4,88	7,35	8,07	7,51	8,60	8,98	8,87	9,71	11,63	7,89
80	10	38,33	39,07	38,56	5,28	6,90	3,74	6,90	7,47	6,80	8,52	9,37	8,54	10,13	11,89	8,73
80	15	48,00	48,54	47,79	4,45	6,15	3,69	6,03	6,53	6,20	7,87	7,99	8,47	9,54	11,23	7,91
80	20	48,00	50,24	46,58	4,08	4,81	3,67	5,28	6,02	5,49	6,43	7,05	5,82	7,91	8,00	8,80
90	0	21,33	23,36	19,42	5,08	6,21	4,74	5,90	7,19	5,59	6,72	7,51	6,71	7,30	8,79	6,08
90	5	27,87	28,80	27,37	4,43	5,02	4,52	6,80	6,87	7,34	8,93	10,00	8,39	11,65	12,73	11,10
90	10	37,00	37,84	36,66	5,60	6,21	5,81	7,85	9,09	7,57	10,19	10,64	9,92	11,98	13,10	11,23
90	15	47,67	49,05	46,82	5,80	5,81	6,31	7,90	8,10	8,41	9,89	10,18	9,77	12,33	13,89	11,03
90	20	35,00	36,12	33,96	4,15	5,69	3,50	6,33	7,65	5,90	8,67	8,99	8,36	10,35	10,88	10,78
T eb,	0	21,33	23,36	19,42	5,08	6,21	4,74	5,90	7,19	5,59	6,72	7,51	6,71	7,30	8,79	6,08
T eb,	5	27,00	27,01	27,35	5,35	6,88	4,28	8,55	8,68	9,32	11,82	12,57	11,48	14,53	15,93	13,32
T eb,	10	16,97	19,66	14,65	4,35	5,94	3,67	7,50	8,13	7,26	10,51	10,72	10,52	13,99	14,70	13,34
T eb,	15	15,20	16,56	14,09	5,85	6,83	5,27	8,55	9,51	8,32	11,13	12,29	10,60	14,21	14,30	14,23
T eb,	20	16,27	17,89	14,68	5,10	6,44	4,53	7,50	7,73	8,07	9,91	10,38	9,54	12,56	13,53	12,30

R1: Repetición 1, R2: Repetición 2, R3: Repetición 3

**ANEXO 6: TURBIDEZ (NTU) EN LA BEBIDA MODELO ELABORADA A PARTIR DE ORUJO SIN SEMILLA**

T (°C)	Tiempo (min)	SEMANA 0			SEMANA 1			SEMANA 2			SEMANA 3			SEMANA 4		
		R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
80	0	15,70	17,01	14,59	2,60	3,13	2,07	3,05	3,42	3,00	3,41	4,13	2,93	3,95	4,76	3,47
80	5	28,00	30,95	25,28	2,55	3,01	2,33	4,55	4,71	4,27	6,31	6,93	6,01	8,57	8,85	8,35
80	10	34,67	36,34	33,41	2,61	2,86	2,64	4,83	4,98	4,55	6,83	7,30	6,35	9,73	10,25	9,31
80	15	33,33	35,76	31,40	3,11	3,73	2,62	4,58	4,73	4,19	6,04	6,43	5,76	8,12	8,37	7,92
80	20	54,00	55,74	52,39	4,10	4,62	3,60	4,80	5,22	4,29	6,13	6,64	5,82	7,23	7,87	6,69
90	0	15,70	17,01	14,59	2,60	3,13	2,07	3,05	3,42	3,00	3,41	4,13	2,93	3,95	4,76	3,47
90	5	28,10	30,02	26,29	3,25	3,78	3,03	4,59	4,97	4,00	6,20	7,51	4,97	8,47	9,28	7,74
90	10	26,53	26,96	26,26	3,83	4,44	3,27	5,23	5,57	4,90	6,55	7,86	5,20	8,37	8,02	8,74
90	15	30,57	31,18	30,40	4,89	5,15	4,66	5,85	6,18	5,49	6,85	7,39	6,36	8,26	8,91	7,65
90	20	26,50	28,15	25,00	4,75	5,12	4,63	4,81	4,98	4,64	4,93	6,76	3,28	5,10	4,90	5,30
Teb,	0	15,70	17,01	14,59	2,60	3,13	2,07	3,05	3,42	3,00	3,41	4,13	2,93	3,95	4,76	3,47
T eb,	5	29,00	31,19	27,22	3,73	4,19	3,54	4,46	4,77	3,96	4,95	6,36	3,95	5,25	5,53	4,93
T eb,	10	28,00	28,64	27,39	4,38	5,10	3,79	4,95	5,31	4,16	5,23	6,15	4,48	5,96	6,50	5,60
T eb,	15	17,00	18,19	15,81	5,25	5,89	4,87	6,78	7,03	6,30	7,79	8,26	7,20	9,15	9,79	8,67
T eb,	20	15,00	16,32	13,98	3,23	3,48	3,16	5,54	5,89	5,00	7,38	8,17	6,58	8,60	9,28	8,04

R1: Repetición 1, R2: Repetición 2, R3: Repetición 3

**ANEXO 7: CONTENIDO DE FENOLES TOTALES (mg ácido gálico/ L) EN LA BEBIDA MODELO ELABORADA A PARTIR DE ORUJO CON SEMILLA**

T (°C)	Tiempo (min)	SEMANA 0			SEMANA 1			SEMANA 2			SEMANA 3			SEMANA 4		
		R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
80	0	446,79	458,10	439,73	535,84	558,46	517,47	479,30	504,74	469,41	434,07	466,58	414,28	467,99	486,37	453,86
80	5	467,99	494,85	445,38	559,87	572,59	551,39	527,36	540,08	528,77	451,03	480,72	436,90	473,65	501,92	460,93
80	10	476,48	486,37	472,23	565,52	585,31	558,46	508,98	537,25	494,85	429,83	462,34	402,98	486,37	500,50	473,65
80	15	466,58	483,54	459,51	480,72	499,09	472,23	470,82	487,78	455,27	458,10	482,13	435,48	465,17	479,30	458,10
80	20	484,96	501,92	477,89	634,78	653,16	627,72	492,02	524,53	476,48	448,21	472,23	438,31	446,79	462,34	439,73
90	0	446,79	458,10	439,73	535,84	558,46	517,47	479,30	504,74	469,41	434,07	466,58	414,28	467,99	486,37	453,86
90	5	479,30	504,74	462,34	559,87	581,07	544,32	492,02	507,57	483,54	470,82	490,61	455,27	460,93	482,13	449,62
90	10	517,47	538,67	504,74	582,48	595,21	576,83	521,71	537,25	510,40	436,90	459,51	419,94	472,23	484,96	462,34
90	15	482,13	507,57	459,51	585,31	609,34	576,83	544,32	568,35	531,60	451,03	483,54	418,52	496,26	527,36	477,89
90	20	513,23	528,77	508,98	545,73	566,94	537,25	525,95	540,08	513,23	466,58	482,13	460,93	484,96	506,16	475,06
T eb,	0	446,79	458,10	439,73	535,84	558,46	517,47	479,30	504,74	469,41	434,07	466,58	414,28	467,99	486,37	453,86
T eb,	5	537,25	557,04	524,53	605,10	626,30	598,03	527,36	554,22	511,81	527,36	541,49	517,47	496,26	527,36	467,99
T eb,	10	555,63	568,35	545,73	643,26	661,64	627,72	571,18	596,62	554,22	510,40	524,53	496,26	501,92	531,60	477,89
T eb,	15	593,79	602,27	590,97	636,20	657,40	613,58	547,15	566,94	530,19	542,91	571,18	525,95	514,64	537,25	503,33
T eb,	20	568,35	585,31	558,46	610,75	627,72	593,79	593,79	610,75	578,24	528,77	554,22	504,74	462,34	492,02	442,55

R1: Repetición 1, R2: Repetición 2, R3: Repetición 3

**ANEXO 8: CONTENIDO DE FENOLES TOTALES (mg ácido gálico/L) EN LA BEBIDA MODELO ELABORADA A PARTIR DE ORUJO SIN SEMILLA**

