# ANEXOS

# ANEXO 1

# ESPECIFICACIÓN DE EQUIPOS E INSTRUMENTOS UTILIZADOS EN LA EXPERIMENTACIÓN

| EQUIPOS | ESPECIFICACIONES |
|---|---|
| **Balanza Analítica Electrónica**<br> | **Modelo**: JK-EB-2003T<br>**Marca**: jingke<br>**Potencia:** 220 V<br>**Capacidad:** 200 gr<br>**Precisión:** 0,001 gr |
| **Horno de Secado a Vacío**<br> | **Modelo:** LP- 403<br>**Marca**: LABOR MUSZERIPARI MUVEK<br>**Tensión:** 220 V<br>**Potencia:** 1,4 kW<br>**Frecuencia:** 50 Hz<br>**Temperatura Máxima**: 50 – 200ºC |

| | |
|---|---|
| **Molino Eléctrico de Martillos**<br> | **Modelo:** Molino de laboratorio 120<br>**Velocidad**: 16.800 R.P.M<br>**Capacidad:** 300 gr<br>**Tensión:** 220-240 V,<br>**Frecuencia:** 50 Hz o 60 Hz<br>**Potencia:** 1100 W<br>**Temperatura ambiental**: 5- 40ºC<br>**Humedad Máxima:** 80% |
| **Tamizador**<br> | **Marca y modelo**: ORTO ALRESA<br>**Velocidad**: 2500 R.P.M<br>**Tensión:** 230 V<br>**Tiempo de programación**: 5-60min<br>**Potencia**: 92W<br>**Intensidad de corriente:** 0,4 A<br>**Frecuencia:** 50Hz |

| Sellador de bolsas plástico | |
|---|---|
|  | **Marca:** KAMASA<br>Sistema de sellado impulso<br>**Modelo**: KM 353<br>**Potencia**: 400 W<br>**Longitud de sellado máximo:** 300mm<br>**Espesor de sellado máximo:** 0,4 mm<br>**Ancho de sellado máximo:** 3mm<br>**Intensidad de corriente:** 0,4 A |

**Fuente**: Elaboración propia 2019

Los materiales usados son:

| MATERIAL | CARACTERÍSTICAS |
|---|---|
| 5 cajas Petri | **Diámetro:**<br>**Material:** Vidrio |
| Pinza de metal | **Material:** Acero inoxidable |
| Desecador | **Material:** Acero inoxidable |
| Papel aluminio | - |
| Bolsas plásticas | **Material:** Polipropileno |

**Fuente**: Elaboración propia,2019.

# ANEXO 2

# PROTOCOLOS USADOS PARA LA CUANTIFICACIÓN DE ANTIOXIDANTES Y RESVERATROL

**Instituto de Investigaciones Químicas de la Facultad de Ciencias Puras y Naturales de la Universidad Mayor de San Andrés**

# EXTRACCIÓN DE MUESTRAS

Todas las muestras fueron extraídas previamente con metanol al 90% siguiendo los pasos:

- ✓ Pesar un ependorf vacío
- ✓ Pesar el ependorf más la muestra (aproximadamente 0.1 gramos)
- ✓ Pesar el ependorf más la muestra, más metanol al 90% (aproximadamente 1 mL)
- ✓ Sonicar 15 minutos a 0°C con hielo
- ✓ Centrifugar la muestra a 12000 rpm por 2 minutos
- ✓ Decantar a otro ependorf, dejar en el refrigerador a 4°C
- ✓ El sólido restante dejar secar en la estufa a 65°C
- ✓ Pesar la muestra seca.

**Instituto de Investigaciones Químicas de la Facultad de Ciencias Puras y Naturales de la Universidad Mayor de San Andrés**

# PROTOCOLO DE MÉTODO FRAP

El método FRAP evalúa la capacidad antioxidante de una muestra de acuerdo con su capacidad para reducir el complejo amarillo de $Fe^{3+}$-TPTZ (2, 4, 6-tripiridil-s-triazina) al complejo azul de $Fe^{2+}$-TPTZ. Este último complejo tiene un máximo de absorbancia a una longitud de onda entre 590-595 nm. **(Peñarrieta, Alvarado, Akesson, & Bergenståhl, 2008)**

Para la curva estándar de Trolox:

**Buffer pH:** 3,6

**Solución A (Ácido acético 0,2 M):** Diluir 11,55 mL de ácido en 1000 mL de $H_2O$

**Solución B (Acetato de Sodio 0,2 M):** Disolver 27,2 g de Acetato de Sodio en 1000 mL de $H_2O$

**Buffer:** Mezclar 436 mL (A) con 37mL (B) y aforar a 1000 mL.

**Trolox 5 mM**: Disolver 62,57 mg de Trolox en 50 mL de etanol al 96%.

**HCl 40 mM:** Diluir 3,312 mL de HCl en 1000 mL de $H_2O$.

**TPTZ 10 mM:** Disolver 156 mg de TPTZ en 50 mL de HCl 40 mM.

**$FeCl_3$ 20 mM:** Disolver 270,3 mg de $FeCl_3$ en 50 mL de $H_2O$.

**FRAP:** 25 mL de Buffer, agregar 2,5 mL de TPTZ (10 mM) y 2,5 mL de $FeCl_3$ (20 mM)

Sacando alícuotas de la solución de Trolox 5mM preparar las soluciones en tubos de ensayo como se indica a continuación:

**Tabla 1:** Soluciones para la curva estándar de Trolox

| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
|---|---|---|---|---|---|
| **Trolox (µL)** | 20 | 50 | 100 | 150 | 200 |
| **Etanol (µL)** | 980 | 950 | 900 | 850 | 800 |

**Fuente:** FCNP/ CCQ.

A partir de esas soluciones de Trolox, preparar la curva de Calibración:

**Tabla 2:** Curva estándar, método FRAP

| **N°** | **Concentración de Trolox µM** | **Agua µL** | **Trolox µL** | **FRAP µL** |
|---|---|---|---|---|
| 1 | 100 | 90 | 30 | 900 |
| 2 | 250 | 90 | 30 | 900 |
| 3 | 500 | 90 | 30 | 900 |
| 4 | 750 | 90 | 30 | 900 |
| 5 | 1000 | 90 | 30 | 900 |

**Fuente:** FCNP/ CCQ.

El blanco son 30 µL de Etanol al 96%, 90 µL de agua y 900µL de FRAP

**Muestras:**

- ✓ Preparar en tubos de ensayo: 30µL de muestra, agregar 90 µL de $H_2O$ y 900 µL de FRAP.
- ✓ Poner 300 µL de cada muestra incluyendo la curva en una placa de lectura y leer la absorbancia a una longitud de onda de 593 nm.

Para el cálculo de TAC de los extractos por el método FRAP se usan la ecuación:

$$TAC\ (\mu mol/g) = \frac{Abs}{pend} \times \left(\frac{S+B}{H}\right) \times \left(\frac{H-P}{S}\right) \times f.d. \times 0.001$$

**Ecuación 1.** Fórmula para calcular el TAC. FRAP

**Dónde:**

- Abs = Absorbancia de la muestra
- Pend = Pendiente de la curva de calibración (µmol/L)
- S = Peso de la muestra inicial
- B = Peso del metanol añadido
- H = Peso del homogenizado en el tubo después del sonicado
- P = Peso de la pulpa seca
- f.d. = Factor de dilución de la muestra
- 0.001 = Factor de conversión de (L) a (g)

**Instituto de Investigaciones Químicas de la Facultad de Ciencias Puras y Naturales de la Universidad Mayor de San Andrés**

# PROTOCOLO DE MÉTODO FENOLES TOTALES

Los compuestos fenólicos reaccionan con el reactivo de Folin-Ciocalteu en medio básico dando lugar a una coloración azul susceptible de ser determinada espectrofotométricamente a 765 nm. Este reactivo contiene una mezcla de wolframato sódico y molibdato sódico en ácido fosfórico, el ácido fosfomolibdotúngstico formado, de color amarillo, al ser reducido por los grupos fenólicos da lugar a un complejo de color azul intenso, cuya intensidad es la que se mide para evaluar el contenido en polifenoles.

**Preparación de soluciones**:

**Solución de Folin al 10%:** Diluir 2,5 mL de Folin en 25 mL de agua.

**Solución de Acido Gálico:** Disolver 25 mg de ácido gálico en 25 mL de metanol al 80%.

**Solución de $Na_2CO_3$ al 7,5% (p/v):** Disolver 3.75g de $Na_2CO_3$ en 50 mL de $H_2O$

**Curva estándar de Ácido Gálico:**

**Tabla 1:** Soluciones para la curva estándar de ácido gálico

| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
|---|---|---|---|---|---|
| **Ácido Gálico µL** | 20 | 40 | 60 | 80 | 100 |
| **Agua µL** | 980 | 960 | 940 | 920 | 900 |

**Fuente:** FCNP/ CCQ.

A partir de estas soluciones de ácido gálico, se prepara la curva de estandarización:

**Tabla 2:** Curva estándar, Fenoles Totales

| N° | Concentración de ácido gálico ppm | Ácido gálico µL | Folin µL | $Na_2CO_3$ mL |
|---|---|---|---|---|
| 1 | 20 | 50 | 1000 | 0,5 |
| 2 | 40 | 50 | 1000 | 0,5 |
| 3 | 60 | 50 | 1000 | 0,5 |
| 4 | 80 | 50 | 1000 | 0,5 |
| 5 | 100 | 50 | 1000 | 0,5 |

**Fuente:** FCNP/ CCQ.

Después de agregar Folin a las soluciones de ácido gálico se debe esperar 8 minutos para agregar el $Na_2CO_3$, luego dejar en la estufa a 45 °C por 30 minutos

El Blanco tiene 50 µL de agua, 1 mL de Folin y 0,5 mL de $Na_2CO_3$

**Muestras:**

En tubos de ensayo preparar: 50 µL de cada muestra, agregar 1 mL de Folin al 10%, esperar 8 minutos y agregar 0,5 mL de $Na_2CO_3$ (7,5%), dejar en la estufa a 45 °C por 30 minutos.

Poner 300 µL de cada solución, incluyendo la curva, en una placa de lectura, leer la absorbancia a una longitud de onda de 765 nm.

Para el cálculo de TAC de Fenoles Totales:

$$GAE\ [\mu mol/g] = \frac{Abs}{pend} \times \left(\frac{S+B}{H}\right) \times \left(\frac{H-P}{S}\right) \times \frac{f.d.}{P.M.}$$

**Ecuación 1:** Fórmula para calcular GAE. Fenoles Totales

Donde P.M. es el peso molecular del ácido gálico.

**Instituto de Investigaciones Químicas de la Facultad de Ciencias Puras y Naturales de la Universidad Mayor de San Andrés**

# PROTOCOLO DE MÉTODO ABTS

Este método se fundamenta en la cuantificación de la decoloración del radical $ABTS^{+}$, debido a su reducción a ABTS por la acción de antioxidantes. El radical catiónico $ABTS^{+}$ es un cromóforo verde azulado que absorbe a una longitud de onda de 734 nm y se genera por una reacción de oxidación del ABTS (2,2'-azino-bis- (3-etil benzotiazolin-6-sulfonato de amonio) con persulfato de potasio. De esta manera el grado de decoloración como porcentaje de inhibición del radical ABTS+ está determinado en función a la concentración.

## Preparación de Soluciones

**Trolox 5 mM:** Disolver 62,57 mg de Trolox en 50 mL de etanol.

**ABTS 7 mM:** Disolver 19,2 mg en 5 mL de $H_2O$.

**Persulfato de Amonio 140 mM:** Disolver 31,92 mg de Persulfato de Amonio en 1 mL de $H_2O$.

**Buffer pH = 5**

**Solución A (Ácido Acético 0,2 M):** Diluir 11,55 mL de Ácido Acético en 1000 mL de $H_2O$.

**Solución B (Acetato de Sodio 0,2 M):** Disolver 27,2 g de Acetato de Sodio en 1000 mL de $H_2O$.

**Buffer:** Mezclar 148 mL de A con 352 mL de B y aforar a 1000 mL con $H_2O$.

Para formar el radical $ABTS^{+}$, mezclar 88 µL de Persulfato 140mM con 5 mL de ABTS 7 mM, mantener en la oscuridad a temperatura ambiente, el radical es estable hasta 6 días.

El día de uso, diluir el ABTS con el Buffer pH = 5 hasta obtener una solución que de Absorbancia 0,7 ± 0,02 a 734 nm de longitud de onda.

