



UNIVERSITAT
POLITÈCNICA
DE VALÈNCIA



INSTITUTO DE INGENIERÍA DE
ALIMENTOS PARA EL DESARROLLO

UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA

ESCOLA TÈCNICA SUPERIOR D' ENGINYERIA AGRONÒMICA

I DEL MEDI NATURAL

CARACTERIZACIÓN COMPOSICIONAL Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DEL RESIDUO OBTENIDO EN LA ELABORACIÓN DE LA HORCHATA

TRABAJO DE FIN DE GRADO UNIVERSITARIO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE LOS
ALIMENTOS:

Curso 2020-2021



Escuela Técnica Superior
de Ingeniería Agronómica y del Medio Natural

ALUMNA: GEMA GARRIDO BORRÁS

TUTORES ACADÉMICOS: M^a EUGENIA MARTÍN ESPARZA

CHELO GONZÁLEZ MARTÍNEZ

Curso Académico: 2020-2021

VALENCIA, JULIO 2021

CARACTERIZACIÓN COMPOSICIONAL Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DEL RESIDUO OBTENIDO EN LA ELABORACIÓN DE LA HORCHATA

RESUMEN

En los últimos años se ha observado un aumento en la búsqueda de la reutilización de residuos alimentarios obtenidos en procesos agroindustriales como fuente de compuestos bioactivos. La pasta residual obtenida tras la extracción de la horchata de chufa supone la generación de un importante volumen de un residuo industrial sin valor económico y que además es susceptible de una rápida fermentación. La presencia de polifenoles y su alto contenido en fibra y otro material lignocelulósico, podrían ser interesantes para lograr revalorizar este subproducto empleándolo en el desarrollo de materiales de envasado biodegradables activos. En el presente trabajo se muestra un análisis de la composición proximal, capacidad antioxidante y contenido en fenoles totales del residuo obtenido en la elaboración de horchata a partir de chufa. Por otra parte, se ha obtenido un film biodegradable a base de almidón y residuo de horchata y se ha evaluado sus propiedades antioxidantes y contenido en fenoles. Los resultados obtenidos mostraron que la molienda del residuo dio lugar a distribuciones de partícula bimodales con menor tamaño que el residuo original sin que se viera afectado su color. El análisis composicional mostró que el componente mayoritario del residuo es la fibra (61%), seguido de la grasa (13%), proteína (9%) y almidón (15%), componentes interesantes para su incorporación a material de envasado. Además, presentó una proporción considerable de compuestos fenólicos (49 mg GAE/100 g residuo) que le confieren capacidad antioxidante. Dicha actividad antioxidante fue de 552 mg residuo/mg DPPH expresada en términos de EC_{50} .

El film de almidón con residuo de horchata presentó una capacidad antioxidante significativamente mayor que el residuo, como consecuencia de la presencia del residuo y de compuestos de Maillard producidos durante la elaboración del film.

Palabras clave: subproducto horchata, chufa, antioxidante, film, EC_{50} , fenoles.

Alumna: Gema Garrido Borrás

Tutores Académicos: M^a Eugenia Martín Esparza

Chelo González Martínez

Valencia, julio 2021

CARACTERITZACIÓ COMPOSICIONAL I ACTIVITAT ANTIOXIDANT DEL RESIDU OBTINGUT EN L'ELABORACIÓ DE L'ORXATA

RESUM

En els últims anys s'ha observat un augment en la cerca de la reutilització de residus alimentaris obtinguts en processos agroindustrials com a font de compostos bioactius. La pasta residual obtinguda després de l'extracció de l'orxata de xufa suposa la generació d'un important volum d'un residu industrial sense valor econòmic i que a més és susceptible d'una ràpida fermentació. La presència de polifenols i el seu alt contingut en fibra i un altre material lignocelulòsic, podrien ser interessants per a aconseguir revaloritzar aquest subproducte emprant-lo en el desenvolupament de materials d'envasament biodegradables actius. En el present treball es mostra una anàlisi de la composició proximal, capacitat antioxidant i contingut en fenols totals del residu obtingut en l'elaboració d'orxata a partir de xufa. D'altra banda, s'ha obtingut un film biodegradable a base de midó i residu d'orxata i s'han avaluat les seues propietats antioxidants i contingut en fenols. Els resultats obtinguts van mostrar que la mòlta del residu va donar lloc a distribucions de partícula bimodals amb menor grandària que el residu original sense que es vera afectat el seu color. L'anàlisi composicional va mostrar que el component majoritari del residu és la fibra (61%), seguit del greix (13%), proteïna (9%) i midó (15%), components interessants per a la seua incorporació a material d'envasament. A més, va presentar una proporció considerable de compostos fenòlics (49 mg GAE/100 g residu) que li confereixen capacitat antioxidant. Aquesta activitat antioxidant va ser de 552 mg residu/mg DPPH expressada en termes d'EC₅₀.

El film de midó amb residu d'orxata va presentar una capacitat antioxidant significativament major que el residu, a conseqüència de la presència del residu i de compostos de Maillard produïts durant l'elaboració del film.

Paraules clau: subproducte orxata, xufa, antioxidant, film, EC₅₀, fenols.

Alumna: Gema Garrido Borrás

Tutors Acadèmics: M^a Eugenia Martín Esparza

Chelo González Martínez

València, juliol 2021

COMPOSITIONAL CHARACTERIZATION AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF THE RESIDUE OBTAINED FROM TIGER NUT MILK “HORCHATA” PRODUCTION

ABSTRACT

In recent years it has been an increase on the search for the reuse of food waste from agro-industrial processes as a source of bioactive compounds. The residual paste obtained after the extraction of the tigernut milk (“horchata”) implies the generation of an important volume of industrial waste with no economic value and which is also susceptible to rapid fermentation. The presence of polyphenols and its high content in fibre and other lignocellulosic material could be of interest to revalue this by-product by using it in the development of active biodegradable packaging materials. The present work shows an analysis of the proximate composition, antioxidant capacity and total phenol content of the residue obtained in the production of horchata from tiger nut. On the other hand, a biodegradable film based on starch and horchata residue has been obtained and its antioxidant activity and total phenol content have been evaluated. The obtained results showed that milling the residue gave rise to bimodal particle distributions with smaller size than the original residue without affecting its colour. The compositional analysis showed that the major component of the residue is fibre (61%), followed by fat (13%), protein (9%) and starch (15%), interesting components for incorporation into packaging material. In addition, it had a considerable proportion of phenolic compounds (49 mg GAE/100 g residue) that confer antioxidant capacity. The antioxidant activity was 552 mg residue/mg DPPH expressed in terms of EC_{50} .

The starch film with horchata residue showed a significantly higher antioxidant capacity than the residue because of the presence of the residue and of Maillard compounds produced during the film processing.

Keywords: horchata by-product, tiger nut, antioxidant, film, EC_{50} , phenols.

Student: Gema Garrido Borrás

Academic supervisors: M^a Eugenia Martín Esparza

Chelo González Martínez

Valencia, July 2021

ÍNDICE

1.- INTRODUCCIÓN	1
1.1.- EL CULTIVO DE LA CHUFA EN ESPAÑA	1
1.2.- LA HORCHATA DE CHUFA: PROCESO DE ELABORACIÓN Y COMERCIALIZACIÓN	2
1.3.- REVALORARIZACIÓN DEL SUBPRODUCTO DERIVADO DE LA PRODUCCIÓN DE HORCHATA.	5
1.4.- COMPUESTOS ANTIOXIDANTES EN CHUFA Y SUBPRODUCTOS	7
1.5.- USO DE RESIDUOS VEGETALES PARA LA OBTENCIÓN DE ENVASES BIODEGRADABLES	8
2.- OBJETIVOS	10
3.- MATERIALES Y MÉTODOS	10
3.1.- MATERIALES	10
3.2.- PELÍCULA EMPLEADA	11
3.3.- CARACTERIZACIÓN DEL RESIDUO.....	11
3.3.1.- COMPOSICIÓN QUÍMICA	11
3.3.2.- ANÁLISIS DE TAMAÑO DE PARTÍCULA	12
3.3.3.- ANÁLISIS DE COLOR	13
3.4.- CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y CONTENIDO EN FENOLES TOTALES DEL RESIDUO Y EL FILM	13
3.4.1.- OBTENCION DEL EXTRACTO	13
3.4.2.- ANÁLISIS DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE (EC ₅₀).....	14
3.4.3.- CONTENIDO DE FENOLES TOTALES	16
3.5.- ANÁLISIS ESTADÍSTICO	16
4.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN	17
4.1.- CARACTERIZACIÓN DEL RESIDUO.....	17
4.1.1.- COMPOSICIÓN PROXIMAL.....	17
4.1.2.- ANÁLISIS DE TAMAÑO DE PARTÍCULA	18
4.1.3.- ANÁLISIS DE COLOR	19
4.3.- CONTENIDO EN FENOLES TOTALES.....	20
4.4.- CAPACIDAD ANTIOXIDANTE.....	21
5.- CONCLUSIONES	24
6.- REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	25

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Planta de chufa (<i>Cyperus esculentus</i>). Fuente: Pinterest (fecha consulta 2017).....	1
Figura 2. Diagrama de flujo del proceso de elaboración de horchata. Fuente: (Periche, 2007)...	4
Figura 3. Compuestos recuperados de los subproductos de horchata de chufa. Elaboración propia.	6
Figura 4. Nuevos alimentos funcionales. Elaboración propia.....	7
Figura 5. Difractómetro láser Mastersizer® 2000 (Malvern Instruments Ltd., Malvern, Reino Unido) empleado para el análisis del tamaño de partículas.	12
Figura 6. Cambios de color al reaccionar el antioxidante con el DPPH.	14
Figura 7. Distribución del tamaño de partícula (valores medios) obtenidos para el residuo de chufa seco antes (RS) y después (RS+M) de la molturación.	18
Figura 8. Plano cromático a^*-b^* y valores medios de la luminosidad (L^*), croma (C^*ab) y tono (h^*ab) obtenidos para las muestras RS y RS+M.....	19
Figura 9. Estabilidad de la reacción a partir de la gráfica abs vs t para las diferentes concentraciones de la muestra (0,1-0,8) mL.	21
Figura 10. Reducción del DPPH transcurridas 3 horas y media.	21
Figura 11. Porcentaje de DPPH que no reacciona al llegar a la estabilidad de la reacción frente a los mg de residuo/mg de DPPH.	23

