



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO**

**Facultad de Química**

“Suplementos de orujo de uva adicionado con ingredientes de origen vegetal para mejorar sus beneficios en el control de la obesidad y sus complicaciones”

**Tesis**

Como parte de los requisitos para obtener el grado de

Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos

**Presenta:**

I.A. Berenice Valdez Rodríguez

**Dirigido por:**

Dra. Rosalía Reynoso Camacho

*Santiago de Querétaro, Qro., diciembre 2023*



Dirección General de Bibliotecas y Servicios Digitales  
de Información



Suplementos de orujo de uva adicionado con  
ingredientes de origen vegetal para mejorar sus  
beneficios en el control de la obesidad y sus  
complicaciones

**por**

Berenice Valdez Rodríguez

se distribuye bajo una [Licencia Creative Commons  
Atribución-NoComercial-SinDerivadas 4.0  
Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

**Clave RI:** FQMAC-309132



**Universidad Autónoma de Querétaro  
Facultad de Química  
Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos**

**“Suplementos de orujo de uva adicionado con ingredientes de origen vegetal para mejorar sus beneficios en el control de la obesidad”**

**TESIS**

**Como parte de los requisitos para obtener el grado de:  
Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos**

**Presenta:**

I.A. Berenice Valdez Rodríguez

**Dirigido Por:**

Dra. Rosalía Reynoso Camacho

**SINODALES**

Dra. Rosalía Reynoso Camacho  
Presidente

Dra. Iza Fernanda Pérez Ramírez  
Secretaria

Dra. Minerva Ramos Gómez  
Vocal

Dr. Luis Miguel Salgado Rodríguez  
Suplente

Dra. Ma. Estela Vázquez Barrios  
Suplente

## **DECLARACIÓN DE RESPONSABILIDAD DEL ESTUDIANTE:**

Declaro que los datos propios obtenidos en esta investigación fueron generados durante el desarrollo de mi trabajo de tesis de forma ética y que incluí los detalles metodológicos necesarios para que los resultados de esta tesis sean reproducibles en eventuales investigaciones futuras.



Berenice Valdez Rodríguez

## **DEDICATORIAS**

A Noemi, Abigail y Elizabeth, Iván y Jair por apoyarme, creer en mi y ser uno de los motivos por los que hoy estoy aquí.

A mis papás Carmen y Bernabé por la confianza y por enseñarme a no rendirme ante las adversidades que se presenten.

A los que hoy ya no están físicamente en este mundo terrenal, pero sé que desde el cielo me acompañan en este camino.

## AGRADECIMIENTOS

Al consejo Nacional de Humanidades y Ciencias Tecnológicas (CONAHCYT) por el apoyo económico necesario durante el desarrollo de este proyecto de investigación. A la Universidad Autónoma de Querétaro y al Programa de Posgrado en Alimentos por permitirme continuar con mis estudios además de la preparación y enseñanzas brindadas.

A la Dra. Rosalía Reynoso Camacho por su excelente dirección, apoyo constante, regaños y consejos dentro de mi formación académica.

A los miembros de mi comité por cada una de sus observaciones y recomendaciones aportadas al proyecto de investigación.

A mis padres Carmen y Bernabé, por ser el pilar fundamental de todo lo que soy hasta ahora. Por sus consejos, su confianza, ejemplos de vida, constancia y perseverancia que les caracteriza. Por la motivación constante que me ha permitido ser la persona que soy y sobre todo por su inmenso amor.

A mis hermanas: Noemi, Elizabeth, Abigail y a Iván por ser un motor importante en mi vida, por ser mis compañeros en cada uno de los sueños cumplidos, por ser el mejor ejemplo que seguir, su apoyo incondicional y porque me han enseñado a salir adelante con el apoyo de nuestros padres.

A Luis Jair por creer en mi, por el apoyo incondicional, por ser mi cómplice en esta aventura, por convertir mi estrés en momentos memorables.

A Guadalupe, Alejandro y Alexandro por enseñarme el valor de la amistad, por esas noches de desvelo por ensayar un seminario o porque era lunes. Son de lo más bonito que la maestría me pudo dar.

A Mayra, Alejandra, Jessi y Atalia por ser un punto clave al inicio de esta etapa en nuestra vida, por las noches de desvelo pora pasar un examen y por permanecer aquí a pesar del tiempo. Gracias equipo 4 Tec. De Alimentos.

A la Dra. Mariela Menchaca por su incondicional apoyo, profesionalismo y la confianza, por convertirse en una persona tan importante en tan pocos meses.

Al Dr. César Ozuna y a la M.A. Leticia Pérez por su apoyo, por creer en mi e impulsarme a culminar esta etapa en mi vida.

A mis niñas de servicio social, Aide y Abril, por su compromiso, entrega y dedicación

en el proyecto.

A Guadalupe, por el compañerismo, las metas y los sueños cumplidos, por ser mi cómplice en esta etapa, pero sobre todo por la amistad que se ha forjado en estos 2 años.

A Atalia, por la confianza, la escucha y el apoyo en todo momento, por formar parte de esto en todos los sentidos.

A mis compañeros de laboratorio: Anita, Alex, Lupita, Raúl, Hugo, Iván y Paloma por su apoyo incondicional en todo el momento, por las risas, diversiones y consejos.

# ÍNDICE

	Página
<b>ÍNDICE</b> .....	<b>v</b>
<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b> .....	<b>viii</b>
<b>ÍNDICE DE CUADROS</b> .....	<b>ix</b>
<b>RESUMEN</b> .....	<b>10</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>11</b>
<b>1. INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>12</b>
<b>2. ANTECEDENTES</b> .....	<b>14</b>
2.1. Sobrepeso y obesidad .....	14
2.2. Tejido Adiposo .....	14
2.3. Prevención y tratamiento de la obesidad .....	14
2.4. Orujo de uva.....	15
2.5. Ingredientes naturales con beneficios en el control de la obesidad.....	20
2.6. Suplementos de origen natural para el control de la obesidad.....	23
<b>3. JUSTIFICACIÓN</b> .....	<b>25</b>
<b>4. OBJETIVOS</b> .....	<b>26</b>
4.1. Objetivo general.....	26
4.2. Objetivos particulares .....	26
<b>5. MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	<b>27</b>
5.1. Material vegetal .....	27
5.2. Material biológico.....	27
5.3. Preparación de las muestras.....	28
5.4. Análisis químico proximal de los ingredientes .....	28



5.5.	Preparación de extractos de compuestos polifenólicos totales extraíbles	30
5.6.	Antioxidantes macromoleculares o polifenoles no extraíbles .....	33
5.7.	Evaluación de la precipitación de chíá sobre la precipitación del orujo de uva	34
5.8.	Formulación del suplemento .....	34
5.9.	Análisis microbiológico de las formulaciones .....	35
5.10.	Aceptabilidad sensorial de los suplementos.....	36
5.11.	Evaluación del efecto del consumo de las formulaciones sobre el control de la obesidad .....	37
5.12.	Análisis estadístico.....	39
<b>6.</b>	<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>	<b>41</b>
6.1.	Contenido de compuestos fenólicos presentes en el orujo de uva .....	41
6.2.	Contenido de compuestos fenólicos presentes en los ingredientes de origen natural.....	43
6.3.	Análisis proximal de los ingredientes .....	45
6.4.	Evaluación del efecto de la chíá sobre la precipitación del orujo de uva .....	47
6.5.	Desarrollo de las formulaciones de los suplementos alimenticios a base de orujo de uva.....	49
6.6.	Índice de solubilidad en agua.....	50
6.7.	Aceptabilidad sensorial de los suplementos.....	51
6.8.	Evaluación del consumo de las formulaciones sobre el control de la obesidad.....	52
6.9.	Efecto del consumo de suplementos alimenticios en la concentración de triglicéridos y colesterol en suero .....	59
<b>7.</b>	<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>62</b>

<b>8. REFERENCIAS.....</b>	<b>64</b>
<b>ANEXOS.....</b>	<b>76</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

## Página

<b>Figura 1.</b> Efecto del subproducto de diferentes variedades de uva en la ganancia de peso. ....	<b>19</b>
<b>Figura 2.</b> Concentración de compuestos fenólicos de diferentes variedades de orujo de uva. ....	<b>19</b>
<b>Figura 3.</b> Determinación de parámetros físicos y consumo de energía de los animales en estudio. ....	¡Error! Marcador no definido.
<b>Figura 4.</b> Gomas empleadas para evaluar la solubilidad del orujo de uva .....	<b>47</b>
<b>Figura 5.</b> Efecto de diferentes concentraciones de chía sobre la precipitación del orujo de uva.....	<b>48</b>
<b>Figura 6.</b> Efecto de diferentes concentraciones de chía en el índice de sedimentación del orujo de uva en función del tiempo.....	<b>49</b>
<b>Figura 7.</b> Índice de solubilidad en agua de las formulaciones de los suplementos alimenticios para las dos variedades de orujo de uva.....	<b>51</b>
<b>Figura 8.</b> Evaluación sensorial de los suplementos de los orujos de uva de las variedades Syrah y Tempranillo.....	<b>52</b>
<b>Figura 9.</b> Formulación final del suplemento base de orujo de uva.....	<b>52</b>
<b>Figura 10.</b> Ganancia de peso corporal de los animales obesos con una dieta alta en grasa y fructosa y adicionada con orujo de uva y sus respectivos suplementos...	<b>55</b>
<b>Figura 11.</b> Evaluación de la hipertrofia en tejido adiposo mesentérico de los animales alimentados con DAGF adicionada con orujo de uva y suplementos alimenticios.....	<b>58</b>
<b>Figura 12.</b> Análisis histológico del tejido adiposo mesentérico y área de adipocitos de ratas alimentadas con DAFG y suplementada con las diferentes variedades de orujo de uva y sus respectivos suplementos alimenticios. .	<b>59</b>

## ÍNDICE DE CUADROS

<b>Cuadro 1.</b> Estudios in vivo realizados con subproductos de uva para el control del peso corporal en.....	<b>17</b>
<b>Cuadro 2.</b> Suplementos alimenticios en polvo comercializados en México .....	<b>24</b>
<b>Cuadro 3.</b> Diseño de experimentos para las formulaciones con orujos de uva.....	<b>35</b>
<b>Cuadro 4.</b> Contenido nutrimental de la dieta estándar y dieta alta en grasa y fructosa....	<b>38</b>
<b>Cuadro 5.</b> Contenido de compuestos fenólicos presentes en los orujos de uva .....	<b>42</b>
<b>Cuadro 6.</b> Contenido de compuestos fenólicos extraíbles y no extraíbles en ingredientes de origen natural.....	<b>44</b>
<b>Cuadro 7.</b> Composición proximal de los ingredientes utilizados para la elaboración de suplementos .....	<b>45</b>
<b>Cuadro 8.</b> Contenido de fibra dietaria en los orujos e ingredientes de origen vegetal.....	<b>46</b>
<b>Cuadro 9.</b> Consumo de compuestos fenólicos y fibra dietaria de los animales alimentados con una dieta DAGF y adicionada con suplementos alimenticios.....	<b>55</b>
<b>Cuadro 10.</b> Efecto de los suplementos a base de orujo de uva sobre los niveles de lípidos en ratas alimentadas con DAGF. ....	<b>60</b>

## RESUMEN

El orujo de uva, un subproducto de la industria vitivinícola, posee elevado contenido de fibra y compuestos fenólicos los cuales ejercen efectos preventivos sobre el aumento de peso corporal. Para potenciar los beneficios del orujo como antiobesogénico se planteó mezclar este subproducto con otros extractos vegetales. Se desarrollaron suplementos a base de orujo de uva con cúrcuma, extracto de té verde y chía, y se evaluaron sus propiedades antiobesogénicas. Primero se cuantificaron los compuestos fenólicos de 4 variedades de orujo de uva Syrah, Tempranillo, Merlot y Malbec. Se seleccionaron Syrah y Tempranillo por su mayor contenido de proantocianidinas extraíbles (8.0 mg PA/g), compuestos asociados a los beneficios del orujo. Se diseñaron formulaciones con orujo de uva como componente principal y suplementados con cúrcuma y té verde, en donde se evaluaron diferentes ingredientes para mejorar la solubilidad del orujo de uva; seleccionando a la semilla de chía como mejor agente suspensor; 7 g de chía aumentó 3.2 veces el índice de solubilidad de la mezcla y éste se mantuvo durante 7 minutos. Para evaluar el efecto de los suplementos sobre el peso corporal, ratas Wistar macho alimentadas con una dieta alta en grasa y fructosa se suplementaron durante 9 semanas con orujo de uva (Syrah y Tempranillo) al 2 % y suplementos alimenticios al 6 %. Después se llevó a cabo la eutanasia y se recolectó el suero y el tejido adiposo visceral. Los animales tratados tanto con los suplementos alimenticios, como con los orujos no presentaron una disminución significativa del peso corporal. Sin embargo, los grupos alimentados con orujo Syrah y sus suplementos presentaron una disminución de hasta 1.8 veces los triglicéridos séricos. Los suplementos alimenticios, a pesar de su elevado contenido de fibra y compuestos fenólicos, no presentaron mejores beneficios a la salud comparado con el orujo de uva.

## **ABSTRACT**

The grape seed pomace, a byproduct of the wine industry, has a high content of fiber and phenolic compounds that exert preventive effects on body weight gain. To enhance the benefits of pomace as an anti-obesogenic agent, the idea was to mix this byproduct with other plant extracts. Supplements were developed based on grape seed pomace with turmeric, green tea extract, and chia, and their anti-obesogenic properties were evaluated. First, the phenolic compounds of 4 varieties of grape seed pomace were quantified; Syrah, Tempranillo, Merlot, and Malbec. Syrah and Tempranillo were selected for their higher content of extractable proanthocyanidins (8.0 mg PA/g), compounds associated with the benefits of pomace. Formulations were designed with grape seed pomace as the main component and supplemented with turmeric and green tea, where different ingredients were evaluated to improve the solubility of grape seed pomace; selecting chia seeds as the best suspending agent; 7 g of chia increased the solubility index of the mixture by 3.2 times, and this was maintained for 7 minutes. To assess the effect of the supplements on body weight, male Wistar rats fed a high-fat and fructose diet were supplemented for 9 weeks with grape seed pomace (Syrah and Tempranillo) at 2% and dietary supplements at 6%. Euthanasia was then carried out, and serum and visceral adipose tissue were collected. Animals treated with both dietary supplements and pomace did not show a significant decrease in body weight. However, the group fed with Syrah pomace and its supplement showed a decrease of up to 1.8 times in serum triglycerides. Dietary supplements, despite their higher content of fiber and phenolic compounds, did not show better health benefits compared to grape seed pomace.

## 1. INTRODUCCIÓN

La obesidad y el sobrepeso son un problema social y de salud pública a nivel nacional. Estas patologías se asocian con graves riesgos a la salud, principalmente con el desarrollo de trastornos metabólicos (Riascos *et al.*, 2022). Por lo tanto, se han propuesto una serie de estrategias para la prevención y/o su tratamiento; entre ellas se incluyen los cambios en los hábitos alimenticios (Watanabe *et al.*, 2022). Sin embargo, estas propuestas son verdaderos retos para el sector salud, por lo que se requiere buscar alternativas adicionales para mejorar y coadyuvar en la prevención y control de estas patologías.

En relación con la dieta, se ha recomendado incrementar el consumo de compuestos bioactivos y de fibra dietaria; ya que se ha reportado que son beneficiosos para la prevención y el control de la obesidad y problemas asociados (Rodríguez *et al.*, 2019). Algunas fuentes importantes de compuestos bioactivos son los subproductos agroindustriales, como el orujo de uva, el cual se obtiene de la industria vitivinícola. Éste se caracteriza por ser un material con alto contenido de compuestos polifenólicos principalmente proantocianidinas no extraíbles (Martínez-Meza *et al.*, 2021).

Se ha reportado que extractos de semilla de uva enriquecidos con proantocianidinas comerciales previenen la ganancia de peso corporal en ratas Wistar macho adultas (Serrano *et al.*, 2017). Este efecto se asoció con una menor ingesta de alimentos, un aumento de gasto de energía y una mayor expresión de la enzima carnitina palmitoil transferasa 1 (CPT1), sin ningún cambio en la síntesis de ácidos grasos (Serrato *et al.*, 2017). Adicionalmente, se ha reportado que el orujo de uva es una fuente importante de fibra antioxidante (46 %) y se ha sugerido que ésta podría disminuir la absorción de triglicéridos en el intestino (Yu *et al.*, 2017).

En un estudio previo realizado por nuestro grupo de trabajo se evaluaron orujos de diferentes variedades de uva como Syrah, Malbec y Garnacha; las cuales se adicionaron a una dieta hipercalórica en 1 g/kg de peso y se reportó al final del experimento una menor ganancia de peso de estos animales (11-19 %), comparado con el grupo obeso. Sin embargo, el peso corporal final de estos animales fue 22 % más alto que el grupo de animales sanos. Por lo tanto, para potenciar la capacidad del orujo para disminuir el peso corporal, este se complementó con otros ingredientes que

presenten este mismo beneficio.. La cúrcuma, cuyo principal compuesto polifenólico es la curcumina, es un material vegetal que puede contribuir a mejorar el perfil de compuestos fenólicos del orujo de uva. Se ha reportado que el consumo de curcumina (500 mg/kg) incrementa la pérdida de peso y aumenta la masa magra de ratones (Ejaz *et al.*, 2009). El té verde es otra fuente de compuestos bioactivos con capacidad de disminuir el peso corporal. Este beneficio se demostró en un estudio clínico con mujeres con sobrepeso, obteniendo una reducción del 8 % del peso corporal (Chenket *al.*, 2016). Dichos beneficios se asociaron a sus principales compuestos bioactivos como las catequinas y las epicatequinas.

Por otro lado, el orujo de uva es un subproducto con baja solubilidad y esto ocasiona problemas de aceptabilidad sensorial. De tal manera que, la adición de agentes suspensores podría disminuir estas características. Entre las alternativas viables de uso se encuentra la chía, cuya semilla al hidratarse desprende un mucílago, que es una fuente potencial de polisacáridos (Muñoz *et al.*, 2012). La solubilidad elevada y la capacidad de retención de agua le confieren potencial como ingrediente funcional (Muñoz *et al.*, 2012).

Debido a los beneficios que presentan los ingredientes anteriormente mencionados y a sus distintos sitios de acción, su combinación con orujo de uva podría resultar en un producto con mayor potencial y beneficios a la salud. Por tal motivo, en este proyecto se desarrolló un suplemento alimenticio a base de orujo de uva adicionado con ingredientes de origen natural, como la cúrcuma, el extracto de té verde y la chía, con el fin de potenciar sus efectos en el control de la obesidad.



## **2. ANTECEDENTES**

### **2.1. Sobrepeso y obesidad**

El sobrepeso y la obesidad constituyen uno de los principales problemas de salud más importantes en México. De igual manera estos padecimientos son el principal factor de riesgo para el desarrollo de enfermedades crónico-degenerativas como la diabetes tipo 2, la hipertensión arterial, las enfermedades cardiovasculares, las enfermedades osteoarticulares, la apnea del sueño, entre otras (Kánter-Coronel, 2021).

Según la OMS (2021), la obesidad y el sobrepeso se definen como una acumulación excesiva o anormal de grasa, y se ha demostrado ser perjudicial para la salud.

### **2.2. Tejido adiposo**

El tejido adiposo es un órgano importante en el desarrollo de la obesidad ya que es el encargado del almacenamiento de energía en forma de triglicéridos (Zhang *et al.*, 2019). Cuando hay un consumo excesivo de energía, los adipocitos se vuelven hipertróficos, es decir, aumentan de tamaño por la acumulación de lípidos. Los adipocitos también pueden presentar hiperplasia, es decir, aumento del número de adipocitos en el proceso de adipogénesis, formación de adipocitos; con esto se presenta una mayor capacidad del tejido adiposo para almacenar los lípidos (Lundgren *et al.*, 2007).

### **2.3. Prevención y tratamiento de la obesidad**

Dentro de las medidas que se han implementado para el tratamiento de la obesidad se encuentran la disminución en la ingesta de alimentos con un alto contenido de azúcares refinados y el aumento en el consumo de frutas y hortalizas que son fuentes de fibra dietética y nutrientes antioxidantes (NOM-043-SSA2-2012). Por tal motivo, es importante optimizar la composición de la dieta y las sustancias bioactivas para prevenir y tratar la obesidad. Además, se ha demostrado que los extractos de plantas, de algunas hortalizas, y de algunas frutas, tienen la capacidad de controlar la obesidad, debido al contenido de compuestos bioactivos como los compuestos polifenólicos, los

cuales ejercen efectos antiobesogénicos mediante diferentes mecanismos de acción (Rodríguez-Pérez *et al.*, 2019; Wang *et al.*, 2022).

## **2.4. Orujo de uva**

El orujo de uva es un subproducto de la industria vitivinícola, representa del 20-25 % de las uvas trituradas en la elaboración del vino tinto e incluye las partes sólidas de la uva como la piel, la pulpa y las semillas (García *et al.*, 2010). El orujo está compuesto de agua, proteínas, lípidos, vitaminas, minerales y compuestos bioactivos, entre los que destacan los compuestos fenólicos (ácidos fenólicos, antocianinas, estilbenos y proantocianidinas) (Sousa *et al.*, 2014).

### **2.4.1. Compuestos bioactivos del orujo de uva**

En el orujo de uva se encuentran compuestos fenólicos simples que, de acuerdo con su solubilidad, se clasifican en polifenoles extraíbles (EPPs): ácidos hidroxicinámicos como los ácidos cumárico, cafeico, ferúlico y sinápico. Por otro lado, también se encuentran los ácidos hidroxibenzoicos como el protocatecuico, gálico y gentílico. El orujo de uva contiene flavonoides de subclase de los flavonoles como el kaempferol, la quercetina y la miricetina; flavonoles como la (+)-catequina, la (-)-epicatequina, la (-)-epigallocatequina y la (-)-epigallocatequina-3-O-galato. El orujo también contiene antocianinas dentro de las cuales se encuentran la cianidina-3-glucósido, la malvidina-3-glucósido y la delphinidina-3-glucósido, estilbenos como el resveratrol; polifenoles poliméricos entre los que se encuentran las proantocianidinas extraíbles (Beres *et al.*, 2017). En el otro grupo se incluyen los polifenoles no extraíbles (NEPPs); en este se encuentran las proantocianidinas no extraíbles (NEPAs) y los polifenoles hidrolizables (Pérez-Jiménez *et al.*, 2009).