T (°C)	Tiempo (min)	SEMANA 0			SEMANA 1			SEMANA 2			SEMANA 3			SEMANA 4		
		R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
80	0	231,95	263,04	216,40	230,53	261,63	206,50	217,81	243,25	203,68	260,85	280,64	247,43	258,73	270,75	255,20
80	5	237,60	275,76	206,50	250,32	289,90	227,71	226,29	261,63	207,92	231,88	248,13	224,81	231,17	246,72	217,04
80	10	229,12	253,15	217,81	241,84	265,87	227,71	226,29	251,74	210,74	242,48	260,85	225,52	253,79	265,80	250,96
80	15	247,49	270,11	231,95	261,63	289,90	234,77	213,57	240,43	203,68	262,97	282,76	250,96	247,43	265,09	233,29
80	20	248,91	274,35	237,60	219,23	257,39	192,37	226,29	257,39	207,92	249,55	262,27	246,72	250,96	269,33	242,48
90	0	231,95	263,04	216,40	230,53	261,63	206,50	217,81	243,25	203,68	260,85	280,64	247,43	258,73	270,75	255,20
90	5	263,04	289,90	251,74	254,56	295,55	213,57	309,69	345,02	284,24	259,44	272,87	247,43	248,84	265,09	236,12
90	10	265,87	304,03	231,95	261,63	301,21	241,84	240,43	281,42	207,92	252,37	267,21	242,48	250,96	262,97	248,13
90	15	296,97	335,13	261,63	291,31	312,51	281,42	231,95	255,98	227,71	254,49	267,92	246,01	249,55	261,56	241,77
90	20	284,24	315,34	257,39	277,18	318,17	248,91	250,32	271,52	229,12	272,16	288,42	257,32	254,49	274,28	241,06
Teb,	0	231,95	263,04	216,40	230,53	261,63	206,50	217,81	243,25	203,68	260,85	280,64	247,43	258,73	270,75	255,20
T eb,	5	277,18	308,27	261,63	220,64	251,74	196,61	315,34	312,96	308,27	267,92	287,71	255,20	253,08	268,63	244,60
T eb,	10	278,59	299,79	277,18	288,49	312,51	270,11	255,98	287,07	236,19	272,87	285,59	267,92	270,75	284,18	265,09
T eb,	15	254,56	284,24	224,88	251,74	285,66	220,64	263,04	289,90	255,98	217,04	233,29	210,68	271,45	288,42	261,56
T eb,	20	292,73	329,48	271,52	258,80	299,79	219,23	233,36	263,04	222,05	276,40	294,07	266,51	271,45	289,12	255,91

R1: Repetición 1, R2: Repetición 2, R3: Repetición 3

**ANEXO 9: COORDENADAS CIE LAB DE LA BEBIDA MODELO ELABORADA A PARTIR DE ORUJO CON SEMILLA**

T (°C)	Tiempo (min)	SEMANA 0			SEMANA 1			SEMANA 2			SEMANA 3			SEMANA 4		
		L	*a	*b	L	*a	*b	L	*a	*b	L	*a	*b	L	*a	*b
80	0	21,72	20,67	6,13	23,22	21,74	7,24	24,20	21,64	7,92	21,61	20,72	6,01	26,56	29,74	13,84
80	5	21,12	19,80	5,71	22,80	21,53	6,99	23,68	21,73	7,67	21,05	20,10	5,67	25,77	29,23	12,68
80	10	20,83	19,16	5,50	22,99	21,84	7,15	23,46	21,72	7,60	21,40	20,60	5,98	25,75	29,09	12,68
80	15	20,83	18,96	5,42	22,79	21,53	6,99	23,25	21,72	7,45	21,43	20,70	6,01	26,03	29,44	12,99
80	20	21,16	19,74	5,77	22,69	21,60	6,98	23,02	21,75	7,26	21,19	20,50	5,84	25,95	29,26	12,80
90	0	21,72	20,67	6,13	23,22	21,74	7,24	24,20	21,64	7,92	21,61	20,72	6,01	26,56	29,74	13,84
90	5	21,28	19,75	5,68	22,78	21,54	6,99	23,12	21,70	7,43	21,31	20,38	6,21	26,18	29,47	13,35
90	10	20,48	18,02	5,05	22,84	21,59	7,06	23,08	21,51	7,32	21,12	20,49	5,93	25,84	29,30	12,88
90	15	20,67	18,85	5,36	22,27	21,39	6,72	23,37	21,67	7,58	21,38	20,43	5,94	25,84	29,30	12,91
90	20	21,09	19,71	5,72	22,85	21,66	7,16	23,80	21,60	7,86	21,36	20,24	5,75	25,88	29,27	13,05
T eb,	0	21,72	20,67	6,13	23,22	21,74	7,24	24,20	21,64	7,92	21,61	20,72	6,01	26,56	29,74	13,84
T eb,	5	21,97	20,59	6,37	22,16	21,34	6,59	22,46	21,39	6,83	21,02	19,99	5,50	25,64	29,14	12,66
T eb,	10	22,13	20,92	6,50	21,96	21,24	6,44	22,39	21,44	6,81	21,13	20,65	5,04	26,03	29,21	12,93
T eb,	15	22,38	21,26	6,78	22,22	21,35	6,67	22,38	21,54	6,91	20,80	19,99	5,63	25,79	28,87	12,46
T eb,	20	21,93	20,87	6,51	21,94	21,09	6,47	22,57	21,74	6,91	21,11	20,55	6,04	26,51	29,67	13,95

\*Valores promedio

**ANEXO 10: COORDENADAS CIE LAB DE LA BEBIDA MODELO ELABORADA A PARTIR DE ORUJO CON SEMILLA**

T (°C)	Tiempo (min)	SEMANA 0			SEMANA 1			SEMANA 2			SEMANA 3			SEMANA 4		
		L	*a	*b	L	*a	*b	L	*a	*b	L	*a	*b	L	*a	*b
80	0	19,22	15,57	3,80	20,60	17,97	5,05	20,79	18,17	5,35	20,89	19,89	5,56	25,11	28,03	10,71
80	5	18,85	14,82	3,50	20,03	17,35	4,68	20,50	17,58	5,08	21,18	19,24	5,81	26,12	27,60	12,49
80	10	18,92	14,30	3,34	20,41	17,57	4,83	20,27	17,20	4,78	21,11	19,15	5,75	25,91	27,54	12,18
80	15	18,60	13,51	3,04	20,00	16,74	4,46	19,80	16,72	4,45	20,89	19,04	5,62	26,12	27,56	12,56
80	20	19,09	14,15	3,40	19,68	16,60	4,36	20,11	16,91	4,69	21,03	19,13	5,70	25,76	27,27	12,15
90	0	19,25	15,58	3,79	20,61	17,96	5,07	20,82	18,18	5,38	20,90	19,88	5,55	25,09	28,04	10,69
90	5	18,81	13,77	3,10	19,69	16,28	4,21	20,08	17,03	4,59	21,07	19,24	5,71	25,83	27,39	12,18
90	10	18,73	14,34	3,35	19,86	16,61	4,44	20,08	16,87	4,64	21,04	18,99	5,73	25,82	27,05	12,20
90	15	18,87	14,42	3,41	19,90	16,47	4,46	19,68	16,32	4,29	21,01	18,89	5,66	25,79	27,17	12,18
90	20	18,47	13,68	3,18	19,60	16,11	4,21	19,94	16,74	4,53	20,88	18,85	5,63	25,52	27,27	11,86
T eb,	0	19,24	15,57	3,77	20,61	17,98	5,06	20,81	18,18	5,38	20,90	19,88	5,57	25,11	28,05	10,70
T eb,	5	18,76	14,63	3,32	19,36	15,61	3,89	19,51	15,90	4,01	20,75	18,89	5,50	25,31	26,93	11,57
T eb,	10	18,95	15,23	3,63	19,33	15,90	3,99	19,61	16,43	4,26	20,78	18,57	5,40	25,31	26,22	11,67
T eb,	15	18,99	14,94	3,55	19,55	16,00	4,09	19,23	15,55	3,00	21,27	18,79	5,74	26,05	27,32	12,68
T eb,	20	18,85	14,97	3,57	19,45	15,75	3,94	19,72	16,29	4,34	21,07	18,40	5,59	26,34	27,34	13,02