**Curva estándar de Trolox:**

De la solución 5 mM de Trolox, sacar 160 µL y diluir en 3840 µL de Buffer pH = 5, obteniendo una solución 200 µM de Trolox, a partir de esa solución preparar las siguientes en tubos de ensayo:

**Tabla 1:** Curva estándar, ABTS

| Trolox 200 µM (µL) | Buffer pH 5 (µL) | Concentración Trolox (µM) | Volumen Total |
|---|---|---|---|
| 0 | 100 | 0 | 100 |
| 100 | 900 | 20 | 1000 |
| 250 | 750 | 50 | 1000 |
| 500 | 500 | 100 | 1000 |
| 750 | 250 | 150 | 1000 |
| 100 | 0 | 200 | 100 |

**Fuente:** FCNP/ CCQ.

De las soluciones preparadas, sacar alícuotas de 100 µL en otros tubos de ensayo y agregar 1 mL de ABTS.

**Muestras:**

En tubos de ensayo poner 100 µL de cada muestra y agregar 1 mL de ABTS.

Sacar 300 µL de cada solución y poner en la placa de lectura para leer la absorbancia a 734 nm de longitud de onda.

Para el cálculo de TAC por el método ABTS, primero se debe calcular el porcentaje de Inhibición:

$$\%\ de\ Inhibicion = \frac{(Abs_{Blanco} - Abs_{Muestra})}{Abs_{Blanco}} \times 100$$

**Ecuación 1:** Cálculo del % de Inhibición

Con los datos de % de inhibición:

$$TAC\ (\mu mol/g) = \frac{\%\, I}{pend} \times \left(\frac{S+B}{H}\right) \times \left(\frac{H-P}{S}\right) \times f.d. \times 0.001$$

**Ecuación 2:** Cálculo de TAC, ABTS

**Instituto de Investigaciones Químicas de la Facultad de Ciencias Puras y Naturales de la Universidad Mayor de San Andrés**

# PROTOCOLO DE MÉTODO HPLC PARA RESVERATROL

**HPLC** (High Performance Liquid Chromatography) es una técnica de cromatografía en columna que bombea una muestra o mezcla de analitos con un solvente (fase móvil) con alta presión a través de la columna que contiene la fase estacionaria. Este método tiene la capacidad de separar e identificar los compuestos presentes en una mezcla o muestra.

**Figura 1:** Esquema, HPLC



**Fuente:** FCNP/ CCQ.

**Método:**

El equipo cuenta con una bomba cuaternaria, pero en este caso solo se usan 2 solventes, Agua acidificada con Ácido acético al 1 %, y metanol.

El método se describe en la siguiente tabla:

**Tabla 7:** Método de análisis, HPLC.

| Tiempo min. | % de Metanol |
|---|---|
| 0 | 20 |
| 5 | 30 |
| 10 | 40 |
| 15 | 50 |
| 17 | 65 |
| 19 | 80 |
| 25 | 20 |

**Fuente:** FCNP/ CCQ

El tiempo total de cada experimento es de 25 minutos.

El Resveratrol se mide por un detector de arreglo de diodos a 310nm y 530nm respectivamente.

# ANEXO 3

# DATOS Y CÁLCULOS

✓ ***Datos y cálculos en la etapa de secado***

**ENSAYO Nº1 (T=50ºC)**

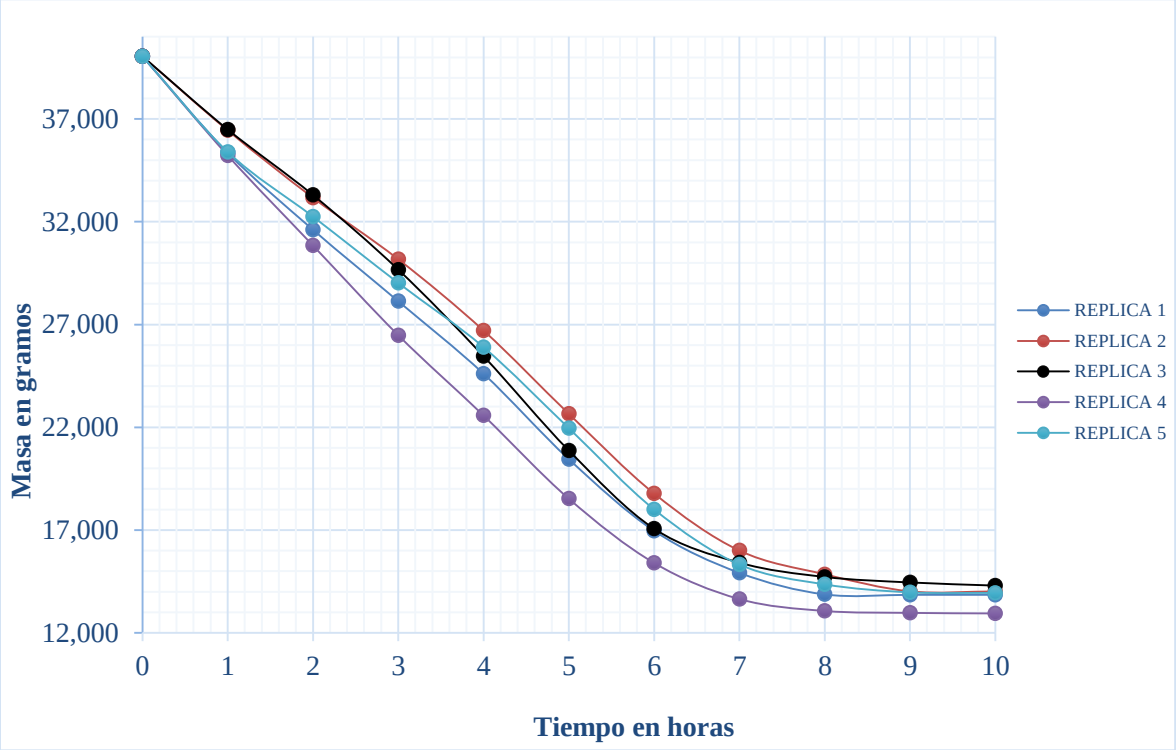
✓ ***Pérdida de masa***

**Tabla 1 Variación de la masa de Orujo de Uva**

| tiempo (hrs) | REPLICA Nº1 $m_1$ (gr) | REPLICA Nº2 $m_1$ (gr) | REPLICA Nº3 $m_1$ (gr) | REPLICA Nº4 $m_1$ (gr) | REPLICA Nº5 $m_1$ (gr) | PROMEDIO |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 0 | 40,050 | 40,050 | 40,052 | 40,048 | 40,050 | 40,050 |
| 1 | 35,357 | 36,447 | 36,488 | 35,227 | 35,397 | 35,783 |
| 2 | 31,613 | 33,169 | 33,301 | 30,846 | 32,250 | 32,236 |
| 3 | 28,132 | 30,175 | 29,670 | 26,478 | 29,023 | 28,696 |
| 4 | 24,606 | 26,707 | 25,460 | 22,574 | 25,897 | 25,049 |
| 5 | 20,447 | 22,656 | 20,870 | 18,525 | 21,957 | 20,891 |
| 6 | 16,963 | 18,777 | 17,065 | 15,399 | 18,006 | 17,242 |
| 7 | 14,918 | 16,002 | 15,413 | 13,642 | 15,321 | 15,059 |
| 8 | 13,869 | 14,848 | 14,719 | 13,064 | 14,357 | 14,171 |
| 9 | 13,850 | 14,018 | 14,451 | 12,971 | 13,970 | 13,852 |
| 10 | 13,850 | 14,015 | 14,299 | 12,944 | 13,943 | 13,810 |

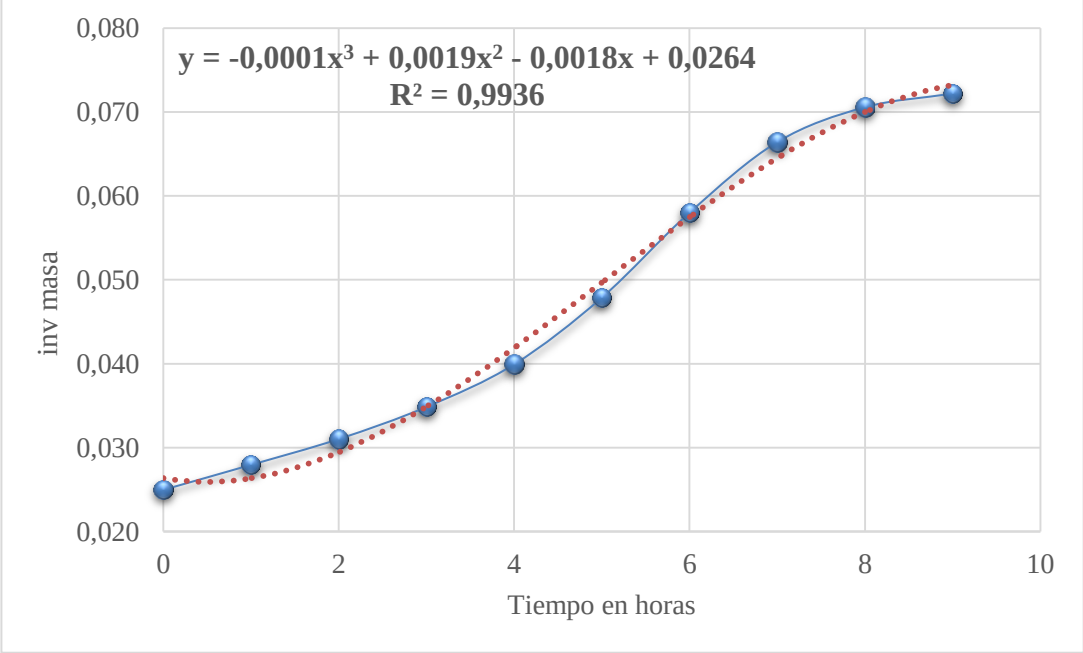
**Fuente:** Elaboración Propia,2019

**Gráfica 1 Curvas de Variación de Pérdida de Masa**




**Fuente:** Elaboración Propia, 2019.

**Gráfica 2 Variación de Inversa de la masa para Ajuste de curva**




**Fuente:** Elaboración Propia, 2019.

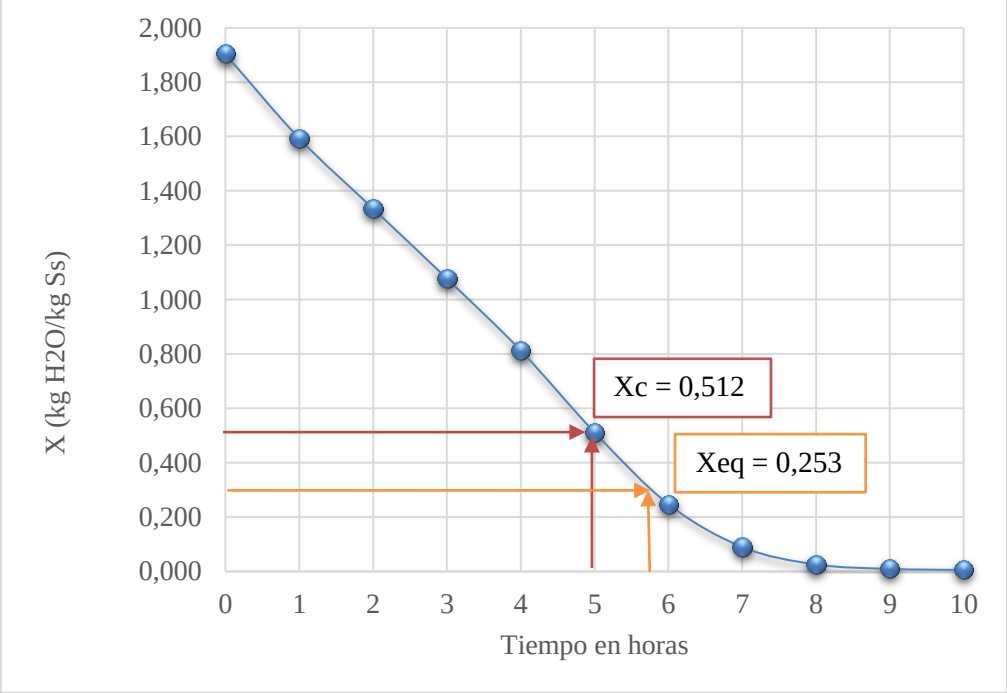
✓ ***Humedad***

**Tabla 2 Variación de la humedad en Base Seca (X) de Orujo de Uva**

| tiempo (hrs) | REPLICA Nº1 | REPLICA Nº2 | REPLICA Nº3 | REPLICA Nº4 | REPLICA Nº5 | PROMEDIO |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | X | X | X | X | X | X (kg $H_2O$/kg Ss) |
| 0 | 1,892 | 1,858 | 1,801 | 2,094 | 1,872 | 1,903 |
| 1 | 1,553 | 1,601 | 1,552 | 1,721 | 1,539 | 1,593 |
| 2 | 1,283 | 1,367 | 1,329 | 1,383 | 1,313 | 1,335 |
| 3 | 1,031 | 1,153 | 1,075 | 1,046 | 1,082 | 1,077 |
| 4 | 0,777 | 0,906 | 0,781 | 0,744 | 0,857 | 0,813 |
| 5 | 0,476 | 0,617 | 0,460 | 0,431 | 0,575 | 0,512 |
| 6 | 0,225 | 0,340 | 0,193 | 0,190 | 0,291 | 0,248 |
| 7 | 0,077 | 0,142 | 0,078 | 0,054 | 0,099 | 0,090 |
| 8 | 0,001 | 0,059 | 0,029 | 0,009 | 0,030 | 0,026 |
| 9 | 0,000 | 0,035 | 0,009 | 0,002 | 0,002 | 0,010 |
| 10 | 0,000 | 0,028 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,006 |