La biodisponibilidad de estos compuestos depende de su estructura química e interacción con la matriz alimentaria. Cabe mencionar que la capacidad que tienen los compuestos fenólicos para ejercer sus acciones benéficas está relacionada con la biodisponibilidad de éstos y los productos del metabolismo. Se han reportado algunos compuestos fenólicos altamente biodisponibles; sin embargo, en su mayoría los compuestos fenólicos no son absorbidos en el intestino delgado; por lo tanto, estos

compuestos llegan al intestino grueso en donde son metabolizados y se produce derivados fenólicos por la microbiota intestinal local. Una vez que son absorbidos, estos compuestos en el colon pueden presentar cambios por enzimas de fase I/II y algunos de estos metabolitos pueden encontrarse en la circulación enterohepática (Castello *et al.*, 2018).

Por otro lado, los NEPPs se encuentran constituidos principalmente por proantocianidinas no extraíbles. Estos compuestos no son bioaccesibles en el intestino delgado y son transportados al colon en donde la microbiota colónica cataboliza a estos polifenoles originando moléculas de menor tamaño; esto podría mejorar su absorción y modificar sus beneficios a la salud (Monagas *et al.*, 2010).

Finalmente, un componente importante del orujo de uva es la fibra dietaria, la cual se encuentra en concentraciones de 46-68 % (Martínez-Meza *et al.*, 2021; Sousa *et al.*, 2014). Sin embargo, no existen estudios de los beneficios de este componente. Solamente se ha sugerido que estos polisacáridos podrían estar asociados al control de la obesidad por la capacidad de la fibra para disminuir la absorción de triglicéridos en el intestino (Yu *et al.*, 2017).

#### **2.4.2. Beneficios del consumo de orujo de uva en el control de la obesidad**

Diversos estudios han demostrado que el orujo de uva es una fuente de fibra dietaria antioxidante y se ha sugerido que su consumo puede contribuir a la reducción de la absorción de lípidos (Cuadro 1) (Sousa *et al.*, 2014). Ratas Wistar alimentadas con dietas de cafetería y tratadas con extractos de polifenoles de semillas de uva (12 mg/kg) no presentaron un efecto en la disminución del peso corporal (Margalef *et al.*, 2015).

En otro estudio *in vivo* realizado durante 10 semanas en ratas alimentadas con una dieta estándar a la cual se le adicionó 7, 14 y 21 % de orujo de uva; al final del experimento se registró un menor peso corporal (30 %) con respecto al grupo control; sin embargo, los resultados no fueron estadísticamente significativos entre los tratamientos. Los autores sugieren que el tratamiento con orujo de uva, a pesar de no mostrar diferencias significativas, podría ayudar al control del peso corporal cuando se consume en la dieta y de manera habitual (Yu *et al.*, 2017).

**Cuadro 1.** Estudios *in vivo* realizados con subproductos de uva para el control del peso corporal en

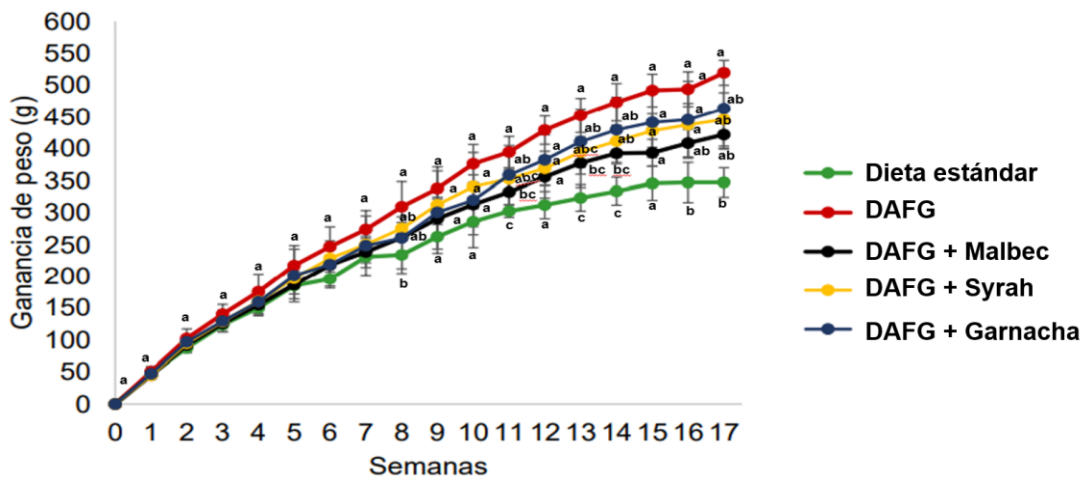
Modelo	Tratamiento	Efectos	Referencia
Ratones macho C57BLK/6J. Alimentados con dieta alta en grasa	250 mg/kg de peso corporal. Extracto de piel de uva	12 semanas de experimentación, aumento del 29 % peso corporal.	Hogan <i>et al.</i> , 2011.
Ratones macho C57BL/KsJ-db/db alimentados con dieta alta en grasa	0.5 % extracto de orujo de uva y 0.5 % extracto de fruta de omija	A las 7 semanas de tratamiento no mostraron diferencia estadística significativa respecto al peso corporal, comparado con el control. Sin embargo, presentaron mayor reducción del peso del tejido adiposo (34.3 %).	Cho <i>et al.</i> , 2015.
Ratas Wistar Crl-WL alimentadas con dieta de cafeteria	100 mg/kg extracto de polifenol de semilla de uva	A las 12 semanas de tratamiento mostraron 21 % en la disminución de peso corporal; sin embargo, esta disminución resulto no ser significativa	Margalef <i>et al.</i> , 2015.
Ratas hembra Sprague-Dawley dieta estándar.	Dieta AIN-93G modificada con 6.9%, 13.8% y 20.7% de orujo de uva	A las 10 semanas del tratamiento no mostraron disminución de peso corporal, pero presentaron el 10 % de la disminución del peso del tejido adiposo con respecto al grupo control obeso.	Yu <i>et al.</i> , 2017

Por otro lado, ratones C57BLK/6J alimentados con una dieta alta en grasa y

suplementada con un extracto de orujo de uva Norton (250 mg/kg al día), durante 12 semanas, mostraron un aumento de peso corporal, similar e incluso mayor que los animales control alimentados con la dieta alta en grasa. Estos resultados sugieren que la incorporación de dicho extracto podría generar mayor aporte energético (Hogan *et al.*, 2010).

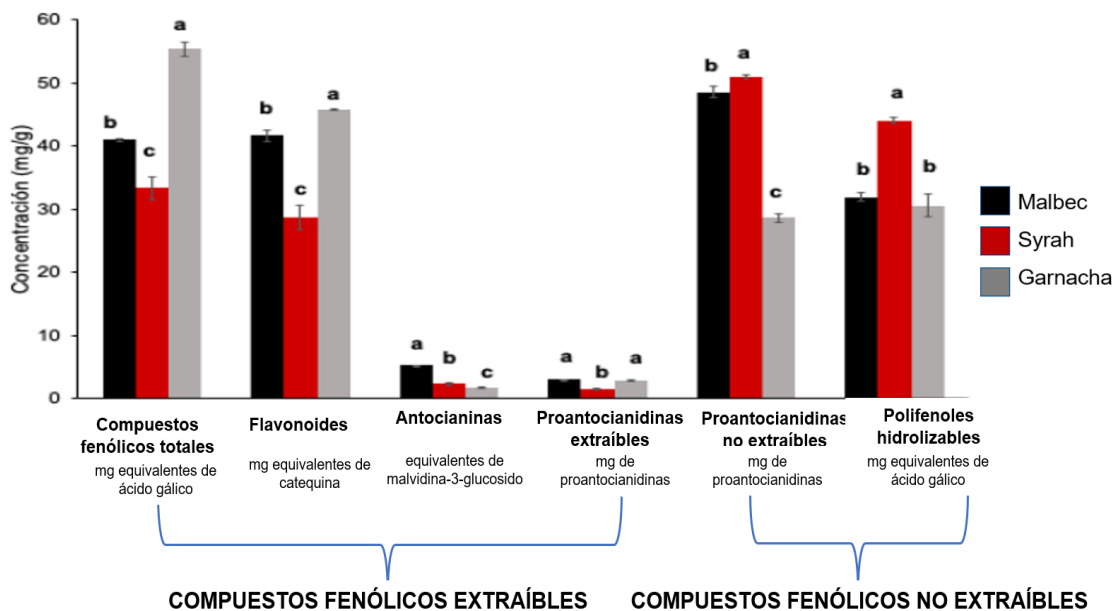
Los estudios citados anteriormente son poco concluyentes sobre los beneficios del orujo de uva en la ganancia de peso. Por lo anterior, nuestro grupo de trabajo realizó un estudio con ratas Wistar macho alimentadas con dietas altas en grasa y fructosa y suplementadas con orujo de uva de diferentes variedades (Malbec, Syrah y Garnacha) a una concentración de 1 g/kg, equivalente al consumo de 8 g de orujo por día para una persona adulta. Los resultados mostraron que los grupos tratados con los orujos presentaron menor ganancia de peso (11-19 %), respecto al grupo control obeso, y el efecto más importante se observó en el grupo alimentado con la variedad Malbec (Figura 1). Esta variedad presentó mayor concentración de antocianinas comparado con las variedades Syrah y Garnacha; la concentración de compuestos fenólicos totales y flavonoides superiores a Syrah y con concentraciones de proantocianidinas no extraíbles mayores que Garnacha (Figura 2).

Los compuestos del orujo de uva a los cuales se les ha atribuido un beneficio a la salud son las proantocianidinas extraíbles y no extraíbles. Se ha demostrado que las proantocianidinas regulan de manera positiva los genes relacionados con el gasto de energía en el músculo esquelético y el hígado; inhiben las enzimas digestivas como amilasa y lipasa; reprimiendo la absorción de grasa y glucosa en el intestino (Lee *et al.*, 2007).



**Figura 1.** Efecto del subproducto de diferentes variedades de uva en la ganancia de peso corporal.

Los resultados son expresados como la media  $\pm$  la desviación estándar. DAGF: Dieta alta en grasa y fructosa. (Burgio-Martínez, 2022).



**Figura 2.** Concentración de compuestos fenólicos de diferentes variedades de orujo de uva.

Los resultados son expresados como la media  $\pm$  desviación estándar (Burgio-Martínez, 2022).

Asimismo, a nivel intestinal las proantocianidinas modulan las secreciones enteroendócrinas que podrían disminuir la saciedad (Serrano *et al.*, 2017). Algunos

autores han propuesto que, para mejorar los beneficios del orujo de uva en la disminución del peso corporal, éste debe mezclarse con otras fuentes de compuestos bioactivos. En este sentido, se realizó un estudio con ratones C57BL/KsJ-db/db a los cuales se les administró una dieta comercial adicionada con extracto de orujo de uva y una mezcla de extracto de orujo de uva (0.5 g) y de la fruta de omija (0.05 g) (GE + OE). Estos últimos registraron una reducción del 11 % del peso del tejido adiposo blanco con respecto al del grupo control (extracto de orujo). Los autores concluyeron que la mezcla GE + OE pueden tener el potencial para reducir la obesidad (Cho *et al.*, 2015).

## **2.5. Ingredientes naturales con beneficios en el control de la obesidad**

### **2.5.1. Cúrcuma**

Existen evidencias que han demostrado que algunos componentes como las especias pueden desempeñar un papel importante en el tratamiento de la obesidad. Una de estas especias es la cúrcuma (*Cúrcuma Longa*), cuyo ingrediente activo es la curcumina (Kochhar, 2008; Alappat y Awad, 2010).

La curcumina se deriva del ácido hidroxicinámico y está formada por dos anillos polifenólicos unidos por dos grupos carbonilo (Ohara *et al.*, 2009). La curcumina ha sido estudiada por sus múltiples propiedades antioxidantes, antiinflamatorias, analgésicas y antitumorales. Diversos estudios *in vivo* con ratones ob/ob, así como ratones alimentados con dietas altas en grasa han demostrado el efecto del consumo de curcumina en la pérdida de peso y la disminución del tejido adiposo. Ésta inhibe proteínas clave involucradas en la adipogénesis y aumenta la tasa metabólica basal, contribuyendo a un mayor gasto de energía y pérdida de peso (Alappat & Awad, 2010). En un estudio realizado con ratones a los cuales se les administró curcumina (4 g/kg) durante 28 semanas se presentó una disminución del peso corporal y se demostró una inhibición en la expresión de genes relacionados con la síntesis de triglicéridos y proteínas de unión a elementos sensibles a carbohidratos en hígado (Shao *et al.*, 2012). Por otro lado, pacientes con síndrome metabólico (SM), con un índice de masa corporal (IMC) entre 25.0 y 29.9 y tratados con 500 mg/día de curcumina durante 8 semanas mostraron una pérdida de peso y mejoraron el IMC, la grasa corporal y la circunferencia

de cintura y cadera (Bradford, 2013).

### **2.5.2. Té verde**

El té verde es una bebida sin fermentar obtenida de las hojas de la planta de *Camelia sinensis* (Watanabe *et al.*, 2020). Los principales fitoquímicos presentes en el té verde son los compuestos fenólicos como la (+)-catequina, la (-)-epicatequina, el galato de (-)-epicatequina, la (-)-epigalocatequina y el galato de (-)-epigalocatequina, siendo este último compuesto el de mayor actividad antioxidante. Se ha demostrado que las catequinas, como la epigalocatequina-3-galato (EGCG) y la cafeína (CAF), poseen una alta gama de actividades biológicas, como la reducción de peso corporal, la mejora del síndrome metabólico (SM) y las enfermedades cardiovasculares (ECV) (Hong *et al.*, 2013).

Un posible mecanismo que explica los efectos antiobesidad de los flavonoles del té verde es la disminución de la absorción de nutrientes en el tracto gastrointestinal, ya que se reduce la absorción de glucosa mediante la inhibición de enzimas gastrointestinales implicadas en la digestión de nutrientes, particularmente la actividad de la  $\alpha$ -glucosidasa y la  $\alpha$ -amilasa (Rains *et al.*, 2011).

Se ha demostrado que la ingesta de dosis altas de extractos de té verde (1500 mg/día) en mujeres con sobrepeso y circunferencia de cintura mayor a 80 cm promueve la pérdida de peso, la reducción de circunferencia de cintura mayor a 80 cm, una disminución de los niveles de LDL y no presentaron efectos secundarios o adversos (Chen *et al.*, 2016). Además, se ha demostrado que el té verde reduce la ingesta de alimentos, mejora el metabolismo de grasas, reduce la emulsificación y absorción de lípidos, suprime la adipogénesis, aumenta la termogénesis y la oxidación de grasas e incrementa la excreción de lípidos fecales (Huang *et al.*, 2014).

En un ensayo controlado aleatorio en donde participaron 35 sujetos con obesidad y síndrome metabólico, consumieron 4 tazas de té verde al día (400 mg) durante 8 semanas, se demostró que el té verde disminuyó significativamente el peso corporal y el IMC comparado con el grupo control. Estos resultados se asociaron a los flavonoles presentes en el té verde (Ohishi *et al.*, 2021).

Los pacientes con síndrome de Down comúnmente se caracterizan por presentar tasas



altas de obesidad. En un estudio clínico doble ciego de fase II, 77 adultos con síndrome de Down recibieron como tratamientos 200, 400 y 800 mg/kg de extracto de galato de (-)-epigallocatequina (EGCG) dos veces al día después de comer. Los resultados mostraron una disminución significativa de la composición corporal para todas las concentraciones evaluadas, principalmente en los hombres (Xicota *et al.*, 2020).

### **2.5.3. Semilla de chía**

La chía es una planta herbácea que se ha utilizado con fines medicinales y sus semillas se consumen como ingrediente o complemento de algunos alimentos preparados. La superficie de la semilla de chía es lisa, brillante, con colores blanco, gris y marrón, con manchas negras dispuestas irregularmente en toda la superficie (Kulczynski *et al.*, 2019).

La semilla de chía se encuentra cubierta por un mucílago que, cuando entra en contacto con agua, inmediatamente forma una cápsula mucilaginosa transparente (Muñoz *et al.*, 2012). Este mucílago es un polisacárido ramificado hidrosoluble capaz de absorber hasta 100 veces su peso en agua formando geles (Chamorro *et al.*, 2010) y ésta formado por xilosa, glucosa y ácido glucurónico (Andrade *et al.*, 2011).

La elevada solubilidad y la capacidad de retención de agua que tiene el mucílago de chía le confiere potencial como ingrediente funcional para ser utilizado en diferentes aplicaciones dentro de la industria alimentaria (Muñoz *et al.*, 2012).

La chía contiene altos niveles de compuestos bioactivos como, el ácido cafeico, el ácido clorogénico, la quercetina, los ácidos rosmarínico, gálico, cinámico, la miricetina y el kaemferol (Knez *et al.*, 2019; Biswas *et al.*, 2023).

Pandurangan y colaboradores (2020) reportaron que el consumo de chía disminuyó la hipertrofia de los adipocitos y, a su vez, mejoró el perfil lipídico en células madre mesenquimales derivadas de médula ósea humana. Además, la chía incrementó la expresión de proteínas como la CTP-1 y el coactivador 1-alfa (PGC-1 $\alpha$ ) y la expresión de proteínas de choque térmico (HSP). Esto indica una regulación de actividades mitocondriales, de oxidación de ácidos grasos y control de la adipogénesis (Enes *et al.*, 2020). Capitani y colaboradores (2012) han reportado que la ingesta del mucílago de chía tiene beneficios en el metabolismo de lípidos, mediante la disminución de la

absorción intestinal de ácidos grasos, el arrastre de sales biliares, el aumento de la pérdida de colesterol; por lo tanto, el mucílago de la chía, además de conferir viscosidad, presenta efectos antiobesogénicos.

## **2.6. Suplementos de origen natural para el control de la obesidad**

La NOM-251-SSA1-2009 define a un suplemento alimenticio como un producto a base de hierbas, extractos vegetales, alimentos tradicionales, deshidratados o concentrados de frutas, adicionados o no, con vitaminas o minerales que se pueden presentar en forma farmacéutica. La finalidad que tienen los suplementos es incrementar la ingesta dietética total, complementarla o suplir alguno de sus componentes. Asimismo, los suplementos se pueden encontrar en diversas formas, tal es el caso de tabletas, cápsulas, polvos, entre otros.

Existen suplementos en el mercado comercial en los cuales además de ingredientes naturales, o ingredientes con beneficios a la salud, se les agregan aditivos alimentarios como antiaglomerantes, edulcorantes y saborizantes, por mencionar algunos, los cuales confieren una mejora tecnológica y aceptabilidad. En el Cuadro 2 se muestra algunos suplementos de origen natural, comercializados en México por tiendas físicas o en línea donde se observa el bajo contenido de fibra que estos tienen (0.1-5 g/porción); por otro lado, los efectos a la salud de estos suplementos no han sido comprobados.

A partir de esta información es evidente que un área de oportunidad es el desarrollo de suplementos alimenticios con fibra soluble e insoluble, además de un alto contenido de compuestos bioactivos. Considerando los efectos que ejercen la cúrcuma, el extracto de té verde y la chía en el control de la obesidad, estos podrían ser utilizados para la elaboración de suplementos, mezclándolos con el orujo de uva. Por lo tanto, en este proyecto se plantea elaborar un suplemento a base de orujo de uva y adicionado con otros ingredientes para mejorar los beneficios de este subproducto.

**Cuadro 2.** Suplementos alimenticios en polvo comercializados en México

Nombre	Componentes	Calorías/porción (Kcal)	Contenido de fibra/porción (gramos)
Jugo verde (xotzil)	Piña, apio, perejil, limón, copal	65.0	5.0
Matcha Organic Matcha	Hoja de té verde orgánica ( <i>Camelia Sinensis</i> )	2.4	0.1
Metamucil	Cáscara de semilla de <i>plátano psyllium</i> en polvo	45.0	2.4
Jugo verde mix	Nopal en polvo, semilla de chía, jugo de piña deshidratada, ciruela deshidratada, extracto de té verde	40.0	4.0
Fibragrass	Psyllium, linaza, salvado de trigo, piña y garcinia	43.24	3.2
Greens mix	Germinado de alfalfa, limón, germinado de avena, germinado de cebada, astrágalo, espirulina, melón amargo, centella asiática, col rizada, germinado de pasto de trigo y chlorella.	70.0	5.0

Elaboración propia

### 3. JUSTIFICACIÓN

Las prevalencias de sobrepeso y obesidad en México son elevadas y estas patologías son el principal factor de riesgo para el desarrollo de enfermedades metabólicas. En consecuencia, se han establecido estrategias para disminuir esta problemática, como incrementar el consumo de alimentos altos en fibra dietética y compuestos bioactivos, como el caso de los compuestos fenólicos.

El orujo de uva es un subproducto de la industria vitivinícola, que contiene compuestos fenólicos y fibra dietaria, por lo que se ha recomendado para el control de la obesidad. Si bien la mayoría de los estudios con orujo han demostrado poco o nulo efecto sobre la reducción del peso corporal, pero se ha reportado menor peso del tejido adiposo. En estudios realizados por nuestro grupo de trabajo se encontró que, orujos de diferentes variedades de uva adicionado a dietas hipercalóricas disminuyeron la ganancia de peso de ratas de edad adulta comparado con el grupo control. Sin embargo, el peso corporal fue 20 % más alto que el presentado por los animales sanos; por lo tanto, mejorar sus beneficios es un área de oportunidad para el aprovechamiento de este subproducto.

Se ha sugerido que la mezcla de orujo de uva con otros ingredientes de origen vegetal podría potenciar las propiedades biológicas de éste. Existen diferentes ingredientes vegetales con elevado contenido de compuestos fenólicos y altas cantidades de fibras, las cuales generan beneficios importantes para la prevención o control de la obesidad. La cúrcuma (*Curcuma longa*) y el té verde (*Camelia sinensis*) contienen un perfil diferente de compuestos fenólicos comparado con el orujo de uva y diversos estudios han demostrado que contribuyen a la disminución del peso corporal. Asimismo, la chía (*Salvia hispana*) contiene polisacáridos que pueden mejorar la dispersión del orujo de uva y además posee propiedades antiobesogénicas.