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Valor energético (kcal/100g) y composición centesimal de la horchata, según distintas fuentes (Periche, 2007).....	3
Tabla 2. Volúmenes de extracto mezclados con diferentes volúmenes de solución de DPPH (0,024 g/L). Fuente: Elaboración propia	15
Tabla 3. Caracterización química del residuo seco y molturado (g/100 g). Valores promedio y (desviación estándar).....	17
Tabla 4. Valores medios (desviación estándar) del tamaño medio de partícula (D[4,3]), del tamaño máximo de partículas para el el 50% ó el 90% de la muestra (d(0,5) ó d(0,9)), y del número Span para el residuo seco (RS) y el residuo seco molturado (RS+M).	18
Tabla 5. Plano cromático a*-b* y valores medios de la luminosidad (L*), croma (C*ab) y tono (h*ab) obtenidos para las muestras RS y RS+M.....	19
Tabla 6. Contenido en fenoles totales (FT) y capacidad antioxidante del residuo y del film de almidón con residuo incorporado. Valores medios y (desviación estándar).	20
Tabla 7. Ejemplo de valores de absorbancia a 515 nm obtenidos a tiempo inicial (At=0) y tras 3h y media de reacción (At) para el extracto obtenido a partir del residuo de chufa; Volúmenes de muestra y DPPH que se hacen reaccionar; % DPPH _{remanente}	22

1.- INTRODUCCIÓN

1.1.- EL CULTIVO DE LA CHUFA EN ESPAÑA

La chufa, *Cyperus esculentus* L. es una planta cultivada, aunque puede encontrarse en estado natural y como mala hierba (Pascual et al., 1997). La cultivada pertenece al orden *Cyperaceae*, subfamilia *Escirpoidea*, género *Cyperus*, especie *esculentus*, variedad botánica *sativus*, la cual se encuentra generalmente en zonas tropicales en terrenos húmedos, de drenaje pobre y en turberas.

El cultivo de la chufa se remonta a épocas lejanas, siendo un alimento ya empleado por los egipcios y expandiéndose al Norte de África, península Ibérica y Sicilia. Llega a la Comunidad Valenciana en el siglo XIII, consumiéndose ya una bebida antecedente a la actual horchata (Pascual España, 2002).

La chufa consiste en una planta vivaz de hojas en roseta, paralelinervias, opuestas, envolvertes, de 40-50 centímetros de longitud, ásperas al tacto y de color verde oscuro, brillante en el haz y mate en el envés como podemos observar en la figura 1. El tallo presenta sección triangular, macizo, liso y sin nudos. En cuanto a las flores, éstas son aclamídeas, pequeñas muy rudimentarias, agrupándose en espigas de color dorado rojizo. Los tubérculos (chufas) tienen forma redondeada con anillos transversales, de color marrón y con una pulpa de color amarillo si está seco y blanco lechoso en maceración. Estos tubérculos se originan en los extremos de las raicillas que surgen del sistema radicular.



Figura 1. Planta de chufa (*Cyperus esculentus*). Fuente: Pinterest (fecha consulta 2017)

Tras recolectar la chufa (meses de noviembre a enero) se procede a lavarla, lo cual implica eliminar las raíces, limpiar la piel y apartar los tubérculos dañados. Esta operación se realiza en unos bombos donde se eliminan los pelos de la chufa, que se va mojando en duchas para, posteriormente, pasar por unas canaletas que irán separando grava y chufas. El secado es la siguiente operación cuyo objetivo es reducir la humedad de los tubérculos de un 50% a un 11%. Este proceso, cuya duración es de 3 meses, se realiza cuidadosa y lentamente, disminuyendo la frecuencia de los removidos que se realizan diariamente conforme van perdiendo humedad. Por último, se realiza la limpieza y clasificación, donde se separa la chufa de sus impurezas, de chufas dañadas o de las que posean un tamaño pequeño. Además, se finaliza con una selección manual complementaria y seguidamente, las chufas se ponen en sacos. De esta manera, están listas para elaborar la horchata.

En cuanto a la producción de chufa en España, ésta se dirige mayoritariamente a la producción y elaboración de horchata. Las zonas de producción de chufa se sitúan en Tarragona, Huesca, Cádiz y Huelva, pero la zona más popular y de mayor importancia por la producción de chufa en España es Valencia, por su calidad ya que sus tierras poseen las características y las condiciones climáticas idóneas para su cultivo. La zona de producción de las chufas amparadas por la Denominación de Origen Chufa de Valencia, con una extensión aproximada de 420 Ha, está comprendida en 21 términos municipales de la zona de l'Horta Nord (CRDO, 2020). En el año 2019, la producción de chufa seca con DO fue de 3.278 toneladas, que representa aproximadamente el 90% de la producción total. La chufa se cultiva también en algunas zonas de África (norte de Nigeria, Níger, Mali, Senegal, Ghana y Togo), así como en Asia y América. Actualmente África es uno de los principales exportadores mundiales.

1.2.- LA HORCHATA DE CHUFA: PROCESO DE ELABORACIÓN Y COMERCIALIZACIÓN

La industria horchatera en España tiene una considerable importancia, con una producción anual de entre 40 y 50 millones de litros, lo que supone un valor de mercado de alrededor de 60 millones de euros (CRDO, 2012). Se trata de un producto que se ha revalorizado en los últimos años en la industria alimentaria, por lo que hoy en día y gracias a diversos tratamientos para alargar su corta vida útil (esterilización, pasteurización, concentración), se exporta a nivel mundial (CRDO, 2014). Es una bebida que se ha extendido en Europa, en Latinoamérica (Sánchez-Zapata et al., 2012) y en Estados Unidos (Mosquera et al., 1996).

El Código Alimentario Español considera la horchata de chufa como una bebida refrescante, no alcohólica. Este código menciona que se emplean tubérculos o semillas disgregadas para su emulsión, siendo un 10% de chufa y un 10% de azúcares totales como mínimo. No obstante, la horchata también cuenta con agua como componente mayoritario, así como proteínas con una digestibilidad alta debido a su gran calidad y a los aminoácidos presentes en la chufa, hidratos de carbono aportando un 62,5% de energía con una relación almidón/sacarosa de la chufa de manera invertida debido a la adición de azúcar y a la baja solubilidad del almidón en agua, grasas contribuyendo a un 35% de la energía y con un buen perfil de ácidos grasos, minerales destacando el calcio, fósforo y magnesio y vitaminas destacando la tiamina B1, niacina y ácido fólico. (Tabla 1).

Tabla 1. Valor energético (kcal/100g) y composición centesimal de la horchata, según distintas fuentes (Periche, 2007)

Autor	Energía (kcal)	Hidratos de carbono Almidón/sacarosa		Grasa	Fibra	Proteínas	Cenizas
Varo et al., 1998	96,8	14,4-17,3		2,9-3,3		0,82-1,0	1,17-1,41m.s
CESNID, 2002	97	17		2,7	0,1	1,2	
Consejo Regulador, 2002		3,13	12,44	3,99	0,08	0,96	0,22
		1,2-4,8	10,3-15,5	2,4-5,9	0,03-0,14	0,5-1,3	0,17-0,27

El Consejo Regulador de la Denominación de Origen de Chufa de Valencia distingue entre varios tipos de horchata. Por un lado, y según el RD 1338/1388 (y sus modificaciones) (España, 1988), la horchata de chufa natural es la que se elabora con chufa, agua y azúcar de manera que el producto cuente con un 12% mínimo de sólidos solubles (expresados como °Brix a 20°C), y unos contenidos mínimos de almidón y grasa del 1,9 y 2%, respectivamente. El licuado bajo esta denominación en ningún caso podrá contener aditivos y/o coadyuvantes tecnológicos, aunque sí podría elaborarse sin la adición de azúcar.

También existe la horchata de chufa natural pasteurizada, la cual se somete a una pasteurización a menos de 72°C, sin la adición de aditivos ni coadyuvantes, mientras que la horchata de chufa esterilizada (UHT) es aquella a la que se le suprime lo máximo de almidón y después se somete a esterilización, destruyendo así cualquier actividad microbiana. Por otro lado, la horchata de chufa concentrada es la que se prepara con chufa, agua y azúcar con el fin de obtener un 42% de sólidos, mientras que la horchata de chufa condensada puede ser pasteurizada o congelada. Por último, la horchata de chufa en polvo es aquella donde el almidón es transformado total o parcialmente en gránulos sólidos a través de un secado.

El proceso de elaboración de horchata de chufa natural (figura 2) comienza en el momento en que se reciben las materias primas en el establecimiento y se almacenan. A continuación, se procede a realizar el lavado de las chufas con el fin de separar los restos y las impurezas. Seguidamente, se seleccionan las chufas, mayoritariamente por flotación en soluciones de sal, para separar los tubérculos que tengan defectos. Estas soluciones trabajan de modo que, ante una concentración de sal de 15-17° Baumé, los tubérculos dañados y no desarrollados flotarán por su menor densidad, pudiendo así identificarlos, eliminarlos y someter a los tubérculos seleccionados a unas inmersiones en agua potable, de manera que estos absorberán el agua y su rugosidad disminuirá para poder desinfectarlos. Esta desinfección se realiza con una solución de agua y cloro activo agitando mecánicamente menos de 30 minutos con el fin de reducir la presencia de microorganismos, por lo que es una operación de gran importancia. Para poder eliminar los restos de germicida se deberán realizar lavados sucesivos. Tras la desinfección se trituran los tubérculos adicionando agua y controlando que no se apelmacen ni se quede producto dentro del molino donde se trituran y una vez realizada esta operación, se separa el líquido del residuo con ayuda de prensas y se tamiza. Seguidamente se adiciona azúcar al líquido obtenido y se eliminan las impurezas sólidas que hayan podido quedar y a continuación se deja en enfriamiento sobre los 0°C. De esta manera se paraliza la aparición de bacterias. Para conservarlo, se sitúan a temperaturas de 2°C o menos.