**Fuente:** Elaboración Propia, 2019.

**Gráfica 3 Curva de humedad promedio (X) en base seca en función del tiempo**



**Fuente:** Elaboración Propia, 2019.

**ENSAYO Nº2 (T=55ºC)**

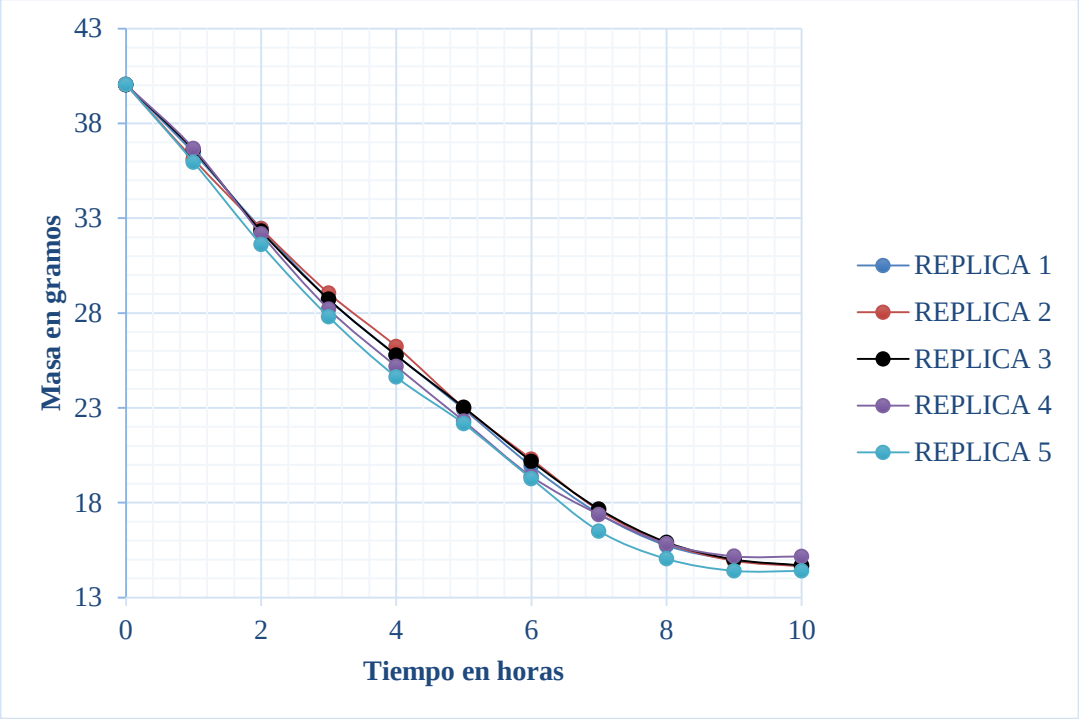
- ✓ ***Pérdida de masa***

**Tabla 3 Variación de la Masa de Orujo de Uva**

| tiempo (hrs) | REPLICA Nº1 | REPLICA Nº2 | REPLICA Nº3 | REPLICA Nº4 | REPLICA Nº5 | PROMEDIO |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | $m_1$ (gr) | $m_1$ (gr) | $m_1$ (gr) | $m_1$ (gr) | $m_1$ (gr) | |
| 0 | 40,046 | 40,044 | 40,041 | 40,048 | 40,05 | 40,046 |
| 1 | 36,447 | 36,108 | 36,593 | 36,679 | 35,956 | 36,357 |
| 2 | 32,454 | 32,443 | 32,315 | 32,163 | 31,607 | 32,196 |
| 3 | 28,724 | 29,044 | 28,724 | 28,205 | 27,798 | 28,499 |
| 4 | 25,785 | 26,235 | 25,768 | 25,182 | 24,628 | 25,520 |
| 5 | 22,923 | 23,007 | 23,025 | 22,3 | 22,161 | 22,683 |
| 6 | 19,929 | 20,293 | 20,182 | 19,385 | 19,269 | 19,812 |
| 7 | 17,416 | 17,599 | 17,667 | 17,378 | 16,504 | 17,313 |
| 8 | 15,742 | 15,86 | 15,913 | 15,839 | 15,038 | 15,678 |
| 9 | 14,982 | 14,937 | 15,008 | 15,173 | 14,408 | 14,902 |
| 10 | 14,675 | 14,645 | 14,695 | 15,167 | 14,402 | 14,717 |

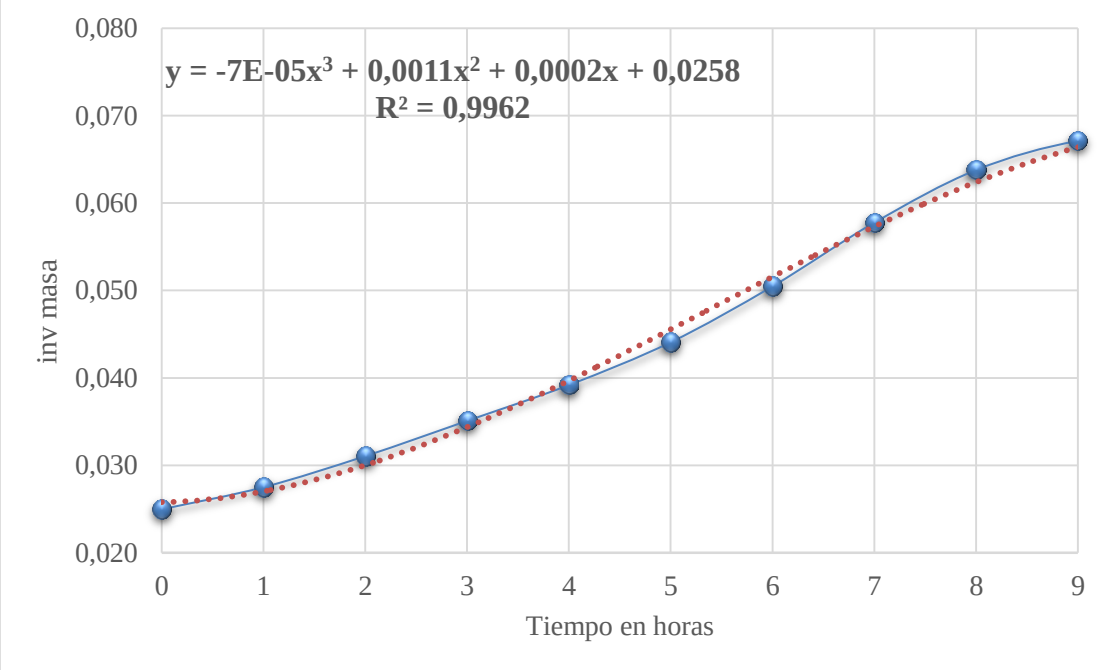
**Fuente:** Elaboración Propia, 2019.

**Gráfica 4 Curvas de Variación de Pérdida de Masa**




**Fuente:** Elaboración Propia, 2019.

**Gráfica 5 Curva de Variación de Inversa de la masa para Ajuste de curva**




**Fuente:** Elaboración Propia, 2019.

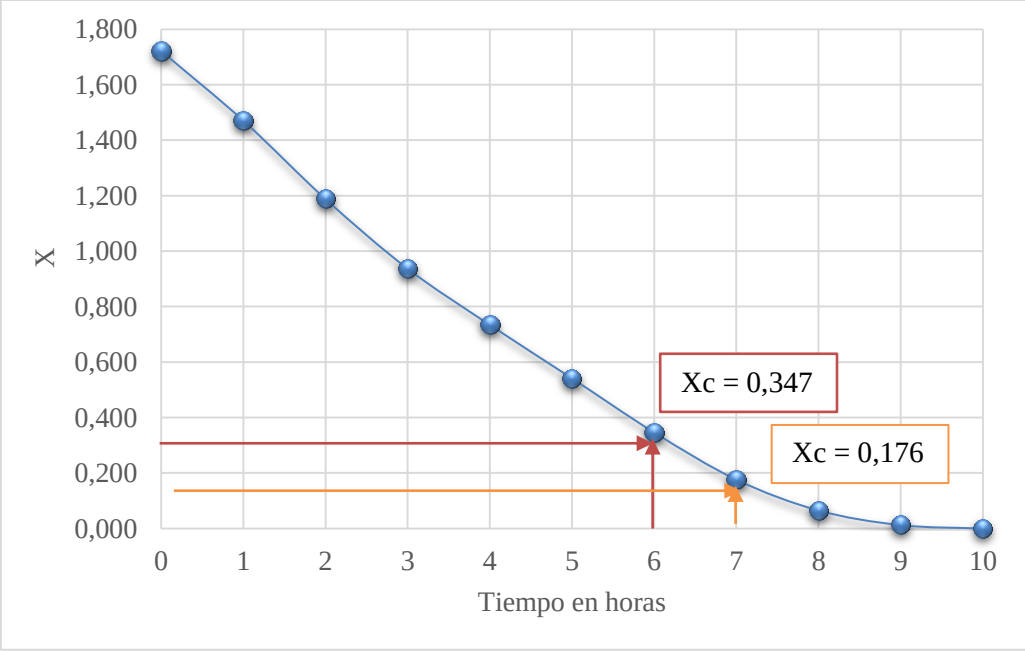
✓ ***Humedad***

**Tabla 4 Variación de la humedad en Base Seca (X) de Orujo de Uva**

| tiempo (hrs) | REPLICA Nº1 | REPLICA Nº2 | REPLICA Nº3 | REPLICA Nº4 | REPLICA Nº5 | PROMEDIO |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | X | X | X | X | X | X (kg $H_2O$/kg Ss) |
| 0 | 1,729 | 1,734 | 1,725 | 1,640 | 1,781 | 1,722 |
| 1 | 1,484 | 1,466 | 1,490 | 1,418 | 1,497 | 1,471 |
| 2 | 1,212 | 1,215 | 1,199 | 1,121 | 1,195 | 1,188 |
| 3 | 0,957 | 0,983 | 0,955 | 0,860 | 0,930 | 0,937 |
| 4 | 0,757 | 0,791 | 0,754 | 0,660 | 0,710 | 0,734 |
| 5 | 0,562 | 0,571 | 0,567 | 0,470 | 0,539 | 0,542 |
| 6 | 0,358 | 0,386 | 0,373 | 0,278 | 0,338 | 0,347 |
| 7 | 0,187 | 0,202 | 0,202 | 0,146 | 0,146 | 0,176 |
| 8 | 0,073 | 0,083 | 0,083 | 0,044 | 0,044 | 0,065 |
| 9 | 0,021 | 0,020 | 0,021 | 0,000 | 0,000 | 0,013 |
| 10 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 |