\*Valores promedio



**ANEXO 11: CAPACIDAD ANTIOXIDANTE (mg TEAC/ml) DE LA BEBIDA MODELO ELABORADA A PARTIR DE ORUJO CON SEMILLA**

T (°C)	Tiempo (min)	SEMANA 0			SEMANA 1			SEMANA 2			SEMANA 3			SEMANA 4		
		R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
80	0	1059,22	1075,98	1046,66	1011,05	998,49	1021,52	719,93	698,99	742,97	910,52	891,67	929,37	562,86	567,05	604,74
80	5	1032,00	1080,17	988,01	996,39	979,64	1011,05	722,03	696,90	751,35	904,24	874,92	918,90	606,84	608,93	640,35
80	10	1038,28	1042,47	1029,90	988,01	958,69	1017,34	738,78	745,07	749,26	979,64	952,41	996,39	617,31	644,54	636,16
80	15	1117,87	1163,94	1103,21	1017,34	1008,96	1029,90	801,62	801,62	812,09	958,69	937,75	975,45	627,78	661,29	648,73
80	20	1086,45	1090,64	1086,45	990,11	971,26	1006,86	726,22	719,93	757,63	964,98	935,66	979,64	506,31	514,69	531,44
90	0	1059,22	1075,98	1046,66	1011,05	998,49	1021,52	719,93	698,99	742,97	910,52	891,67	929,37	562,86	567,05	604,74
90	5	1061,32	1082,26	1057,13	952,41	920,99	977,54	684,33	692,71	694,80	801,62	786,95	805,80	602,65	602,65	636,16
90	10	1145,09	1207,92	1086,45	971,26	941,94	1000,58	722,03	717,84	747,16	931,47	885,39	958,69	604,74	604,74	640,35
90	15	1109,49	1138,81	1107,39	923,09	902,15	952,41	690,61	669,67	722,03	835,13	816,28	845,60	619,40	600,56	652,91
90	20	1084,36	1140,90	1046,66	799,52	776,48	828,84	657,10	629,88	688,52	847,69	816,28	866,54	581,71	587,99	623,59
T eb,	0	1059,22	1075,98	1046,66	1011,05	998,49	1021,52	719,93	698,99	742,97	910,52	891,67	929,37	562,86	567,05	604,74
T eb,	5	1084,36	1080,17	1082,26	830,94	818,37	851,88	688,52	719,93	701,09	853,97	807,90	860,26	719,93	709,46	757,63
T eb,	10	1086,45	1113,68	1080,17	835,13	814,18	845,60	690,61	671,76	717,84	824,65	774,39	858,16	663,39	692,71	698,99
T eb,	15	1115,77	1163,94	1088,54	1124,15	1115,77	1143,00	694,80	678,05	709,46	979,64	939,84	1017,34	665,48	673,86	694,80
T eb,	20	1193,26	1247,72	1157,66	1034,09	1025,71	1040,37	734,60	713,65	766,01	996,39	962,88	1027,81	648,73	650,82	684,33

R1: Repetición 1, R2: Repetición 2, R3: Repetición 3

**ANEXO 12: CAPACIDAD ANTIOXIDANTE (mg TEAC/ml) DE LA BEBIDA MODELO ELABORADA A PARTIR DE ORUJO SIN SEMILLA**

T (°C)	Tiempo (min)	SEMANA 0			SEMANA 1			SEMANA 2			SEMANA 3			SEMANA 4		
		R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
80	0	425,15	403,37	450,29	247,55	220,74	264,30	450,29	435,21	470,39	384,94	384,94	396,67	490,50	498,87	453,64
80	5	408,40	371,54	441,91	264,30	254,25	284,41	416,78	394,99	450,29	421,80	413,42	438,56	470,39	492,17	441,91
80	10	400,02	391,64	418,45	264,30	245,87	279,38	383,27	353,11	418,45	423,48	425,15	433,53	552,49	572,60	527,36
80	15	326,30	321,27	346,40	271,01	235,82	297,81	596,05	564,22	624,54	401,70	403,37	406,72	534,06	562,54	493,85
80	20	408,40	373,21	441,91	356,46	322,95	389,97	552,49	520,66	587,68	379,91	371,54	398,34	513,95	529,03	480,44
90	0	425,15	403,37	450,29	247,55	220,74	264,30	450,29	435,21	470,39	384,94	384,94	396,67	490,50	498,87	453,64
90	5	379,91	343,05	411,75	336,35	316,25	371,54	364,83	333,00	400,02	406,72	405,05	411,75	421,80	438,56	388,29
90	10	369,86	324,62	416,78	267,66	260,95	302,84	363,16	339,70	396,67	431,85	423,48	450,29	418,45	431,85	421,80
90	15	354,78	348,08	378,24	274,36	250,90	307,87	353,11	319,60	383,27	428,50	423,48	425,15	443,58	458,66	421,80
90	20	376,56	348,08	410,07	374,89	363,16	379,91	384,94	363,16	413,42	456,99	475,42	462,01	567,57	579,30	512,28
T eb,	0	425,15	403,37	450,29	247,55	220,74	264,30	450,29	435,21	470,39	384,94	384,94	396,67	490,50	498,87	453,64
T eb,	5	441,91	410,07	458,66	274,36	254,25	311,22	413,42	376,56	441,91	386,62	410,07	363,16	426,83	425,15	448,61
T eb,	10	418,45	401,70	445,26	356,46	336,35	391,64	363,16	333,00	394,99	369,86	386,62	379,91	438,56	451,96	415,10
T eb,	15	388,29	363,16	423,48	366,51	336,35	389,97	396,67	373,21	408,40	453,64	487,15	430,18	513,95	529,03	460,34
T eb,	20	416,78	389,97	453,64	309,54	274,36	334,68	393,32	361,48	426,83	428,50	428,50	430,18	611,13	629,56	557,52

R1: Repetición 1, R2: Repetición 2, R3: Repetición 3

### ANEXO 13: COLOR POLIMÉRICO DE LA BEBIDA MODELO ELABORADA A PARTIR DE ORUJO CON SEMILLA

T (°C)	Tiem po (min)	SEMANA 0			SEMANA 1			SEMANA 2			SEMANA 3			SEMANA 4		
		Densida d color	Color poliméric o	Porcentaj e color poliméric o	Densida d color	Color poliméric o	Porcentaj e color poliméric o	Densida d color	Color poliméric o	Porcentaj e color poliméric o	Densida d color	Color poliméric o	Porcentaj e color poliméric o	Densida d color	Color poliméric o	Porcentaj e color poliméric o
80	0	2,31	1,38	59,8%	2,07	1,23	59,5%	2,13	1,18	55,5%	1,74	1,10	63,34%	1,80	1,21	67,3%
80	5	2,26	1,47	65,1%	2,28	1,51	66,5%	2,21	1,37	62,0%	1,81	1,28	70,56%	2,18	1,46	66,9%
80	10	2,04	1,39	68,0%	2,17	1,45	66,7%	2,09	1,26	60,2%	1,74	1,27	72,91%	2,07	1,37	66,5%
80	15	2,15	1,41	65,6%	2,03	1,40	69,3%	2,10	1,28	61,0%	1,76	1,23	70,09%	2,06	1,34	65,2%
80	20	2,36	1,42	60,2%	2,54	1,34	52,7%	2,39	1,29	54,0%	2,14	1,17	54,45%	2,20	1,21	55,0%
90	0	2,31	1,38	59,8%	2,07	1,23	59,5%	2,13	1,18	55,5%	1,74	1,10	63,34%	1,80	1,21	67,3%
90	5	2,62	1,42	54,4%	2,48	1,40	56,6%	2,43	1,35	55,7%	2,04	1,16	56,98%	2,31	1,37	59,3%
90	10	2,66	1,43	53,8%	2,55	1,45	56,8%	2,42	1,31	54,0%	2,19	1,26	57,47%	2,47	1,44	58,1%
90	15	2,61	1,35	51,8%	2,75	1,40	51,1%	2,36	1,29	54,6%	2,32	1,24	53,28%	2,28	1,26	55,0%
90	20	2,48	1,31	52,7%	2,54	1,33	52,4%	2,50	1,36	54,4%	2,26	1,19	52,39%	2,07	1,15	55,6%
T eb,	0	2,31	1,38	59,8%	2,07	1,23	59,5%	2,13	1,18	55,5%	1,74	1,10	63,34%	1,80	1,21	67,3%
T eb,	5	2,64	1,49	56,2%	2,59	1,50	57,8%	2,48	1,31	52,7%	2,46	1,33	54,25%	2,36	1,32	55,9%
T eb,	10	2,80	1,49	53,3%	2,64	1,48	56,2%	2,57	1,35	52,3%	2,24	1,28	57,38%	2,49	1,42	57,1%
T eb,	15	2,89	1,60	55,4%	2,69	1,54	57,3%	2,72	1,41	51,7%	2,42	1,33	54,89%	2,57	1,41	54,9%
T eb,	20	3,01	1,55	51,6%	2,65	1,39	52,6%	2,65	1,46	55,0%	2,39	1,29	53,91%	2,33	1,31	56,1%