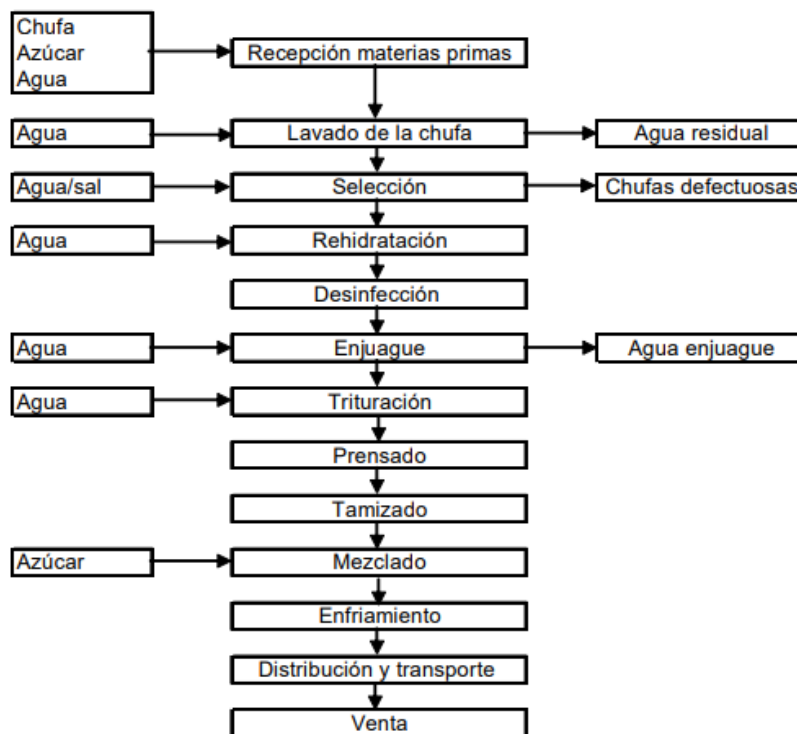


Figura 2. Diagrama de flujo del proceso de elaboración de horchata. Fuente: (Periche, 2007)

1.3.- REVALORARIZACIÓN DEL SUBPRODUCTO DERIVADO DE LA PRODUCCIÓN DE HORCHATA.

La pasta residual obtenida tras la extracción de la horchata representa aproximadamente un 60% del peso de la materia original (Sánchez-Zapata et al., 2012), lo que supone la generación de un importante volumen de un residuo industrial sin valor económico y que además es susceptible de una rápida fermentación, lo que da como resultado la retirada a vertedero. Esto supone costes para el horchatero, y un perjuicio medioambiental. En 2007-2008, en la región de Valencia se produjo una cantidad total de 4,2 toneladas de residuos (Roselló et al., 2018). Su destino más común es la alimentación animal o la utilización como combustible orgánico (Sánchez-Zapata et al., 2009). Sin embargo, los subproductos de bebidas a partir de la chufa son de gran interés ya que contienen un buen perfil dietético, pudiendo mejorar las propiedades funcionales de otros productos (Sánchez-Zapata et al., 2009).

Del residuo sólido se pueden obtener fácilmente, por prensado y filtrado, dos subproductos, uno sólido y uno líquido. El rendimiento medio tras la separación de ambos subproductos es de un 47,12% para el subproducto sólido y de un 52,88% para el subproducto líquido (Sánchez-Zapata et al., 2012). Ambos han sido caracterizados químicamente por Sánchez et al. (2009). El subproducto sólido está constituido principalmente por fibra dietética (59,71 g/100 g, siendo mayoritariamente insoluble con un 99,8%) y otro material lignocelulósico. La fibra tiene una elevada capacidad de retención de agua y de aceite, y sus propiedades emulsionantes son muy buenas. Desde el punto de vista macroscópico, se han podido distinguir dos tipos de tejido fibroso (Alava et al., 2018). En primer lugar, una fracción leñosa proveniente del peridermo y la corteza del tubérculo, de mayor tamaño de partícula (>800 µm), color marrón y elevado contenido en lignina. Y en segundo lugar una fracción más blanquecina, de menor tamaño de partícula, con tejido parenquimático interno del tubérculo (perimédula y médula).

La caracterización química de la harina obtenida a partir del residuo del proceso de elaboración de la horchata, una vez secado hasta un 14% de humedad, reveló un contenido en fibra del 69%, junto con un 9% de grasa y un 1,9% de proteína (Alava et al., 2018). El subproducto líquido (con un contenido de sólidos del 5,56%) es rico en carbohidratos (67,44% en base seca), y contiene además proteínas, lípidos y cenizas (16,9, 8,27 y 7,37% en base seca, respectivamente). Los principales azúcares presentes son la sacarosa (3,63%), fructosa (1,65%) y glucosa (1,40%), mientras que el ácido orgánico predominante es el láctico (0,26%), seguido del cítrico (0,14%) y málico (0,09%). Por su parte, el contenido de fenoles totales en el subproducto líquido asciende a 169,8 mg GAE/L (Sánchez-Zapata et al., 2012) o 21,67 mg/100 mL (Badejo et al., 2014), lo

que pone de manifiesto la presencia de compuestos fenólicos tras el proceso de obtención del licuado de chufa, a pesar de que se pueden producir pérdidas durante el lavado y la rehidratación de hasta el 48% (Roselló-Soto, 2019). En la figura 3 se muestran los compuestos de interés que pueden obtenerse del residuo de la obtención de la horchata.



Figura 3. Compuestos recuperados de los subproductos de horchata de chufa. Elaboración propia.

Recientemente, se ha estudiado la posibilidad de revaloración del residuo de la elaboración de la horchata (figura 4) como fuente de fibra dietética en la formulación de diferentes productos en productos cárnicos tales como hamburguesas, productos crudo-curados y pastas finas (Sánchez et al., 2013; Sánchez et al., 2010), pan (Aguilar et al., 2015; Verdú et al., 2017) o “chips” de cereales (Alava et al., 2018). En el caso de los productos cárnicos, se consiguió además reducir la oxidación de lípidos gracias a los polifenoles presentes en el residuo (Sánchez et al., 2012; Sánchez et al., 2013). También se ha estudiado la sustitución de agua por el subproducto líquido en la formulación de hamburguesas de cerdo (Sánchez-Zapata et al., 2012) y en hígado de pollo cocido (Sánchez-Zapata et al., 2012b). En este último caso los resultados mostraron un aumento del contenido graso y de hierro sin alterar las propiedades fisicoquímicas. Por otra parte, al ser el residuo líquido fuente de carbohidratos, podría usarse para el crecimiento de bacterias probióticas.



Figura 4. Nuevos alimentos funcionales. Elaboración propia.

1.4.- COMPUESTOS ANTIOXIDANTES EN CHUFA Y SUBPRODUCTOS.

Los compuestos antioxidantes son aquellos que se encargan de retardar la oxidación de ciertas moléculas, evitando así el comienzo de reacciones de los radicales libres. Estos compuestos antioxidantes se dividen en 2 grandes grupos, los sintéticos como el BHA y el BHT, los cuales han sido restringidos por precaución, y los naturales como polifenoles, tocoferoles, flavonoides y alcaloides, los cuales son de gran interés por mostrar funciones tanto antibacterianas y antivirales como antiinflamatorias y antitrombóticas.

En cuanto al contenido de compuestos antioxidantes en la chufa, Adel y col. (2015), Morell y Barber (1983) y Frega et al. (1984) Umerie et al. (1997) realizaron estudios con chufas de diferente origen y tratadas de manera distinta, utilizando chufas españolas tanto ecológicas como convencionales, chufas de origen nigeriano y de origen desconocido, donde se pudo observar que no existían diferencias significativas en las propiedades antioxidantes entre las chufas españolas, pero sí en su nivel fenólico total. Además, también se encontraron diferencias significativas para la capacidad antioxidante equivalente de Trolox entre la chufa ecológica española, la nigeriana convencional y la de origen desconocido. Y a raíz de este estudio se pudo concluir con la idea de que tanto el contenido fenólico total como las propiedades antioxidantes de las chufas españolas son de carácter superior a las de otro origen.

En la chufa se ha identificado la presencia de ácidos fenólicos monoméricos ligados a las paredes celulares (Parker et al., 2000), tales como el p-hidroxibenzoico, vanílico, p-hidroxibenzaldehído, p-trans-cumárico, trans-ferúlico, p-cis-coumárico, cis-ferúlico, así como otros fenoles diméricos. El contenido en fenoles totales varía entre 5,63-64,9 mg GAE/100 g, dependiendo de la variedad de chufa y del método de extracción (Parker et al., 2000). De acuerdo con los datos reflejados en el trabajo de Roselló-Soto et al. (2019), donde se reúnen resultados de trabajos previos, los principales compuestos fenólicos de la chufa son ácidos fenólicos y flavonoides. Entre los primeros son predominantes el grupo de los ácidos hidroxibenzoicos y el de los ácidos hidroxicinámicos, junto con trazas de otros fenoles. Destaca especialmente el contenido de ácido trans-ferúlico (33,79–58,38 mg GAE/100 g), junto con los ácidos vanílico (5.88–15.20 mg GAE/100 g), p-hidroxibenzaldehído (0–16.47 mg GAE/100 g), p-hidroxibenzoico (2.18–29.12 mg GAE/100 g), trans-cinámico (0–40.66 µg RE/kg), cafeico (1.07–15.25 mg GAE/100 g) o la vainillina (3.0–25.3 µg/g).