**Fuente:** Elaboración Propia, 2019.

**Gráfica 6 Curva de humedad promedio (X) en base seca en función del tiempo**




**Fuente:** Elaboración Propia, 2019.

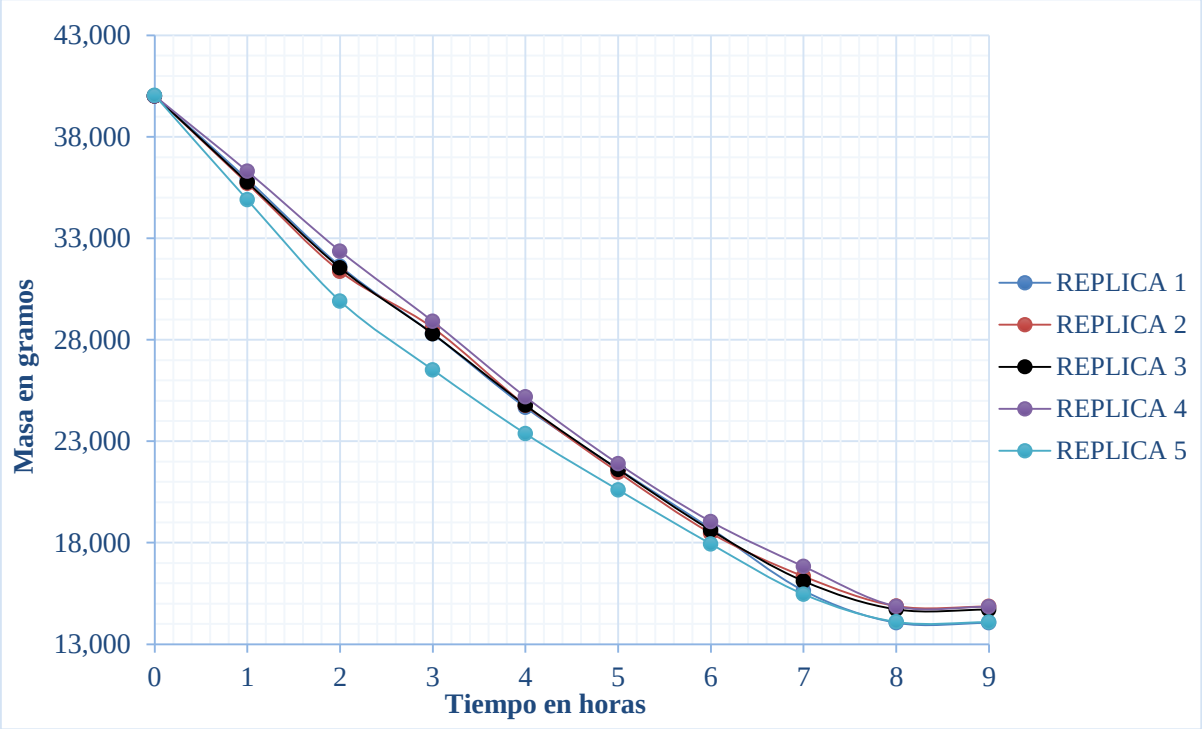
**ENSAYO Nº3 (T=60ºC)**

**Tabla 5 Variación de la Masa de Orujo de Uva**

| tiempo (hrs) | RÉPLICA Nº1 m1 (gr) | RÉPLICA Nº2 m1 (gr) | RÉPLICA Nº3 m1 (gr) | RÉPLICA Nº4 m1 (gr) | RÉPLICA Nº5 m1 (gr) | PROMEDIO |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 0 | 40,017 | 40,017 | 40,019 | 40,019 | 40,05 | 40,024 |
| 1 | 35,910 | 35,704 | 35,772 | 36,302 | 34,899 | 35,717 |
| 2 | 31,631 | 31,373 | 31,545 | 32,372 | 29,911 | 31,366 |
| 3 | 28,292 | 28,592 | 28,293 | 28,908 | 26,522 | 28,121 |
| 4 | 24,666 | 24,771 | 24,774 | 25,189 | 23,372 | 24,554 |
| 5 | 21,636 | 21,473 | 21,616 | 21,892 | 20,605 | 21,444 |
| 6 | 18,693 | 18,471 | 18,616 | 19,041 | 17,939 | 18,552 |
| 7 | 15,639 | 16,342 | 16,108 | 16,829 | 15,461 | 16,076 |
| 8 | 14,057 | 14,878 | 14,717 | 14,863 | 14,098 | 14,523 |
| 9 | 14,050 | 14,856 | 14,707 | 14,848 | 14,087 | 14,510 |

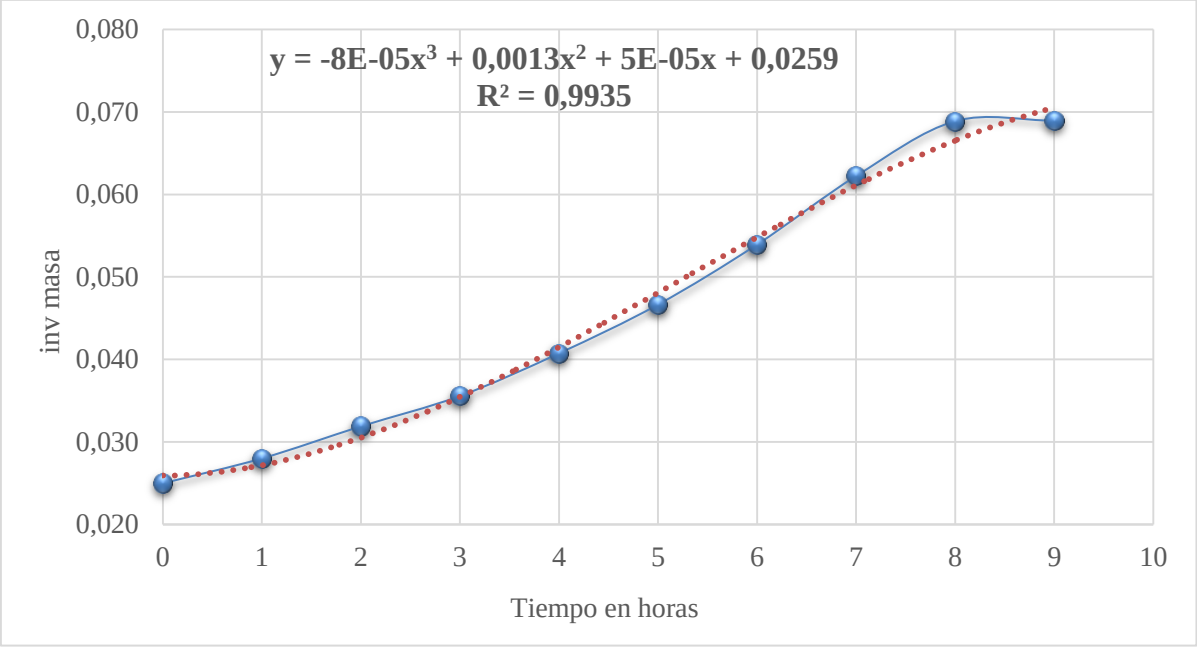
**Fuente:** Elaboración Propia, 2019.

**Gráfica 7 Curvas de Variación de Pérdida de Masa**




**Fuente:** Elaboración Propia, 2019.

**Gráfica 8 Curva de Variación de Inversa de la masa para Ajuste de curva**




**Fuente:** Elaboración Propia, 2019.

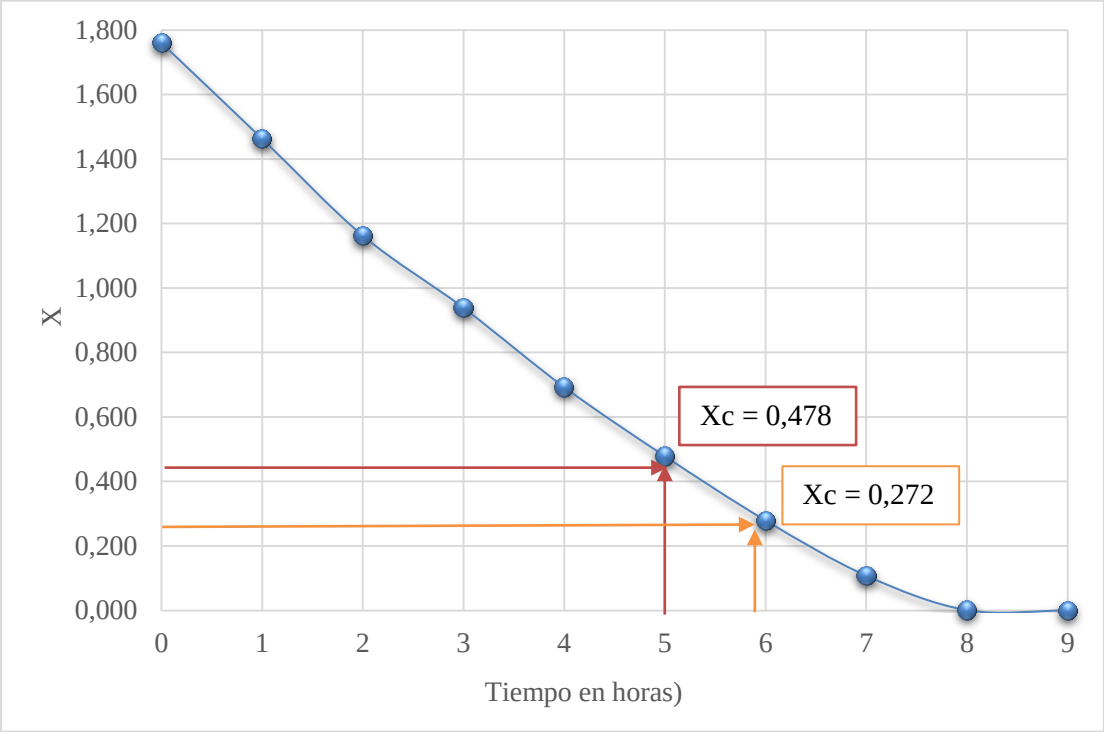
✓ ***Humedad***

**Tabla 6 Variación de la humedad en Base Seca (X) de Orujo de Uva**

| Nº | tiempo (hrs) | RÉPLICA Nº1 | RÉPLICA Nº2 | RÉPLICA Nº3 | RÉPLICA Nº4 | RÉPLICA Nº5 | PROMEDIO |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | X | X | X | X | X | X |
| 1 | 0 | 1,848 | 1,694 | 1,721 | 1,695 | 1,843 | 1,760 |
| 2 | 1 | 1,556 | 1,403 | 1,432 | 1,445 | 1,477 | 1,463 |
| 3 | 2 | 1,251 | 1,112 | 1,145 | 1,180 | 1,123 | 1,162 |
| 4 | 3 | 1,014 | 0,925 | 0,924 | 0,947 | 0,883 | 0,938 |
| 5 | 4 | 0,756 | 0,667 | 0,685 | 0,696 | 0,659 | 0,693 |
| 6 | 5 | 0,540 | 0,445 | 0,470 | 0,474 | 0,463 | 0,478 |
| 7 | 6 | 0,330 | 0,243 | 0,266 | 0,282 | 0,273 | 0,279 |
| 8 | 7 | 0,113 | 0,100 | 0,095 | 0,133 | 0,098 | 0,108 |
| 9 | 8 | 0,000 | 0,001 | 0,001 | 0,001 | 0,001 | 0,001 |
| 10 | 9 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 |