\*Valores promedio

**ANEXO 14: COLOR POLIMÉRICO DE LA BEBIDA MODELO ELABORADA A PARTIR DE ORUJO SIN SEMILLA**

T (°C)	Tiempo (min)	SEMANA 0			SEMANA 1			SEMANA 2			SEMANA 3			SEMANA 4		
		Densidad color	Color polimérico	Porcentaje color polimérico	Densidad color	Color polimérico	Porcentaje color polimérico	Densidad color	Color polimérico	Porcentaje color polimérico	Densidad color	Color polimérico	Porcentaje color polimérico	Densidad color	Color polimérico	Porcentaje color polimérico
80	0	1,82	1,21	66,3%	1,83	1,04	56,7%	3,19	2,13	66,9%	3,29	1,88	57,14%	3,01	1,99	66,1%
80	5	1,97	1,26	63,9%	1,84	1,16	63,1%	3,39	2,34	69,1%	3,41	2,15	63,11%	3,22	2,27	70,4%
80	10	1,93	1,23	63,4%	1,92	1,20	62,3%	3,30	2,18	66,0%	3,53	2,22	62,99%	3,47	2,40	69,0%
80	15	1,94	1,23	63,7%	1,96	1,20	61,2%	3,14	2,13	68,0%	3,45	2,04	59,03%	3,16	2,11	66,7%
80	20	1,99	1,30	65,3%	1,82	1,09	59,7%	3,66	2,30	62,7%	3,42	1,98	57,90%	3,54	2,13	60,3%
90	0	1,82	1,21	66,3%	1,83	1,04	56,7%	3,19	2,13	66,9%	3,29	1,88	57,14%	3,01	1,99	66,1%
90	5	2,20	1,27	57,7%	1,93	1,23	63,9%	3,82	2,34	61,3%	3,92	2,19	55,92%	3,92	2,31	58,8%
90	10	2,32	1,33	57,2%	1,95	1,20	61,6%	3,81	2,20	57,6%	3,83	2,22	57,93%	3,87	2,33	60,2%
90	15	2,32	1,33	57,4%	1,98	1,20	60,4%	3,84	2,29	59,7%	3,85	2,12	55,02%	3,77	2,16	57,4%
90	20	2,31	1,27	55,2%	2,15	1,21	56,4%	4,18	2,42	57,9%	3,84	2,07	53,78%	3,89	2,15	55,1%
T eb,	0	1,82	1,21	66,3%	1,83	1,04	56,7%	3,19	2,13	66,9%	3,29	1,88	57,14%	3,01	1,99	66,1%
T eb,	5	2,35	1,30	55,4%	2,14	1,24	57,9%	4,28	2,41	56,4%	4,12	2,35	57,12%	4,13	2,36	57,1%
T eb,	10	2,45	1,33	54,2%	2,24	1,32	58,8%	4,24	2,37	55,9%	4,19	2,35	56,12%	4,11	2,38	57,9%
T eb,	15	2,37	1,33	56,3%	2,19	1,21	55,2%	4,13	2,32	56,3%	3,69	2,17	58,81%	3,83	2,21	57,8%
T eb,	20	2,18	1,34	61,2%	2,22	1,27	57,3%	4,20	2,40	57,2%	3,69	2,07	55,96%	3,61	2,07	57,4%

\*Valores promedio

**ANEXO 15: CONTENIDO DE TANINOS CONDENSADOS (mg catequina eq./L) EN LA BEBIDA MODELO ELABORADA A PARTIR DE ORUJO CON SEMILLA**

T (°C)	Tiempo (min)	SEMANA 0			SEMANA 1			SEMANA 2			SEMANA 3			SEMANA 4		
		R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
80	0	29,38	34,28	24,49	73,46	83,25	68,56	58,77	78,35	48,97	83,25	88,15	68,56	107,74	122,43	102,84
80	5	102,84	107,74	93,05	264,44	274,24	259,55	112,63	117,53	102,84	186,09	675,80	176,30	132,22	107,74	127,33
80	10	132,22	137,12	132,22	239,96	244,86	230,16	107,74	122,43	93,05	186,09	205,68	181,19	166,50	181,19	166,50
80	15	171,40	181,19	161,61	200,78	215,47	200,78	107,74	117,53	102,84	166,50	181,19	161,61	156,71	176,30	142,02
80	20	181,19	181,19	176,30	210,58	166,50	195,89	88,15	102,84	68,56	220,37	230,16	205,68	176,30	186,09	166,50
90	0	29,38	34,28	24,49	73,46	83,25	68,56	58,77	78,35	48,97	83,25	88,15	68,56	107,74	122,43	102,84
90	5	117,53	117,53	117,53	171,40	171,40	166,50	29,38	29,38	19,59	117,53	127,33	107,74	146,91	151,81	132,22
90	10	210,58	210,58	210,58	205,68	215,47	200,78	93,05	112,63	78,35	156,71	171,40	151,81	156,71	166,50	142,02
90	15	254,65	259,55	249,75	298,72	303,62	288,93	142,02	156,71	137,12	156,71	176,30	146,91	132,22	117,53	132,22
90	20	132,22	137,12	132,22	195,89	210,58	186,09	122,43	137,12	112,63	190,99	200,78	176,30	132,22	132,22	132,22
T eb,	0	29,38	34,28	24,49	73,46	83,25	68,56	58,77	78,35	48,97	83,25	88,15	68,56	107,74	122,43	102,84
T eb,	5	132,22	137,12	132,22	151,81	156,71	151,81	161,61	166,50	151,81	176,30	186,09	176,30	200,78	210,58	166,50
T eb,	10	176,30	181,19	166,50	171,40	190,99	166,50	176,30	190,99	171,40	186,09	195,89	181,19	146,91	156,71	127,33
T eb,	15	205,68	205,68	205,68	210,58	225,27	200,78	215,47	220,37	200,78	200,78	210,58	190,99	161,61	176,30	146,91
T eb,	20	107,74	112,63	97,94	137,12	146,91	127,33	142,02	146,91	127,33	132,22	146,91	127,33	117,53	122,43	97,94

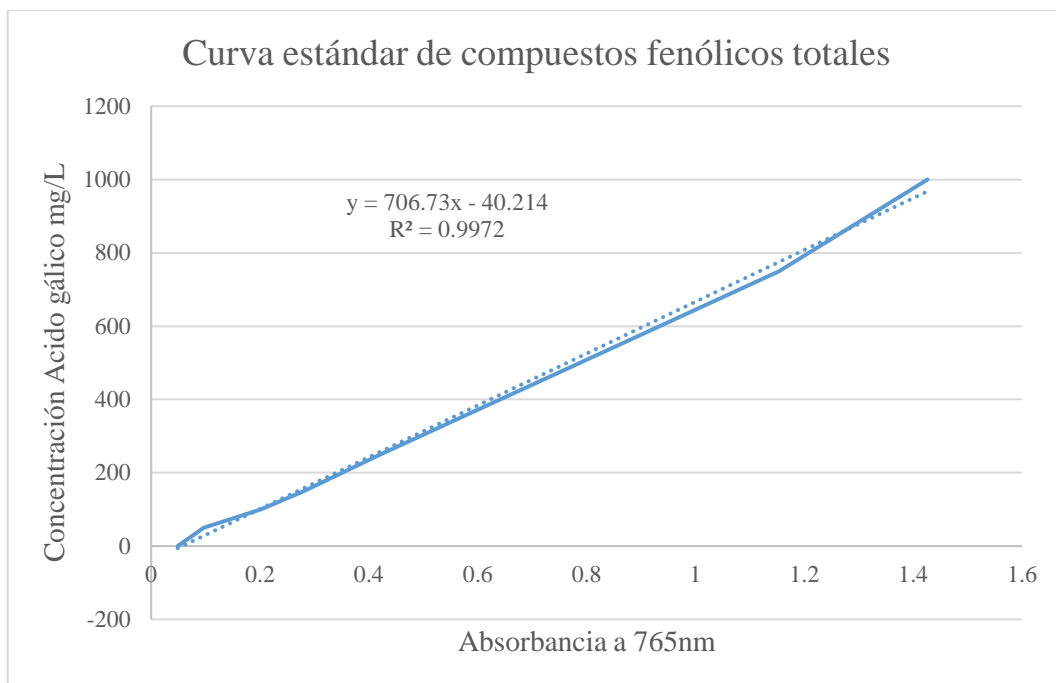
R1: Repetición 1, R2: Repetición 2, R3: Repetición 3