Por lo tanto, con la finalidad de potenciar las propiedades del orujo de uva para el control de la obesidad, se propuso desarrollar suplementos alimenticios adicionados con otros ingredientes de origen natural y demostrar sus efectos antiobesogénicos.

## **4. OBJETIVOS**

### **4.1. Objetivo general**

Desarrollar un suplemento a base de orujo de uva, adicionado con ingredientes de origen vegetal, que sea aceptado sensorialmente por el consumidor y determinar su efecto sobre el control de obesidad en un estudio *in vivo*.

### **4.2. Objetivos particulares**

- Evaluar el efecto de la semilla de chía sobre la solubilidad del orujo de uva para mejorar sus características organolépticas.
- Desarrollar formulaciones de suplementos alimenticios con orujo de uva, cúrcuma y té verde que sean aceptados sensorialmente.
- Evaluar el efecto de los suplementos aceptados sensorialmente en el control de peso corporal utilizando animales alimentados con una dieta hipercalórica.
- Determinar la capacidad de los suplementos para regular la hipertrofia del tejido adiposo visceral.

## **5. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **5.1. Material vegetal**

El orujo de uva se obtuvo de viñedos ubicados en el estado de Querétaro, México de la cosecha 2022. Se incluyeron cuatro orujos de diferentes variedades de uva: Malbec y Tempranillo de viñedos Puerta de Lobo; Syrah y Merlot de viñedos Azteca.

La cúrcuma, el extracto de té verde y la semilla de chía se adquirieron comercialmente en la empresa América Alimentos SA de CV. Además, se utilizó una premezcla de vitaminas (A, D3, E, K, B1, B2, B6, C, B5, B3, B12, ácido fólico y biotina) y minerales (calcio, fósforo, potasio, magnesio, zinc, hierro, cobre y magnesio) que fueron adquiridos comercialmente en la empresa América Alimentos SA de CV.

### **5.2. Material biológico**

Se utilizaron 40 ratas Wistar macho de  $160 \pm 180$  g de peso corporal, los cuales se adquirieron en bioterio del Instituto de Neurobiología de la UNAM, Campus Juriquilla.

Las ratas se alojaron en el bioterio de la Facultad de Química en jaulas con las siguientes medidas:  $258 \text{ cm}^2$  de acero inoxidable, las cuales permitieron la entrada de aire y luz, además de contar con un clip a prueba de escape. Las ratas se mantuvieron bajo condiciones de humedad controladas ( $50 \pm 10 \%$ ) y con temperatura de  $23 \pm 2$  C y ciclos de fotoperiodo de 12 h. Los animales se alimentaron con dieta estándar (Rodent Diet 5001 Purina ®) y agua *ad libitum*, de acuerdo con lo señalado en la NOM-062-ZOO-1999. Las operaciones de limpieza se llevaron a cabo diariamente y se incluyeron a los bebederos, los comederos y las charolas de recolección, además de la limpieza de jaulas cada tercer día.

La manipulación de los animales durante el periodo de experimentación se realizó siguiendo las especificaciones de la NOM-062-ZOO-1999 en el apartado 10.4, en donde se indica el uso de guantes, cubrebocas y bata mientras se tiene el contacto con los animales. Este proyecto fue aprobado por el comité de Bioética de la Facultad de Química con el siguiente código CBQ22\_056.

### 5.3. Preparación de las muestras

Los orujos de uva recolectados se sometieron a un proceso de secado en horno de aire forzado a una temperatura de 55 °C hasta peso constante; se molieron para la reducción de partícula y se almacenaron protegidos de la luz, a temperaturas de refrigeración (4 °C), con la finalidad de preservar su contenido de compuestos bioactivos.

### 5.4. Análisis químico proximal de los ingredientes

Todas las determinaciones se realizaron con los métodos oficiales de la AOAC (1990).

#### 5.4.1. Determinación de humedad

El contenido de humedad se realizó por la pérdida de agua de la muestra (AOAC 930.15-1930) pesando 0.5 g de la muestra y dejando evaporar el agua en charolas de aluminio en una estufa a 110 °C durante 4 h. El porcentaje de humedad se cuantificó por la diferencia de pesos con la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Humedad} = \frac{\text{Peso de la muestra (g)} - \text{Peso final (g)} - \text{Peso crisol (g)}}{\text{Peso de la muestra (g)}}$$

#### 5.4.2. Determinación de proteínas totales

El contenido de proteínas se realizó por el método Kjeldahl (AOAC 2011.04). Este método se basa en la digestión de las proteínas con ácido sulfúrico en presencia de catalizadores. En un tubo Kjeldahl se colocaron 0.5 g de muestra libre de humedad y 3.5 g de K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> + 0.4 g de CuSO<sub>4</sub> y se incluyó un blanco que no contenía muestra, a todos los tubos se les agregó 15 mL de ácido sulfúrico concentrado. Posteriormente se colocaron en el digestor (Buchi, Suiza) a 400 °C, hasta que se digirió toda la materia orgánica (hasta observar un líquido verde claro) y se dejaron enfriar a temperatura ambiente. Se agregaron 50 mL de NaOH al 40 %. En un matraz se colocaron 50 mL de ácido bórico al 4 % y 10 gotas de verde de bromocresol. Se realizó la destilación (Buchi, Suiza) hasta obtener un volumen de 100 mL de muestra. Finalmente, la muestra

se tituló con HCl 0.1 N y con la siguiente ecuación se calculó el porcentaje de proteínas:

$$\% \text{ de Proteína} = \frac{\text{mL gastados de la titulación} \times N \times 14}{\text{Peso de la muestra en base seca (g)}} \times F \times 100$$

Donde:

N=normalidad del ácido de valoración

F=Factor de conversión de proteína (6.25)

14= Peso atómico del nitrógeno

#### **5.4.3. Determinación de lípidos totales**

La determinación de lípidos totales se realizó por el método Goldfish (AOAC 948.22-1948), utilizando éter de petróleo mediante una extracción semi-continua. Se pesó 1 g de muestra libre de humedad y se colocó en un cartucho de celulosa, el cual se depositó en el equipo de extracción (Gold Fish). Adicionalmente, 20 mL de éter de petróleo se depositaron en los vasos del equipo y la extracción se realizó durante 3 h. El éter de petróleo se evaporó y posteriormente los vasos se colocaron en una estufa a 60 °C durante 2 h, el peso de los vasos se registró. Para determinar el porcentaje de lípidos se utilizó la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Lípidos} = \frac{\text{Peso final del vaso (g)} - \text{Peso inicial del vaso (g)}}{\text{Peso de la muestra en base seca (g)}} \times 100$$

#### **5.4.4. Determinación de ceniza**

La determinación de cenizas se realizó cuantificando el contenido de materia orgánica mediante calcinación por el método AOAC 942.05. Se pesaron 0.5 g de muestra libre de humedad en un crisol a peso constante. La muestra se carbonizó en un plato caliente y después se incineró en la mufla (Thermolyne, Estados Unidos de América) a 550 °C durante 2 h. Las cenizas blancas se colocaron en un desecador y finalmente las muestras se pesaron para calcular el porcentaje de cenizas con la siguiente ecuación:



$$\% \text{ Cenizas} = \frac{\text{Peso del residuo (g)}}{\text{Peso de la muestra en base seca (g)}} \times 100$$

#### **5.4.5. Determinación de fibra dietaria total, soluble e insoluble**

El contenido de fibra dietaria total (FDT), soluble (FDS) e insoluble (FDI, se determinó mediante el método enzimático gravimétrico (AOAC 985.29,2002) utilizando un kit enzimático (Sigma-Aldrich, México) y siguiendo las instrucciones del fabricante. A 1 g de muestra seca y desengrasada se le adicionó 50 mL de solución amortiguadora de fosfato (pH 6) y la enzima  $\alpha$ -amilasa (0.1 mL, 4000 U); esta mezcla se incubó a 95 °C en baño maría y con agitación constante durante 15 min. El pH de la solución se ajustó a  $7.5 \pm 0.2$  con NaOH 0.275 N. Posteriormente, se realizó la digestión de las proteínas con 0.1 mL de proteasa (50 mg/mL, 550 U) y las muestras se incubaron a 60 °C durante 30 min en baño maría con agitación continua. La solución se ajustó a un pH entre 4-4.6 con HCl 0.325 N, se adicionó 0.1 mL de amiloglucosidasa (260 U) y se incubó a 60 °C por 30 min en baño maría.

Posteriormente, se realizó la precipitación de la fibra dietaria soluble con 4 volúmenes de etanol al 95 % durante toda la noche a temperatura ambiente. Transcurrido el tiempo se realizó la filtración, el residuo se lavó tres veces con 20 mL de etanol al 78 %, 2 veces con 20 mL de etanol al 95 % y dos veces con 10 mL de acetona. El residuo se secó a 105 °C durante toda la noche. Posteriormente se pesó el residuo y se cuantificó en este el contenido de cenizas (AOAC 942.05) y de proteínas (AOAC 920.39). Los resultados se expresaron en base seca.

Finalmente, los carbohidratos totales se determinaron por la diferencia del total de las determinaciones previamente descritas, incluyendo la fibra total.

#### **5.5. Preparación de extractos de compuestos polifenólicos totales extraíbles**

Para la obtención del extracto se pesaron 0.5 g de muestra, se les adicionó 20 mL de

una solución de metanol:agua (50:50 v/v) y se acidificó con HCL para obtener un pH final de 2.0. La solución se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. Posteriormente, las muestras se centrifugaron a 1500 g durante 10 min a 4 °C y el sobrenadante se recuperó (extracto A). Al residuo se le agregó nuevamente una mezcla de 20 mL de acetona:agua (70:30 v/v) y se agitó a temperatura ambiente por una hora. Después la muestra se centrifugó durante 10 min a 1500 g y a 4 °C, finalmente se recuperó el sobrenadante (extracto B) (Hassan *et al.*, 2011).

Los extractos A y B se mezclaron para la determinación de compuestos fenólicos totales, flavonoides, antocianinas y proantocianidinas extraíbles; mientras que, el residuo de la extracción se conservó para la determinación de polifenoles no extraíbles.

#### **5.5.1. Cuantificación de compuestos fenólicos totales**

La determinación de compuestos fenólicos totales se realizó a partir de la metodología descrita por Singleton *et al* (1999) con modificaciones utilizando el método de Folin Ciocalteu. Se colocaron 10 µL del extracto obtenido de la sección 5.5 en una microplaca, el volumen se ajustó a 25 µL con agua destilada. Se adicionaron 12.5 µL del reactivo Folin Ciocalteu 1 N, se agitó por 5 min y se agregaron 62.5 µL de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> al 20%. Las mezclas se dejaron en reposo por 30 min en la oscuridad y se leyeron a 760 nm.

La cuantificación se realizó utilizando una curva estándar de ácido gálico. Los resultados se expresaron como mg equivalentes de ácido gálico (AG) por gramo de muestra (mg Eq. AG/g de muestra).

#### **5.5.2. Cuantificación de flavonoides**

El contenido total de flavonoides de los extractos se cuantificó utilizando el método colorimétrico descrito por Heimer y colaboradores (2006). Se mezclaron 40 mL de los extractos con 7.5 µL de NaNO<sub>2</sub> al 5 %, 15 µL de una solución recién preparada de AlCl<sub>3</sub> al 10 % y 50 µL de una solución de NaOH 1.0 M. Posteriormente, el volumen final de la mezcla se ajustó a 250 µL con agua desionizada. La mezcla se leyó a una absorbancia de 510 nm. El contenido total de flavonoides se expresó como mg equivalentes de catequina/g de muestra (mg Eq. Cat/g de muestra).

### 5.5.3. Cuantificación de antocianinas

Las antocianinas se cuantificaron utilizando el método diferencial de pH descrito por Giusti & Wrolstad (2001). Se mezclaron 50 µL del extracto obtenido en la sección 5.5 con 175 µL de cada una de las soluciones amortiguadoras (KCl, 0.025 N a pH 1.0 y CH<sub>3</sub>COONa<sub>3</sub>H<sub>2</sub>O 0.4 M a pH 4.5). Posteriormente, las absorbancias se midieron a 510 nm y 700 nm en un espectrofotómetro para microplaca (Thermo Scientific) considerando ambos pH de las soluciones amortiguadoras. Las antocianinas se cuantificaron utilizando las siguientes ecuaciones:

$$Abs_{total} = [(Abs_{510\text{ nm}} - Abs_{700\text{ nm}})_{pH1} - (Abs_{510\text{ nm}} - Abs_{700\text{ nm}})_{pH4.5}]$$

$$Antocianinas\ monoméricas = \frac{|abs\ total| PM * 1000 * factor\ de\ dilución}{\epsilon * distancia}$$

Donde:

Abs: absorbancia total

PM: peso molecular de la malvidina 3-O-glucósido 493.44 g/mol

$\epsilon$  = Coeficiente de extinción molar, malvidina-3-O-glucósido 29500 L/mol cm

d = distancia (1cm).

Los resultados se expresaron en mg equivalentes de malvidina-3-O-glucósido/mL (mg Eq. Mv3g/mL).

### 5.5.4. Cuantificación de proantocianidinas extraíbles (EPA)

La cuantificación de proantocianidinas extraíbles se realizó hidrolizando el extracto de la sección 5.5. Se colocaron 5 mL del extracto y estos se aforaron a 10 mL con una solución de butanol/HCl/FeCl<sub>3</sub> y se incubaron en un baño de agua a 100 °C por 1 h. Del extracto hidrolizado, se utilizaron 200 µL para leer las absorbancias a 450 nm y 555 nm. Para la cuantificación se utilizó la curva reportada por Zurita y colaboradores (2012) y los resultados se expresaron como mg de proantocianidinas (PA)/g de muestra.

## **5.6. Antioxidantes macromoleculares o polifenoles no extraíbles**

### **5.6.1. Cuantificación de proantocianidinas no extraíbles (NEPA)**

La cuantificación de proantocianidinas no extraíbles (NEPA) se realizó mediante la hidrólisis ácida con *n*-butanol del precipitado (pellet), siguiendo el método descrito por Zurita y colaboradores (2012). Los residuos de los extractos de la sección 5.5 se secaron a 45 °C por 2 h; posteriormente, se mezclaron con 10 mL de HCl:butanol (5:95 v/v) y 0.7 g de FeCl<sub>3</sub>/L y se incubaron a 100 °C durante 1 h en baño maría. La mezcla se dejó enfriar y se centrifugó a 35000 g por 10 min y se recuperó el sobrenadante. Se realizaron 3 lavados del precipitado con 5 mL de HCL/butanol/FeCl<sub>3</sub>; el volumen final de los lavados y el sobrenadante se mezclaron y se aforaron a 25 mL. Finalmente, las muestras se leyeron a 450 nm y 555 nm. Para la cuantificación se utilizó la curva reportada por Zurita y colaboradores (2012) y los resultados se expresaron como mg de proantocianidinas (PA)/g de muestra.

### **5.6.2. Cuantificación de polifenoles hidrolizables.**

Los polifenoles hidrolizables (HPP) se determinaron en el residuo seco obtenido en la sección 5.5 y con la metodología reportada por Quatrin y colaboradores (2019). Se utilizó 0.1 g del residuo al cual se le agregó 12 mL de agua destilada y 5 mL de NaOH 10 M; las muestras se incubaron y se mantuvieron en agitación constante durante 16 h a temperatura ambiente y un pH final de 2.0 - 3.0. Transcurrido el tiempo, los tubos se centrifugaron durante 10 min a 2000 g y se recuperaron los sobrenadantes. El residuo se lavó con 5 mL de agua destilada y se centrifugó a las condiciones mencionadas anteriormente; los sobrenadantes se mezclaron y se consideraron como la fracción básica de HPP.

Después el residuo se sometió a una hidrólisis ácida, se le agregó 2.5 mL de HCL, se incubó durante 30 min a 85 °C y el pH se ajustó con NaOH 10 M para tener un pH final de 2.0–3.0. La mezcla se centrifugó durante 10 min a 2000 g, se recuperó el sobrenadante y el residuo se lavó con 5 mL de agua destilada y centrifugado según las condiciones mencionadas anteriormente. Los sobrenadantes fueron mezclados y esto se consideró como la fracción ácida de HPP. Finalmente, los HPP se cuantificaron con la técnica descrita para compuestos fenólicos totales descrita en el apartado 5.5.1.

### **5.7. Evaluación de la suspensión del orujo de uva utilizando chía como agente dispersante**

El orujo de uva tiene una baja solubilidad al mezclarse en agua. Por lo tanto, se realizaron pruebas con diferentes gomas, mezclando 4 g de orujo y 0.5 g de gomas (xantana, tragacanto, carboximetilcelulosa, pectina, arábica y carragenina) en 250 mL de agua potable purificada, se homogenizó la mezcla, se depositó en un cono Imhoff y se determinó la sedimentación a los 10 min. También se utilizó a la chía en diferentes concentraciones; esto debido a que al humectarse con agua desprende un mucílago que podría retardar la precipitación del orujo de uva. Se preparó una mezcla de orujo de uva (8 g) (Martínez-Maqueda *et al.*, 2018) y chía en diferentes concentraciones (0.2, 0.4, 1.2, 2, 2.8, 3.6, 4.8 %) (valores tomados a partir de lo recomendado con beneficios a la salud), a las cuales se les adicionaron 250 mL de agua potable purificada, y se determinó la sedimentación a diferentes tiempos (0, 1, 3, 5 y 7 min).

### **5.8. Formulación del suplemento**

Se desarrollaron formulaciones con los siguientes ingredientes: orujo de uva, extracto de té verde y cúrcuma, en distintas proporciones, siendo el orujo de uva el que se incorporó en mayor proporción. Se realizó un diseño experimental tomando como referencia los valores de las dosis mínimas reportadas por la literatura para beneficios a la salud: té verde (0.5 -1 g), cúrcuma (0.5-1 g), orujo de uva (8g), saborizante (pulpa de Jamaica y arándano), edulcorante (acesulfame) estabilizante y chía (de acuerdo con lo reportado en el apartado anterior) (Cuadro 3).

Las formulaciones se elaboraron bajo las buenas prácticas de manufactura de alimentos (NOM-251-SSA1-2009), en las instalaciones de la planta piloto de alimentos ubicada en el parque biotecnológico de la Universidad Autónoma de Querétaro.

**Cuadro 3.** Diseño de experimentos para las formulaciones con orujos de uva

N Mezcla	Orujo de Uva (g)	Cúrcuma (g)	Extracto de té verde (g)	Chía (g)	Edulcorante (g)	Estabilizante (g)	Saborizante (g)
1	8	0.7	1	-	0.06	0.2	2.6
2	8	1	1	-	0.06	0.2	2.6
3	8	1	0.5	-	0.06	0.2	2.6
4	8	0.5	0.7	-	0.06	0.2	2.6
5	8	0.7	0.7	-	0.06	0.2	2.6
6	8	0.5	0.5	-	0.06	0.2	2.6

Este diseño experimental fue utilizado para cada una de las variedades seleccionadas.

Una vez preparadas, cada una de las formulaciones se les determinó el índice de solubilidad en agua (ISA), con la finalidad de seleccionar las formulaciones para cada uno de los orujos de uva.

#### 5.8.1. Índice de solubilidad en agua

Se utilizó la metodología descrita por Anderson (1982), para la cual se pesaron 2.5 g de cada muestra; se adicionaron 50 mL de agua destilada y se agitaron durante 30 min; posteriormente, la suspensión se sometió a centrifugación a 3000 g por 15 min. La muestra se decantó y se secó a 100 °C durante 24 h. Para el cálculo del índice de solubilidad en agua (ISA) se utilizó la siguiente ecuación:

$$ISA(\%) = \frac{\text{Peso del residuo de evaporación}}{\text{Peso de la muestra}} \times 100$$

#### 5.9. Análisis microbiológico de las formulaciones

Para cada una de las formulaciones seleccionadas en función de las propiedades fisicoquímicas, se realizó un análisis microbiológico en la unidad de LECRIMA de la Universidad Autónoma de Querétaro. Dicho análisis incluyó la cuenta de bacterias mesófilas aeróbicas en placa según la NOM-092-SSA1-1993, hongos y levaduras con la NOM-111-SSA1-1994, así como la determinación de bacterias coliformes empleando la técnica de número más probable (NOM-112-SSA1-1994).

Se consideraron los límites permisibles para muestras envasadas y a granel de acuerdo

con la NOM-201-SSA1-2015.

### **5.10. Aceptabilidad sensorial de los suplementos**

Para la invitación a los participantes en las pruebas sensoriales se colocaron posters dentro de las instalaciones de la Universidad Autónoma de Querétaro (Anexo 1), mismos que fueron publicados en redes sociales (Facebook e Instagram). Para dicha evaluación se consideró un grupo de 50 consumidores (Mammasse & Schlich, 2014) de la Universidad Autónoma de Querétaro con un rango de edad de 20-35 años, excluyendo a personas que presentaban alguna enfermedad que alterará su percepción del sabor, o manifestarán alergias a cualquiera de los ingredientes de la formulación (compuestos fenólicos o fibra), mujeres embarazadas o en lactancia, personas con discapacidad mental o que se encontrarán bajo algún tratamiento médico. Después de explicar el consentimiento informado (Anexo 2), éste fue firmado por los panelistas para posteriormente realizar la prueba. Este protocolo fue revisado y aprobado por el comité de bioética con el siguiente código CBQ22/059 (Anexo 4).

La evaluación sensorial se llevó a cabo en las instalaciones del laboratorio de análisis sensorial del parque biotecnológico, Facultad de Química, Universidad Autónoma de Querétaro. Bajo las condiciones adecuadas para asegurar la comodidad de los consumidores: buena iluminación, circulación de aire y temperatura ambiente.

La propuesta del suplemento es un producto en polvo el cual debe disolverse en agua para su consumo. La prueba consistió en proporcionar a cada uno de los participantes 5 g de cada una de las muestras (6 formulaciones) con 250 mL de agua purificada a temperatura ambiente en vasos transparentes. los cuales se etiquetaron con un código de 4 dígitos aleatorios. Además, se proporcionaron cucharas de plástico para disolver el polvo en agua, así como servilletas, un vaso de agua purificada y una galleta neutra "Habaneras" para que fueran consumidas entre el cambio de cada una de las muestras con la finalidad de limpiar el paladar.