Tal como se ha comentado previamente, una parte importante de los ácidos fenólicos ligados a las paredes celulares va a parar al subproducto líquido de la producción de horchata. Por su parte, el índice de actividad antioxidante (test Rancimat) de este subproducto líquido (1,44) es mayor que los encontrados para los extractos de naranja (1,30) o limón (1,19) obtenidos a partir de residuos cítricos (Sánchez-Zapata et al., 2012). Sin embargo, la identificación de los compuestos antioxidantes presentes en el subproducto líquido de la elaboración de horchata no ha sido todavía descrito en profundidad (Roselló-Soto et al., 2018).

1.5.- USO DE RESIDUOS VEGETALES PARA LA OBTENCIÓN DE ENVASES BIODEGRADABLES.

Uno de los principales retos hoy en día que afecta tanto a los fabricantes como a los científicos es el desarrollo sostenible. Según la FAO, se desechan anualmente alrededor de 1.3 billones de comida (Dilucia et al., 2020), desechos que se pueden producir a lo largo de toda la cadena de suministro (producción, posrecolección o procesado). Generalmente, estos residuos son llevados a vertederos donde son incinerados, lo que ha conllevado problemas medioambientales derivados del aumento de producción de biogás y la generación de lixiviación (Dilucia et al., 2020).

En general, los subproductos alimentarios tienen un enorme potencial para ser reutilizados porque son fuente natural de compuestos bioactivos como azúcares simples (glucosa y fructosa), polisacáridos, fibras, compuestos fenólicos, carotenoides, tocoferoles, flavonoides, vitaminas, minerales y compuestos aromáticos. Algunos de estos compuestos son de gran interés

por sus propiedades antioxidantes y antivirales (Kowalska et al., 2017; Ferrentino et al., 2018). En los últimos años, de hecho, se ha observado un aumento en la búsqueda de la reutilización de residuos alimentarios obtenidos en procesos agroindustriales como fuente de estos compuestos.

El desperdicio más abundante está representado por los subproductos a partir de frutas y hortalizas, incluyendo raíces y tubérculos, con un porcentaje de residuos entre el 40 y el 50% del total (Dilucia et al., 2020). Durante su procesado se obtienen pulpas (producción de aceite de oliva o vino), residuos de frutas (producción de mermeladas, jaleas o zumos) u otros del procesado de hortalizas (alcachofa, patatas, zanahorias, tomate. Etc.). Podemos encontrar estudios recientes en los últimos años centrados en la aplicación de estos subproductos como ingredientes alimentarios en forma de polvo o extracto, para el fortalecimiento de productos a base de cereales, pescado o productos lácteos (Dilucia et al., 2020).

Por otra parte, con el objetivo de reducir los costes de producción de películas comestibles, se ha evaluado la posibilidad de utilizar estos residuos del procesamiento de frutas y hortalizas, a su vez agregando valor a dichos subproductos (Otoni et al., 2017.) Dicha aplicación es posible gracias a que cuentan con la presencia de polisacáridos y proteínas formadoras de matriz, así como de compuestos bioactivos como fenoles y vitaminas con propiedades antioxidantes y antimicrobianas. Se ha comprobado que la utilización de residuos ricos en fracciones celulósicas (celulosa, hemicelulosa o lignina), como la piel de patata o las hojas de *Posidonia oceanica*, pueden ayudar a la formación de interacciones más fuertes entre los componentes de la película (como por ejemplo el almidón) y de estructuras más densas, lo que se traduce en mayor resistencia mecánica y también y mejores propiedades barrera (reducción de la permeabilidad al vapor de agua o al oxígeno) del film (Benito-Gonzalez et al., 2019; Xie et al., 2020).

Otros trabajos han demostrado que la incorporación de nanofibras extraídas de subproductos agroindustriales podría mejorar considerablemente las propiedades físicas y mecánicas de los biopolímeros. Así, González et al. (2019) obtuvieron películas a base de proteína de soja con mayor rigidez y fuerza de ruptura gracias al empleo de nanofibras extraídas la cáscara y la vaina de soja, aumentando la hidrofobicidad. Cruz-Tirado et al. (2019) observaron una buena incorporación de fibras lignocelulósicas obtenidas del bagazo de caña de azúcar en películas a base de almidón de batata, lo que se vio reflejado en una mayor flexibilidad del film obtenido.

Un mejor conocimiento en el futuro, de forma más concreta y detallada, sobre el contenido de agentes como pectinas, celulosa, lignina, almidón, proteínas, glucosa, fructosa y de compuestos funcionales como los antioxidantes en frutas y verduras, permitirán una mejora en los materiales de envasado comestibles.

2.- OBJETIVOS

El objetivo del presente trabajo es caracterizar el residuo o bagazo obtenido en la producción de horchata de chufa natural. Para ello se analizaron diferentes propiedades fisicoquímicas, así como la actividad antioxidante del residuo. Además, se estudiará la aplicación potencial del residuo para la obtención de películas biodegradables activas.

Para la consecución de este objetivo general se plantearon los siguientes objetivos específicos:

- ✓ Determinar la composición del residuo (agua, proteína, grasa, cenizas, fibra soluble e insoluble, almidón total), así como el tamaño de partícula y color del residuo.
- ✓ Determinar la capacidad antioxidante y el contenido en fenoles totales del residuo.
- ✓ Obtener películas biodegradables composite a base de almidón y residuo de horchata.
- ✓ Determinar la capacidad antioxidante y contenido en fenoles totales de películas que incorporen el residuo en su formulación.

3.- MATERIALES Y MÉTODOS

3.1.- MATERIALES

El residuo o bagazo resultante de la elaboración de horchata de chufa (a partir de ahora “residuo de chufa”) (R) fue proporcionado por una de las empresas certificadas por el Consejo Regulador D.O. Chufa de Valencia (Horchatería Rin, Alboraya, Valencia). El residuo obtenido de un mismo lote fue congelado a -18°C hasta su utilización.

Para determinar la capacidad antioxidante y el contenido en fenoles totales (método descrito más adelante), se utilizaron: ácido gálico, reactivo de Folin-Ciocalteu (2N), metanol y DPPH (2,2- Difenil-1-pikryl-hidrazilo), obtenidos de Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA); y carbonato de sodio de PanReac Química S.L.U. (Castellar del Vallés, Barcelona, Spain).

3.2.- PELÍCULA EMPLEADA

La película se formuló con almidón de maíz (Roquette, Francia) incorporándole el residuo de chufa (previamente secado y molturado) al 50% en peso, y glicerol al 35% en peso del polímero (almidón) como plastificante. El glicerol fue adquirido en PanReac Química S.L.U. (Castellar del Vallés, Barcelona, Spain), mientras que el almidón de maíz lo suministró Roquette (lote W469V). La película se obtuvo por termoprocesado (2 minutos de calentamiento a 150 °C y 50 bares de presión seguidos por 6 minutos a la misma temperatura y 120 bares de presión, finalizando con 3 minutos de enfriamiento).

El residuo de chufa seco (RS) y molturado (RS+M) se preparó mediante secado a $50 \pm 2^\circ\text{C}$ durante 16 h seguido de reducción de tamaño mediante una Thermomix TM-5, (Vorwerk Spain M.S.L., S.C., Madrid, Spain) y operando en 3 ciclos de 90s cada uno a velocidad máxima. Finalmente, el residuo fue conservado en un desecador a $20 \pm 2^\circ\text{C}$ hasta su utilización.

3.3.- CARACTERIZACIÓN DEL RESIDUO

3.3.1.- COMPOSICIÓN QUÍMICA

El residuo de chufa fue caracterizado en cuanto a su contenido en humedad, proteína, grasa y cenizas utilizando los correspondientes métodos establecidos AOAC (AOAC, 2000).

La fibra (total, soluble e insoluble) fue determinada con el correspondiente kit enzimático K-TDFR (AOAC 985.29 y 991.43) (Megazyme Ltd., Irlanda) y el almidón total fue calculado por diferencia. Para todos los análisis, a excepción de la humedad, se empleó residuo seco, molturado y tamizado. Todos los análisis se realizaron por triplicado.

3.3.2.- ANÁLISIS DE TAMAÑO DE PARTÍCULA

El tamaño de partícula se determinó por vía seca usando un difractómetro láser Mastersizer® 2000 (Malvern Instruments Ltd., Malvern, Reino Unido) como se muestra en la figura 5, considerando un índice de refracción de 1,52 y un índice de absorción de 0,1 y empleando aire como dispersante. Las medidas se llevaron a cabo por triplicado empleando en cada medida 10-20 g de muestra, cantidad que fue introducida en el equipo a una presión de 2,5 bar y una velocidad de alimentación del 60%, hasta alcanzar una tasa de oscurecimiento del 1,26%. Se analizaron 2 muestras: residuo de chufa seco (RS) y residuo de chufa molturado y tamizado (RS+M), para evaluar el efecto de la molturación sobre la reducción de tamaño.

El tamaño medio de las partículas del residuo de chufa se expresó en términos del parámetro D [4,3] (diámetro medio de la distribución en volumen). Así mismo se consideró el parámetro “span” o medida de la anchura de la distribución del tamaño de partícula. Cuanto más ancha es dicha distribución, mayor es el valor de este parámetro. Por último, se consideró el tamaño de partícula por debajo del cual se encuentra el 50% (d (0,5)) y el 90% (d (0,9)) de la muestra.



Figura 5. Difractómetro láser Mastersizer® 2000 (Malvern Instruments Ltd., Malvern, Reino Unido) empleado para el análisis del tamaño de partículas.