**ANEXO 16: CONTENIDO DE TANINOS CONDENSADOS (mg catequina eq./ L) EN LA BEBIDA MODELO ELABORADA A PARTIR DE ORUJO SIN SEMILLA**

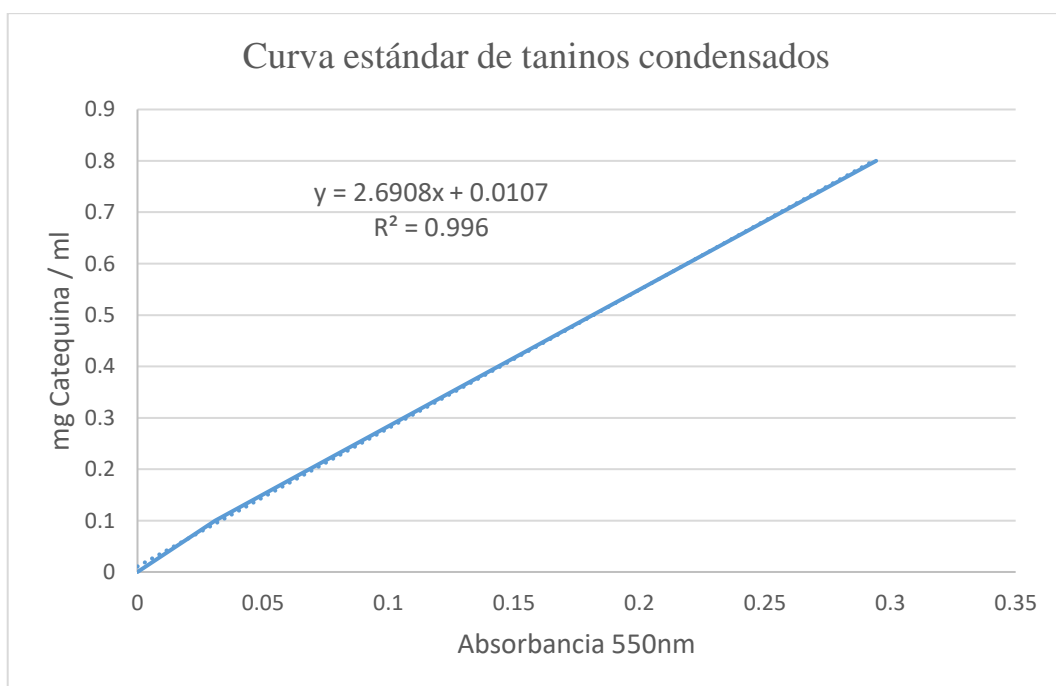
T (°C)	Tiempo (min)	SEMANA 0			SEMANA 1			SEMANA 2			SEMANA 3			SEMANA 4		
		R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
80	0	39,18	47,01	35,26	31,34	47,01	23,51	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
80	5	43,09	47,01	39,18	35,26	47,01	23,51	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
80	10	47,01	50,93	47,01	39,18	47,01	35,26	3,92	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
80	15	94,02	105,78	86,19	86,19	90,11	78,35	11,75	7,84	7,84	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
80	20	90,11	94,02	86,19	50,93	62,68	43,09	19,59	11,75	15,67	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
90	0	39,18	47,01	35,26	31,34	47,01	23,51	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
90	5	180,21	184,13	172,38	82,27	86,19	74,44	19,59	11,75	15,67	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
90	10	133,20	144,95	125,37	39,18	50,93	35,26	7,84	3,92	7,84	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
90	15	160,63	168,46	144,95	66,60	78,35	50,93	7,84	7,84	3,92	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
90	20	168,46	172,38	156,71	35,26	39,18	31,34	3,92	0,00	3,92	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Teb,	0	39,18	47,01	35,26	31,34	47,01	23,51	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
T eb,	5	82,27	90,11	70,52	58,77	66,60	58,77	3,92	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
T eb,	10	90,11	105,78	74,44	66,60	74,44	58,77	3,92	3,92	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
T eb,	15	62,68	78,35	54,85	97,94	105,78	86,19	3,92	0,00	3,92	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
T eb,	20	54,85	70,52	39,18	74,44	78,35	74,44	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

R1: Repetición 1, R2: Repetición 2, R3: Repetición 3

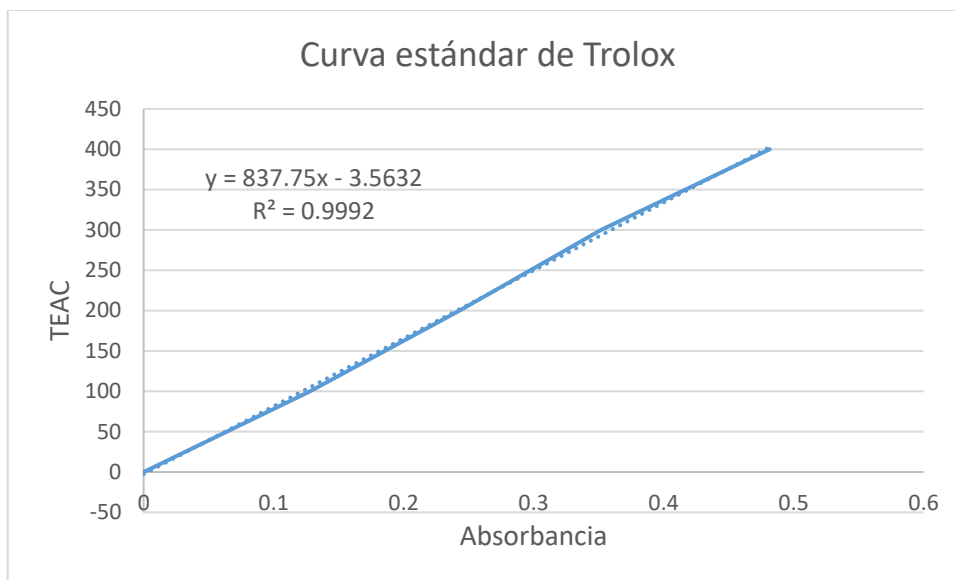
## ANEXO 17: CURVA ESTÁNDAR DE CALIBRACIÓN PARA LOS COMPUESTOS FENÓLICOS



## ANEXO 18: CURVA ESTÁNDAR DE CALIBRACIÓN PARA TANINOS CONDENSADOS



**ANEXO 19: CURVA ESTÁNDAR DE CALIBRACIÓN PARA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE**





## **ANEXO 20: ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS PRINCIPALES COMPUESTOS EN LAS BEBIDAS MODELO ELABORADAS A PARTIR DE EXTRACTO DE ORUJO DE UVINA**

### **FACTORES**

#### **Factor Tiempo de tratamiento térmico ( $\alpha_i$ ):**

- 0: 0 minutos
- 5: 5 minutos
- 10: 10 minutos
- 15: 15 minutos
- 20: 20 minutos

#### **Factor Temperatura ( $\beta_j$ ) :**

- 80: 80°
- 90: 90°
- T.eb: Temperatura de Ebullición

#### **Bloque Semilla ( $\gamma_k$ ):**

- SI: Con semilla
- NO: Sin semilla

### **MODELO**

$$\ln(Y)_{ijk_r} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\gamma)_{ij} + \gamma_k + \epsilon_{ijk_r}$$

$$i= 1,2 \quad j=1,2,3,4,5 \quad k=1,2 \quad r=1,2,3(\text{Repeticiones})$$

## ANTOCIANINAS MONOMÉRICAS

### Prueba de Fligner-Policello

```
> fp.test(b1,b2)

      Fligner-Policello test

data: b1 and b2
U* = -5.1553, p-value = 2.59e-07
alternative hypothesis: true difference in location is not equal to 0
```

Hay suficiente evidencia para afirmar que existe diferencia altamente significativa entre el bloque de orujos de uva con semilla y el bloque de orujos sin semilla respecto a la cantidad de cianidina-3-glucósido producidos en el estudio experimental.