Para la prueba sensorial de agrado se utilizó una escala hedónica de 5 puntos desde 1= me disgusta mucho, hasta 5 = me gusta mucho con respecto al sabor, color, apariencia y textura (Lawless y Heymann, 2010) (Anexo 3).

El riesgo de la investigación es denominado A, además las muestras se elaboraron

cuidando las buenas prácticas de manufactura (NOM 251-SSA1-2009).

### **5.11. Evaluación del efecto del consumo de las formulaciones sobre el control de la obesidad**

Los experimentos con animales se realizaron bajo el acuerdo de protocolos de Cuidado y Uso de animales de la Universidad Autónoma de Querétaro, siguiendo los lineamientos estipulados en la NOM-062-ZOO-1999.

#### **5.11.1. Aclimatación de los animales de experimentación.**

Las ratas se sometieron a un periodo de aclimatación durante una semana en el bioterio de la Universidad Autónoma de Querétaro, bajo las condiciones de ciclo luz-oscuridad en 12 h cada uno a temperatura de  $20\pm 2$  °C y humedad de  $50\pm 10$  %. Las ratas tuvieron acceso libre a comida y agua *ad libitum*. Se colocaron dos ratas por jaula, marcadas por cada grupo experimental. Las ratas fueron identificadas por medio de una marca con colorante en la cola, la cual no causa toxicidad a los animales. El grado de molestia causado en los animales es categoría C. Todos los procedimientos se realizaron de acuerdo con las Regulaciones Federales para la Experimentación y Cuidado de Animales (SAGARPA, NOM-062-ZOO-1999 México) y al Comité de Bioética de la Facultad de Química (UAQ).

#### **5.11.2. Grupos de experimentación**

Después del tiempo de aclimatación se formaron 5 grupos de 8 ratas cada uno: dos grupos control, uno de ellos se alimentó con una dieta estándar Rodent Diet 5001 Purina® (DE), molida; el segundo fue un grupo control obeso alimentado con una dieta alta en grasa y fructosa (DAGF) (Cuadro 4).

Finalmente, los 4 grupos de tratamiento se alimentaron con DAGF y suplementada al 2 % en los orujos de uva y al 6 % en los suplementos alimenticios de mayor aceptabilidad sensorial, los cuales incluyeron el 2 % del orujo de uva, esto equivale al consumo de 8-10 g de orujo de uva por una persona adulta (Martínez-Maqueda *et al.*, 2018).



**Cuadro 4.** Contenido nutrimental de las dietas

Nutrientes (%)	DE	DAGF	DAGF +	DAGF +	DAGF +	DAGF +
			Orujo Syrah	Orujo Tempranillo	Suplemento Syrah	Suplemento Tempranillo
Proteína	25.0	19.6	13.91	13.90	13.29	13.28
Carbohidratos	52.8	50.6	42.61	48.40	46.85	46.67
-Fructosa	0	19.8	19.8	19.8	19.8	19.8
Lípidos	11.4	27	22.89	22.86	22.95	22.98
-Saturados	0	20	20	20	20	20
Vitaminas	7	4.3	4.16	4.16	4.16	4.19
Minerales	7	4.3	4.16	4.16	4.16	4.16

### 5.11.3. Evaluación del control de la obesidad

#### 5.11.3.1. Control de peso y consumo de alimento

El peso corporal y el consumo de alimento para todos los grupos se monitoreó semanalmente.

#### 5.11.3.2. Eutanasia y recolección de muestras biológicas

Para la eutanasia, los animales se sometieron previamente a un ayuno durante 12 h, posteriormente los animales se decapitaron con guillotina de acuerdo con la NOM-ZOO-1999. Se tomaron muestras de sangre las cuales se centrifugaron durante 10 min a 2500 g para obtener suero; se realizó una incisión con bisturí abarcando desde el tórax hasta el ano para la obtención de tejido adiposo.

Las muestras se lavaron con solución fisiológica (NaCl al 0.9 %) y se utilizó para el estudio histopatológico. Se informa que, como parte de la línea de investigación del laboratorio, se recolectaron también otros tejidos y órganos como el riñón, el músculo, el hígado, el contenido cecal y se almacenaron a -70 °C para posteriores estudios.

Las jeringas utilizadas se colocaron en un bote rojo de polipropileno especial para objetos punzocortantes marcado con la leyenda: “Residuos punzocortantes biológico-infecciosos”. El material quirúrgico utilizado se colocó durante 12 h en cloro, se lavó y

se esterilizó para su reuso en el laboratorio. Los restos de los animales que no fueron requeridos para análisis o resguardo se colocaron en bolsas color amarillo para su desecho, cuidando de no rebasar el 80 %, y se marcaron con la leyenda: “Desechos patológicos”. Ambos desechos se almacenaron en un congelador a temperatura máxima de 4 °C por un periodo máximo de 15 días hasta su debido transporte e incineración, de acuerdo con el procedimiento establecido en la NOM-087-SSA1-2002.

#### **5.11.3.3. Determinaciones en suero**

En el suero se cuantificó el perfil lipídico comprendido por colesterol total, colesterol HDL y triglicéridos; las determinaciones se realizaron con kits enzimáticos de la marca Spinreact.

#### **5.11.3.4. Análisis histológico**

Para este análisis se tomó una sección de tejido adiposo visceral, el cual se fijó en formalina-solución amortiguadora al 10 % y posteriormente se incluyó en parafina. Los tejidos se tiñeron con hematoxilina y eosina (H&E) y se analizaron con el microscopio óptico a 100X, 300X y 600X considerando 5 imágenes por animal. Finalmente, las imágenes se analizaron en el software Zen.

### **5.12. Análisis estadístico.**

Los resultados obtenidos del contenido proximal y compuestos fenólicos se expresaron como la media  $\pm$  la desviación estándar. El análisis estadístico de los datos se realizó mediante un análisis de varianza ANOVA con un nivel de confianza del 95 %. La comparación de todos los tratamientos se realizó con un análisis de comparación de medias aplicando la prueba de Tukey y al compararse con un control se utilizó la prueba de Dunnett. En la evaluación sensorial de aceptabilidad de los suplementos a base orujo de uva se empleó una prueba de Pearson ( $p < 0.05$ ).

Para determinar si los datos del modelo animal debían analizarse con herramientas paramétricas o no paramétricas, la distribución de los datos se evaluó con la prueba de Kolmogorov-Smirnov y la homocedasticidad con la prueba de Levene. Los datos

paramétricos se realizaron con la prueba de Tukey; mientras que, los datos no paramétricos se analizaron con la prueba de U de Mann-Whitney. Finalmente, los datos se analizaron con el paquete JMP 11 (SAS Institute, Cary, NC, Estados Unidos de América).

## 6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 6.1. Contenido de compuestos fenólicos presentes en el orujo de uva

En el Cuadro 5 se muestra el contenido de compuestos fenólicos presentes en los orujos de las cuatro diferentes variedades de uva. Las concentraciones de compuestos fenólicos totales y flavonoides totales para las variedades Syrah y Merlot fueron hasta 2.3 veces mayor que el orujo de la variedad Tempranillo. Estos resultados se encuentran dentro del rango reportado por Onache y colaboradores (2022), quienes encontraron concentraciones máximas de 25.68 EAG/g para diversas variedades como Tamaiosa, Romaneasca, Merlot, Pinot Noir. Por otro lado, los contenidos de compuestos fenólicos totales en nuestro estudio fueron menores, ya que ellos reportaron para la variedad Merlot concentraciones de 69-80 mg EAG/g, Malbec de 196.2 mg EAG/g y Tempranillo de 29.8-71.8 mg EAG/g. Esto podría estar relacionado a la concentración de solventes utilizados con diferente polaridad para la preparación de extractos (etanol, acetonitrilo y acetona respectivamente). Esto podría estar relacionado con la concentración de solventes utilizados, que poseen diferentes polaridades, para la preparación de extractos (etanol, acetonitrilo y acetona, respectivamente). También podría influir el proceso de secado previo del orujo utilizado en nuestro estudio, así como el método de extracción empleado por otros autores, como el ultrasonido. (Antoniolli *et al.*, 2015; Ayuda *et al.*, 2019; Monari *et al.*, 2020).

El contenido de antocianinas monoméricas en los orujos de uva osciló entre los valores de 1.35 a 3.15 mg Eq. Mv3g/mg, siendo nuevamente el orujo de la variedad Syrah con la mayor concentración hasta 2.3 veces superior a la variedad Merlot, que fue la variedad con menor concentración. Estos resultados son similares a lo reportado por Chikwanha y colaboradores (2018) quienes encontraron 1.78 mg Eq. Mv3g/mL en orujos de uva de la variedad Syrah.

En lo que respecta a la cuantificación de proantocianidinas extraíbles (EPAs), se encontraron concentraciones de 5.48 a 8.24 mgPA/g, siendo nuevamente la variedad Syrah con la mayor concentración para estos compuestos; mientras que; en la variedad Malbec se encontró la menor concentración.

**Cuadro 5.** Contenido de compuestos fenólicos presentes en los orujos de uva

	Malbec	Merlot	Syrah	Tempranillo
<b>COMPUESTOS FENÓLICOS EXTRAÍBLES</b>				
Compuestos fenólicos totales (mg EAG/g)	39.7±1.b	47.7±0.24a	47.1±2.9a	20.7±1.1c
Compuestos flavonoides totales (mg Eq. Cat /g)	13.3±0.7b	30.1±0.09a	31.7±0. 8a	2.8±0.7c
Antocianinas monoméricas (mg Eq. Mv3g/mL)	2.2±0.2b	1.3±0.1c	3.1±0. 5a	2.8±0.6b
Proantocianidinas extraíbles (mg PA/g)	5.5±0.3c	7.1±0.3b	8.2±0. 4a	8.0±0.1b
<b>COMPUESTOS FENÓLICOS NO EXTRAÍBLES</b>				
Proantocianidinas no extraíbles (mg PA/g)	128±1.4b	86.4±0.7c	167.0±4.0a	52.3±0.9d
Polifenoles hidrolizables (mg EAG/g)				
Hidrólisis ácida	44.2±6.0c	52.0±3.0 b	72.0±0.1a	41.2±3.7d
Hidrólisis básica	12.6± .3b	28.1±1.7b	33.1±0. 6a	6.3±0.3b

Los resultados son expresados como la media ± la desviación estándar. Letras diferentes indican diferencia estadística significativa  $p < 0.05$  con la prueba de Tukey para las cuatro variedades de orujo de uva en el mismo renglón.

Por otro lado, los compuestos fenólicos no extraíbles (NEPAs) fueron 13 % superior al contenido de EPAs. Nuevamente, el orujo de la variedad Syrah destacó por su elevado contenido en NEPAs hasta un 50 % comparado con las variedades Tempranillo y Merlot, las cuales mostraron las menores concentraciones de estos compuestos. Dicho

comportamiento fue similar a lo reportado por Copado, (2020); sin embargo, las concentraciones encontradas en esta investigación fueron superiores a lo reportado por este autor. El contenido de NEPAs (167.05 mgPA/g) fue superior al de EPAs (8.24 mgPA/g), tal como ha sido reportado por estudios previos (Pérez-Jiménez, 2013; Copado, 2020).

Se han reportado que las diferencias en el contenido de polifenoles en el orujo de uva dependen de varios factores como las variedades de uva, la ubicación de los cultivos y los procesos de vinificación, incluso la distribución de estos cultivares que pueden variar en función de las regiones geográficas, el año y la vendimia (Cazzasa *et al.*, 2012; Yammine *et al.*, 2020).

Debido a las concentraciones similares de proantocianidinas extraíbles presentes en los orujos de uva de las variedades Syrah y Tempranillo, los orujos de estas variedades se seleccionaron para el desarrollo de formulaciones para los suplementos alimenticios.

## **6.2. Contenido de compuestos fenólicos presentes en los ingredientes de origen natural**

Con respecto al contenido total de compuestos fenólicos en los ingredientes sugeridos para el desarrollo del suplemento alimenticio, el extracto de té verde resultó ser 10 veces mayor en la concentración de estos compuestos con respecto a la chía la cual mostró una concentración máxima de 4.8 mg EAG/g (Cuadro 6). En este sentido, nuestros resultados se encuentran dentro de lo reportado en la literatura, puesto que se ha propuesto que el contenido máximo de compuestos fenólicos totales presentes en la semilla chía es de 8.8 % (Firtin *et al.*, 2020). Por otro lado, se han reportado concentraciones superiores a lo encontrado en esta investigación (169-273 mg de GAE/g) en las hojas pulverizadas de té verde (Westerp-Plantenga, 2010; Koláčková *et al.*, 2019). La cuantificación en nuestro estudio se determinó en un extracto de té verde pulverizado y se esperaba detectar concentraciones más altas a las reportadas en los estudios previos. Por lo tanto, la menor concentración encontrada en el extracto de té verde utilizado en esta investigación podría atribuirse a una mezcla de extractos

vegetales o a la presencia de algún aditivo que diluye la concentración de té verde.

**Cuadro 6.** Contenido de compuestos fenólicos extraíbles y no extraíbles en ingredientes de origen natural.

	Chía	Cúrcuma	Té verde
<b>COMPUESTOS FENÓLICOS EXTRAÍBLES</b>			
Compuestos fenólicos totales (mg EAG/g)	4.81±0.14c	40.52±3.82b	51.46±1.82a
Flavonoides totales (mg Eq. Cat/g)	1.±0.31b	32.16±0.81a	27.59±5.84a
Proantocianidinas extraíbles (mg PA/g)	0.02±0.00b	6.17±0.10a	5.63±0.51a
<b>COMPUESTOS FENÓLICOS NO EXTRAÍBLES</b>			
Proantocianidinas no extraíbles (mg PA/g)	0.01±0.00c	28.47±3.43b	47.05±2.80a
Polifenoles hidrolizables (mg EAG/g)			
Hidrólisis ácida	2.50±0.90c	66.50±8.1b	75.04 ± 4.30a
Hidrólisis básica	0.52±0.01c	49.10±7.3b	55.05 ± 2.50a

Los resultados son expresados como la media ± la desviación estándar. Letras diferentes indican diferencia estadística significativa  $p < 0.05$  con la prueba de Tukey para los ingredientes de origen natural en el mismo renglón.

Por otro lado, con respecto al contenido de flavonoides totales se encontraron concentraciones de 1.32 mg Eq. Cat/g, mostrando un comportamiento diferente al contenido de compuestos fenólicos totales, ya que en este caso la cúrcuma mostró las mayores concentraciones que el té verde. Sin embargo, para el caso de la chía, nuevamente se encontraron las menores concentraciones. En este sentido, la concentración de cúrcuma encontrada en esta investigación fue superior a lo reportado

por Tanvir y colaboradores (2017), quienes reportan concentraciones máximas para cúrcuma de 7.86 mg Eq. Cat/g en un extracto metanólico de cúrcuma al 20 %.

### 6.3. Análisis proximal de los ingredientes

En la actualidad, los consumidores buscan productos nutricionales y alimentos funcionales relacionados con la salud (Ullah *et al.*, 2016). En este sentido, la cúrcuma, el té verde, la chía y el orujo de uva son alimentos con elevados contenidos de fibra, grasa y proteína; además, se ha demostrado que estos productos tienen beneficios a la salud para la prevención de enfermedades metabólicas.

En el Cuadro 7 se muestra la composición proximal de los ingredientes destacando a la chía por su alto contenido en grasa, siendo 13 veces mayor al comparar su contenido con la cúrcuma y el té verde.

**Cuadro 7.** Composición proximal de los ingredientes utilizados para la elaboración de suplementos

	Humedad (%)	Ceniza (%)	Grasa (%)	Proteína (%)	Carbohidratos (%)
Chía	33.83 ± 0. 5a	0.63 ± 0.08b	31.2 ± 0. 22a	22.48 ± 0.10b	55.05 ± 1.09 a
Cúrcuma	34.27 ± 0. 44a	1.08 ± 0.01a	0.42 ± 0.08b	9.19 ± 0. 12a	55.03 ± 0.057a
Té verde	33.31 ± 0. 68a	0.02 ± 0.01c	0.5 ± 0.071b	11.11 ± 0.13c	11.69 ± 0.89b

Los resultados son expresados como la media ± la desviación estándar. Letras diferentes indican diferencia estadística significativa  $p < 0.05$  con la prueba de Tukey para los ingredientes.

El contenido de grasa encontrado en chía fue similar a lo reportado por Melo y colaboradores, (2019), quienes reportan 31 % de grasa y 64 % de las grasas corresponden a los ácidos grasos omega-3 y el 20 % son ácido grasos omega-6 (Peiretti & Gai, 2009). Por lo tanto, la chía una fuente importante de ácidos grasos con beneficios a la salud.

Por otro lado, con respecto al contenido de proteína, la chía nuevamente presentó la mayor concentración al compararse con el resto de los ingredientes, siendo éste hasta 2.4 veces mayor. Así mismo el contenido de proteína en semilla de chía fue similar a lo reportado por da Silva y colaboradores (2017), quienes detectaron concentraciones de 18.18-19.72 %, pero menores a lo reportado por Coates (2011), con un 26.03 % en semilla de chía entera.



Algunos autores han reportado que las características nutricionales dependen del clima, la región de cultivo y la fase de desarrollo de la planta. (Mohd *et al.*, 2012).

### 6.3.1. Contenido de fibra dietaria total, soluble e insoluble presente en los ingredientes de origen natural

En el Cuadro 8 se muestra el contenido de fibra dietaria encontrada en los diferentes ingredientes de origen natural, así como en las dos variedades orujo de uva seleccionadas para el desarrollo del suplemento alimenticio (Syrah y Tempranillo).

**Cuadro 8.** Contenido de fibra dietaria en los orujos e ingredientes de origen vegetal

	Fibra dietaria insoluble (FDI %)	Fibra dietaria soluble (FDS %)	Fibra dietaria total (FDT %)
Orujo syrah	65.12±1.86d	13.45±1.86bc	78.57±0.57bc
Orujo tempranillo	55.71±0.48d	13.91±0.48bc	69.63±3.04bc
Chía	8.09 ± 1.03a	45.06 ± 5.47a	53.15 ± 3.25b
Cúrcuma	4.61 ± 0.06b	25.71 ± 0.02b	30.32 ± 0.045 <sup>a</sup>
Extracto de té verde	7.82 ± 1.19c	7.9 ± 3.91c	15.72 ± 2.05 <sup>a</sup>

Los resultados son expresados como la media ± la desviación estándar. Letras diferentes indican diferencia estadística significativa  $p < 0.05$  con la prueba de Tukey para las cuatro variedades de orujo de uva en el mismo renglón.

En este sentido, los orujos de uva mostraron una mayor concentración de fibra dietaria total, siendo hasta 5 veces mayor que los ingredientes. Así mismo, el orujo de la variedad Syrah presentó el mayor contenido de fibra dietaria; sin embargo, ésta fue mayor estadísticamente al compararla con el orujo de la variedad Tempranillo.

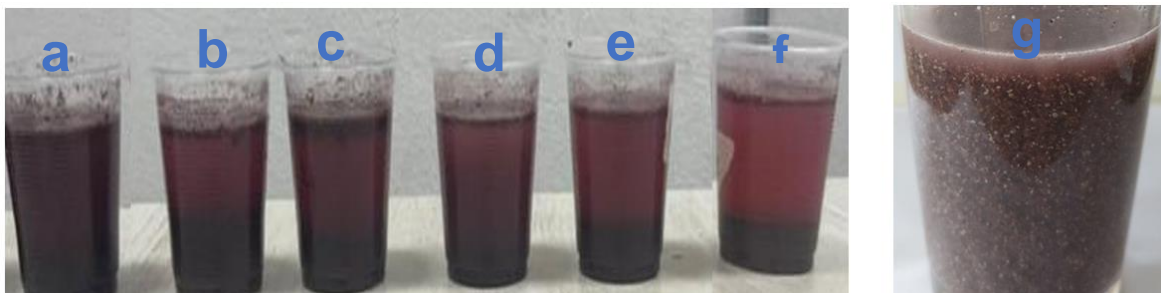
Por otro lado, la chía presentó el mayor contenido de fibra dietaria total cuando se comparó con el té verde y la cúrcuma, siendo ésta 3.3 veces mayor. Además, es importante mencionar que el contenido de fibra dietaria soluble e insoluble es contrastante entre los ingredientes de origen natural y los orujos de uva, ya que el orujo de uva mostró el mayor contenido de fibra dietaria insoluble, siendo 8.3 veces mayor

que los ingredientes. Mientras que, el contenido de fibra de la chía fue 3.3 veces superior que los orujos de uva. Estos contenidos contrastantes entre sí pudieran contribuir a mejorar los beneficios del orujo de uva con respecto a la salud y sus propiedades físicas.

#### 6.4. Evaluación del efecto de la chía sobre la precipitación del orujo de uva

Uno de los problemas durante el desarrollo de los suplementos fue la inmediata precipitación del orujo de uva al tener contacto con el agua, puesto que como se ha mencionado en el apartado anterior, el orujo presenta un alto contenido de fibra dietaria insoluble; por tanto, tiene una baja absorción de agua y afecta su solubilidad. Por tal motivo, se realizaron diversas pruebas en el laboratorio, empleando algunas gomas con la finalidad de encontrar aquella que evitó o retardó la precipitación del orujo de uva, así como su concentración (Figura 4); así mismo, se realizaron pruebas con semilla de chía molida, con la cual se logró la mayor solubilidad del orujo de uva.