3.3.3.- ANÁLISIS DE COLOR

El color del residuo de chufa seco (RS) y tras ser molturado y tamizado (RS+M) se midió en un espectrocolorímetro con iluminador D65 y 10 ° como observador estándar, con un área de 30 nm. Se obtuvieron las coordenadas CIEL*a*b*, donde los parámetros a analizar son la luminosidad L* (L* = 0 [negro] y L* = 100 [blanco]), la coordenada a* (-a* = verde; y +a* = rojo) y la coordenada b* (-b* = azul; y +b* = amarillo). A su vez, se calculó la diferencia total de color (ΔE^*) (Francis y Clydesdale, 1975) entre las dos muestras analizadas, mediante la ecuación (2). La medida se realizó por triplicado.

$$\Delta E^* = \sqrt{[(L_{RS+M}^* - L_{RS}^*)^2 + (a_{RS+M}^* - a_{RS}^*)^2 + (b_{RS+M}^* - b_{RS}^*)^2]} \quad (2)$$

3.4.- CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y CONTENIDO EN FENOLES TOTALES DEL RESIDUO Y EL FILM

3.4.1.- OBTENCION DEL EXTRACTO

El contenido en fenoles y la capacidad antioxidante se midió tras la extracción de los componentes activos del residuo y del film. Para la preparación del extracto a partir del residuo, 1 gramo de residuo (seco, molturado y tamizado) fue disuelto en 15 ml de metanol al 99%. Esta mezcla se tuvo en condiciones de oscuridad y agitación constante (350 rpm) durante 1,5h. Para fijar este tiempo de contacto, se realizó un análisis de la actividad antioxidante de los extractos obtenidos tras 1,5 h y 24 h de contacto, observándose que no existían diferencias para tiempos mayores de 1,5 h. Posteriormente se filtró con una con filtro de 0,45 μm y el sobrenadante resultante se utilizó para realizar las mediciones de capacidad antioxidante y de contenido de fenoles totales.

Por otro lado, para obtener el extracto procedente del film, se emplearon 2 gramos de film y se disolvieron en 15 ml de metanol al 99% durante 3 horas en oscuridad y en agitación. Una vez disuelto, se homogenizó con un RotaStator durante 1 minuto a 9000 rpm y se filtró con un filtro de 0,45 μm , obteniendo el sobrenadante necesario.

3.4.2.- ANÁLISIS DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE (EC₅₀)

El análisis de la capacidad antioxidante de los extractos obtenidos tanto del residuo de chufa (RS+M) como del film (RS:A), se llevó a cabo con el método espectrofotométrico descrito por Brand-Williams et al. (1995), basado en la reducción del radical DPPH en una solución alcohólica por un antioxidante dador de hidrógeno. Este radical libre acepta un electrón o bien un radical de hidrógeno con el fin de transformarse en una molécula diamagnética estable, y ha sido ampliamente utilizado para conocer la eficacia que tienen ciertas sustancias antioxidantes para eliminar los radicales libres (Ozcelik et al., 2003). El radical DPPH cuenta con un electrón desapareado, que es el responsable de la absorbancia a 515 nm y del intenso color morado. La medida consiste en observar y cuantificar los cambios de color producidos una vez el radical DPPH acepta el electrón cedido por el antioxidante a través de los cambios en los valores de absorbancia como se puede observar en la figura 6 (Hasan et al., 2009).

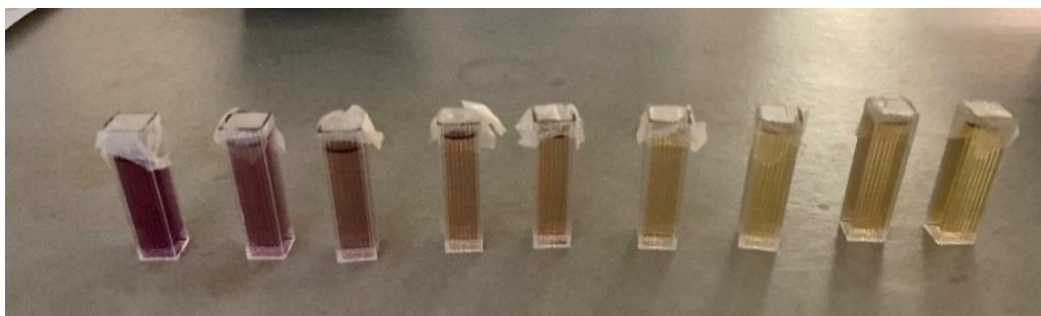


Figura 6. Cambios de color al reaccionar el antioxidante con el DPPH.

Para conocer el tiempo de reacción total del radical con el extracto obtenido a partir del residuo de chufa, se realizó un estudio mezclando diferentes proporciones de extracto:solución de DPPH según indica la Tabla 2 y se midieron los valores de absorbancia cada 10 minutos hasta poder obtener un valor constante, el cual se situó a las 3 horas y media. La medida de la absorbancia se realizó a una longitud de onda de 515 nm en un espectrofotómetro (ThermoScientific, Evolution 201 UV visible Spectrophotometer) y utilizando metanol como blanco. Las mezclas con la solución $6,22 \cdot 10^{-2}$ mM DPPH ($Ab_{515nm} = 0,7 \pm 0,2$) se colocaron en cubetas de 4 mL que fueron tapadas para evitar la evaporación del metanol.

Tabla 2. Volúmenes de extracto mezclados con diferentes volúmenes de solución de DPPH (0,024 g/L). Fuente: Elaboración propia

V _{extracto} (mL)	V _{DDPH} (mL)
0,00	4,00
0,10	3,90
0,20	3,80
0,30	3,70
0,40	3,60
0,50	3,50
0,60	3,40
0,70	3,30

Una vez conocido el tiempo de reacción se llevó a cabo el análisis de la capacidad antioxidante de las muestras por triplicado, considerando la absorbancia de las soluciones mezcla (Tabla 2) a tiempo inicial y transcurridas las 3 horas y media. Los valores obtenidos se transformaron en concentraciones de DPPH utilizando una curva patrón ($Abs_{515nm} = 11,324 \cdot [DPPH] - 0,0038$; $R^2 = 0.9992$, Freitas et al., 2020).

La capacidad antioxidante se evaluó a partir del parámetro EC_{50} , que indica la cantidad de antioxidante necesaria para que la concentración inicial de DPPH quede reducida a la mitad una vez alcanzada la estabilidad de la reacción. Por tanto, un valor bajo de EC_{50} se corresponde con una mayor actividad antioxidante de la muestra analizada. Los valores de este parámetro se obtuvieron representado el $\% [DPPH]_{\text{remanente}}$ (ecuación 3) vs. mg residuo/mg DPPH.

$$\% [DPPH]_{\text{remaining}} = \left(\frac{[DPPH]_t}{[DPPH]_{t=0}} \right) \times 100 \quad (3)$$

donde $[DPPH]_t$ y $[DPPH]_{t=0}$ son las concentraciones de DPPH una vez alcanzado el tiempo de reacción y a tiempo inicial, respectivamente.

3.4.3.- CONTENIDO DE FENOLES TOTALES

La determinación del contenido de fenoles totales en los extractos obtenidos a partir del residuo de chufa y del film estudiado se obtuvo empleando el reactivo colorimétrico Folin-Ciocalteu (Singleton et al., 1965), utilizando un volumen de 0,5 ml del extracto obtenido, junto con 6 ml de agua destilada, 0,5 ml del reactivo colorimétrico Folin-Ciocalteu y 1,5 ml de carbonato de sodio (20% p/v), aforando hasta 10 ml con agua destilada. La mezcla se tuvo en oscuridad y agitación durante 2 horas y seguidamente se filtró con un filtro de 0,45 μm . Una vez obtenido el sobrenadante, se realizó un barrido en el espectrofotómetro con el fin de localizar la máxima absorbancia, la cual fue de 725 nm.

La medida de absorbancia a 725 nm se realizó en un espectrofotómetro (ThermoScientific, Evolution 201 UV visible Spectrophotometer) por triplicado, cuyos resultados se expresaron como mg equivalentes de ácido gálico (GAE) por gramo de residuo seco, empleando la recta de calibrado del ácido gálico correspondiente ($Abs_{725 \text{ nm}} = 0.099 [\text{ácido gálico}] + 0.043$; $R^2=0,9991$, (Freitas et al., 2020).

3.5.- ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El tratamiento estadístico de los resultados se realizó mediante un análisis de la varianza (ANOVA) utilizando el software Statgraphics Centurión XVIII (StatgraphicsTechnologies, Inc., Rockville, Md.) para un nivel de confianza del 95%. Se utilizó el método LSD (Método de la Mínima Diferencia Significativa) para el análisis de resultados.

4.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1.- CARACTERIZACIÓN DEL RESIDUO

4.1.1.- COMPOSICIÓN PROXIMAL

En la Tabla 3 se muestran los resultados obtenidos de la caracterización química del residuo de chufa seco y molturado (RS+M). Los valores obtenidos concuerdan con los obtenidos previamente por Alava et al. (2018) y Sánchez-Zapata et al. (2009). La cantidad de fibra presente en este residuo es importante, siendo principalmente del tipo insoluble (alrededor de un 87-90%). Según Alava et al. (2018), se han podido distinguir dos tipos de tejido fibroso, uno con elevado contenido en lignina y otro procedente del tejido parenquimático interno de la chufa. Pensando en la posibilidad de utilizar este residuo en el desarrollo de materiales de envasado biodegradable, este material celulósico podría ayudar a la formación de enlaces más fuertes con otros componentes como el almidón y por tanto dar lugar a estructuras más densas con mayor resistencia mecánica y mejores propiedades barrera (Benito-González et al., 2019; Xie et al., 2020). Aparte del contenido en fibras, también contiene cantidades remarcables de proteínas, grasas y almidón.

Tabla 3. Caracterización química del residuo seco y molturado (g/100 g). Valores promedio y (desviación estándar)

PROTEÍNA	9,06 (0,07)
GRASA	13,0 (0,7)
HUMEDAD	1,48 (0,04)
CENIZAS	1,4 (0,3)
FIBRA TOTAL	61 (2)
Fibra insoluble	53 (2)
Fibra soluble	7,9 (0,6)
ALMIDÓN*	15,46

*Calculado por diferencia

4.1.2.- ANÁLISIS DE TAMAÑO DE PARTÍCULA

La figura 7 muestra las distribuciones de tamaño de partículas para las dos muestras analizadas. La distribución del tamaño de partícula del residuo obtenido en la elaboración de la horchata, una vez ha sido secado (RS) o secado, molturado y tamizado (RS+M) (figura 7) refleja el efecto de la reducción del tamaño y el tamizado. Así, la muestra RS presentó una distribución monomodal con un tamaño de partícula medio de 426 μm (tabla 4), mientras que en la muestra RS+M existe un pequeño porcentaje de partículas con un diámetro de partícula medio inferior (275 μm , tabla 4).