### Análisis no paramétrico de los factores mediante contraste de rangos alineados.

#### BLOQUE: Con Semilla

```
> Modelo1=art(cianidina~Temperatura*Tiempo,data=subset(datos,Semilla=="SI"))
> anova(Modelo1)
Analysis of Variance of Aligned Rank Transformed Data

Table Type: Anova Table (Type III tests)
Model: No Repeated Measures (lm)
Response: art(cianidina)

      Df Df.res F value  Pr(>F)  Sum Sq Sum Sq.res
1 Temperatura      2   30 33.214 2.4763e-08 *** 5221.2  2358.00
2 Tiempo           4   30 58.225 1.0351e-13 *** 6712.7   864.67
3 Temperatura:Tiempo 8   30 12.165 1.4801e-07 *** 5666.1  1746.67
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
```

### CONCLUSIONES:

- A un nivel de significación del 5%, se ha encontrado suficiente evidencia para afirmar que para bebidas modelo elaboradas a partir de orujos de uva con semilla el efecto de temperatura es significativa sobre la concentración de antocianina.
- A un nivel de significación de 5%, se ha encontrado suficiente evidencia para afirmar que para las bebidas modelo elaboradas a partir de orujos de uva con semilla el efecto del tiempo de tratamiento térmico, es significativa sobre la concentración de antocianina.
- A un nivel de significación de 5%, se ha encontrado suficiente evidencia para afirmar que para las bebidas modelo elaboradas a partir de orujos de uva con semilla el efecto de la interacción del tiempo y temperatura de tratamiento térmico es significativa sobre la concentración de antocianina.

## BLOQUE: Sin Semilla

```
> Modelo2=art(cianidina~Temperatura*Tiempo,data=subset(datos,Semilla=="NO"))
> anova(Modelo2)
Analysis of Variance of Aligned Rank Transformed Data
```

Table Type: Anova Table (Type III tests)

Model: No Repeated Measures (lm)

Response: art(cianidina)

	Df	Df.res	F value	Pr(>F)	Sum Sq	Sum Sq.res
1 Temperatura	2	30	2.912	0.069859	.1230.4	6338.0
2 Tiempo	4	30	58.003	1.0884e-13 ***	6712.9	868.0
3 Temperatura:Tiempo	8	30	1.409	0.233128	2066.8	5500.7

---  
Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

## CONCLUSIONES:

- A un nivel de significación del 5%, se ha encontrado suficiente evidencia para afirmar que para las bebidas modelo elaboradas a partir de orujos de uva sin semilla el efecto de temperatura de tratamiento térmico, no es significativa sobre la concentración de antocianina.
- A un nivel de significación de 5%, se ha encontrado suficiente evidencia para afirmar que para las bebidas modelo elaboradas a partir de orujos de uva sin semilla, el efecto de los tiempos de tratamiento térmico, es significativa sobre la concentración de antocianina.
- A un nivel de significación de 5%, se ha encontrado suficiente evidencia para afirmar que para las bebidas modelo elaboradas a partir de orujos de uva sin semilla, el efecto de la interacción del tiempo y temperaturas de tratamiento térmico, no es significativa sobre la concentración de antocianina.

## Pruebas de Múltiple Rangos – DUNCAN

Bloque: Con semilla

Método: 95.0 porcentaje Duncan

FACTOR	Casos	Media	Grupos Homogéneos
TESTIGO	3	59.9833	X
90-20	3	77.4033	X
80-20	3	77.71	XX
80-15	3	78.8333	X
90-5	3	80.2367	X
80-5	3	80.2733	X
90-15	3	80.6033	XX
90-10	3	81.0033	XX
80-10	3	81.7267	X
E-20	3	83.17	X

E-15	3	84.5933	X
E-10	3	85.66	X
E-5	3	88.2167	X

Bloque: Sin semilla

Método: 95.0 porcentaje Duncan

<i>FACTOR</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
TESTIGO	3	61.0833	X
80-20	3	63.0033	X
E-20	3	63.2067	XX
90-20	3	64.0967	XXX
E-15	3	64.2733	XXXX
80-15	3	64.4567	XXX
80-10	3	64.8733	XX
E-10	3	64.8767	XX
90-10	3	64.9	XX
90-15	3	64.9467	XX
E-5	3	65.5233	X
90-5	3	67.2467	X
80-5	3	67.4833	X

### El StatAdvisor

Esta tabla aplica un procedimiento de comparación múltiple para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's. El método empleado actualmente para discriminar entre las medias es el procedimiento de comparación múltiple de Duncan. Con este método hay un riesgo del 5.0% al decir que uno o más pares son significativamente diferentes, cuando la diferencia real es igual a 0.

### CONTENIDO DE SEDIMENTO

#### Análisis de varianza

ANOVA	Df	SC	CM	F	P-value	Significancia
<b>Bloque(semilla)</b>	1	0.01394	0.013936	21.84	0	***
<b>Temperatura</b>	2	0.03612	0.018059	28.3	0	***
<b>Tiempo</b>	4	0.10181	0.025452	39.88	0	***
<b>Temperatura x Tiempo</b>	8	0.01442	0.001802	2.82	0.009	***
<b>Error</b>	74	0.04722	0.000638			

## CONCLUSIONES:

- A un nivel de significación del 5%, se ha encontrado suficiente evidencia estadística para afirmar que la presencia de semillas en los orujos de uvina durante la obtención del extracto empleado en la elaboración de la bebida modelo tiene un efecto significativo sobre la cantidad de sedimento (mg/ ml muestra) elevada a la potencia 0.6 en las bebidas modelo.
- A un nivel de significación del 5%, se ha encontrado suficiente evidencia estadística para afirmar que no con todas las temperaturas se tiene la misma cantidad de sedimento (mg/ ml muestra) elevada a la potencia 0.6 en las bebidas modelo a partir de los orujos de uvina.
- A un nivel de significación de 5%, se ha encontrado suficiente evidencia estadística para afirmar que no con todos los tiempos de tratamiento térmico se tiene la misma cantidad de sedimento (mg/ ml muestra) elevada a la potencia 0.6 en las bebidas modelo a partir de los orujos de uvina.
- A un nivel de significación de 5%, se ha encontrado suficiente evidencia estadística para afirmar que el efecto de la interacción del tiempo y temperatura es significativa sobre la cantidad de sedimento (mg/ ml muestra) elevada a la potencia 0.6 en las bebidas modelo a partir de los orujos de uvina.

## Pruebas de Múltiple Rangos – DUNCAN

Bloque: Con semilla

Método: 95.0 porcentaje Duncan

<i>FACTOR</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
TESTIGO	3	0.18	X
90-5	3	0.21	XX
90-20	3	0.25	XX
80-5	3	0.25	XX
E-20	3	0.25	XX
80-20	3	0.253333	XX
80-10	3	0.256667	X
80-15	3	0.26	X
90-10	3	0.263333	X
90-15	3	0.266667	X
E-15	3	0.273333	XX
E-5	3	0.313333	XX
E-10	3	0.346667	X

Bloque: Sin semilla

Método: 95.0 porcentaje Duncan

<i>FACTOR</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
TESTIGO	3	0.176667	X
80-5	3	0.193333	X
80-20	3	0.2	XX
90-5	3	0.21	XX
90-20	3	0.213333	XX
80-10	3	0.22	X
90-15	3	0.223333	X
90-10	3	0.223333	X
80-15	3	0.246667	X
E-5	3	0.25	X
E-10	3	0.276667	X
E-20	3	0.29	X
E-15	3	0.29	X

### El StatAdvisor

Esta tabla aplica un procedimiento de comparación múltiple para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's. El método empleado actualmente para discriminar entre las medias es el procedimiento de comparación múltiple de Duncan. Con este método hay un riesgo del 5.0% al decir que uno o más pares son significativamente diferentes, cuando la diferencia real es igual a 0.

### TURBIDEZ

#### Análisis de varianza

<b>ANOVA</b>	<b>Df</b>	<b>SC</b>	<b>CM</b>	<b>F</b>	<b>P-value</b>	<b>Significancia</b>
<b>Bloque(semilla)</b>	1	0.2326	0.2326	9.97	0.002	***
<b>Temperatura</b>	2	4.1344	2.0672	88.56	0	***
<b>Tiempo</b>	4	2.9429	0.7357	31.52	0	***
<b>Temperatura x Tiempo</b>	8	4.1641	0.5205	22.3	0	***
<b>Error</b>	74	1.7273	0.0233			

### CONCLUSIONES:

- A un nivel de significación del 5%, se ha encontrado suficiente evidencia estadística para afirmar que la presencia de semillas en los orujos de uvina durante la obtención del extracto empleado en la elaboración de la bebida modelo tiene un efecto significativo sobre el logaritmo natural de las unidades de turbidez en las bebidas modelo.