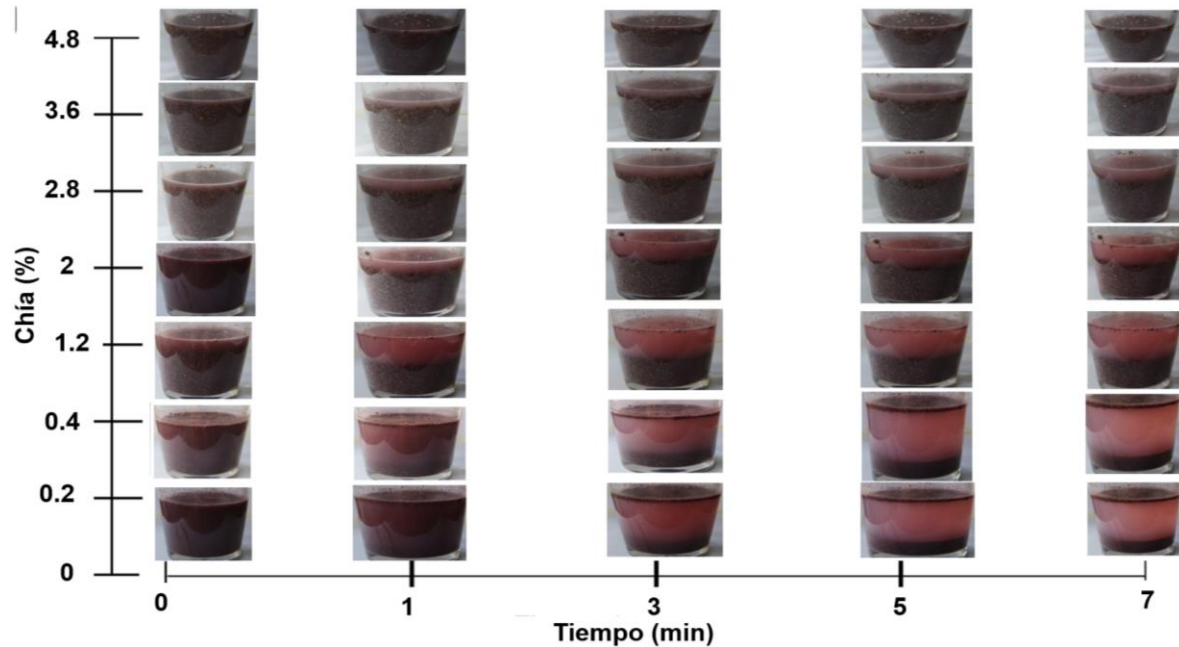
Con respecto a la semilla de chía se evaluaron diferentes concentraciones (0.2 – 4.8 %), en donde se observa que a partir del 2.8 % de chía la precipitación del orujo de uva se ve retardada a lo largo del tiempo. Si bien es posible observar que para las condiciones con 3.6 y 4.8 % de chía la precipitación es muy baja o en su defecto nula, al evaluar dichas muestras se observó que ambas tenían una consistencia gelificante lo cual podría dificultar el consumo del suplemento alimenticio (Figura 5). Por tal motivo, la condición de 2.8 % de semilla de chía retardó por mayor tiempo la precipitación del orujo y presentó características adecuadas para su consumo.



**Figura 3.** Gomas empleadas para evaluar la solubilidad del orujo de uva

a) Xantana, b) Tragacanto, c) Carboximetilcelulosa, d) Pectina, e) Arábiga, f) Carragenina, g) Semilla de

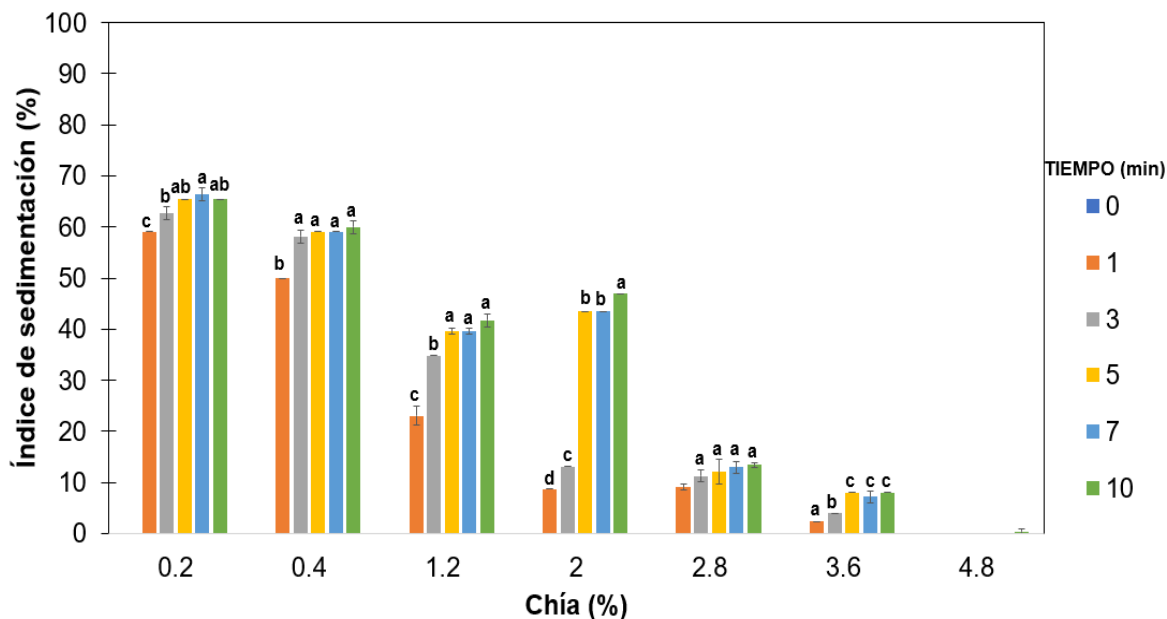
chía



**Figura 4.** Efecto de diferentes concentraciones de chía sobre la precipitación del orujo de uva.

El porcentaje de chía esta expresado con respecto a 250 mL de agua.

Se evaluó el índice de sedimentación del orujo de uva, en donde se observa nuevamente que el 2.8 % de semilla de chía es la concentración óptima para retardar la sedimentación del orujo; puesto que, como se ha mencionado, a partir de 3.6 % de chía, la mezcla mostró consistencias gelificantes. Además, no se mostraron diferencias estadísticamente significativas entre las muestras a lo largo del tiempo para la concentración de 2.8 %, indicándonos de esta manera que la mezcla parece tener un comportamiento estable durante los 7 minutos evaluados (Figura 6).



**Figura 5.** Efecto de diferentes concentraciones de chía en el índice de sedimentación del orujo de uva en función del tiempo.

Los resultados son expresados como la media  $\pm$  la desviación estándar. Letras diferentes indican diferencia estadísticamente significativa  $p < 0.05$  con la prueba de Tukey para cada una de las concentraciones de chía.

El efecto de la chía para retardar la precipitación de orujo de uva puede atribuirse a los altos contenidos de fibra dietaria soluble que presenta este pseudocereal (Cuadro 8). Se ha reportado que la fibra soluble de chía tiene una mayor absorción de agua; caso contrario a la fibra insoluble mayoritaria presente en los orujos. Cuando la chía se hidrata desprende un mucílago que son pequeños filamentos, que se van uniendo entre sí, hasta formar una red gelificante (Muñoz *et al.*, 2012), en donde las partículas del orujo quedan suspendidas disminuyendo la precipitación.

### 6.5. Desarrollo de las formulaciones de los suplementos alimenticios a base de orujo de uva

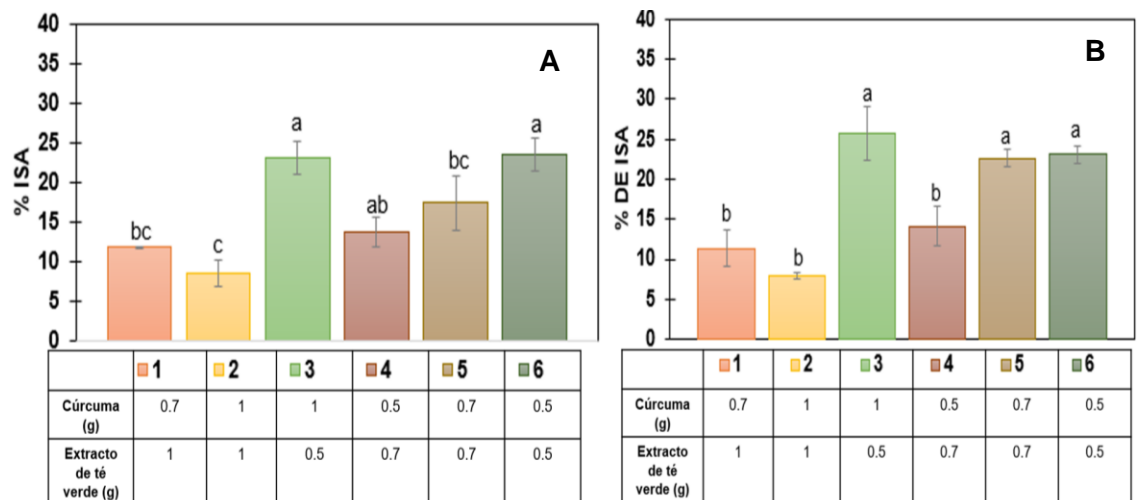
Se elaboraron 6 diferentes formulaciones de suplementos alimenticios en donde únicamente se realizaron diferentes combinaciones de las concentraciones de cúrcuma y extracto de té verde (0.5, 0.7 y 1 g), tomando como referencia las concentraciones mínimas reportadas en la literatura con beneficios a la salud (Shao *et al.*, 2012, Chen *et al.*, 2016, Singletary *et al.*, 2020, Xicota *et al.*, 2020). Esto debido a que ambos ingredientes poseen características de sabor fuertes con respecto a su amargor, lo cual

afecta la aceptabilidad sensorial del suplemento. Para las diferentes formulaciones se utilizó como edulcorante acelsulfame K, siendo éste un edulcorante no calórico. Además, se utilizó una premezcla de vitaminas (A, D3, E, K, B1, B2, B6, C, B5, B3, B12, ácido fólico y biotina) y minerales (calcio, fósforo, potasio, magnesio, zinc, hierro, cobre y manganeso), adquiridas comercialmente. La cantidad de estos nutrientes fue seleccionada de acuerdo con una revisión realizada para suplementos alimenticios comerciales (Hardvard TH CHAN, 2023).

### **6.6. Índice de solubilidad en agua**

Para la selección de formulaciones se determinó el índice de solubilidad (ISA), la cual nos indica la cantidad de componentes solubles liberados de la matriz del alimento (Amaya-Cruz, 2021). Para las dos variedades del orujo de uva, las formulaciones 3, 5 y 6 mostraron un 63 % mayor de ISA, demostrando que, sin importar la variedad de orujo de uva, estos se comportan de la misma manera al mezclarse con el resto de los ingredientes. Por otro lado, aquellas formulaciones con bajos índices de ISA (formulaciones 1, 2 y 4) fueron aquellas que contenían una mayor proporción extracto de té verde; por tanto, a mayor contenido de este extracto, la solubilidad del orujo de uva disminuyó hasta 3.2 veces al compararse con las formulaciones 3, 5 y 6 (Figura 7). Como se ha mencionado en apartados anteriores, el extracto de té verde fue adquirido comercialmente; por lo tanto, se desconoce el proceso y solvente de extracción empleados, así como la presencia de otros aditivos.

Según lo reportado por Amaya-Cruz (2021), el índice de solubilidad del orujo de uva es bajo ( $18.96 \pm 0.83$ ) por sus elevados contenidos de FDI; sin embargo; la solubilidad se mejoró con la adición de chía por sus elevados contenidos de FDS.



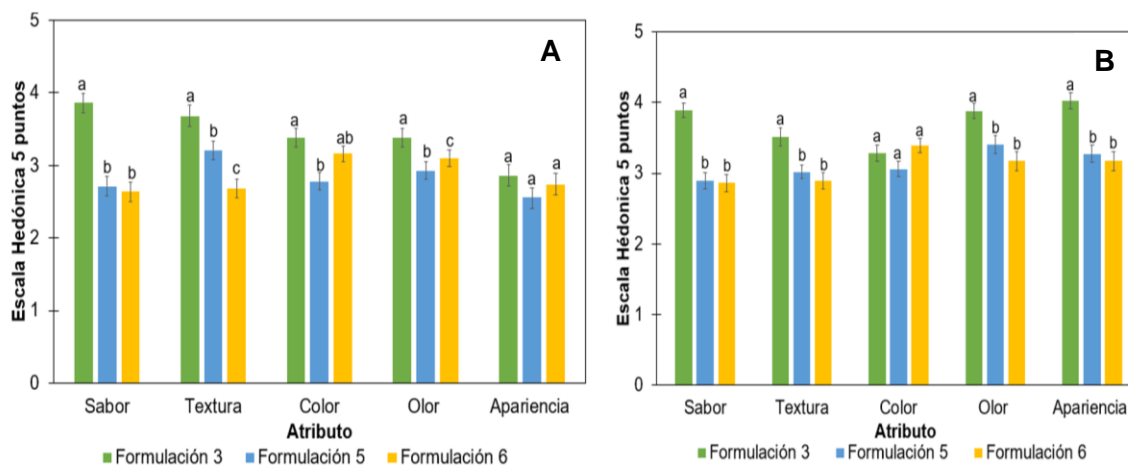
**Figura 6.** Índice de solubilidad en agua de las formulaciones de los suplementos alimenticios para las dos variedades de orujo de uva Syrah (A) y Tempranillo (B).

Los resultados son expresados como la media  $\pm$  la desviación estándar. Letras diferentes indican diferencia estadísticamente significativa  $p < 0.05$  con la prueba de Tukey para cada variedad de orujo de uva. ISA: índice de solubilidad en agua

### 6.7. Aceptabilidad sensorial de los suplementos

Las pruebas sensoriales generalmente son procedimientos que nos permiten evaluar la aceptabilidad de un producto por parte del consumidor, mediante el uso de escalas, en donde se representa el grado de gusto o disgusto según el consumidor (Lawless & Heymann, 2010). Los resultados obtenidos en la prueba de aceptabilidad sensorial de los suplementos se muestran en la Figura 8. La aceptabilidad se realizó en un rango de 0 a 5, lo que corresponde a una escala hedónica de 5 puntos que va desde 1 me disgusta mucho hasta 5 me gusta mucho. Así mismo, se evaluaron cinco atributos como apariencia general, color, olor, textura y sabor.

Se identificó que, para ambas variedades de orujo de uva (Syrah y Tempranillo), la formulación 3 obtuvo mayor aceptabilidad en los cinco parámetros evaluados, encontrando diferencias estadísticamente significativas con el resto de las formulaciones. La formulación 3 es aquella con menor contenido de extracto de té verde. Además, dentro de los comentarios generales por parte de los panelistas, se mencionó que en las formulaciones 5 y 6 se apreciaba un resabio desagradable, debido probablemente a su mayor proporción extracto de té verde.



**Figura 7.** Evaluación sensorial de los suplementos de los orujos de uva de las variedades Syrah (A) y Tempranillo (B).

Los resultados son expresados como la media  $\pm$  la desviación estándar. Letras diferentes indican diferencia estadísticamente significativa  $p < 0.05$  con la prueba de Tukey para cada atributo sensorial.

Los resultados de preferencia de los suplementos con diferentes concentraciones de extracto de té verde y cúrcuma se pueden relacionar a las variantes de perfil de sabor que cada una de las formulaciones aporta. Por consiguiente, para los siguientes objetivos de este proyecto se decidió trabajar con la formulación 3 para ambas variedades de orujo de uva (Figura 9).

Orujo de uva	Extracto de té verde	Cúrcuma	Chía	Premezcla de vitaminas	Premezcla de minerales	Saborizante	Edulcorante
40 %	2.5 %	5 %	35 %	1.5 %	4 %	13 %	0.3 %



**Figura 8.** Formulación final del suplemento base de orujo de uva

## 6.8. Evaluación del consumo de las formulaciones sobre el control de la obesidad.

### 6.8.1. Efecto del consumo de los suplementos alimenticios sobre la disminución de peso corporal.

El uso de modelos animales contribuye de manera importante al estudio de desórdenes metabólicos como la obesidad; por lo tanto, existen modelos animales de obesidad

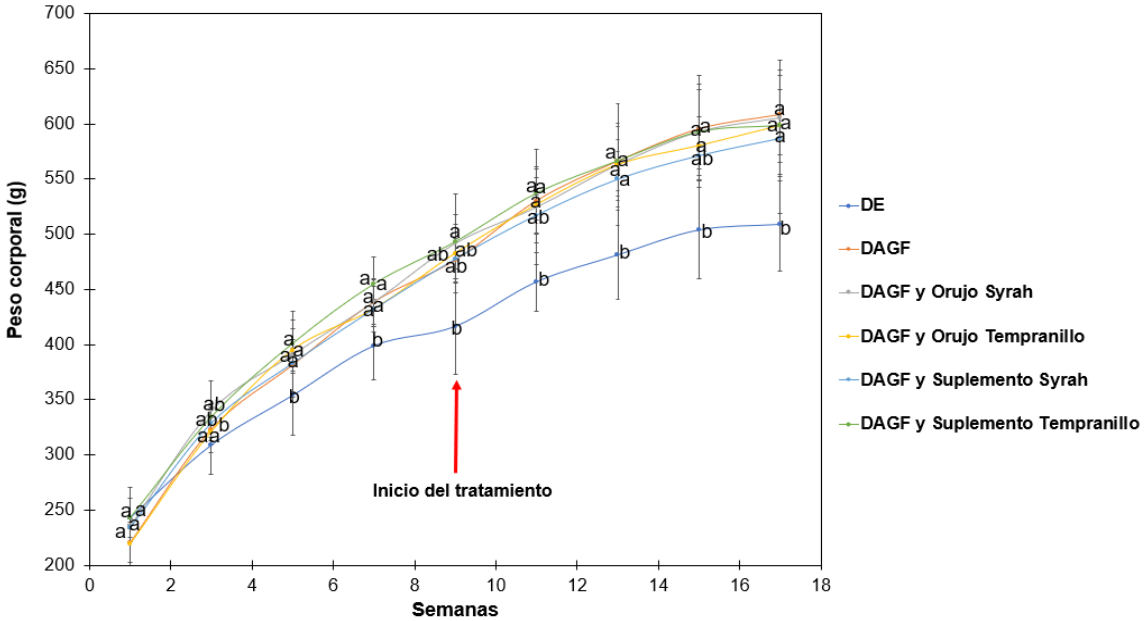
inducidos por dietas altas en grasa y fructosa que simulan la dieta común en los humanos con esta patología (Lozano *et al.*, 2016). En el presente estudio se evaluaron los suplementos en animales con una obesidad ya establecida. Durante 9 semanas, los animales se alimentaron únicamente con una dieta alta en grasa y fructosa presentando un incremento de peso corporal del 12 % con respecto a los animales del grupo DE ( $p < 0.05$ ) al terminó de la novena semana (Riascos *et al.*, 2022).

Posteriormente en la décima semana los animales fueron alimentados con una dieta alta en grasa y fructosa y suplementada con sus respectivos tratamientos. En la Figura 10 se presentan los resultados de peso corporal de los 6 grupos de experimentación: alimentados con una dieta estándar (DE), que corresponde al control sano; dieta alta en grasa y fructosa (DAGF), que corresponde al control obeso; dieta alta en grasa y fructosa y suplementada con los orujos de uva (Syrah y Tempranillo) al 2 % y los grupos con dieta alta en grasa y fructosa adicionada con los suplementos de cada variedad al 6 %. Es importante mencionar que dentro del 6 % del suplemento alimenticio se incluye el 2 % de orujo de uva (Shaw *et al.*, 2008).

Durante el tiempo de tratamiento, no se observaron disminuciones estadísticamente significativas en el peso corporal de los grupos que consumieron los orujos de uva y suplementos, comparados con el grupo control obeso. Esto a pesar de que los animales consumieron hasta 1.33 veces más de compuestos fenólicos totales para los orujos de uva y 2.42 veces para los suplementos alimenticios, con respecto al grupo DAGF. De igual manera, el consumo de los compuestos fenólicos no extraíbles mostró un incremento de 1.5 veces para los orujos de uva y de 2.93 veces para los suplementos alimenticios con respecto a DAGF, siendo el orujo y el suplemento de la variedad Syrah quienes presentaron un mayor consumo para estos compuestos. Finalmente, y con respecto al consumo de fibra dietaria, no se mostraron diferencias estadísticamente significativas entre ninguno de los tratamientos con respecto a DAGF (Cuadro 9). Al extrapolar estos resultados, el equivalente al consumo de compuestos fenólicos extraíbles para un humano de 70 kg sería el siguiente: 980 mg/kg para orujo Syrah, 85.12 mg/kg para orujo Tempranillo, 2401 mg/kg para suplemento Syrah y 2016 mg/kg para suplemento Tempranillo. Por lo tanto, el contenido de compuestos fenólicos extraíbles del orujo de uva es cercano a lo asociado a un estado saludable, pero posiblemente como tratamiento se requiere una mayor concentración de estos.



Los efectos observados en este experimento fueron similares a lo reportado por Sotelo-González y colaboradores (2023), quienes reportaron que el consumo de bebidas con frutos rojos con altos contenidos de polifenoles específicamente de antocianinas (1.6 mg Eq. C3G/mL) no disminuyó el peso corporal en ratas Wistar alimentadas con DAGF; mientras que, los grupos tratados con orujo consumieron 1.7 mg Eq. Mv3g/mg y con suplementos hasta 0.18 mg Eq. Mv3g/mg. Por otro lado, Meza-Martínez y colaboradores (2023) utilizaron un modelo de ratas Wistar alimentadas con DAFG y suplementada con tres variedades diferentes de orujo de uva durante 18 semanas, en donde reportan una disminución de peso corporal hasta del 15 % con el orujo de la variedad Syrah, atribuyendo este efecto al contenido de polifenoles extraíbles y no extraíbles. Es importante mencionar que este último estudio fue preventivo; mientras que, en la presente investigación se trató de un estudio de tratamiento. Sin embargo, Daniel y colaboradores, (2021) realizaron un estudio de tratamiento en donde reportaron una disminución de peso corporal en ratones de la cepa C57BL/6 alimentados con una dieta alta en grasa durante 10 semanas y suplementada con 250 mg/día de orujo de uva. Estos autores asocian este efecto a una reducción en la ingesta de alimentos, atribuyendo a un aumento de la sensibilidad a la insulina, siendo, éste el principal mediador de la mejora del perfil metabólico (Daniel *et al.*, 2021).



**Figura 9.** Ganancia de peso corporal de los animales obesos con una dieta alta en grasa y fructosa y adicionada con orujo de uva y sus respectivos suplementos.

Los resultados son expresados como la media  $\pm$  la desviación estándar (n=8). Letras diferentes indican diferencia estadísticamente significativa  $p < 0.05$  con la prueba de Tukey para los diferentes grupos de estudio. **DE:** Dieta estándar, **DAGF:** Dieta alta en grasa y fructosa.