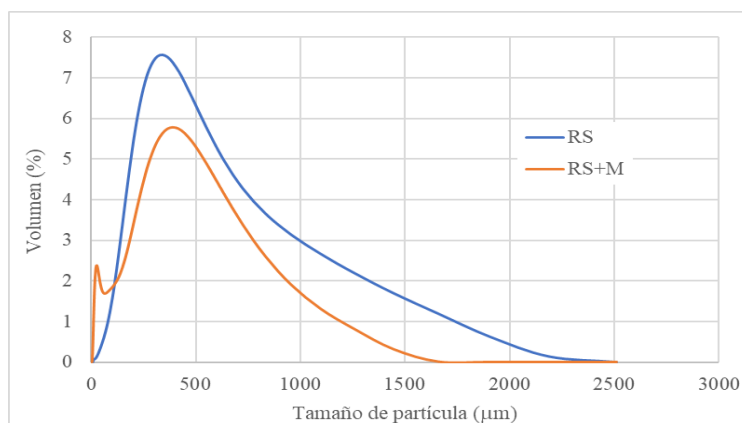


Figura 7. Distribución del tamaño de partícula (valores medios) obtenidos para el residuo de chufa seco antes (RS) y después (RS+M) de la molturación.

La tabla 4 muestra los principales parámetros obtenidos de este análisis. Se puede observar que, tal como era de esperar, tanto los valores del tamaño medio de partícula ($D[4,3]$, expresado como diámetro medio del volumen equivalente) como el $d(0,5)$ y $d(0,9)$, son significativamente mayores ($p < 0,05$) para el residuo seco antes de ser molturado y tamizado (RS).

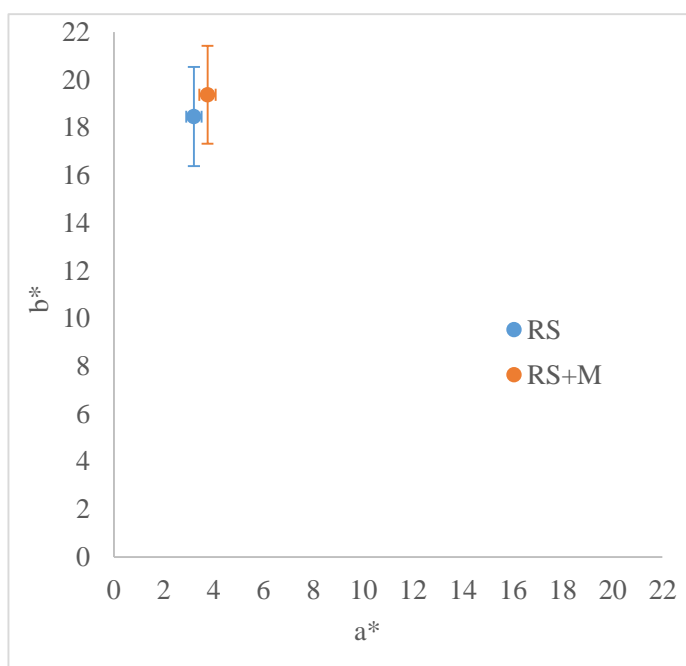
Tabla 4. Valores medios (desviación estándar) del tamaño medio de partícula ($D[4,3]$), del tamaño máximo de partículas para el 50% ó el 90% de la muestra ($d(0,5)$ ó $d(0,9)$), y del número Span para el residuo seco (RS) y el residuo seco molturado (RS+M).

Muestra	$D[4,3](\mu\text{m})$	$d(0,5)(\mu\text{m})$	$d(0,9)(\mu\text{m})$	span
RS	426 (12) ^a	325 (6) ^a	890 (40) ^a	2,37 (0,09) ^b
RS+M	275 (13) ^b	216 (9) ^b	639 (31) ^b	2,90 (0,02) ^a

En la misma columna, no hay diferencias significativas entre los valores con la misma letra ($p > 0,05$).

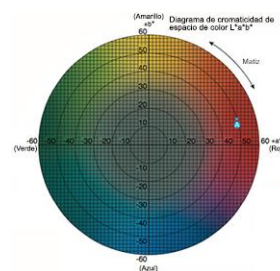
4.1.3.- ANÁLISIS DE COLOR

En la figura 8 se ha representado el plano cromático a^*-b^* y en la tabla 5 se muestran los valores de luminosidad, croma y tono obtenidos para las muestras antes y después de la molienda (RS y RS+M), así como la diferencia de color entre ambos tipos de muestras. Tal como era de esperar, la reducción de tamaño de partícula del residuo de chufa seco no supone cambios significativos en el color. Los valores de luminosidad obtenidos son superiores a los encontrados por Coşkuner et al. (2002) para la chufa molturada (L^* : 58.78) mientras que son inferiores para las coordenadas cromáticas (a^* :16.20 y b^* : 16.20 en la misma referencia), lo que podría deberse al oscurecimiento producido durante el tratamiento de secado al que se ha sometido al residuo. En cualquier caso, la coloración del residuo de chufa se corresponde con tonalidades marrones características del tubérculo. La variación de color (ΔE^*) entre ambas muestras fue de 2.85 unidades, diferencia seguramente suficientemente pequeña para que no pueda ser apreciada sensorialmente.



	RS	RS+M
L^*	70 (4) ^a	70 (4) ^a
C^*_{ab}	19 (2) ^a	20 (2) ^a
h^*_{ab}	80,1 (0,2) ^a	79,0 (0,2) ^b
ΔE^*	2,85	

En la misma columna, valores con la misma letra indican que no hay diferencias significativas entre los valores ($p > 0,05$).



Fuente: <https://sensing.konicaminolta.us/>

Figura 8 y Tabla 5. Plano cromático a^*-b^* y valores medios de la luminosidad (L^*), croma (C^*_{ab}) y tono (h^*_{ab}) obtenidos para las muestras RS y RS+M.

4.3.- CONTENIDO EN FENOLES TOTALES

El contenido en fenoles totales (FT) fue expresado como mg GAE/100 g residuo y se muestra en la Tabla 6. El resultado obtenido para el residuo seco (RS) es acorde con los valores encontrados en bibliografía para la chufa, que varían entre 5,63-64,9 mg/100 g, dependiendo de la variedad de chufa y del método de extracción (Parker et al., 2000), y muy superior al obtenido para el residuo de la elaboración de horchata de chufa por Roselló-Soto et al. (2018) (16.05 mg GAE/100 g materia seca), si bien las condiciones de extracción fueron muy diferentes (etanol al 25% en agua y 60°C).

De acuerdo con los datos reflejados en el trabajo de Roselló-Soto et al. (2019), donde se reúnen resultados de trabajos previos, los principales compuestos fenólicos de la chufa son ácidos fenólicos y flavonoides. Los ácidos fenólicos se encuentran unidos a las paredes celulares (Parker et al., 2000) y, por lo tanto, y a pesar de que durante el proceso de extracción de la horchata se pueden producir pérdidas, los resultados parecen indicar que el subproducto empleado en este trabajo presenta un contenido de compuestos fenólicos considerable.

Los valores correspondientes al film estudiado se determinaron en el extracto correspondiente, teniendo en cuenta la cantidad de residuo incorporado en la película (Tabla 6). Como se puede observar, el resultado obtenido fue similar al del residuo, aunque con diferencias significativas, seguramente por la variabilidad obtenida. Estos resultados indican que la totalidad de los compuestos fenólicos del film fueron extraídos y no hubo pérdidas durante la formación de la película con almidón (RS:A).

Tabla 6. Contenido en fenoles totales (FT) y capacidad antioxidante del residuo y del film de almidón con residuo incorporado. Valores medios y (desviación estándar).

	FT (mg GAE/100 g residuo)	EC ₅₀ (mg residuo/mg DPPH).
RS	49,2 (1,4) ^b	522 (19) ^a
Film RS:A	57 (5) ^a	109 (51) ^b

En la misma columna, no hay diferencias significativas entre los valores con la misma letra (p> 0,05).

4.4.- CAPACIDAD ANTIOXIDANTE

En la figura 9 se muestra la variación de la absorbancia para diferentes concentraciones de muestra ensayada (Tabla 2) en función del tiempo, a modo de ejemplo. Como se puede observar, la absorbancia alcanza valores constantes transcurridas 3 horas y 30 minutos desde que se le añade el reactivo DPPH a la muestra, lo que indica la estabilización de la reacción. Esto es importante tenerlo en cuenta en la medida, ya que dependiendo del tipo de antioxidante que se trate, los tiempos pueden fluctuar entre unos pocos minutos a varias horas. Por tanto, en este trabajo se decidió considerar como tiempo final de reacción del ensayo de actividad antioxidante, 3,5h.

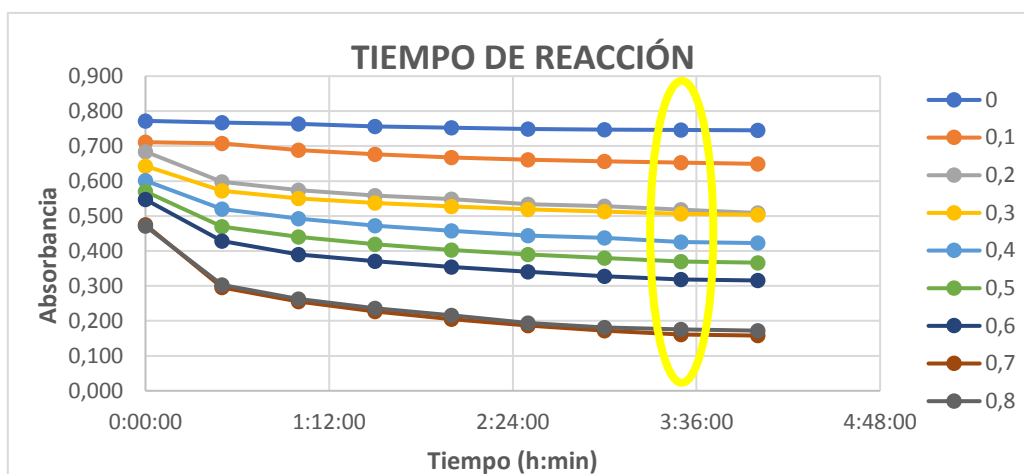


Figura 9. Estabilidad de la reacción a partir de la gráfica abs vs t para las diferentes concentraciones de la muestra (0,1-0,8) mL.