**Fuente:** Elaboración Propia, 2019.

**Gráfica 9 Curva de humedad promedio (X) en base seca en función del tiempo**




**Fuente:** Elaboración Propia, 2019.

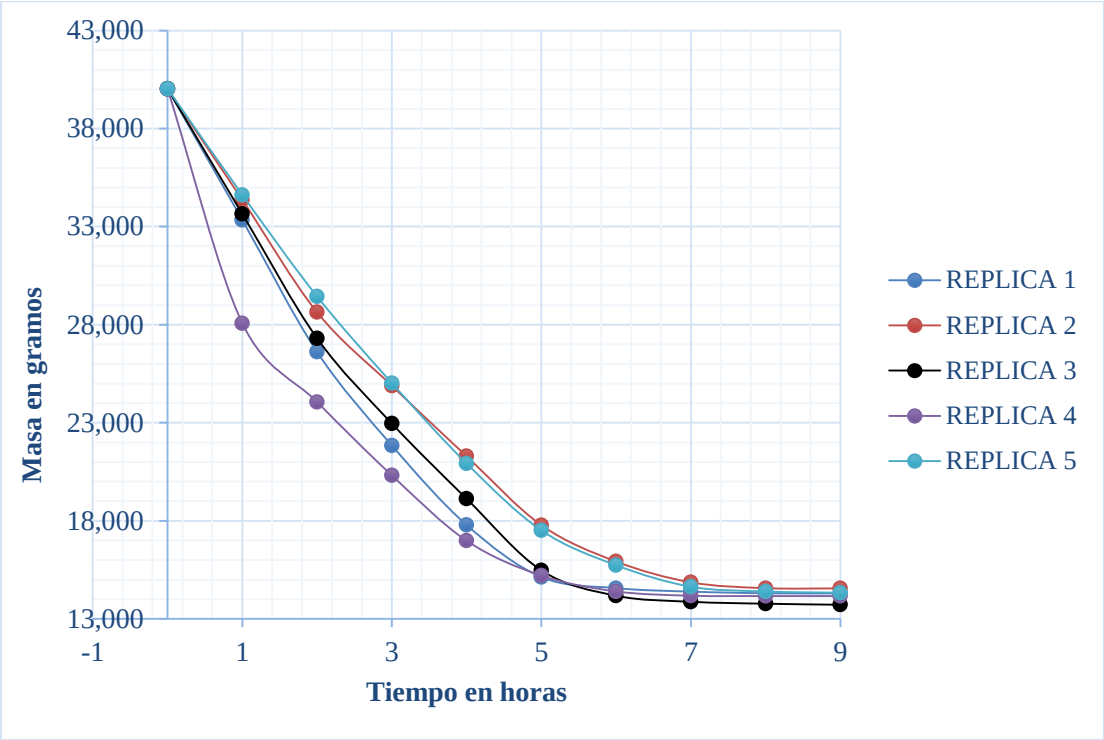
**ENSAYO Nº4 (T=65ºC)**

| tiempo (hrs) | RÉPLICA Nº1 m1 (gr) | RÉPLICA Nº2 m1 (gr) | RÉPLICA Nº3 m1 (gr) | RÉPLICA Nº4 m1 (gr) | RÉPLICA Nº5 m1 (gr) | PROMEDIO |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 0 | 40,034 | 40,034 | 40,036 | 40,019 | 40,036 | 40,032 |
| 1 | 33,341 | 34,370 | 33,649 | 28,079 | 34,622 | 32,812 |
| 2 | 26,613 | 28,636 | 27,310 | 24,064 | 29,444 | 27,213 |
| 3 | 21,846 | 24,888 | 22,964 | 20,318 | 25,024 | 23,008 |
| 4 | 17,787 | 21,294 | 19,126 | 16,985 | 20,925 | 19,223 |
| 5 | 15,133 | 17,780 | 15,472 | 15,207 | 17,513 | 16,221 |
| 6 | 14,568 | 15,925 | 14,180 | 14,401 | 15,736 | 14,962 |
| 7 | 14,390 | 14,864 | 13,873 | 14,182 | 14,639 | 14,390 |
| 8 | 14,306 | 14,566 | 13,773 | 14,165 | 14,397 | 14,241 |
| 9 | 14,298 | 14,554 | 13,721 | 14,162 | 14,333 | 14,214 |

**Tabla 7 Variación de la Masa de Orujo de Uva**

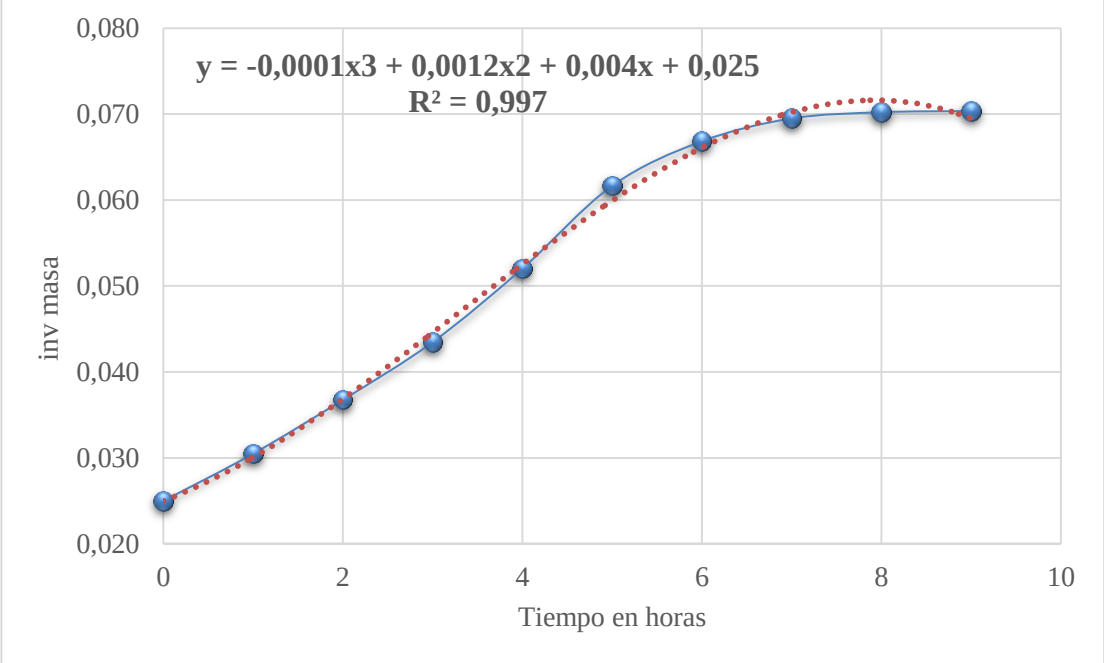
**Fuente:** Elaboración Propia, 2019.

**Gráfica 9 Curvas de Variación de Pérdida de Masa**




**Fuente:** Elaboración Propia, 2019.

**Gráfica 10 Curva de Variación de Inversa de la masa para Ajuste de curva**




**Fuente:** Elaboración Propia, 2019.

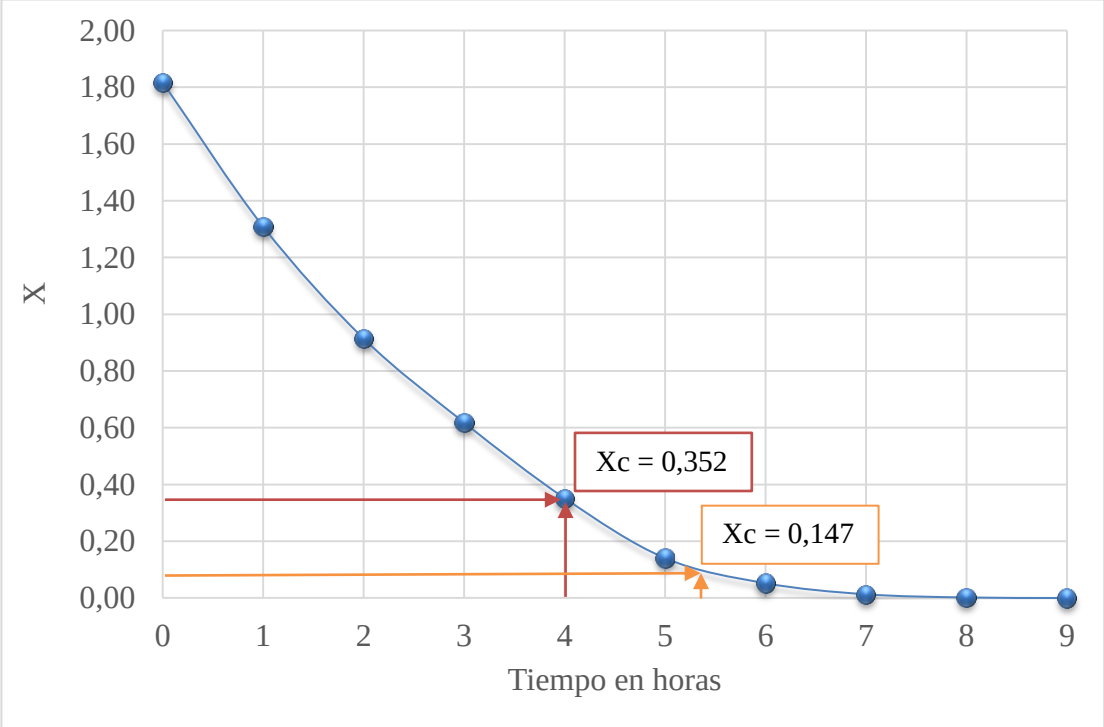
✓ ***Humedad***

**Tabla 8 Variación de la humedad en Base Seca (X) de Orujo de Uva**

| Nº | tiempo (hrs) | RÉPLICA Nº1 | RÉPLICA Nº2 | RÉPLICA Nº3 | RÉPLICA Nº4 | RÉPLICA Nº5 | PROMEDIO |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | X | X | X | X | X | X |
| 1 | 0 | 1,800 | 1,751 | 1,918 | 1,825 | 1,793 | 1,817 |
| 2 | 1 | 1,332 | 1,362 | 1,452 | 0,982 | 1,416 | 1,309 |
| 3 | 2 | 0,861 | 0,968 | 0,990 | 0,699 | 1,054 | 0,914 |
| 4 | 3 | 0,528 | 0,710 | 0,674 | 0,434 | 0,746 | 0,618 |
| 5 | 4 | 0,244 | 0,463 | 0,394 | 0,199 | 0,460 | 0,352 |
| 6 | 5 | 0,058 | 0,222 | 0,128 | 0,074 | 0,222 | 0,141 |
| 7 | 6 | 0,019 | 0,094 | 0,033 | 0,017 | 0,098 | 0,052 |
| 8 | 7 | 0,006 | 0,021 | 0,011 | 0,006 | 0,021 | 0,013 |
| 9 | 8 | 0,001 | 0,001 | 0,004 | 0,000 | 0,004 | 0,002 |
| 10 | 9 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 |

**Fuente:** Elaboración Propia, 2019.

**Curva de humedad promedio (X) en base seca en función del tiempo**




**Fuente:** Elaboración Propia, 2019.

✓ ***Datos y cálculos en la etapa de Tamizado***

**ENSAYO Nº1 (T=50ºC)**

**Tabla 9 Porcentaje de Retención en Mallas**

| Nº Malla | Masa Promedio Retenida | %Retención Promedio | %Pasa Promedio |
|---|---|---|---|
| 4 | 2,982 | 17,816 | 82,184 |
| 5 | 1,384 | 9,846 | 90,154 |
| 10 | 5,577 | 41,321 | 58,679 |
| 18 | 2,422 | 18,503 | 81,497 |
| **Colector** | 1,446 | 11,886 | 88,114 |

**Fuente:** Elaboración Propia, 2019.

**Tabla 10 Recuperación de Hollejo en la Separación**

| Nº RÉPLICA | Malla 4 | Malla 5 | Malla 18 | Colector | Masa hollejo recuperado Σm ret |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 1,520 | 1,383 | 2,786 | 1,963 | 7,652 |
| 2 | 2,207 | 0,932 | 3,453 | 1,117 | 7,709 |
| 3 | 4,228 | 1,541 | 2,097 | 1,004 | 8,870 |
| 4 | 3,351 | 1,736 | 2,157 | 1,811 | 9,055 |
| 5 | 3,603 | 1,326 | 1,619 | 1,334 | 7,882 |

**Fuente:** Elaboración Propia, 2019.

**Tabla 11 Pérdidas en el Tamizado**

| Nº RÉPLICA | Masa inicial | Masa semilla | Masa teórica hollejo recuperado | Masa experimental hollejo recuperado | Pérdidas |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 13,85 | 6,198 | 7,652 | 7,431 | 0,221 |
| 2 | 14,015 | 6,306 | 7,709 | 7,41 | 0,299 |
| 3 | 14,299 | 5,429 | 8,87 | 8,582 | 0,288 |
| 4 | 12,944 | 3,889 | 9,055 | 8,903 | 0,152 |
| 5 | 13,943 | 6,061 | 7,882 | 7,690 | 0,1919 |

**Fuente:** Elaboración Propia, 2019.

**ENSAYO Nº2 (T=55ºC)**

**Tabla 12 Porcentaje de Retención en Mallas**

| Nº Malla | Masa Promedio Retenida | %Retención Promedio | %Pasa Promedio |
|---|---|---|---|
| 4 | 2,915 | 19,811 | 80,189 |
| 5 | 1,641 | 11,149 | 88,851 |
| 10 | 6,875 | 46,687 | 53,313 |
| 18 | 1,975 | 13,430 | 86,570 |
| **Colector** | 1,311 | 8,924 | 91,076 |