- A un nivel de significación del 5%, se ha encontrado suficiente evidencia estadística para afirmar que no con todas las temperaturas de tratamiento térmico se tiene el mismo logaritmo natural de las unidades de turbidez en las bebidas modelo a partir de los orujos de uvina.
- A un nivel de significación de 5%, se ha encontrado suficiente evidencia estadística para afirmar que no con todos los tiempos de tratamiento térmico se tiene el mismo logaritmo natural de las unidades de turbidez en las bebidas modelo a partir de los orujos de uvina.
- A un nivel de significación de 5%, se ha encontrado suficiente evidencia estadística para afirmar que el efecto de la interacción del tiempo y temperaturas altas en orujos de uvina es significativa sobre el logaritmo natural de las unidades de turbidez.

### Pruebas de Múltiple Rangos – DUNCAN

Bloque: Con semilla

Método: 95.0 porcentaje Duncan

<i>FACTOR</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
E-15	3	15.2833	X
E-20	3	16.28	X
E-10	3	17.0933	X
TESTIGO	3	21.37	X
80-5	3	23.2233	X
E-5	3	27.12	X
90-5	3	28.0133	X
90-20	3	35.0267	X
90-10	3	37.1667	XX
80-10	3	38.6533	X
90-15	3	47.8467	X
80-15	3	48.11	X
80-20	3	48.2733	X

Bloque: Sin semilla

Método: 95.0 porcentaje Duncan

<i>FACTOR</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
E-20	3	15.1	X
TESTIGO	3	15.7667	X
E-15	3	17.0	X
90-20	3	26.55	X
90-10	3	26.5833	X
E-10	3	28.01	XX
80-5	3	28.0767	XX
90-5	3	28.1367	XX
E-5	3	29.1367	XX

90-15	3	30.7167	X
80-15	3	33.4967	X
80-10	3	34.8067	X
80-20	3	54.0433	X

### El StatAdvisor

Esta tabla aplica un procedimiento de comparación múltiple para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's. El método empleado actualmente para discriminar entre las medias es el procedimiento de comparación múltiple de Duncan. Con este método hay un riesgo del 5,0 % al decir que uno o más pares son significativamente diferentes, cuando la diferencia real es igual a 0.

## FENOLES TOTALES

### Análisis de varianza

ANOVA	Df	SC	CM	F	P-value	Significancia
<b>Bloque(semilla)</b>	1	1287592	1287592	1686.32	0	***
<b>Temperatura</b>	2	37509	18754	24.56	0	***
<b>Tiempo</b>	4	38148	9537	12.49	0	***
<b>Temperatura x Tiempo</b>	8	9880	1235	1.62	0.134	
<b>Error</b>	74	56503	764			

### CONCLUSIONES:

- A un nivel de significación del 5 %, se ha encontrado suficiente evidencia estadística para afirmar que la presencia de semillas en los orujos de uvina durante la obtención del extracto empleado en la elaboración de la bebida modelo tiene un efecto significativo sobre el contenido de fenoles totales (mg GAE/L) las bebidas modelo.
- A un nivel de significación del 5 %, se ha encontrado suficiente evidencia estadística para afirmar que no con todas las temperaturas de tratamiento térmico se tiene la misma cantidad de fenoles totales (mg GAE/L) en las bebidas modelo.
- A un nivel de significación de 5 %, se ha encontrado suficiente evidencia estadística para afirmar que no con todos los tiempos de tratamiento térmico se tiene la misma cantidad de fenoles totales (mg GAE/L) las bebidas modelo.
- A un nivel de significación de 5 %, se ha encontrado suficiente evidencia estadística para afirmar que el efecto de interacción del tiempo y temperaturas de tratamiento térmico es significativa sobre la cantidad de fenoles totales (mg GAE/L) en las bebidas modelo.



## Pruebas de Múltiple Rangos – DUNCAN

Bloque: Con semilla

Método: 95.0 porcentaje Duncan

<i>FACTOR</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
TESTIGO	3	448.207	X
80-5	3	469.407	XX
80-15	3	469.877	XX
80-10	3	478.36	X
90-5	3	482.127	X
90-15	3	483.07	X
80-20	3	488.257	X
90-20	3	516.993	X
90-10	3	520.293	X
E-5	3	539.607	XX
E-10	3	556.57	XX
E-20	3	570.707	XX
E-15	3	595.677	X

Bloque: Sin semilla

Método: 95.0 porcentaje Duncan

<i>FACTOR</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
80-10	3	233.36	X
TESTIGO	3	237.13	XX
80-5	3	239.953	XX
80-15	3	249.85	XXX
80-20	3	253.62	XXX
E-15	3	254.56	XXX
90-10	3	267.283	XXX
90-5	3	268.227	XXX
E-5	3	282.36	XXX
E-10	3	285.187	XXX
90-20	3	285.657	XX
90-15	3	297.91	X
E-20	3	297.91	X

### El StatAdvisor

Esta tabla aplica un procedimiento de comparación múltiple para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's. El método empleado actualmente para discriminar entre las medias es el procedimiento de comparación múltiple de Duncan. Con este método hay un riesgo del 5.0% al decir que uno o más pares son significativamente diferentes, cuando la diferencia real es igual a 0.

## DIFERENCIA DE COLOR

### Análisis de varianza

ANOVA	Df	SC	CM	F	P-value	Significancia
Bloque(semilla)	1	0.029	0.02901	0.31	0.578	
Temperatura	2	12.7421	6.37104	68.56	0	***
Tiempo	3	1.6551	0.55169	5.94	0.001	***
Temperatura x Tiempo	6	1.4803	0.24672	2.65	0.024	***
Error	59	5.483	0.09293			

### CONCLUSIONES:

- A un nivel de significación del 5%, no se ha encontrado suficiente evidencia estadística para afirmar que la presencia de semillas en los orujos de uva durante la obtención del extracto empleado en la elaboración de la bebida modelo tiene un efecto significativo sobre la diferencia de color en las bebidas modelo.
- A un nivel de significación del 5%, se ha encontrado suficiente evidencia estadística para afirmar que no con todas las temperaturas de tratamiento térmico se tiene la misma diferencia de color en las bebidas modelo.
- A un nivel de significación de 5%, se ha encontrado suficiente evidencia estadística para afirmar que no con todos los tiempos de tratamiento térmico se tiene la misma diferencia de color en las bebidas modelo.
- A un nivel de significación de 5%, se ha encontrado suficiente evidencia estadística para afirmar que el efecto de la interacción tiempo y temperaturas ejerce un efecto sobre la diferencia de color en las bebidas modelo.

### Pruebas de Múltiple Rangos – DUNCAN

Bloque: Con semilla

Método: 95.0 porcentaje Duncan

FACTOR	Casos	Media	Grupos Homogéneos
TESTIGO	3	0	X
E-5	3	0.356667	X
E-20	3	0.483333	X
E-10	3	0.61	X
E-15	3	1.1	X
90-5	3	1.11	X
80-5	3	1.13333	XX
80-20	3	1.14667	X
90-20	3	1.22	X
80-10	3	1.86333	X
80-15	3	2.05	X
90-15	3	2.23667	X

90-10	3	3.11667	X
-------	---	---------	---

Bloque: Sin semilla

Método: 95.0 porcentaje Duncan

<i>FACTOR</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
TESTIGO	3	0	X
E-10	3	0.466333	X
E-15	3	0.712	X
E-20	3	0.74	X
80-5	3	0.890667	X
E-5	3	1.15	X
90-15	3	1.258	X
80-10	3	1.38367	X
90-10	3	1.39633	X
80-20	3	1.48	X
90-5	3	1.97833	X
90-20	3	2.12333	X
80-15	3	2.27767	X

### El StatAdvisor

Esta tabla aplica un procedimiento de comparación múltiple para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's. El método empleado actualmente para discriminar entre las medias es el procedimiento de comparación múltiple de Duncan. Con este método hay un riesgo del 5.0% al decir que uno o más pares son significativamente diferentes, cuando la diferencia real es igual a 0.

### CAPACIDAD ANTIOXIDANTE

#### Análisis de varianza

ANOVA	Df	SC	CM	F	P-value	Significancia
<b>Bloque(semilla)</b>	1	10821337	10821337	6116.47	0	***
<b>Temperatura</b>	2	18262	9131	5.16	0.008	***
<b>Tiempo</b>	4	8768	2192	1.24	0.302	
<b>Temperatura x Tiempo</b>	8	15043	1880	1.06	0.398	
<b>Error</b>	74	130922	1769			

### CONCLUSIONES:

- A un nivel de significación del 5%, se ha encontrado suficiente evidencia estadística para afirmar que la presencia de semillas en los orujos de uvina durante la obtención del extracto empleado en la elaboración de la bebida modelo tiene un efecto significativo sobre la capacidad antioxidante (mg TEAC ./ml) en las bebidas modelo.