Transcurridas las 3 horas y media se puede apreciar la decoloración que sufre el DPPH al estar en contacto con el antioxidante durante el tiempo de reacción (figura 10).



Figura 10. Reducción del DPPH transcurridas 3 horas y media.

Una vez obtenidos los valores de absorbancia a tiempo inicial y tras las 3 horas y media, se procede a calcular la cantidad de DPPH que no reacciona (%DPPH_{remanente}, ecuación 3), empleando la curva de calibrado $y = 11,324x - 0,0038$ (Freitas et al., 2020) para cada una de las concentraciones. En la tabla 7 podemos observar los cálculos mencionados anteriormente para el caso del extracto obtenido a partir del residuo de chufa (RS+M).

Tabla 7. Ejemplo de valores de absorbancia a 515 nm obtenidos a tiempo inicial ($A_{t=0}$) y tras 3h y media de reacción (A_t) para el extracto obtenido a partir del residuo de chufa; Volúmenes de muestra y DPPH que se hacen reaccionar; % DPPH_{remanente}.

V_{extracto} (mL)	V_{DPPH} (mL)	mg Residuo Seco/mg DPPH	A_{t=0}	A_t	%DPPH_{remanente}
0,00	4,00	0,00	0,723	0,710	100,0
0,10	3,90	71,70	0,709	0,635	89,6
0,20	3,80	147,18	0,638	0,536	84,1
0,30	3,70	226,73	0,627	0,476	76,1
0,40	3,60	310,70	0,583	0,397	68,2
0,50	3,50	399,48	0,544	0,322	59,5
0,60	3,40	493,47	0,521	0,261	50,4
0,70	3,30	593,16	0,478	0,209	44,2

Una vez realizados los cálculos, se representó el %DPPH_{remanente} frente a la proporción de residuo de chufa seco (RS+M) por cantidad de DPPH en el extracto (figura 11). Estos datos se ajustaron a un polinomio para poder obtener el valor del parámetro EC₅₀ (mg residuo/mg DPPH) y conocer así la cantidad de residuo necesario para reducir el DPPH inicial al 50%. En el caso de la película evaluada (RS:A), el parámetro EC₅₀ se expresó también en mg residuo/mg DPPH, teniendo en cuenta la cantidad de residuo de chufa seco presente en el film.

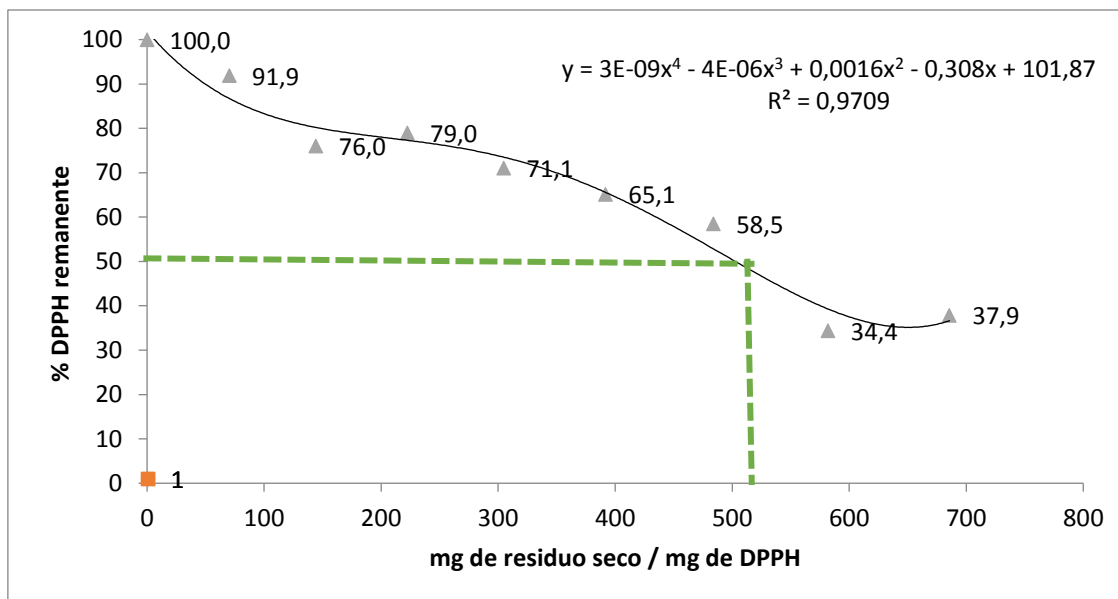


Figura 11. Porcentaje de DPPH que no reacciona al llegar a la estabilidad de la reacción frente a los mg de residuo/mg de DPPH.

Para este caso, sustituyendo el valor de $Y=50$ para la ecuación obtenida en la gráfica de la figura 11, el valor obtenido de X es 508,9. Este proceso se repite de la misma forma para las demás repeticiones y para el film.

En la Tabla 6 podemos observar los valores medios de EC_{50} correspondientes a los extractos obtenidos a partir del residuo de chufa seco, molido y tamizado (RS) y a partir del film evaluado (RS:A). Como se puede observar, tanto el residuo como el film exhibieron cierta actividad antioxidante, aunque baja en comparación con la de compuestos fenólicos puros (EC_{50} de extracto de tomillo es de 0,65 mg compuesto/mg DPPH) (Talón et al, 2017).

Si comparamos el EC_{50} del residuo y del film, podemos afirmar que la capacidad antioxidante del film con residuo de chufa fue significativamente mayor (EC_{50} menores) ($p < 0,05$) a la del propio residuo. Esta diferencia no puede atribuirse únicamente al contenido de compuestos fenólicos (resultados en apartado 4.3.), sino que podría ser debido a la formación de los denominados productos de la reacción de Maillard (PRM) con actividad antioxidante (Tagliazucchi et al., 2010), como las melanoidinas, durante el proceso de termoformado del film. Las temperaturas altas alcanzadas en dicho proceso pueden promover la formación de dichos compuestos. Esta reacción se origina, típicamente, en matrices ricas en proteínas y azúcares reductores.

Para validar esta hipótesis, se midió la capacidad antioxidante (EC50) de una mezcla de almidón, glicerol y residuo de horchata (en las mismas proporciones que las usadas en el film) calentada en un horno a 150°C durante 18 min, con el fin de simular las condiciones de tiempo y temperaturas empleadas en el proceso de termoformado del film. El valor de EC50 obtenido en este caso fue intermedio entre los obtenidos anteriormente (334 ± 5 mg residuo/mg DPPH) y significativamente inferior ($p < 0,05$) al del residuo de chufa y por tanto, con mayor actividad antioxidante. Por tanto, la contribución de los PRM a la capacidad antioxidante total de la película puede jugar un papel importante y debe ser tenida en cuenta en los resultados.

5.- CONCLUSIONES

La molienda del residuo dio lugar a distribuciones de partícula bimodales con menor tamaño que el residuo original sin que se viera afectado su color. El análisis composicional mostró que el componente mayoritario del residuo es la fibra (61%), seguido de la grasa (13%), proteína (9%) y almidón (15%), componentes interesantes para su incorporación a material de envasado. Además, presentó una proporción considerable de compuestos fenólicos (49 mg GAE/100 g residuo) que le confieren capacidad antioxidante. Dicha actividad antioxidante fue de 552 mg residuo/mg DPPH expresada en términos de EC50.

El film de almidón con residuo de horchata presentó una capacidad antioxidante significativamente mayor que el residuo, como consecuencia de la presencia del residuo y de compuestos de Maillard producidos durante la elaboración del film en presencia del residuo. Todas estas propiedades hacen del residuo de horchata un producto adecuado para poder ser utilizado en la producción de films biodegradables con carácter antioxidante, tal y como ha sido verificado en los ensayos realizados con el film a base de almidón. La incorporación del residuo en la producción de estos films podría contribuir a revalorizar este subproducto, a la vez que abarata los costes de producción de los films, en coherencia con un sistema de producción más sostenible y los principios de una economía circular.

6.- REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADEL, A. A.M., AWAD, A.M., MOHAMED, H. H., & IRYNA, S. (2015). Composición química, propiedades fisicoquímicas y perfil de ácidos grasos del aceite de semilla de nuez de tigre (*Cyperus esculentus* L) afectado por diferentes métodos de preparación. *International Food Research Journal*, 22(5).

AGUILAR, N., ALBANELL, E., MIÑARRO, B., GUAMIS, B., & CAPELLAS, M. (2015). Effect of tiger nut-derived products in gluten-free batter and bread. *Food Science and Technology International*, 21(5), 323-331.

ALAVA PINCAY, C. L. (2018). *Utilización del subproducto de la horchata en la elaboración de productos con base de harina de trigo (chips, pizzas y panes)* (Doctoral dissertation, Universitat Politècnica de València).

BADEJO, A. A., DAMILARE, A., & OJUADE, T. D. (2014). Processing effects on the antioxidant activities of beverage blends developed from *Cyperus esculentus*, *Hibiscus sabdariffa*, and *Moringa oleifera* extracts. *Preventive nutrition and food science*, 19(3), 227.

BENITO-GONZÁLEZ, I., LÓPEZ-RUBIO, A., & MARTÍNEZ-SANZ, M. (2019). High-performance starch biocomposites with cellulose from waste biomass: Film properties and retrogradation behaviour. *Carbohydrate polymers*, 216, 180-188.

BRAND-WILLIAMS, W., CUVELIER, M. E., & BERSET, C. L. W. T. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food science and Technology*, 28(1), 25-30.