**Fuente:** Elaboración Propia, 2019.

**Tabla 13 Recuperación de Hollejo en la Separación**

| Nº RÉPLICA | Malla 4 | Malla 5 | Malla 18 | Colector | Masa hollejo recuperado Σm ret |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 3,119 | 1,693 | 1,200 | 2,016 | 8,028 |
| 2 | 2,966 | 1,577 | 2,064 | 1,105 | 7,712 |
| 3 | 1,743 | 1,856 | 2,511 | 1,428 | 7,538 |
| 4 | 3,314 | 1,586 | 1,958 | 0,924 | 7,782 |
| 5 | 3,433 | 1,491 | 2,143 | 1,084 | 8,151 |

**Fuente:** Elaboración Propia, 2019.

**Tabla 14 Pérdidas en el Tamizado**

| Nº RÉPLICA | Masa inicial | Masa semilla | Masa teórica hollejo recuperado | Masa experimental hollejo recuperado | Pérdidas |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 14,675 | 6,647 | 8,028 | 8,008 | 0,020 |
| 2 | 14,645 | 6,933 | 7,712 | 7,513 | 0,199 |
| 3 | 14,695 | 7,157 | 7,538 | 7,504 | 0,034 |
| 4 | 15,167 | 7,385 | 7,782 | 7,741 | 0,041 |
| 5 | 14,402 | 6,251 | 8,151 | 8,113 | 0,038 |

**Fuente:** Elaboración Propia, 2019.

## ENSAYO Nº3 (T=55ºC)

**Tabla 15 Porcentaje de Retención en Mallas**

| Nº Malla | Masa Promedio Retenida | %Retención Promedio | %Pasa Promedio |
|---|---|---|---|
| 4 | 5,428 | 16,794 | 83,206 |
| 5 | 2,341 | 8,669 | 91,331 |
| 10 | 14,678 | 45,379 | 54,621 |
| 18 | 5,719 | 18,328 | 81,672 |
| **Colector** | 1,568 | 10,830 | 89,170 |

**Fuente:** Elaboración Propia, 2019.

**Tabla 16 Recuperación de Hollejo en la Separación**

| Nº RÉPLICA | Malla 4 | Malla 5 | Malla 18 | Colector | Masa hollejo recuperado Σm ret |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 2,755 | 1,406 | 2,368 | 1,508 | 8,037 |
| 2 | 2,603 | 0,946 | 2,672 | 1,574 | 7,795 |
| 3 | 2,095 | 1,320 | 2,729 | 1,524 | 7,668 |
| 4 | 3,460 | 1,509 | 2,397 | 1,401 | 8,767 |
| 5 | 1,309 | 1,103 | 3,113 | 1,835 | 7,360 |

**Fuente:** Elaboración Propia, 2019.

**Tabla 17 Pérdidas en el Tamizado**

| Nº RÉPLICA | Masa inicial | Masa semilla | Masa teórica hollejo recuperado | Masa experimental hollejo recuperado | Pérdidas |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 14,050 | 6,013 | 8,037 | 7,847 | 0,190 |
| 2 | 14,856 | 7,061 | 7,795 | 7,694 | 0,101 |
| 3 | 14,707 | 7,039 | 7,668 | 7,542 | 0,126 |
| 4 | 14,848 | 6,081 | 8,767 | 8,501 | 0,266 |
| 5 | 14,087 | 6,727 | 7,360 | 7,122 | 0,238 |

**Fuente:** Elaboración Propia, 2019.

## ENSAYO Nº4 (T=65ºC)

**Tabla 18 Porcentaje de Retención en Mallas**

| Nº Malla | Masa Promedio Retenida | %Retención Promedio | %Pasa Promedio |
|---|---|---|---|
| 4 | 1,996 | 13,981 | 86,019 |
| 5 | 1,253 | 8,810 | 91,190 |
| 10 | 6,650 | 46,819 | 53,181 |
| 18 | 2,815 | 19,824 | 80,176 |
| **Colector** | 1,501 | 10,567 | 89,433 |

**Fuente:** Elaboración Propia, 2019.

**Tabla 19 Recuperación de Hollejo en la Separación**

| Nº RÉPLICA | Malla 4 | Malla 5 | Malla 18 | Colector | Masa hollejo recuperado Σm ret |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 1,259 | 1,232 | 3,168 | 1,807 | 7,234 |
| 2 | 2,814 | 1,338 | 2,464 | 1,335 | 8,613 |
| 3 | 1,291 | 1,065 | 2,957 | 1,486 | 8,734 |
| 4 | 1,970 | 1,389 | 2,662 | 1,444 | 10,076 |
| 5 | 2,644 | 1,243 | 2,822 | 1,433 | 11,899 |

**Fuente:** Elaboración Propia, 2019.

**Tabla 20 Pérdidas en el Tamizado**

| Nº RÉPLICA | Masa inicial | Masa semilla | Masa teórica hollejo recuperado | Masa experimental hollejo recuperado | Pérdidas |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 14,298 | 6,832 | 7,466 | 7,074 | 0,392 |
| 2 | 14,554 | 6,603 | 7,951 | 7,470 | 0,481 |
| 3 | 13,721 | 6,922 | 6,799 | 6,340 | 0,459 |
| 4 | 14,165 | 6,700 | 7,465 | 6,565 | 0,900 |
| 5 | 14,333 | 6,191 | 8,142 | 7,022 | 1,120 |

**Fuente:** Elaboración Propia, 2019.

✓ ***Datos y cálculos en la etapa de Molienda***

**ENSAYO Nº1 (T=50ºC)**

**Tabla 21 Pérdidas en la Molienda**

| Nº RÉPLICA | Masa inicial | Masa molienda | Pérdidas |
|---|---|---|---|
| 1 | 7,431 | 7,080 | 0,351 |
| 2 | 7,410 | 7,224 | 0,186 |
| 3 | 8,582 | 8,379 | 0,203 |
| 4 | 8,903 | 8,618 | 0,285 |
| 5 | 7,690 | 6,486 | 1,204 |

**Fuente:** Elaboración Propia, 2019.

**ENSAYO Nº2 (T=55ºC)**

**Tabla 22 Pérdidas en la Molienda**

| Nº RÉPLICA | Masa inicial | Masa molienda | Pérdidas |
|---|---|---|---|
| 1 | 8,008 | 7,626 | 0,382 |
| 2 | 7,513 | 7,350 | 0,163 |
| 3 | 7,504 | 7,490 | 0,014 |
| 4 | 7,741 | 7,248 | 0,493 |
| 5 | 8,113 | 7,863 | 0,250 |

**Fuente:** Elaboración Propia, 2019.

**ENSAYO Nº3 (T=60ºC)**

**Tabla 23 Pérdidas en la Molienda**

| Nº RÉPLICA | Masa inicial | Masa molienda | Pérdidas |
|---|---|---|---|
| 1 | 7,847 | 6,083 | 1,764 |
| 2 | 7,694 | 6,251 | 1,443 |
| 3 | 7,542 | 7,161 | 0,381 |
| 4 | 8,501 | 6,562 | 1,939 |
| 5 | 7,122 | 6,059 | 1,063 |

**Fuente:** Elaboración Propia, 2019.

**ENSAYO Nº4 (T=65ºC)**

**Tabla 24 Pérdidas en la Molienda**

| Nº RÉPLICA | Masa inicial | Masa molienda | Pérdidas |
|---|---|---|---|
| 1 | 7,074 | 5,931 | 1,143 |
| 2 | 7,470 | 7,112 | 0,358 |
| 3 | 6,340 | 6,189 | 0,151 |
| 4 | 6,565 | 6,463 | 0,102 |
| 5 | 7,022 | 6,964 | 0,058 |

**Fuente:** Elaboración Propia, 2019.

# ANEXO 4

# VARIABLES RESPUESTAS

- ***ANTIOXIDANTES***

**Tabla 1 Resultados de Análisis de Antioxidantes por 3 Métodos**

| MUESTRA | FRAP TAC [µmol/g] | FENOLES TPH [µmol/g] | ABTS TAC [µmol/g] |
|---|---|---|---|
| **OU1A** | 34,968 | 1,859 | 22,139 |
| **OU1B** | 34,311 | 1,841 | 19,912 |
| **OU1C** | 31,768 | 1,740 | 22,580 |
| **OU2A** | 28,019 | 1,654 | 17,628 |
| **OU2B** | 29,434 | 1,723 | 23,054 |
| **OU2C** | 37,893 | 1,881 | 21,016 |
| **OU3A** | 38,587 | 2,285 | 23,925 |
| **OU3B** | 33,727 | 1,993 | 19,891 |
| **OU3C** | 35,764 | 2,005 | 22,861 |
| **OU4A** | 35,464 | 2,308 | 23,893 |
| **OU4B** | 34,031 | 2,197 | 23,015 |
| **OU4C** | 37,016 | 2,333 | 23,658 |

**Fuente:** Elaboración Propia, 2019.

✓ ***RESVERATROL***

**Tabla 2 Resultados de Análisis de Resveratrol por Método HPLC**

| MUESTRA | MÉTODO HPLC mg/l |
|---|---|
| **OU1** | 0,23 |
| **OU2** | 1,50 |
| **OU3** | 0,62 |
| **OU4** | 0,39 |

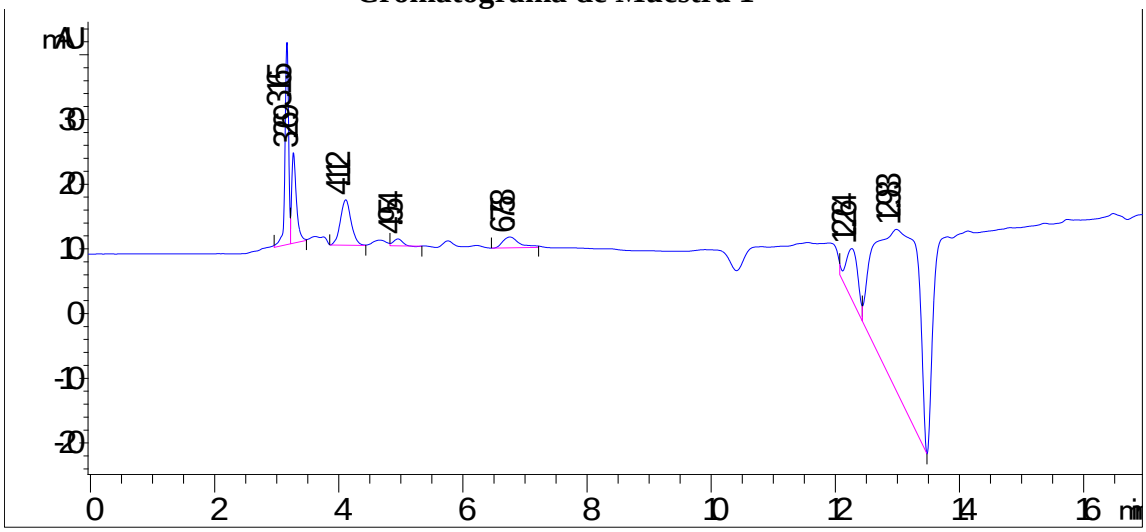
**Fuente:** Elaboración Propia, 2019.