- A un nivel de significación del 5%, se ha encontrado suficiente evidencia estadística para afirmar que no con todas las temperaturas de tratamiento térmico se tiene la misma capacidad antioxidante (mg TEAC /ml) en las bebidas modelo.
- A un nivel de significación de 5%, no se ha encontrado suficiente evidencia estadística para afirmar que los tiempos de tratamiento térmico tienen un efecto significativo sobre la capacidad antioxidante (mg TEAC /ml) en las bebidas modelo.
- A un nivel de significación de 5%, no se ha encontrado suficiente evidencia estadística para afirmar que el efecto de la interacción del tiempo y temperaturas altas en orujos de uva es significativa sobre la capacidad antioxidante (mg TEAC /ml) en las bebidas modelo.

### Pruebas de Múltiple Rangos – DUNCAN

Bloque: Con semilla

Método: 95.0 porcentaje Duncan

<i>FACTOR</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
80-5	3	1033.39	X
80-10	3	1036.88	XX
TESTIGO	3	1060.62	XXX
90-5	3	1066.9	XXXX
E-5	3	1082.26	XXXXX
80-20	3	1087.85	XXXX
90-20	3	1090.64	XXXX
E-10	3	1093.43	XXXX
90-15	3	1118.56	XXX
E-15	3	1122.75	XX
80-15	3	1128.34	XX
90-10	3	1146.49	XX
E-20	3	1199.55	X

Bloque: Sin semilla

Método: 95.0 porcentaje Duncan

<i>FACTOR</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
80-15	3	331.323	X
90-15	3	360.367	XX
90-10	3	370.42	XX
90-20	3	378.237	XXX
90-5	3	378.237	XXX
E-15	3	391.643	XXX
80-10	3	403.37	XXX
80-5	3	407.283	XXX
80-20	3	407.84	XXX
E-20	3	420.13	XX

E-10	3	421.803	XX
TESTIGO	3	426.27	XX
E-5	3	436.88	X

### El StatAdvisor

Esta tabla aplica un procedimiento de comparación múltiple para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's. El método empleado actualmente para discriminar entre las medias es el procedimiento de comparación múltiple de Duncan. Con este método hay un riesgo del 5.0% al decir que uno o más pares son significativamente diferentes, cuando la diferencia real es igual a 0.

## PORCENTAJE COLOR POLIMÉRICO

### Análisis de varianza

ANOVA	Df	SC	CM	F	P-value	Significancia
<b>Bloque(semilla)</b>	1	0.05382	0.053818	38.27	0	***
<b>Temperatura</b>	2	0.3042	0.152098	108.16	0	***
<b>Tiempo</b>	4	0.09746	0.024364	17.32	0	***
<b>Temperatura x Tiempo</b>	8	0.09189	0.011487	8.17	0	***
<b>Error</b>	74	0.10407	0.001406			

### CONCLUSIONES:

- A un nivel de significación del 5%, se ha encontrado suficiente evidencia estadística para afirmar que la presencia de semillas en los orujos de uvina durante la obtención del extracto empleado en la elaboración de la bebida modelo tiene un efecto significativo sobre el porcentaje de color polimérico en las bebidas modelo.
- A un nivel de significación del 5%, se ha encontrado suficiente evidencia estadística para afirmar que no con todas las temperaturas de tratamiento térmico se tiene el mismo logaritmo natural de porcentaje de color polimérico en bebidas modelo.
- A un nivel de significación de 5%, se ha encontrado suficiente evidencia estadística para afirmar que no con todos los tiempos de tratamiento térmico se tiene el mismo logaritmo natural de porcentaje de color polimérico en las bebidas modelo.
- A un nivel de significación de 5%, se ha encontrado suficiente evidencia estadística para afirmar que el efecto de la interacción del tiempo y temperaturas de tratamiento térmico es significativa sobre el logaritmo natural de porcentaje de color polimérico en las bebidas modelo.

## Pruebas de Múltiple Rangos – DUNCAN

Bloque: Con semilla

Método: 95.0 porcentaje Duncan

<i>FACTOR</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
E-20	3	0.516667	X
90-15	3	0.52	XX
90-20	3	0.53	XXX
E-10	3	0.533333	XXX
90-10	3	0.536667	XXX
90-5	3	0.543333	XX
E-15	3	0.553333	XX
E-5	3	0.563333	X
TESTIGO	3	0.6	X
80-20	3	0.603333	X
80-5	3	0.65	X
80-15	3	0.653333	X
80-10	3	0.683333	X

Bloque: Sin semilla

Método: 95.0 porcentaje Duncan

<i>FACTOR</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
E-10	3	0.54	X
90-20	3	0.553333	X
E-5	3	0.556667	X
E-15	3	0.563333	XX
90-10	3	0.573333	XX
90-15	3	0.576667	X
90-5	3	0.576667	X
E-20	3	0.61	X
80-10	3	0.633333	X
80-15	3	0.636667	X
80-5	3	0.643333	XX
80-20	3	0.65	XX
TESTIGO	3	0.66	X

### El StatAdvisor

Esta tabla aplica un procedimiento de comparación múltiple para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's. El método empleado actualmente para discriminar entre las medias es el procedimiento de comparación múltiple de Duncan. Con este método hay un riesgo del 5.0% al decir que uno o más pares son significativamente diferentes, cuando la diferencia real es igual a 0.

## TANINOS CONDENSADOS

### Análisis de varianza

ANOVA	Df	SC	CM	F	P-value	Significancia
Bloque(semilla)	1	46 825	46 825.5	48.02	0	***
Temperatura	2	43 916	2 1958	22.52	0	***
Tiempo	4	154 643	38660.8	39.65	0	***
Temperatura x Tiempo	8	30063	3757.8	3.85	0.001	***
Error	74	72162	975.2			

### CONCLUSIONES:

- A un nivel de significación del 5%, se ha encontrado suficiente evidencia estadística para afirmar que la presencia de semillas en los orujos de uvina durante la obtención del extracto empleado en la elaboración de la bebida modelo tiene un efecto significativo sobre el contenido de taninos (mg catequina eq./L) en las bebidas modelo.
- A un nivel de significación del 5%, se ha encontrado suficiente evidencia estadística para afirmar que no con todas las temperaturas de tratamiento térmico se tiene la misma cantidad de taninos (mg catequina eq. /L) en las bebidas modelo.
- A un nivel de significación de 5%, se ha encontrado suficiente evidencia estadística para afirmar que no con todos los tiempos de tratamiento térmico se tiene la misma cantidad de taninos (mg catequina eq. /L) en las bebidas modelo.
- A un nivel de significación de 5%, se ha encontrado suficiente evidencia estadística para afirmar que el efecto de la interacción del tiempo y temperaturas de tratamiento térmico es significativa sobre la cantidad de taninos (mg catequina eq. /L) en las bebidas modelo.

### Pruebas de Múltiple Rangos – DUNCAN

Bloque: Con semilla

Método: 95.0 porcentaje Duncan

FACTOR	Casos	Media	Grupos Homogéneos
TESTIGO	3	29.3833	X
80-5	3	101.21	X
E-20	3	106.103	X
90-5	3	117.53	X
80-10	3	133.853	X
90-20	3	133.853	X
E-5	3	133.853	X
80-15	3	171.4	X
E-10	3	174.663	X
80-20	3	179.56	X

E-15	3	205.68	X
90-10	3	210.58	X
90-15	3	254.65	X

Bloque: Sin semilla

Método: 95.0 porcentaje Duncan

<i>FACTOR</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
TESTIGO	3	40.4833	X
80-5	3	43.0933	X
80-10	3	48.3167	XX
E-20	3	54.85	XX
E-15	3	65.2933	XX
E-5	3	80.9667	XX
80-20	3	90.1067	X
E-10	3	90.11	X
80-15	3	95.33	X
90-10	3	134.507	X
90-15	3	158.013	X
90-20	3	165.85	XX
90-5	3	178.907	X

### **El StatAdvisor**

Esta tabla aplica un procedimiento de comparación múltiple para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's. El método empleado actualmente para discriminar entre las medias es el procedimiento de comparación múltiple de Duncan. Con este método hay un riesgo del 5.0% al decir que uno o más pares son significativamente diferentes, cuando la diferencia real es igual a 0.