COŞKUNER, Y., ERCAN, R., KARABABA, E., & NAZLICAN, A. N. (2002). Physical and chemical properties of chufa (*Cyperus esculentus* L) tubers grown in the Çukurova region of Turkey. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 82(6), 625-631.

CRDO. 2014. Consejo Regulador de la Denominación de Origen Chufa de Valencia. Horchata de Chufa de Valencia.

CRUZ-TIRADO, J. P., VEJARANO, R., TAPIA-BLÁCIDO, D. R., ANGELATS-SILVA, L. M., & SICHE, R. (2019). The addition of sugarcane bagasse and asparagus peel enhances the properties of sweet potato starch foams. *Packaging Technology and Science*, 32(5), 227-237.

DILUCIA, F., LACIVITA, V., CONTE, A., & NOBILE, M. A. D. (2020). Sustainable use of fruit and vegetable by-products to enhance food packaging performance. *Foods*, 9(7), 857.

ESPAÑA, B. P. (2002). La chufa (*Cyperus esculentus* L. Var. *Sativus* Boeck.): un cultivo típicamente valenciano. *Agricultura: Revista agropecuaria y ganadera*, (838), 294-298.

FERRENTINO, G., ASADUZZAMAN, M., & SCAMPICCHIO, M.M. (2018). Tecnologías actuales y nuevos conocimientos para la recuperación de compuestos de alto valor de subproductos de frutas. *Revisiones críticas en ciencia y nutrición de los alimentos*, 58(3), 386-404.

FRANCIS, F. J., & CLYDESDALE, F. M. (1975). *Food colorimetry: theory and applications*. AVI Publishing Co. Inc.

FREGA, N., CONTE, L. S., LERCKER, G., & CARNACINI, A. (1984). Composizione dei tubercoli di *Cyperus esculentus*. *La Rivista della Società Italiana di Scienza dell'Alimentazione*, 13(3), 211-214.

FREITAS, P.A.V., GONZÁLEZ-MARTÍNEZ, C., & CHIRALT, A. (2020). Application of ultrasound pre-treatment for enhancing extraction of bioactive compounds from rice straw. *Foods*, 9, 1657.

GONZÁLEZ, A., GASTELÚ, G., BARRERA, G. N., RIBOTTA, P. D., & IGARZABAL, C. I. Á. (2019). Preparation and characterization of soy protein films reinforced with cellulose nanofibers obtained from soybean by-products. *Food Hydrocolloids*, 89, 758-764.

HASAN, S. R., HOSSAIN, M. M., AKTER, R., JAMILA, M., MAZUMDER, M. E. H., & RAHMAN, S. (2009). DPPH free radical scavenging activity of some Bangladeshi medicinal plants. *Journal of Medicinal plants research*, 3(11), 875-879.

KOWALSKA, H., CZAJKOWSKA, K., CICHOWSKA, J., & LENART, A. (2017). What's new in biopotential of fruit and vegetable by-products applied in the food processing industry. *Trends in Food Science & Technology*, 67, 150-159.

MORELL, J., & BARBER, S. (1983). Chufa y horchata: características físicas, químicas y nutritivas. *Caja de Ahorros de Valencia, Departamento de Investigación y desarrollo Agroindustrial. IATA. CSIC. Valencia.*

MOSQUERA, L. A., SIMS, C. A., BATES, R. P., & O'KEEFE, S. F. (1996). Flavor and stability of "horchata de chufas". *Journal of food science*, 61(4), 856-861.

OTONI, C. G., AVENA-BUSTILLOS, R. J., AZEREDO, H.M., LOREVICE, M. V., MOURA, M. R., MATTOSO, L. H., & MCHUGH, T. H. (2017). Avances recientes en películas comestibles basadas en frutas y verduras, una revisión. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 16(5), 1151-1169.

OZCELIK, B., LEE, J. H., & MIN, D. B. (2003). Effects of Light, Oxygen, and pH on the Absorbance of 2, 2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl. *Journal of Food Science*, 68(2), 487-490.

PARKER, M. L., NG, A., SMITH, A. C., & WALDRON, K. W. (2000). Esterified phenolics of the cell walls of chufa (*Cyperus esculentus* L.) tubers and their role in texture. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(12), 6284-6291.

PASCUAL, B., MAROTO, J. V., SAN BAUTISTA, A., ALAGARDA, J., Y LÓPEZ-GALARZA, S. (2002, marzo). Morphological and productive characteristics of nine "chufa" (*Cyperus esculentus* L. var. *sativus* Boeck.) clones. En *VI Simposio Internacional sobre Cultivo Protegido en Clima Templado invernal: Innovación de Productos y Procesos 614* (pp. 85-88).

PASCUAL, B., MAROTO, J.V., LÓPEZ GALARZA, S., ALAGARDA PARDO, J., CASTELL, V. (1997). El cultivo de la chufa (*Cyperus esculentus* L. var. *Sativus* Boeck). Estudios realizados. Generalitat Valenciana. Conselleria de Agricultura, Pesca y Alimentación. Serie Divulgativa técnica. Valencia.

PERICHE, A. (2007). Efecto de la temperatura y el pH en la rehidratación de chufa (*Cyperus esculentus*). Trabajo Fin de Grado, Grado en Ciencia y Tecnología de alimentos. UPV.

ROSELLÓ-SOTO, E., GARCIA, C., FESSARD, A., BARBA, F. J., MUNEKATA, P. E., LORENZO, J. M., & REMIZE, F. (2019). Nutritional and microbiological quality of tiger nut tubers (*Cyperus esculentus*), derived plant-based and lactic fermented beverages. *Fermentation*, 5(1), 3.

ROSELLÓ-SOTO, E.; BARBA, F.J.; PUTNIK, P.; KOVAČEVIC, D.B.; LORENZO, J.M.; CANTAVELLO-FERRERO, Y. 2018. Enhancing bioactive antioxidants' extraction from "Horchata de Chufa" by-products. *Foods*, 7, 161

SÁNCHEZ-ZAPATA, E., DÍAZ-VELA, J., PÉREZ-CHABELA, M. L., PÉREZ-ALVAREZ, J. A., & FERNÁNDEZ-LÓPEZ, J. (2013). Evaluation of the effect of tiger nut fibre as a carrier of unsaturated fatty acids rich oil on the quality of dry-cured sausages. *Food and bioprocess technology*, 6(5), 1181-1190.

SÁNCHEZ-ZAPATA, E., FERNÁNDEZ-LÓPEZ, J., & ANGEL PÉREZ-ALVAREZ, J. (2012). Tiger nut (*Cyperus esculentus*) commercialization: health aspects, composition, properties, and food applications. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 11(4), 366-377.

SÁNCHEZ-ZAPATA, E., FUENTES-ZARAGOZA, E., FERNANDEZ-LOPEZ, J., SENDRA, E., SAYAS, E., NAVARRO, C., & PÉREZ-ÁLVAREZ, J. A. (2009). Preparation of dietary fiber powder from tiger nut (*Cyperus esculentus*) milk ("Horchata") byproducts and its physicochemical properties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(17), 7719-7725.

SÁNCHEZ-ZAPATA, E., MUÑOZ, C. M., FUENTES, E., FERNÁNDEZ-LÓPEZ, J., SENDRA, E., SAYAS, E., ... & PÉREZ-ALVAREZ, J. A. (2010). Effect of tiger nut fibre on quality characteristics of pork burger. *Meat Science*, 85(1), 70-76.

SÁNCHEZ-ZAPATA, E., SAYAS-BARBERÁ, E., PÉREZ-ALVAREZ, J. A., & FERNÁNDEZ-LÓPEZ, J. (2013). The Effect of Replacing Water with Tiger Nut Milk (Horchata) Liquid Coproduct on the Physicochemical Properties and Oxidation (Haemopigments and Lipids) of a Cooked Pork Liver Meat Product. *Food Technology and Biotechnology*, 51(3), 422-428.

SÁNCHEZ-ZAPATA, E., VIUDA-MARTOS, M., FERNÁNDEZ-LÓPEZ, J., SENDRA, E., SAYAS, E., & PÉREZ-ALVAREZ, J. A. (2012). Reclaim of the by-products from “Horchata” elaboration process. *Food and Bioprocess Technology*, 5(3), 954-963.

SINGLETON, V. L., & ROSSI, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144-158.

TAGLIAZUCCHI, D., VERZELLONI, E., & CONTE, A. (2010). Effect of dietary melanoidins on lipid peroxidation during simulated gastric digestion: their possible role in the prevention of oxidative damage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(4), 2513-2519.

TALÓN, E., TRIFKOVIC, K. T., NEDOVIC, V. A., BUGARSKI, B. M., VARGAS, M., CHIRALT, A., & GONZÁLEZ-MARTÍNEZ, C. (2017). Antioxidant edible films based on chitosan and starch containing polyphenols from thyme extracts. *Carbohydrate polymers*, 157, 1153-1161.

UMERIE, S. C., OBI, N. A. N., & OKAFOR, E. O. (1997). Isolation and characterization of starch from *Cyperus esculentus* tubers. *Bioresource technology*, 62(1-2), 63-65.

VERDÚ, S.; BARAT, J.M.; ALAVA, C.; GRAU, R. 2017. Effect of tigernut (*Cyperus esculentus*) milk co-product on the surface and diffusional properties of a wheat-based matrix. *Food Chemistry*, 224, 69–77.

XIE, Y., NIU, X., YANG, J., FAN, R., SHI, J., ULLAH, N., ... & CHEN, L. (2020). Active biodegradable films based on the whole potato peel incorporated with bacterial cellulose and curcumin. *International journal of biological macromolecules*, 150, 480-491.

PÁGINAS WEBS CONSULTADAS

<http://www.arthurleej.com/p-o-m-nov04.html>

<http://www.mapa.es/es/estadística/pags/anuario/introducción.htm>

<https://bebidadechufa.com/tipos-de-horchata/>

http://www.elconfidencial.com/alma-corazon-vida/2015-11-26/la-revolucion-de-la-chufa-de-cultivo-marginal-a-lucrativo-superalimento_1106048/