**Muestra 1**

| Nº | Tiempo | Área | Resveratrol mg/L |
|---|---|---|---|
| 1 | 3,165 | 125,9 | |
| 2 | 3,269 | 74,2 | |
| 3 | 4,112 | 84 | |
| 4 | 4,954 | 11 | |
| 5 | 6,758 | 31,5 | 0,2316176 |
| 6 | 12,264 | 105,4 | |
| 7 | 12,983 | 1218,4 | |

**Fuente:** Elaboración Propia, 2019.

**Cromatograma de Muestra 1**



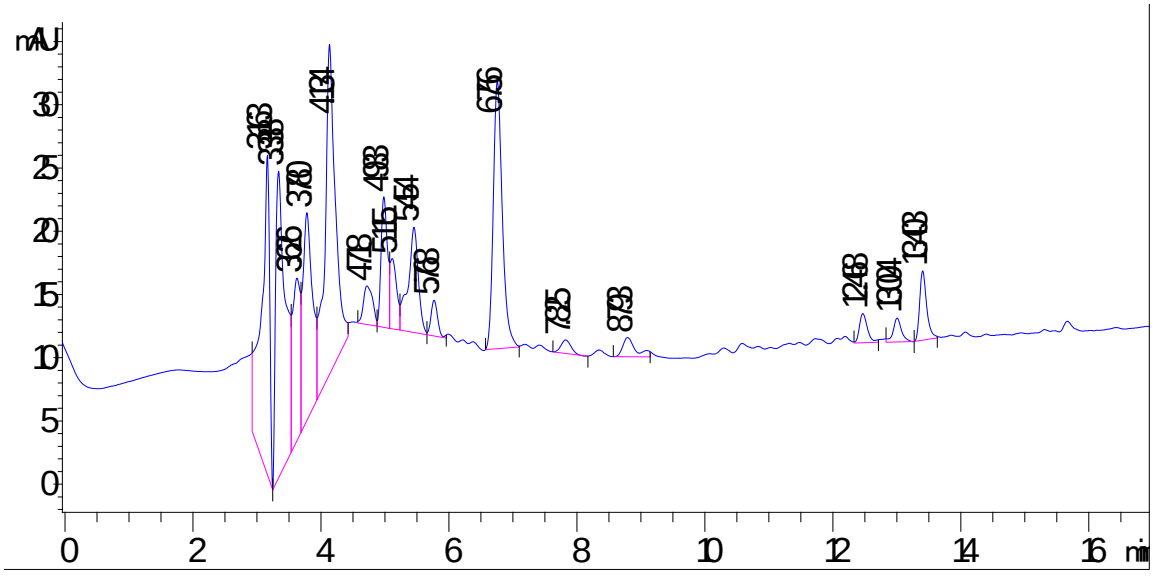
**Fuente:** Elaboración Propia, 2019 en base a resultados del CCQ.

**Muestra 2**

| Nº | Tiempo (min) | Área |
|---|---|---|
| 1 | 3,163 | 229 |
| 2 | 3,338 | 256,4 |
| 3 | 3,626 | 108,3 |
| 4 | 3,78 | 173,4 |
| 5 | 4,134 | 300 |
| 6 | 4,718 | 30,7 |
| 7 | 4,983 | 72,2 |
| 8 | 5,115 | 40 |
| 9 | 5,454 | 93,6 |
| 10 | 5,768 | 20,1 |
| 11 | 6,756 | 207,5 |
| 12 | 7,825 | 11,3 |
| 13 | 8,793 | 21,3 |
| 14 | 12,468 | 20 |
| 15 | 13,004 | 16,8 |
| 16 | 13,403 | 41,4 |

**Fuente:** Elaboración Propia, 2019.

**Cromatograma de muestra 2**



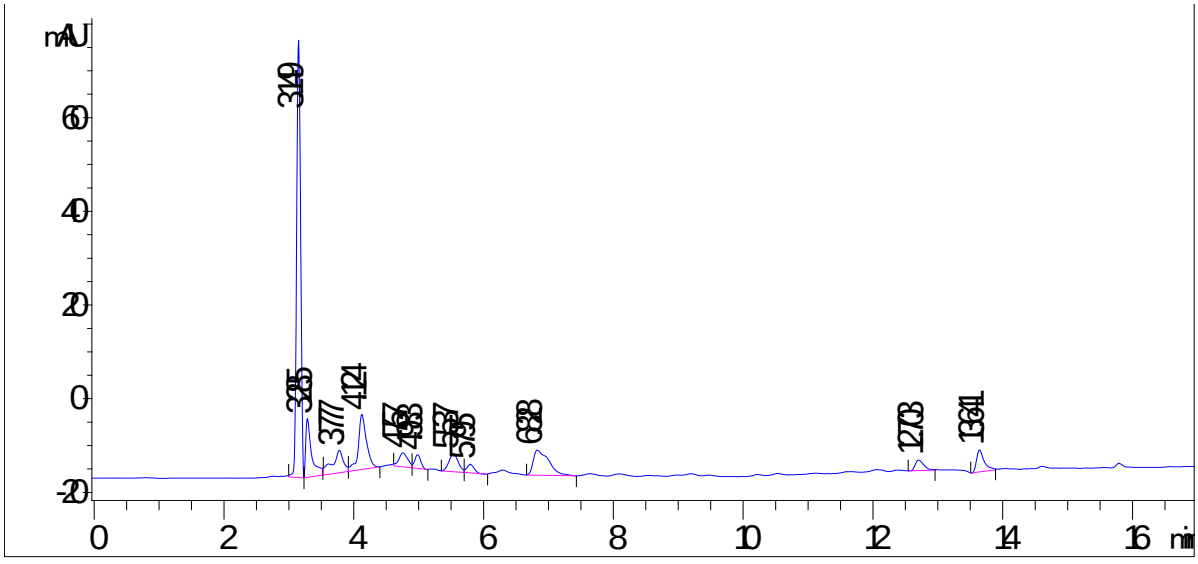

**Fuente:** Elaboración Propia, 2019 en base a resultados del CCQ.

**Muestra 3**

| Nº | Tiempo (min) | Área | Resveratrol mg/l |
|---|---|---|---|
| 1 | 3,149 | 399,5 | |
| 2 | 3,285 | 78,9 | |
| 3 | 3,777 | 56,3 | |
| 4 | 4,124 | 102,5 | |
| 5 | 4,757 | 28,5 | |
| 6 | 4,983 | 18,7 | |
| 7 | 5,537 | 38,7 | |
| 8 | 5,795 | 13,5 | |
| 9 | 6,828 | 88,1 | 0,64779412 |
| 10 | 12,703 | 21 | |
| 11 | 13,641 | 38,4 | |

**Fuente:** Elaboración Propia, 2019.

**Cromatograma de muestra 3**



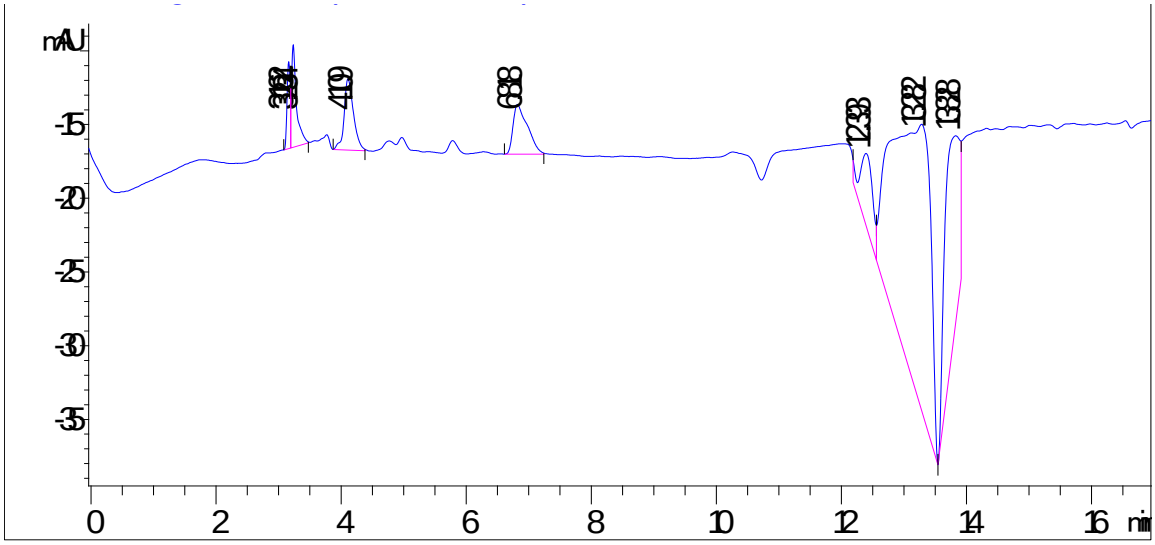

**Fuente:** Elaboración Propia, 2019 en base a resultados del CCQ.

**Muestra 4**

| Nº | Time | Área | Resveratrol mg/L |
|---|---|---|---|
| 1 | 3,162 | 20,4 | |
| 2 | 3,234 | 38,9 | |
| 3 | 4,109 | 50,5 | |
| 4 | 6,818 | 53,9 | 0,3963235 |
| 5 | 12,393 | 69,1 | |
| 6 | 13,282 | 762,4 | |
| 7 | 13,828 | 238,3 | |

**Fuente:** Elaboración Propia, 2019.

**Cromatograma de muestra 4**




**Fuente:** Elaboración Propia, 2019 en base a resultados del CCQ.

✓ ***EVALUACIÓN SENSORIAL***

**Tabla 2 Resultados de Puntuación Total de atributos para cada ensayo**

| Nº ENSAYO | COLOR | OLOR | | SABOR | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | PROPIO | RASTRO | DULCE | AMARGO | ÁCIDO | SALADO |
| 1 | 25 | 62,5 | 50 | 0 | 75 | 112,5 | 0 |
| 2 | 0 | 37,5 | 62,5 | 0 | 62,5 | 87,5 | 12,5 |
| 3 | 25 | 62,5 | 50 | 12,5 | 25 | 112,5 | 25 |
| 4 | 250 | 87,5 | 25 | 25 | 62,5 | 112,5 | 0 |

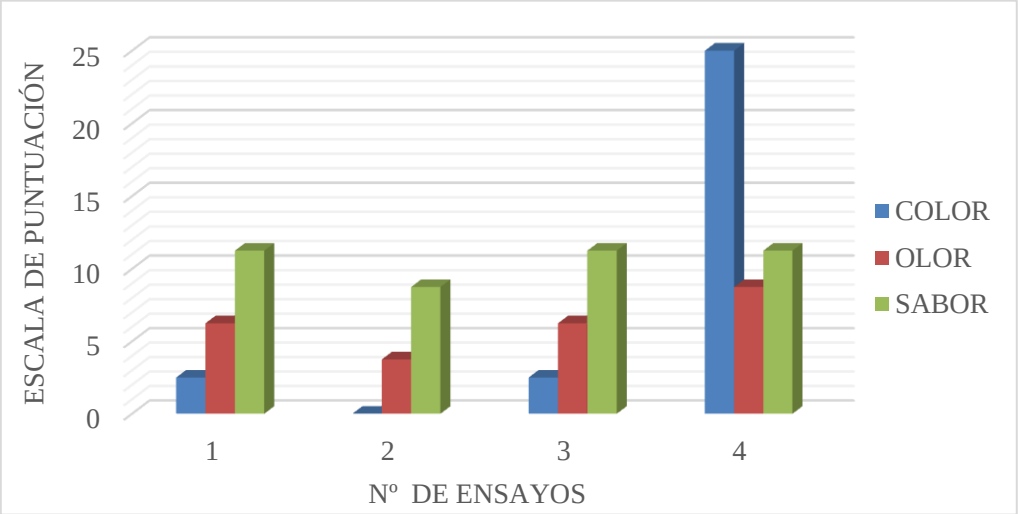
**Fuente:** Elaboración Propia, 2019.