**Cuadro 9.** Consumo de compuestos fenólicos y fibra dietaria de los animales alimentados con una dieta DAGF y adicionada con suplementos alimenticios.

Tratamiento	Compuestos fenólicos totales (mg EAG/día)	Compuestos fenólicos no extraíbles (mg/día)	Fibra dietaria total (g/día)
<b>DE</b>	145.50 $\pm$ 0.52a	402.60 $\pm$ 9.32d	10.86 $\pm$ 0.67a
<b>DAGF</b>	65.59 $\pm$ 0.18d	241.5 $\pm$ 16.80e	6.64 $\pm$ 0.20b
<b>DAGF y orujo Syrah</b>	87.27 $\pm$ 0.85c	366.5 $\pm$ 42.11b	8.1 $\pm$ 0.22b
<b>DAGF y orujo Tempranillo</b>	75.36 $\pm$ 0.34e	289.43 $\pm$ 46.50ca	7.88 $\pm$ 0.40b
<b>DAGF y suplemento Syrah</b>	212.76 $\pm$ 0.27a	708.78 $\pm$ 32.70a	7.68 $\pm$ 0.57b
<b>DAGF y suplemento Tempranillo</b>	176.58 $\pm$ 0.61b	492.8 $\pm$ 22.58a	7.55 $\pm$ 0.54b

Los resultados son expresados como la media  $\pm$  la desviación estándar (n=8). Letras diferentes indican diferencia estadísticamente significativa  $p < 0.05$  con la prueba de Tukey para los diferentes grupos de estudio.

### 6.8.2. Evaluación del efecto del consumo de DAGF y suplementos alimenticios sobre la hipertrofia de tejido adiposo visceral

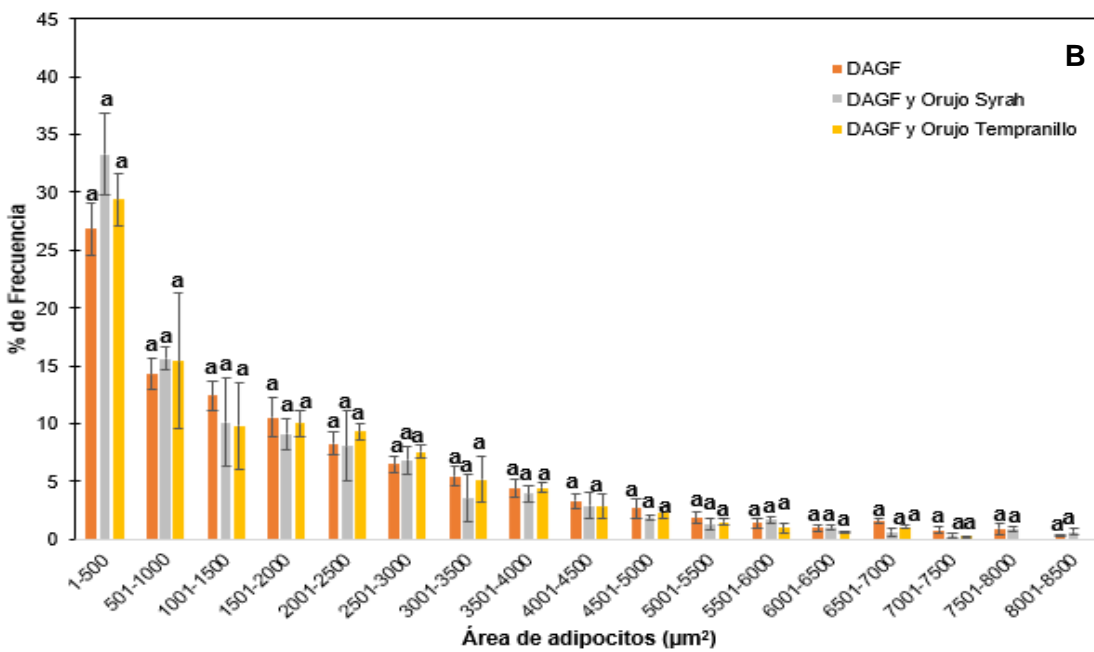
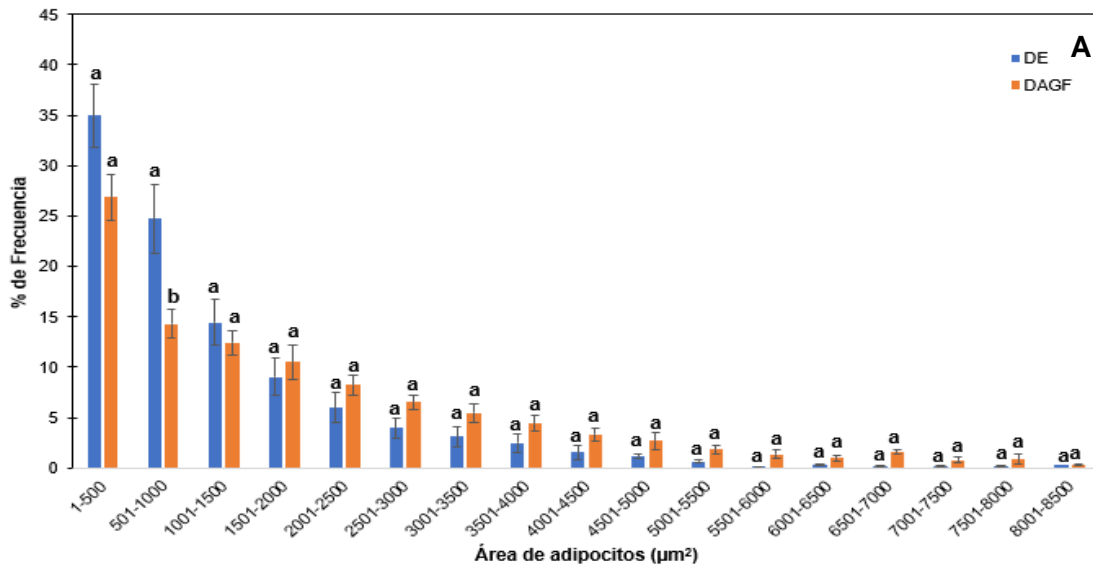
Cuando un individuo tiene un consumo de energía de manera constante el tejido adiposo se vuelve hipertrófico, es decir, aumenta su tamaño por la acumulación de lípidos. En la Figura 11 se muestran los resultados obtenidos en la regulación de la hipertrofia en tejido adiposo de los animales que fueron alimentados con DAGF y con los suplementos alimenticios. Las frecuencias promedio de 0-1000 y 1500-8500  $\mu\text{m}^2$  de área de adipocitos ( $\mu\text{m}^2$ ) fueron de 59.71 % y 29.26 % para el grupo alimentado con la DE, respectivamente; mientras que, las frecuencias para los animales alimentados con la DAGF las frecuencias fueron de 41.15 % y 49.05 % respectivamente. Estos resultados indican que los animales alimentados DAGF presentaron un mayor tamaño de adipocitos (Figura 11a).

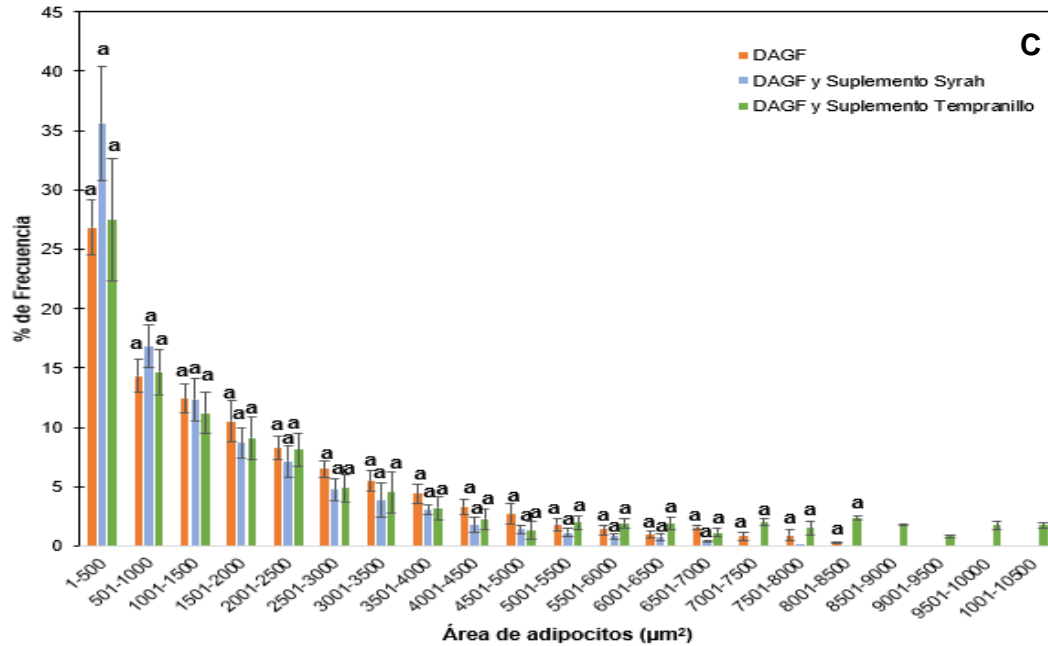
Respecto a los animales tratados con los orujos Syrah y Tempranillo, se observó que el área de adipocitos de 0-500  $\mu\text{m}^2$  fue de 33.30 % y 29.38 %, respectivamente, en tanto que para los animales alimentados con DAGF fue de 26.85 %. Mientras que, la frecuencia de los adipocitos de 1500-7000  $\mu\text{m}^2$  fueron de 40.93 %, 46 % y 46.98 % para los grupos Syrah, Tempranillo y DAGF, respectivamente. Dichos resultados muestran que los animales tratados con el orujo Syrah presentaron menor frecuencia de adipocitos del área mencionada anteriormente.

Finalmente, para los tratamientos con los suplementos de Syrah y Tempranillo se observó que la frecuencia del área de adipocitos de 0-500  $\mu\text{m}^2$  fue de 35.61 % y 27.49 %, respectivamente, a diferencia de los animales alimentados con DAGF los cuales mostraron un mayor porcentaje de frecuencia (45.41 %). En tanto que, la frecuencia del área de adipocitos de 1500-6500  $\mu\text{m}^2$  para estos mismos tratamientos fueron de 33.4 % para el suplemento Syrah, 39.29 % para el suplemento Tempranillo y 45.41 % para los animales alimentados con la DAGF (Figura 12). Por lo tanto, los grupos alimentados con el orujo y el suplemento Syrah presentaron adipocitos de menor tamaño comparado con el grupo DAGF.

La disminución del área de adipocitos se debe a una mayor absorción de ácidos grasos por los adipocitos, mediante la expresión de la lipoproteína lipasa (LPL) y del gen CD36, los cuales aumentaron en ratones C57BL/6 alimentados con una dieta alta en grasa y suplementada con orujo de uva (Daniel *et al.*, 2021). De igual manera, Van Hul y

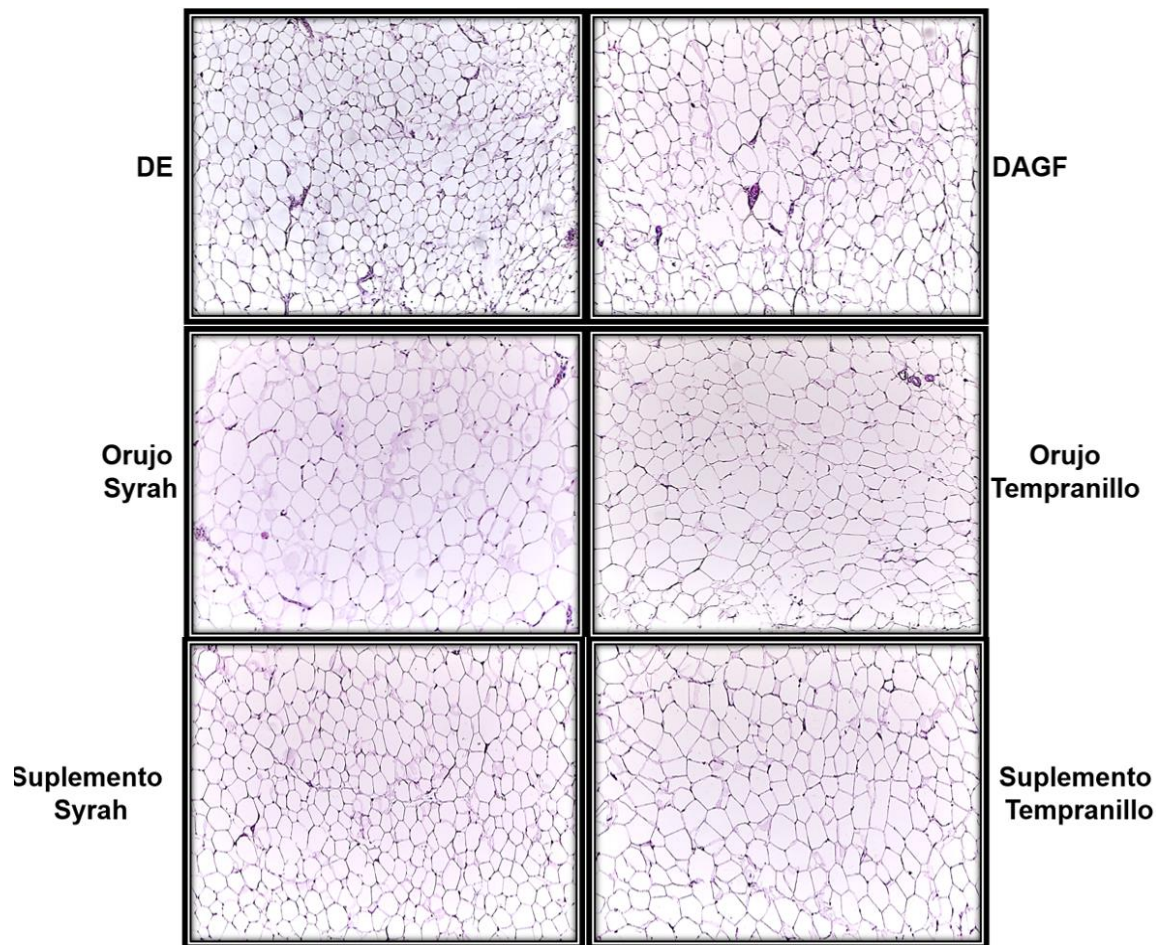
colaboradores (2018), en un estudio preventivo, reportan un tamaño menor de depósitos de adipocitos en ratones C57BL/6 alimentados con 8.2 g/kg de orujo de uva, asociando estos beneficios en una tendencia en la reducción de los niveles plasmáticos de leptina.





**Figura 10.** Evaluación de la hipertrofia en tejido adiposo mesentérico de los animales alimentados con DAGF adicionada con orujo de uva y suplementos alimenticios. A) DE y DAGF, B) DAGF, DAGF y orujo Syrah, DAGF y orujo Tempranillo, C) DAGF, DAGF y suplemento Syrah, DAGF y suplemento Tempranillo

Los resultados son expresados como la media  $\pm$  la desviación estándar. Letras diferentes indican diferencia estadísticamente significativa  $p < 0.05$  con la prueba de Tukey para los diferentes grupos de estudio. **DE:** Dieta estándar, **DAGF:** Dieta alta en grasa y fructosa.



**Figura 11.** Análisis histológico del tejido adiposo mesentérico y área de adipocitos de ratas alimentadas con DAGF y suplementada con las diferentes variedades de orujo de uva y sus respectivos suplementos alimenticios. DE: Dieta estándar, DAGF: Dieta alta en grasa y fructosa. (Cortes teñidos con H&E 100X)

### 6.9. Efecto del consumo de suplementos alimenticios en la concentración de triglicéridos y colesterol en suero

En el Cuadro 10 se muestran los resultados obtenidos de la concentración de triglicéridos y colesterol sérico de los animales control y alimentados con los orujos y los suplementos alimenticios.

**Cuadro 10.** Efecto de los suplementos a base de orujo de uva sobre los niveles de lípidos en ratas alimentadas con DAGF.

Tratamiento	Triglicéridos mg/dL	Colesterol mg/dL	Colesterol HDL mg/dL
<b>DE</b>	51.9±6.3b	64.4±2.7a	22.8±4.1a
<b>DAGF</b>	73.5±3.8ab	64.3±4.7a	21.3±3.4a
<b>DAGF y orujo Syrah</b>	59.1±6.9ab	52.7±3.9a	20.1±2.7a
<b>DAGF y orujo Tempranillo</b>	91.2±16.4a	55.4±2.9a	23.2±4.4a
<b>DAGF y suplemento Syrah</b>	50.9±3.7b	52.2±6.7a	18.9±1.9a
<b>DAGF y suplemento Tempranillo</b>	65.9±10.5b	51.1±6.2a	24.3±1.5a

Los resultados son expresados como la media ± el error estándar (n=8). Letras diferentes indican diferencia estadísticamente significativa  $p < 0.05$  con la prueba de Tukey para los diferentes grupos de estudio.

Con respecto a los triglicéridos séricos en los animales que fueron alimentados con DAGF, las concentraciones fueron superiores y se encontraron diferencias estadísticas significativas al compararlo con el grupo que consumió DE, siendo este incremento hasta de un 38 %. Por otro lado, los animales alimentados con DAGF y el orujo Syrah y DAGF y el suplemento Syrah presentaron una menor concentración de triglicéridos en suero al compararlos con el resto de los tratamientos, siendo esta disminución de hasta 18 % y 37.4 %, respectivamente. En un estudio preventivo realizado con ratas Wistar macho alimentadas con DAGF y suplementada con orujo de la variedad Syrah se observó una disminución del 16 % en la concentración de triglicéridos séricos, comparado con el grupo alimentado con DAGF (Martínez-Meza *et al.*, 2023). Taladrí y colaboradores (2023) reportaron que el consumo de orujo disminuye los triglicéridos en torrente sanguíneo y este efecto está relacionado con el contenido de fibra dietaria, debido a que ésta interfiere en el proceso de emulsificación que es necesaria para la hidrólisis de triglicéridos y la posterior absorción de grasas. Por otro lado, la concentración de triglicéridos en los animales tratados con orujo Tempranillo fue mayor hasta en un 24 % comparado con la del grupo alimentado con DAGF; mientras que, el

grupo alimentado con el suplemento Tempranillo disminuyó un 14 %. Dicho efecto podría estar relacionado con el contenido de azúcares solubles del orujo Tempranillo, el cual fue del 1.06 %, mientras que, Syrah contiene 3.45 %. Esta mayor concentración de azúcares podría inducir una mayor síntesis de triglicéridos.

Para los contenidos de colesterol y colesterol HDL no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los controles y el grupo alimentado con DAGF.

Con base estos resultados, el principal efecto observado inducido por el orujo de uva fue el hipotrigliceridémico y éste fue mejorado por el suplemento. Por lo tanto, la presencia de té verde y cúrcuma potencian los beneficios del orujo de Syrah y contrarrestan la hipertrigliceridemia producida por el orujo de tempranillo.



## 7. CONCLUSIONES

Este estudio encontró diferencias significativas en el contenido de compuestos fenólicos y fibra en los orujos de uva de diferentes variedades, lo que puede tener implicaciones en su potencial para su uso en formulaciones de suplementos alimenticios. Estas diferencias pueden ser influenciadas por una variedad de factores, incluyendo el proceso de la elaboración del vino, o bien el proceso de extracción de compuestos fenólicos.

La adición de chía retardó la precipitación de orujo de uva debido al alto contenido de fibra dietaria soluble presente en la semilla de este pseudocereal, lo que favoreció las propiedades físicas y funcionales de la mezcla.

El extracto de té verde disminuyó la solubilidad de las formulaciones de los suplementos alimenticios. Dicho extracto afectó la aceptabilidad sensorial de las formulaciones, produciendo un resabio al consumir las formulaciones con una mayor concentración de este ingrediente.

Los suplementos desarrollados no mejoraron la capacidad del orujo de uva para disminuir el peso corporal, a pesar de que los animales consumieron una mayor concentración de compuestos fenólicos extraíbles (34.58 %), compuestos fenólicos no extraíbles (56.54 %) y fibra dietaria soluble (34 %). Estos hallazgos resaltan la complejidad de los efectos de los compuestos fenólicos en la obesidad y sugieren que los resultados pueden variar según las condiciones específicas del estudio.

Los triglicéridos en suero disminuyeron con el orujo de Syrah y su suplemento, dicho efecto podría ser asociado al contenido de proantocianidinas extraíbles y no extraíbles las cuales se encontraron en mayor proporción en dicha variedad.

La adición de otros ingredientes vegetales en el suplemento de orujo de uva no mejoró los beneficios de este subproducto en el control del peso corporal, en un modelo de obesidad inducido con dieta; a pesar de que la concentración de compuestos fenólicos

equivalente a un consumo humano fue hasta de 2401 mg/día.

Por lo tanto, los suplementos alimenticios, a pesar de su mayor contenido de fibra y compuestos fenólicos, no presentaron mejores beneficios a la salud comparado con el orujo de uva.

## 8. REFERENCIAS

- Alappat, L., & Awad, A. B. (2010). Curcumin and obesity: evidence and mechanisms. *Nutrition reviews*, 68(12), 729–738. <https://doi.org/10.1111/j.1753-4887.2010.00341.x>
- Amaya-Cruz, D. (2021). Diseño y evaluación de un suplemento alimenticio, a base de subproductos agroindustriales, para la prevención de factores de riesgo cardiovascular. Tesis de Doctorado. Universidad Autónoma de Querétaro.
- Anderson, R. A. (1982). Water absorption and solubility and amylograph characteristics of roll-cooked small grain products. 59 265-269 <https://pubag.nal.usda.gov/catalog/25267>
- Andrade Yáñez, Á. S., & Rivadeneira Vásquez, J. L. (2011). Determinación de los parámetros óptimos en la elaboración de vino de miel de abeja, utilizando dos tipos de aglutinantes naturales, mucílago de cadillo negro (*triumfetta lappula l.*) y mucílago de nopal (*opuntia ficus indica*), como clarificantes (*Bachelor's thesis*). Tesis de licenciatura. Repositorio. Universidad Técnica del Norte.
- Antoniolli, A., Fontana, A. R., Piccoli, P., & Bottini, R. (2015). Characterization of polyphenols and evaluation of antioxidant capacity in grape pomace of the cv. Malbec. *Food Chemistry*, 178, 172-178. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.01.082>
- AOAC. Official Method of Analysis. 930.15-1930. Loss on drying (Moisture) for feeds. Fecha de consulta: 01/03/2023. Disponible en: [aoac.org](http://aoac.org).
- AOAC Oficial Method 985.29.2002 Determination of total dietary fiber by enzymatic gravimetric method. Fecha de consulta: 01/03/2022. Disponible en: [aoac.org](http://aoac.org).
- AOAC Oficial Method 920.39. Fat(crude) or ether extract in animal feed. Fecha de consulta: 01/03/2022. Disponible en: [aoac.org](http://aoac.org).
- AOAC Oficial Method 942.05. Determination of ash in animal feed. Fecha de consulta: 01/04/2022. Disponible en: [aoac.org](http://aoac.org).
- AOAC Oficial Method 948.22-1948. Fat(crude) or ether extract in animal feed. Fecha de consulta: 01/03/2022. Disponible en: [aoac.org](http://aoac.org).
- AOAC. Official Method of Analysis. 2011.04. Protein in Raw and processed meats. Fecha de consulta: 01/03/2023. Disponible en: [aoac.org](http://aoac.org).

- Ayuda-Durán, B., González-Manzano, S., Gil-Sánchez, I., Moreno-Arribas, M. V., Bartolomé, B., Sanz-Buenhombre, M., Guadarrama, A., Santos-Buelga, C., & González-Paramás, A. M. (2019). Antioxidant Characterization and Biological Effects of Grape Pomace Extracts Supplementation in *Caenorhabditis elegans*. *Foods (Basel, Switzerland)*, 8(2), 75. <https://doi.org/10.3390/foods8020075>
- Beres, C., Costa, G. N. S., Cabezudo, I., da Silva-James, N. K., Teles, A. S. C., Cruz, A. P. G., Mellinger-Silva, C., Tonon, R. V., Cabral, L. M. C., & Freitas, S. P. (2017). Towards integral utilization of grape pomace from winemaking process: A review. *Waste Management*, 581-594. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2017.07.017>
- Biswas, S., Islam, F., Imran, A., Zahoor, T., Noreen, R., Fatima, M., Zahra, S.M., & Shah, M.A. (2023). Phytochemical profile, nutritional composition, and therapeutic potentials of chia seeds: A concise review. *Cogent Food and Agriculture*, 9:1, 2220516, <https://doi.org/10.1080/23311932.2023.2220516>
- Bradford, P. G. (2013). Curcumin and obesity. *BioFactors*, 39(1), 78-87. <https://doi.org/10.1002/biof.1074>
- Buergo-Martinez, F. (2022). Control de la resistencia la insulina asociada al consumo de orujo de uva con diferentes perfiles de compuestos fenólicos. Tesis de Maestría. Repositorio Universidad Autónoma de Querétaro.
- Capitani, M. I., Spotorno, V., Nolasco, S. M., & Tomás, M. C. (2012). Physicochemical and functional characterization of by-products from chia (*Salvia hispanica L.*) seeds of Argentina. *LWT-Food Science and Technology*, 45(1), 94-102. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2011.07.012>
- Casazza, A. A., Aliakbarian, B., De Faveri, D., Fiori, L., & Perego, P. (2012). Antioxdants from winemaking wastes: a study on extraction parameters using response surface methodology. *Journal of Food Biochemistry*, 36(1), 28-37. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4514.2010.00511.x>
- Castello, F., Costabile, G., Bresciani, L., Tassotti, M., Naviglio, D., Luongo, D., Ciciola, P., Vitale, M., Vetrani, C., Galaverna, G., Brighenti, F., Giacco, R., Del Rio, D., & Mena, P. (2018). Bioavailability and pharmacokinetic profile of grape pomace phenolic compounds in humans. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 646, 1-9. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2018.03.021>

- Chamorro, R. A. M., & Mamani, E. C. (2010). Importancia de la fibra dietética, sus propiedades funcionales en la alimentación humana y en la industria alimentaria. *Revista de investigación en ciencia y tecnología de alimentos*, 1(1).
- Chen, I.-J., Liu, C.-Y., Chiu, J.-P., & Hsu, C.-H. (2016). Therapeutic effect of high dose green tea extract on weight reduction: A randomized, double-blind, 34 placebo-controlled clinical trial. *Clinical Nutrition*, 35(3), 592-599. <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2015.05.003>
- Chikwanha, O. C., Raffrenato, E., Opara, U. L., Fawole, O. A., Setati, M. E., Muchenje, V., & Mapiye, C. (2018). Impacto de la deshidratación en la retención del perfil bioactivo y las actividades biológicas de diferentes variedades de orujo de uva (*Vitis vinifera L.*). *Ciencia y Tecnología de la Alimentación Animal*, 244, 116-127.
- Cho, S.-J., Jung, U. J., Kim, H.-J., Ryu, R., Ryoo, J. Y., Moon, B. S., & Choi, M.-S. (2015). Effects of the combined extracts of grape pomace and omija fruit on hyperglycemia and adiposity in type 2 diabetic mice. *Preventive Nutrition and Food Science*, 20(2), 94-101. <https://doi.org/10.3746/pnf.2015.20.2.94>
- Coates, W. (2011). Protein content, oil content and fatty acid profiles as potential criteria to determine the origin of commercially grown chia (*Salvia hispanica L.*). *Industrial crops and products*, 34(2), 1366-1371. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2010.12.007>
- Copado-Romero J. (2020). Identificación de orujos de uva de diferentes vinícolas de la región de Querétaro con potencial para el control de riesgo cardiovascular. Tesis de licenciatura. Universidad Autónoma de Querétaro.
- Daniel, T., Ben-Shachar, M., Drori, E., Hamad, S., Permyakova, A., Ben-Cnaan, E., & Rosenzweig, T. (2021). Grape pomace reduces the severity of non-alcoholic hepatic steatosis and the development of steatohepatitis by improving insulin sensitivity and reducing ectopic fat deposition in mice. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 98, 108867. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2021.108867>
- da Silva, B. P., Anunciação, P. C., da Silva Matyelka, J. C., Della Lucia, C. M., Martino, H. S. D., & Pinheiro-Sant'Ana, H. M. (2017). Chemical composition of Brazilian chia seeds grown in different places. *Food chemistry*, 221, 1709-1716. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.10.115>

- Dietary supplementation of grape skin extract improves glycemia and inflammation in diet-induced obese mice fed a Western high fat diet. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(7), 3035-3041. <https://doi.org/10.1021/jf1042773>
- Enes, B.N., Moreira, L.P.D., Silva, B.P., Grancieri, M., Lúcio, H.G., Venâncio, V. P., Mertens-Talcott, S.U., Rosa, C.O.B., & Martino, H.S.D. (2020). Chia seed (*Salvia hispanica* L.) effects and their molecular mechanisms on unbalanced diet experimental studies: A systematic review. *Journal of Food Science*, 85(2), 226–239 <https://doi.org/10.1111/1750-3841.15003>
- Ejaz, A., Wu, D., Kwan, P., & Meydani, M. (2009). Curcumin inhibits adipogenesis in 3T3-L1 adipocytes and angiogenesis and obesity in C57/BL mice. *The Journal of Nutrition*, 139(5), 919-925. <https://doi.org/10.3945/jn.108.100966>
- Fitzpatrick, J. J., Lauwe, A. van, Coursol, M., O'Brien, A., Fitzpatrick, K. L., Ji, J., & Miao, S. (2016). Investigation of the rehydration behaviour of food powders by comparing the behaviour of twelve powders with different properties. *Powder Technology*, (297), 340-348. <https://doi.org/10.1016/j.powtec.2016.04.036>
- García, L., Verde, J., Castro, R., Chávez, A., Oranday, A., Núñez, A., & Rivas, C. (2010). Actividad biológica de un extracto de orujo de uva mexicana. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*, 41 (4), 28-36.
- Giusti, M. M., & Wrolstad, R. E. (2001). Characterization and measurement of anthocyanins by UV-Visible spectroscopy. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*, 00(1), F1.2.1-F1.2.13. <https://doi.org/10.1002/0471142913.faf0102s00>
- Han, T. S., & Lean, M. E. (2016). A clinical perspective of obesity, metabolic syndrome and cardiovascular disease. *JRSM Cardiovascular Disease*, 5, 2048004016633371. <https://doi.org/10.1177/2048004016633371>
- Hassan, F., Ismail, A., Abdulhamid, A., & Azlan, A. (2011). Identification and quantification of phenolic compounds in bambangan peels and their free radical scavenging activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 59: 9102-9111 <https://doi.org/10.1021/jf201270n>
- Heimler, D., Vignolini, P., Dini, M.G., Vincieri, F.F. and Romani, A. (2006) Antiradical activity and polyphenol. Composition of local Brassicaceae. 99, 464-469. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.07.057>

- Hogan, S., Canning, C., Sun, S., Sun, X., & Zhou, K. (2010). Effects of grape pomace antioxidant extract on oxidative stress and inflammation in diet induced obese mice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(21), 11250-11256. <https://doi.org/10.1021/jf102759e>
- Hong, Y. H., Jung, E. Y., Park, Y., Shin, K. S., Kim, T. Y., Yu, K. W., ... y Suh, H. J. (2013). Mejora enzimática en la extraíble de polifenoles y actividad antioxidante de los extractos de té verde. *Biociencia, Biotecnología y Bioquímica*, 77(1), 22-29. <https://doi.org/10.1271/bbb.120373>
- Huang, J., Wang, Y., Xie, Z., Zhou, Y., Zhang, Y., & Wan, X. (2014). The anti-obesity effects of green tea in human intervention and basic molecular studies. *European Journal of Clinical Nutrition*, 68(10), 1075-1087. <https://doi.org/10.1038/ejcn.2014.143>
- Ji, J., Fitzpatrick, J., Cronin, K., Crean, A., & Miao, S. (2016). Assessment of measument characteristics for rehydration of milk protein-based powders. *Food Hydrocolloids*, 54, 151-161. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2015.09.027>
- Kánter-Coronel, I. (2021). Magnitud del sobrepeso y obesidad en México: Un cambio de estrategia para su erradicación. Mirada Legislativa No. 197, Instituto Belisario Domínguez, Senado de la República, Ciudad de México.
- Kjeldsen, E. W., Nordestgaard, L. T., & Frikke-Schmidt, R. (2021). HDL cholesterol and non-cardiovascular disease: A narrative review. *International journal of molecular sciences*, 22(9), 4547. <https://doi.org/10.3390/ijms22094547>
- Knez Hrnčič, M., Ivanovski, M., Cör, D., & Knez, Ž. (2019). Chia seeds (*Salvia hispanica* L.): An overview - phytochemical profile, isolation methods, and application. *Molecules*, 25(1), 11 <http://dx.doi.org/10.3390/molecules25010011>
- Kochhar, K. (2008). Dietary spices in health and diseases: I. *Indian Journal of Physiology and Pharmacology*, 52(2), 106-122 [https://www.academia.edu/65272319/Ditary spices in health and diseas es II](https://www.academia.edu/65272319/Ditary_spices_in_health_and_diseas_es_II). Fecha de consulta 30 marzo 2022.
- Koláčková, T., Kolofíková, K., Sytařová, I., Snopek, L., Sumczynski, D., & Orsavová, J. (2020). Matcha tea: analysis of nutritional composition, phenolics and antioxidant activity. *Plant Foods for Human Nutrition*, 75, 48-53. <https://doi.org/10.1007/s11130-019-00777-z>

- Kulczyński, B., Kobus-Cisowska, J., Taczanowski, M., Kmiecik, D., & Gramza-Michałowska, A. (2019). The chemical composition and nutritional value of chia seeds. Current state of knowledge. *Nutrients*, 11(6), 1242, <https://doi.org/10.3390/nu11061242>
- Lawless, H. T., & Heymann, H. (2010). Time–intensity methods in sensory evaluation of food: principles and practices (pp. 179-201).
- Lee, Y. A., Cho, E. J., Tanaka, T., & Yokozawa, T. (2007). Inhibitory activities of proanthocyanidins from persimmon against oxidative stress and digestive 36 enzymes related to diabetes. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*, 53(3), 287-292. <https://doi.org/10.3177/jnsv.53.287>
- Lozano, I., Van der Werf, R., Bietiger, W., Seyfritz, E., Peronet, C., Pinget, M., & Dal, S. (2016). High-fructose and high-fat diet-induced disorders in rats: impact on diabetes risk, hepatic and vascular complications. *Nutrition & metabolism*, 13, 1-13. doi:10.1186/s12986-016-0074-1
- Lupoli, R., Ciciola, P., Costabile, G., Giacco, R., Minno, M. N. D. D., & Capaldo, B. (2020). Impact of Grape Products on Lipid Profile: A Meta-Analysis of Randomized Controlled Studies. *Journal of clinical medicine*, 9(2), 313. <https://doi.org/10.3390/jcm9020313>
- Lundgren, M., Svensson, M., Lindmark, S., Renström, F., Ruge, T., & Eriksson, J. W. (2007). Fat cell enlargement is an independent marker of insulin resistance and “hyperleptinemia”. *Diabetologia*, 50(3), 625-633. <https://doi.org/10.1007/s00125-006-0572-1>
- Mammasse, N., & Schlich, P. (2014). Adequate number of consumers in a liking test. Insights from resampling in seven studies. *Food Quality and Preference*, 31, 124-128. <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2012.01.009>
- Margalef, M., Pons, Z., Iglesias-Carres, L., Bravo, F. I., Muguerza, B., & Arola-Arnal, A. (2015). Lack of tissue accumulation of grape seed flavanols after daily long-term administration in healthy and cafeteria-diet obese rats. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63(45), 9996-10003. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b03856>
- Martínez-Meza, Y., Pérez-Jiménez, J., Rocha-Guzmán, N. E., Rodríguez-García, M. E., Alonzo-Macías, M., & Reynoso-Camacho, R. (2021). Modification on the



polyphenols and dietary fiber content of grape pomace by instant controlled pressure drop. *Food Chemistry*, 360, 130035. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130035>

- Martínez-Meza, Y., Escobar-Ortiz, A., Buergo-Martínez, F., Pérez-Ramírez, I. F., Pérez-Jiménez, J., Salgado, L. M., & Reynoso-Camacho, R. (2023). Three Varieties of Grape Pomace, with Distinctive Extractable: Non-Extractable Polyphenol Ratios, Differentially Reduce Obesity and Its Complications in Rats Fed a High-Fat High-Fructose Diet. *Foods*, 12(7), 1370. <https://doi.org/10.3390/foods12071370>
- McLellan, M.R., Lind, L. R., Kime, R. W. (1994). Hue angle determinations and statistical. *Journal of Food Quality*, 18, 235-240.
- Melo, D., Machado, T. B., & Oliveira, M. B. P. (2019). Chia seeds: An ancient grain trending in modern human diets. *Food & function*, 10(6), 3068-3089. <https://doi.org/10.1039/C9FO00239A>
- Mohd Ali, N., Yeap, S. K., Ho, W. Y., Beh, B. K., Tan, S. W., & Tan, S. G. (2012). The promising future of chia, *Salvia hispanica* L. *BioMed Research International*, 2012. <https://doi.org/10.1155/2012/171956>
- Monagas, M., Urpi-Sarda, M., Sánchez-Patán, F., Lorach, R., Garrido, I., Gómez-Córdovés, C., & Bartolomé, B. (2010). Insights into the metabolism and microbial biotransformation of dietary flavan-3-ols and the bioactivity of their metabolites. *Food & Function*, 1(3), 233-253. <https://doi.org/10.1039/c0fo00132e>
- Monari, S., Ferri, M., Vannini, M., Sisti, L., Marchese, P., Ehrnell, M., & Tassoni, A. (2020). Cascade strategies for the full valorisation of Garganega white grape pomace towards bioactive extracts and bio-based materials. *Plos one*, 15(9), e0239629. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0239629>
- Muñoz, L. A., Cobos, A., Díaz, O., & Aguilera, J. M. (2012). Semillas de chía: Microestructura, extracción de mucílagos e hidratación. *Revista de Ingeniería de Alimentos*, 108(1), 216-224. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2011.06.037>
- Norma Oficial Mexicana NOM-043-SSA2-2012: Servicios básicos de salud. Promoción y educación para la salud en materia alimentaria. Criterios para brindar orientación. Disponible en: DOF- Diario Oficial de la Federación. 37 Norma Oficial Mexicana

- Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999, Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y su uso de animales de laboratorio. Fecha de consulta: 12/03/2022. Disponible DOF - Diario Oficial de la Federación.
- Norma Oficial Mexicana NOM-087- ECOL-SSA1-2002, protección ambiental, salud ambiental, residuos peligrosos biológico – infecciosos, clasificación y especificaciones de manejo. México, 1 de diciembre de 2001. Disponible en: Disponible DOF - Diario Oficial de la Federación.
- Norma Oficial Mexicana NOM-092-SSA1-1994, Bienes y servicios. Método para la cuenta de bacterias aeróbicas en placa. Disponible en: DOF - Diario Oficial de la Federación. Norma Oficial Mexicana
- Norma Oficial Mexicana NOM-111-SSA1-1994, Bienes y servicios. Método para la cuenta de mohos y levaduras en alimentos. Disponible en: DOF - Diario Oficial de la Federación. Norma Oficial Mexicana
- NOM-112-SSA1-1994, Bienes y servicios. Determinación de bacterias y coliformes. Técnica del número más probable. Disponible en: DOF - Diario Oficial de la Federación. Norma Oficial Mexicana
- NOM-201-SSA1-2015, Productos y servicios. Agua y hielo para consumo humano, envasados y a granel. Especificaciones Sanitarias. Disponible en: DOF - Diario Oficial de la Federación. Norma Oficial Mexicana
- NOM-251-SSA1-2009: Prácticas de higiene para el proceso de alimentos, bebidas o suplementos alimenticios. Fecha de consulta: 12/03/2022. Disponible en: DOF - Diario Oficial de la Federación.
- Ohara, K., Uchida, A., Nagasaka, R., Ushio, H., & Ohshima, T. (2009). The effects of hydroxycinnamic acid derivatives on adiponectin secretion. *Phytomedicine: International Journal of Phytotherapy and Phytopharmacology*, 16(2-3), 130- 137. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2008.09.012>
- Ohishi, T., Fukutomi, R., Shoji, Y., Goto, S., & Isemura, M. (2021). The beneficial effects of principal polyphenols from green tea, coffee, wine, and curry on obesity. *molecules*, 26(2), 453. <https://doi.org/10.3390/molecules26020453>
- Onache, P. A., Geana, E. I., Ciucure, C. T., Florea, A., Sumedrea, D. I., Ionete, R. E., & Tița, O. (2022). Bioactive Phytochemical Composition of Grape Pomace Resulted

- from Different White and Red Grape Cultivars. *Separations*, 9(12), 395. <https://doi.org/10.3390/separations9120395>
- Pandurangan, S.B., Al-Maiman, S.A., Al-Harbi, L.N., & Alshatwi, A.A. (2020). Beneficial fatty acid ratio of *Salvia hispanica* L. (Chia seed) potentially inhibits adipocyte hypertrophy and decreases adipokines expression and inflammation in macrophage. *Foods*, 9(3), 368 <http://dx.doi.org/10.3390/foods9030368>
- Peiretti, P. G., & Gai, F. (2009). Fatty acid and nutritive quality of chia (*Salvia hispanica* L.) seeds and plant during growth. *Animal Feed Science and Technology*, 148(2-4), 267-275. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2008.04.006>
- Pérez-Jiménez, J., Arranz, S., & Saura Calixto, F. D. (2009). Proanthocyanidin content in foods is largely underestimated in the literature data: An approach 38 to quantification of the missing proanthocyanidins. *Food Research International*, 42(10), 1381-1388 <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2009.07.002>
- Pérez-Jiménez, J., Díaz-Rubio, M. E., & Saura-Calixto, F. (2013). Non-extractable polyphenols, a major dietary antioxidant: Occurrence, metabolic fate and health effects. *Nutrition research reviews*, 26(2), 118-129.
- Quatrin, A., Pauletto, R., Maurer, L. H., Minuzzi, N., Nichelle, S. M., Carvalho, J. F. C., ... y Emanuelli, T. (2019). Caracterización y cuantificación de taninos, flavonoles, antocianinas y polifenoles unidos a la matriz de la cáscara de la fruta de jaborcaba: una comparación entre *Myrciaria trunciflora* y *M. jaborcaba*. *Revista de Composición y Análisis de Alimentos*, 78, 59-74. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2019.01.018>
- Rains, T. M., Agarwal, S., & Maki, K. C. (2011). Antiobesity effects of green tea catechins: A mechanistic review. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 22(1), 1-7. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2010.06.006>
- Riascos, J. B., Trujillo, D. M. C., & Mendoza, M. R. (2022). Suplementos dietéticos comerciales para el control de sobrepeso: Fuentes naturales de fácil acceso, mecanismos de acción y efectos adversos. *Revista Española de Nutrición Humana y Dietética*, 26. <https://doi.org/10.14306/renhyd.26.s1.1352>
- Rodríguez-Pérez, C., Segura-Carretero, A., & Del Mar Contreras, M. (2019). Phenolic compounds as natural and multifunctional anti-obesity agents: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 59(8), 1212-1229. <https://doi.org/10.1080/10408398.2017.1399859>