**Tabla 3 Promedio de Resultados de Puntuación Total de atributos para cada ensayo en un panel de 10 jueces**

| Nº ENSAYO | COLOR | OLOR | SABOR | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | PROPIO | DULCE | AMARGO | ÁCIDO | SALADO |
| 1 | 2,5 | 6,25 | 0 | 7,5 | 11,25 | 0 |
| 2 | 0 | 3,75 | 0 | 6,25 | 8,75 | 1,25 |
| 3 | 2,5 | 6,25 | 1,25 | 2,5 | 11,25 | 2,5 |
| 4 | 25 | 8,75 | 2,5 | 6,25 | 11,25 | 0 |

**Fuente:** Elaboración Propia, 2019.

**Gráfica 1 de aceptabilidad de Ensayos en función a sus atributos**



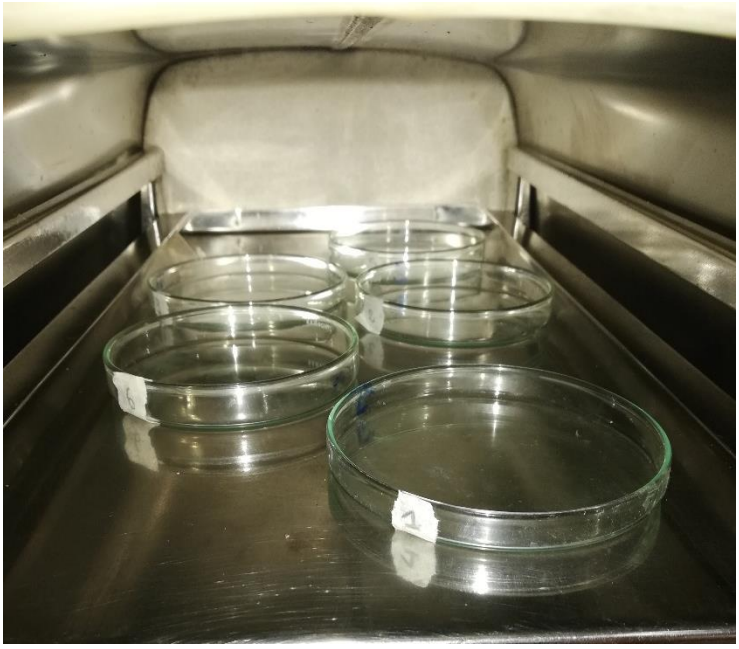

**Fuente:** Elaboración Propia, 2019.

# ANEXO 5

# FOTOGRAFIAS

*ETAPA DE SECADO*

**Tarado de cajas Petri**



**Muestras de Orujo de Uva**



*ETAPA DE TAMIZADO*

**Separado de semilla de Hollejo**



**Envasado de Hollejo para Molienda**



**Muestras Secas de Hollejo de Uva**

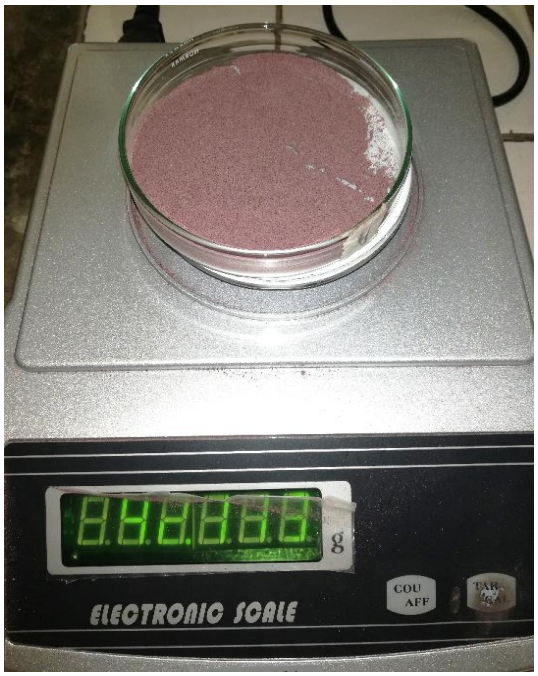


## ETAPA DE MOLIENDA






**Harina final molida**






## Evaluación sensorial



**Producto final envasado**



**Análisis realizados en la Instituto de Investigaciones Químicas de la Facultad de Ciencias Puras y Naturales de la Universidad Mayor de San Andrés**

- ✓ ***Extracción de muestras de Harina de Orujo de Uva***



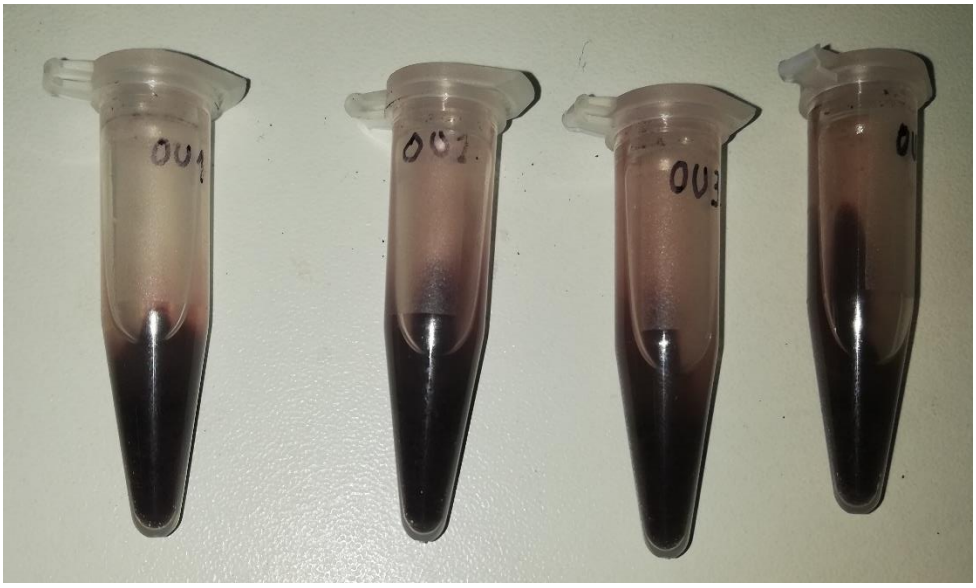
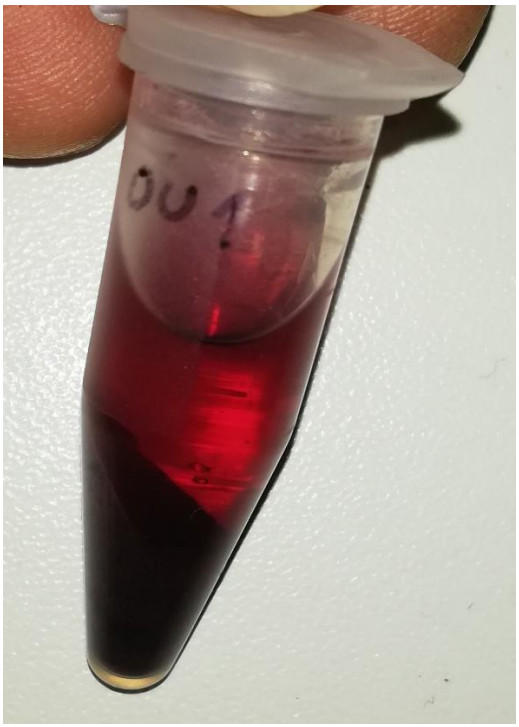
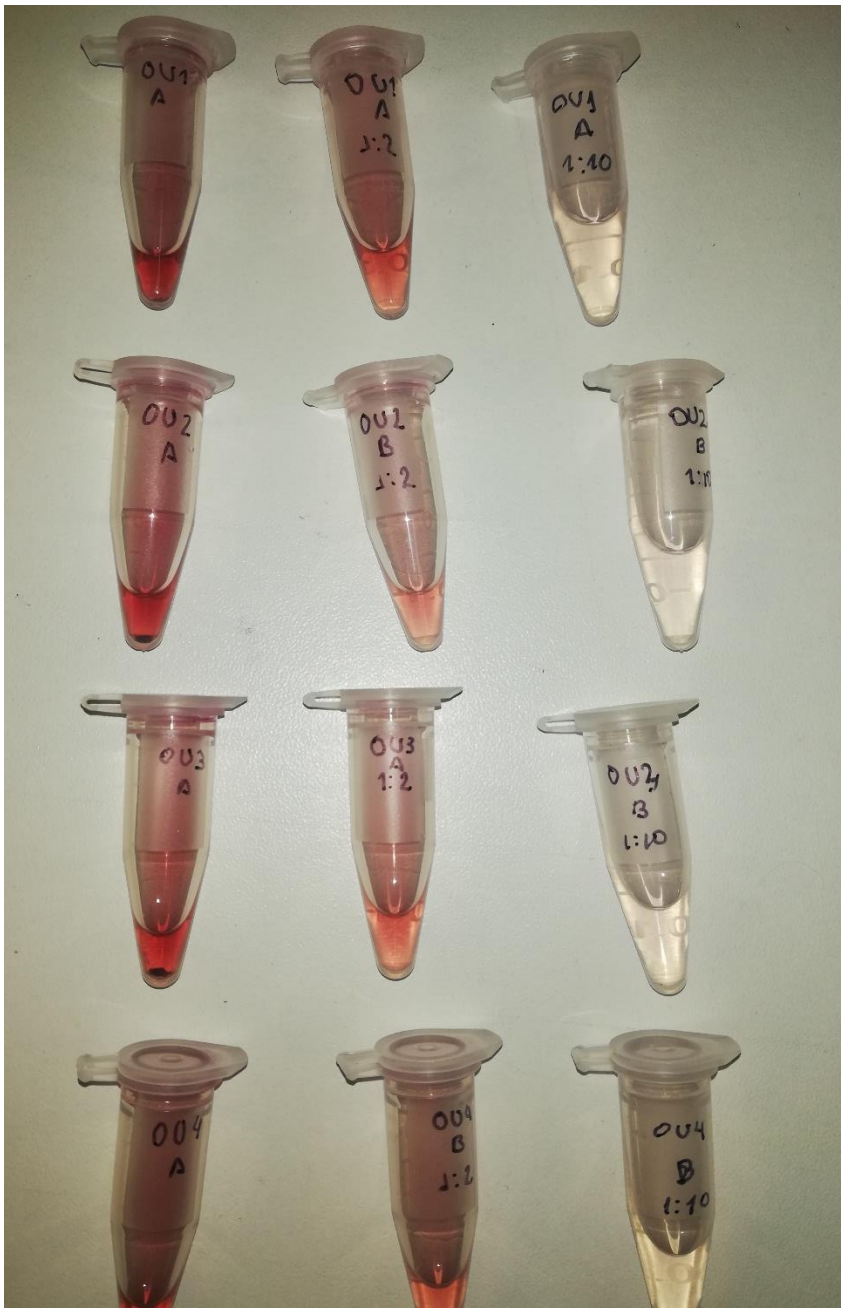




TABLA
PERIODICA DE
ELEMENTOS
OHAUS






***Dilución de muestras***


OU1 A
OU1 A 1:2
OU1 A 1:10
OU2 A
OU2 B 1:2
OU2 B
OU3 A
OU3 A 1:2
OU3 B 1:10
OU4 A
OU4 B 1:2
OU4 B 1:10

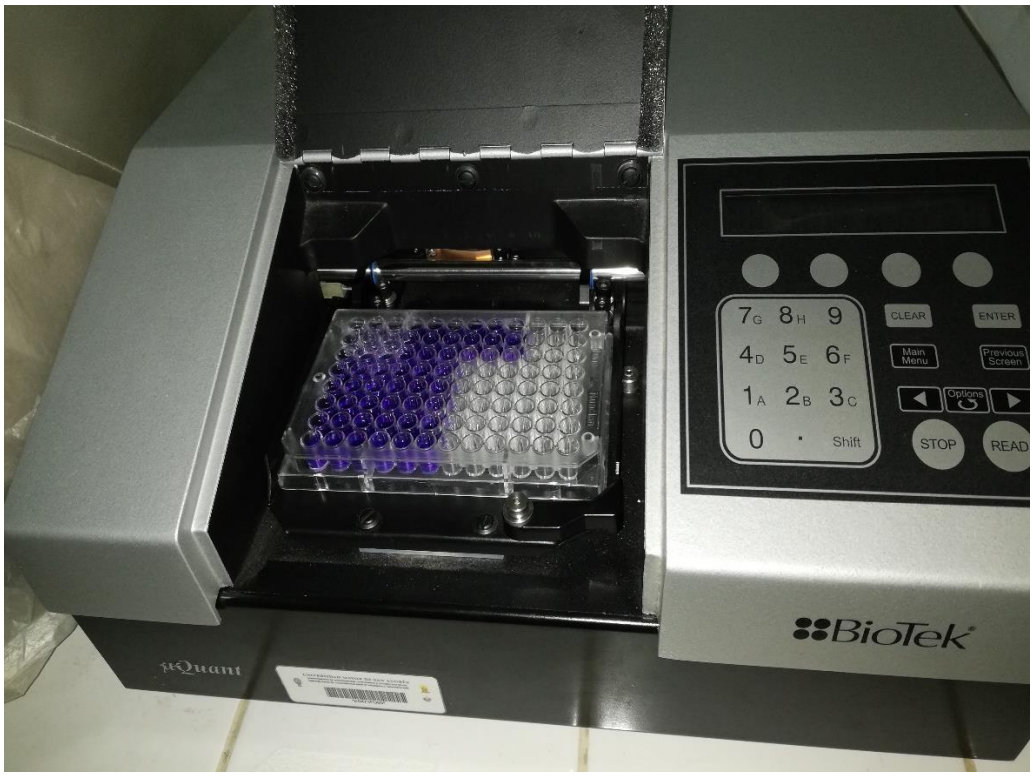


***Análisis de Antioxidantes***




RECUERDA:
MANTENER LIMPIO LOS
MESONES.
GUARDAR EL MATERIAL LIMPIO.
GRACIAS
TUBOS PLASTICOS DE FONDO
CONICO "FALCON"




7G 8H 9
4D 5E 6F
1A 2B 3C
0 · Shift
CLEAR
ENTER
Main Menu
Previous Screen
Options
STOP
READ
BioTek