- Saura-Calixto, F. (2011) Dietary fiber as a carrier of dietary antioxidants: An essential physiological function. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 46, 4303- 4306, <https://doi.org/10.1021/jf1036596>
- Saura-Calixto, F. (2012). Concept and health-related properties of nonextractable polyphenols: The missing dietary polyphenols. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(45), 11195-11200. <https://doi.org/10.1021/jf303758j>
- Serrano, J., Casanova-Martí, À., Gual, A., Pérez-Vendrell, A. M., Blay, M. T., Terra, X., Ardévol, A., & Pinent, M. (2017). A specific dose of grape seed-derived proanthocyanidins to inhibit body weight gain limits food intake and increases energy expenditure in rats. *European Journal of Nutrition*, 56(4), 1629-1636. <https://doi.org/10.1007/s00394-016-1209-x>
- Shao, W., Yu, Z., Chiang, Y., Yang, Y., Chai, T., Foltz, W., Lu, H., Fantus, I. G., & Jin, T. (2012). Curcumin prevents high fat diet induced insulin resistance and obesity via attenuating lipogenesis in liver and inflammatory pathway in adipocytes. *PloS One*, 7(1), e28784. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0028784> 39
- Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventós, R. M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folinciocalteu reagent. En *Methods in Enzymology* (299: 152-178). Academic Press. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(99\)99017-1](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99017-1)
- Sotelo-González, A. M., Reynoso-Camacho, R., Hernández-Calvillo, A. K., Castañón-Servín, A. P., García-Gutiérrez, D. G., Gómez-Velázquez, H. D. D. J., ... & Pérez-Ramírez, I. F. (2023). Strawberry, Blueberry, and Strawberry-Blueberry Blend Beverages Prevent Hepatic Steatosis in Obese Rats by Modulating Key Genes Involved in Lipid Metabolism. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 20(5), 4418. <https://doi.org/10.3390/ijerph20054418>
- Sousa, E. C., Uchôa-Thomaz, A. M. A., Carioca, J. O. B., Morais, S. M. de, Lima, A. de, Martins, C. G., Alexandrino, C. D., Ferreira, P. A. T., Rodrigues, A. L. M., Rodrigues, S. P., Silva, J. do N., & Rodrigues, L. L. (2014). Chemical composition and bioactive compounds of grape pomace (*Vitis vinifera* L.), Benitaka variety, grown in the semi-arid region of Northeast Brazil. *Food Science and Technology*, 34, 135-142. <https://doi.org/10.1590/S0101-20612014000100020>

- Taladrid, D., Rebollo-Hernanz, M., Martin-Cabrejas, M. A., Moreno-Arribas, M. V., & Bartolomé, B. (2023). Grape pomace as a cardiometabolic health-promoting Ingredient: Activity in the intestinal environment. *Antioxidants*, 12(4), 979. <https://doi.org/10.3390/antiox12040979>
- Tanvir, E. M., Hossen, M. S., Hossain, M. F., Afroz, R., Gan, S. H., Khalil, M. I., & Karim, N. (2017). Antioxidant properties of popular turmeric (*Curcuma longa*) varieties from Bangladesh. *Journal of Food Quality*, 2017. <https://doi.org/10.1155/2017/8471785>
- Ullah, H., Santos, H. A., & Khan, T. (2016). Applications of bacterial cellulose in food, cosmetics, and drug delivery. *Cellulose*, 23, 2291-2314. doi :10.1007/s10570-016-0986-y
- Van Hul, M., Geurts, L., Plovier, H., Druart, C., Everard, A., Ståhlman, M., ... & Cani, P. D. (2018). Reduced obesity, diabetes, and steatosis upon cinnamon and grape pomace are associated with changes in gut microbiota and markers of gut barrier. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 314(4), E334-E352. doi:10.1152/ajpendo.001007
- Wang, H.-N., Xiang, J.-Z., Qi, Z., & Du, M. (2022). Plant extracts in prevention of obesity. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 62(8), 2221-2234. <https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1852171>
- Watanabe, M., Risi, R., Masi, D., Caputi, A., Balena, A., Rossini, G., Tuccinardi, D., Mariani, S., Basciani, S., Manfrini, S., Gnessi, L., & Lubrano, C. (2020). Current evidence to propose different food supplements for weight Loss: A Comprehensive Review. *Nutrients*, 12(9), E2873. <https://doi.org/10.3390/nu12092873>
- Westerterp-Plantenga, M. S. (2010). Green tea catechins, caffeine and body-weight regulation. *Physiology & Behavior*, 100(1), 42-46. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2010.02.005>
- Xicota, L., Rodríguez, J., Langohr, K., Fitó, M., Dierssen, M., de la Torre, R., & TESDAD study group. (2020). Effect of epigallocatechin gallate on the body composition and lipid profile of down syndrome individuals: Implications for clinical management. *Clinical Nutrition (Edinburgh, Scotland)*, 39(4), 1292-1300. <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2019.05.028>
- Yamine, S., Delsart, C., Vitrac, X., Miettton Peuchot, M. y Ghidossi, R. (2020). Caracterización de polifenoles y potencial antioxidante de extractos de subproductos de

- orujo rojo y blanco mediante extracción de agua subcrítica. *OENO One*, 54(2), 263–278. <https://doi.org/10.20870/oeno-one.2020.54.2346>
- Yang, C. S., Zhang, J., Zhang, L., Huang, J., & Wang, Y. (2016). Mechanisms of body weight reduction and metabolic syndrome alleviation by tea. *Molecular Nutrition & Food Research*, 60(1), 160-174. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201500428>
- Yu, J., Bansode, R. R., Smith, I. N., & Hurley, S. L. (2017). Impact of grape pomace consumption on the blood lipid profile and liver genes associated with lipid metabolism of young rats. *Food & Function*, 8(8), 2731-2738. <https://doi.org/10.1039/C7FO00542C>
- Zhang, T., Chen, J., Tang, X., Luo, Q., Xu, D., & Yu, B. (2019). Interaction between adipocytes and high-density lipoprotein: new insights into the mechanism of obesity-induced dyslipidemia and atherosclerosis. *Lipids in Health and Disease*, 18(1), 223. <https://doi.org/10.1186/s12944-019-1170-93>
- Zurita, J., Díaz-Rubio, M. E., & Saura-Calixto, F. (2012). Improved procedure to determine non-extractable polymeric proanthocyanidins in plant foods. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 63(8), 936-939. <https://doi.org/10.3109/09637486.2012.681634>

## ANEXOS

### Anexo 1. Poster para participación en evaluación sensorial



# SUPLEMENTOS ALIMENTICIOS

El laboratorio de Bioquímica molecular busca voluntarios

Para participar en el proyecto de investigación :

“Suplemento de orujo de uva adicionado con ingredientes de origen vegetal para mejorar sus beneficios en el control de la obesidad”

Realizando **evaluaciones sensoriales** periódicamente..

**Requisitos:**

- = Edad 20-35 años
- = Género indistinto
- = No presentar enfermedades que alteren su percepción de sabor
- = No estar embarazada ni lactando
- = No presentar alergias a la fibra y/o compuestos fenólicos

**CONTACTO:**  
I.A. Berenice Valdez Rodriguez:  
4731081977

**\*\*Su identidad permanecerá anónima y los datos proporcionados serán empleados solo para fines de la investigación**

**UNIVERSIDAD ATÓNOMA DE QUERÉTARO**  
**Posgrado de Alimentos, Facultad de Química**

**Carta de consentimiento para participar en un proyecto de investigación**

**Título del proyecto:** Suplementos de orujo de uva adicionado con ingredientes de origen vegetal para mejorar sus beneficios en el control de la obesidad

**Sede donde se realizará el estudio:** Laboratorio de análisis sensorial del parque biotecnológico, Facultad de Química, Universidad Autónoma de Querétaro.

**Investigador principal:** Dra. Rosalía Reynoso Camacho

**Investigador asistente:** I.A. Berenice Valdez Rodríguez

Invitación: Se extiende la presente invitación para realizar 6 evaluaciones sensorial en diferentes días, así como a través de posters y redes sociales para participar en este proyecto de investigación. En los siguientes apartados se presenta información resumida e importante del proyecto de investigación, con el fin de que usted conozca el alcance de este. A este procedimiento se le conoce como procedimiento informado. Siéntase libre de preguntar cualquier asunto que no sea claro. Una vez que haya conocido y comprendido el estudio y, si usted desea participar, entonces se le solicitará que firme este consentimiento informado, del cual se le entregará una copia firmada y fichada.

**I. Justificación del estudio**

El aumento de la obesidad y sus complicaciones en la población mexicana, son los principales problemas relacionados con una alimentación rica en azúcares y grasa que pueden causar problemas al corazón. Se ha identificado que los residuos generados principalmente por la industria vitivinícola tienen altas cantidades de compuestos bioactivos y fibra, los cuales se han asociado con la mejora de obesidad y sus complicaciones. Por otro lado, existen algunos otros ingredientes de origen natural a los cuales se les ha atribuido el mismo efecto, tal es el caso de la cúrcuma y el té verde. Por lo tanto, la mezcla puede utilizarse para la elaboración de suplementos alimenticios, con la finalidad de potenciar sus beneficios a la salud.

**II. Objetivo del estudio**



El propósito del presente estudio es desarrollar un suplemento alimenticio a base de orujo de uva, adicionado con cúrcuma y extracto de té verde, éste con la finalidad de observar los efectos benéficos que este suplemento puede aportar en el control de obesidad.

### **III. Beneficios del estudio al participante**

Este estudio ofrecerá información relevante sobre la aceptabilidad sensorial del orujo de uva adicionado con ingredientes de origen natural, así como la selección de formulaciones con mayor aceptabilidad, para ser utilizadas en estudios in vivo con la finalidad de evaluar los beneficios a la salud.

### **IV. Criterios de reclutamiento**

El estudio incluirá 50 panelistas, hombres y mujeres en un rango de 20 a 35 años edad de la Universidad Autónoma de Querétaro. El reclutamiento se realizará mediante poster colocados en la Facultad de Química y publicado en redes sociales (Facebook e Instagram). Se excluirá a personas que presenten alguna enfermedad que altere su percepción del sabor, manifiesten alergias a cualquiera de los ingredientes de la formulación (compuestos fenólicos o fibra), mujeres embarazadas o en lactancia, personas con discapacidad mental o que se encuentren bajo algún tratamiento médico.

### **V. Procedimiento del estudio**

La prueba consistirá en proporcionar a cada uno de los participantes 5 g de cada una de las muestras (4-6 muestras) con 25 mL de agua purificada a temperatura ambiente en vasos transparentes, los cuales estarán marcados con un código de 4 dígitos aleatorios. Además, se proporcionarán cucharas de plástico para disolver el polvo en agua, así como servilletas, un vaso con agua purificada y una galleta neutra “habaneras” para que sean utilizados entre el cambio de cada una de las muestras con el fin de limpiar el paladar.

Para la prueba sensorial de agrado se utilizará una escala hedónica de 5 puntos en donde se pedirá marcar en las opciones de acuerdo con su percepción. Por otro lado, para la prueba de preferencia se pedirá al panelista ordenar cada una de las formulaciones según su nivel de agrado. La evaluación sensorial tendrá una duración de 10-15 min aproximadamente. Bajo buenas condiciones de iluminación y ventilación, a temperatura ambiente asegurando la comodidad del panelista.

### **VI. Riesgos asociados al estudio**

El producto posee las características de calidad y microbiológicas necesarias para no ocasionar ningún riesgo a la salud. El producto incluye ingredientes con alto contenido en fibra y compuestos fenólicos, los cuales podrían causar cierto malestar a personas que presenten alergias a estos compuestos. No obstante, si en el tiempo en que se está realizando el análisis algún de los participantes exhibe algún malestar será excluido de la evaluación y enviado a los servicios médicos del equipo de salud ubicado en el edificio 1 de la Facultad de Química de la Universidad Autónoma de Querétaro, en el cual se cubrirán los gastos médicos por parte del equipo de investigación, además se realizará un seguimiento y monitoreo de la salud del personal afectado.

## **VII. Aclaraciones**

- Su selección para participar en las evaluaciones sensoriales es completamente voluntaria.
- Para cada evaluación sensorial se le solicitará firmar un consentimiento en caso de participar en más de uno. Se le indicará el número de evaluaciones sensoriales que se realizarán y los días en los que se corresponden.
- No ocurrirá ningún efecto desfavorable para usted en caso de no aceptar la invitación.
- Usted es libre de retirarse de la degustación en el momento que lo considere, pudiendo informar o no las razones de su decisión, la cual será respetada en su totalidad.
- En el transcurso del estudio usted podrá solicitar información actualizada sobre el mismo al investigador responsable.
- La información que se consiga en este estudio se conservará con estricta confidencialidad por el grupo de investigación.
- En el supuesto caso de que usted presente una conducta indebida hacia los participantes del estudio y/o aplicadores de este, falta de respeto a las reglas del procedimiento de la evaluación sensorial, se le pedirá apartarse del estudio.

## **VIII. Información de contacto**

Si tiene alguna duda acerca de su participación en el estudio, puede comunicarse con el director del proyecto Dra. Rosalía Reynoso Camacho al correo rrcamacho@yahoo.com.mx y teléfono 4422300371 o con la I.A. Berenice Valdez

Rodríguez al correo bere02414@gmail.com y teléfono 4731081977. Si desea la opinión de otra persona, es libre de consultar al médico de su confianza.

### **IX. Aceptación de consentimiento informado**

Yo, \_\_\_\_\_ he leído y comprendido la información sobre el proyecto y mis preguntas han sido respondidas de manera satisfactoria. He sido informado y entiendo que los datos obtenidos en el estudio pueden ser publicados o difundidos con fines científicos. Convengo en participar en este estudio de investigación. Recibiré una copia firmada y fechada de esta forma de consentimiento

\_\_\_\_\_  
Nombre, fecha y firma del participante

He explicado al Sr (a) \_\_\_\_\_ la naturaleza y los propósitos de la investigación, describiendo los riesgos y beneficios que implican su participación. He contestado todas las preguntas y he preguntado si tiene alguna duda sobre el estudio. Acepto que he leído y conozco la normatividad correspondiente para realizar la investigación con seres humanos y 46 me apego a ella. Una vez concluida la sesión de preguntas y respuestas se procedió a firmar el presente documento.

\_\_\_\_\_  
Nombre, fecha y firma del investigador

### **X. Carta de revocación de consentimiento informado**

Título del proyecto: "Suplementos de orujo de uva adicionado con ingredientes de origen vegetal para mejorar sus beneficios en el control de la obesidad"

Investigador principal: Dra. Rosalía Reynoso Camacho

Sede donde se realizará el estudio: Laboratorio de análisis sensorial del Parque Biotecnológico, Facultad de Química, Universidad Autónoma de Querétaro.

Nombre del participante: Por este conducto deseo informar mi decisión de retirarme de esta investigación por las siguientes razones (opcional):

-

---

Nombre, fecha y firma del participante

Formato 1



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO  
FACULTAD DE QUÍMICA  
MAESTRÍA EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

Evaluación sensorial

Formato 1

Fecha: \_\_\_\_\_

Edad: \_\_\_\_\_

Sexo: \_\_\_\_\_

INSTRUCCIONES: Frente a usted se presentan 6 muestras de formulaciones de suplementos alimenticios.

Escala de agrado:

- |                               |                      |
|-------------------------------|----------------------|
| 1. Me gusta mucho             | 4. Me disgusta       |
| 2. Me gusta                   | 5. Me disgusta mucho |
| 3. No me gusta ni me disgusta |                      |

NOTA: No olvide enjuagar con agua su boca cada vez que termine de probar una muestra.

Por favor, pruebe cada una de ellas de izquierda a derecha. Indique el grado en el que le gusta o disgusta el sabor, textura, color, olor y apariencia de cada muestra, colocando el número en la opción de acuerdo con el atributo, así como colocando el número de la muestra en la línea correspondiente.

Código de la muestra \_\_\_\_\_

Atributo	Escala de agrado
Sabor	
Textura	
Color	
Olor	
Apariencia	

Código de la muestra \_\_\_\_\_

Atributo	Escala de agrado
Sabor	
Textura	
Color	
Olor	
Apariencia	

Código de la muestra \_\_\_\_\_

Atributo	Escala de agrado
Sabor	
Textura	
Color	
Olor	
Apariencia	

Código de la muestra \_\_\_\_\_

Atributo	Escala de agrado
Sabor	
Textura	
Color	
Olor	
Apariencia	

Código de la muestra \_\_\_\_\_

Atributo	Escala de agrado
Sabor	
Textura	
Color	
Olor	
Apariencia	

Código de la muestra \_\_\_\_\_

Atributo	Escala de agrado
Sabor	
Textura	
Color	
Olor	
Apariencia	

## Formato 2

### Formato 2.



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO**  
**FACULTAD DE QUÍMICA**  
**MAESTRÍA EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS**

Evaluación sensorial

Formato 2

Fecha: \_\_\_\_\_

Edad: \_\_\_\_\_

Sexo: \_\_\_\_\_

**INSTRUCCIONES:** Frente a usted se presentan las muestras de formulaciones de suplementos alimenticios. Por favor, pruebe cada una de ellas de izquierda a derecha. Indique el orden de preferencia de cada una de las muestras, colocando el código de la muestra.

Código de la muestra	Orden de Preferencia

Comentarios| \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Anexo 4. Dictamen de aceptación, por parte del comité de Bioética

C.U., Querétaro, mayo 25,  
2022No. de oficio.  
CBQ22/056

Dra. Rosalía Reynoso  
CamachoFacultad de  
Química  
Presente

At'n. Berenice Valdez Rodríguez

El protocolo de investigación titulado “Suplementos de orujo de uva adicionado con ingredientes de origen vegetal para mejorar sus beneficios en el control de la obesidad” sometido a evaluación por parte del Comité de Bioética de la Facultad de Química involucra la participación de sujetos humanos y el uso de animales de experimentación. Las características del diseño del protocolo de investigación son resumidas a continuación:

<b>Tipo de estudio</b>	Intervención (análisis sensorial con panel no entrenado)
<b>Población de estudio</b>	Mujeres y hombres de 25 a 35 años que no tengan alergias a alguno de los componentes de la formulación ni enfermedades que no les permita realizar el análisis sensorial, que no estén en tratamiento médico, embarazo ni lactancia
<b>Tamaño de muestra</b>	50 personas
<b>Reclutamiento</b>	Invitación con carteles y por redes sociales en la UAQ
<b>Aviso de reclutamiento</b>	Incluido
<b>Tipo de intervención</b>	Alimentaria (ingrediente a base de orujo de uva)
<b>Duración del estudio</b>	10-15 min
<b>VARIABLES DE MEDICIÓN</b>	Encuesta de evaluación sensorial de preferencia y agrado
<b>Manejo de RPBI</b>	No aplica
<b>Toma de muestra biológica</b>	No aplica

<b>Personal capacitado para valoraciones</b>	No aplica
--	-----------

<b>Riesgos a los participantes</b>	Mínimo (se seguirán buenas prácticas de manufactura y se realizarán análisis microbiológicos previos a la intervención)
<b>Atención médica</b>	SuSalud UAQ
<b>Consentimiento informado</b>	Incluido
<b>Revocación del consentimiento informado</b>	Incluido

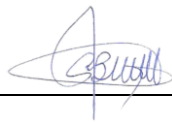
<b>Tipo de estudio</b>	<i>In vivo</i>
<b>Modelo experimental</b>	Ratas macho Wistar (160-180 g) adquiridas del bioterio del INB (UNAM, Juriquilla)
<b>Tamaño de muestra</b>	40 ratas
<b>Alojamiento</b>	Jaulas de acero inoxidable de 258 cm <sup>2</sup> en bioterio a 23 °C, 50% HR y ciclo de luz/oscuridad de 12/12 h
<b>Alimentación</b>	Alimento estándar (Rodent Diet 5001) y agua potable ad libitum
<b>Inducción de enfermedad</b>	Obesidad con dieta alta en grasa y fructosa
<b>Monitoreo de animales</b>	Registro de parámetros de crecimiento y de consumo de alimento
<b>Administración de tratamiento</b>	Suplementación <i>ad libitum</i> con 4.6% de los suplementos
<b>Método de eutanasia</b>	Decapitación
<b>Manejo de RPBI</b>	Se contratará un servicio para la recolección de los RBPI generados durante el estudio
<b>Recolección de órganos</b>	Heces, sangre, tejido adiposo
<b>Variables de medición</b>	Análisis histológico de tejido adiposo, variables antropométricas e ingesta calórica

Con base en las actividades de responsabilidad para el Comité de Bioética de la Facultad de Química de la Universidad Autónoma de Querétaro en la revisión de proyectos de investigación con la participación de sujetos humanos (directamente en ensayos clínicos, investigación observacional o por empleo de muestras biológicas), así como del uso de animales de experimentación, le comunicamos que el protocolo de investigación titulado “Suplementos de orujo de uva adicionado con ingredientes de origen vegetal para mejorar sus beneficios en el control



de la obesidad”, del cual Usted es responsable, fue evaluado con una resolución de aprobado en lo referente a los aspectos bioéticos del proyecto.

Sin más por el momento, quedamos a sus órdenes para cualquier duda o aclaración.



---

**Dr. Mamadou Moustapha Bah**  
**Representante investigador**



---

**M.I.M. David Gustavo García Gutiérrez**  
**Representante investigador**

Ccp archivo

## Carta compromiso

Como investigador responsable del protocolo de investigación “Suplementos de orujo de uva adicionado con ingredientes de origen vegetal para mejorar sus beneficios en el control de la obesidad”, el cual fue evaluado por el Comité de Bioética de la Facultad de Química de la Universidad Autónoma de Querétaro en la sesión del día 25 de mayo de 2022 con una resolución de aprobado éticamente (CBQ22/056), me comprometo a:

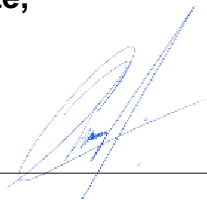
- ▮ Notificar al Comité de Bioética de la Facultad de Química de la Universidad Autónoma de Querétaro cualquier enmienda (excluyendo aspectos logísticos administrativos del estudio) realizada al protocolo de investigación aprobado antes de ser implementada.
- ▮ Reportar al Comité de Bioética de la Facultad de Química de la Universidad Autónoma de Querétaro de manera oportuna cualquier evento adverso presentado durante el desarrollo de la investigación. Dependiendo del riesgo relación del evento adverso suscitado, se podrá decidir la suspensión o la culminación del estudio.
- ▮ Notificar al Comité de Bioética de la Facultad de Química de la Universidad Autónoma de Querétaro en caso de la cancelación del protocolo de investigación.

Como investigador responsable del proyecto entiendo que cualquier incumplimiento de los compromisos anteriormente descritos o la falta de seguimiento de las normas éticas durante el desarrollo del proyecto de investigación aprobado por el Comité de Bioética de la Facultad de Química de la Universidad Autónoma de Querétaro será reportado ante las instancias correspondientes.

Atentamente,

Dra. Rosalía Reynoso Camacho  
Nombre del investigador responsable

Firma



30-05-2022