

**UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN
FACULTAD DE AGRONOMÍA**



**DESARROLLO DE UN BIOESTIMULANTE DE ORUJO
DE UVA BLANCA A TRAVÉS DE SECADO POR ASPERSIÓN**

POR

MARÍA PAZ MORENO FUENTES

**MEMORIA PRESENTADA A LA
FACULTAD DE AGRONOMÍA DE LA
UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN PARA
OPTAR AL TÍTULO DE INGENIERO
AGRÓNOMO.**

**CONCEPCIÓN – CHILE
2024**

**UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN
FACULTAD DE AGRONOMÍA**

**DESARROLLO DE UN BIOESTIMULANTE DE ORUJO
DE UVA BLANCA A TRAVÉS DE SECADO POR ASPERSIÓN**

POR

MARÍA PAZ MORENO FUENTES

**MEMORIA PRESENTADA A LA
FACULTAD DE AGRONOMÍA DE LA
UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN PARA
OPTAR AL TÍTULO DE INGENIERO
AGRÓNOMO.**

**CONCEPCIÓN – CHILE
2024**

Aprobada por:

Profesora Asociada, María Dolores López B.
Lic. Química, Dr.

Guía

Profesor Asistente, Guillermo Pascual A.
Ing. Agrónomo, Mg. Cs., Dr.

Asesor

Profesor Asociado, Ignacio Marcelo Serra S.
Ing. Agrónomo, MSc, PhD

Asesor

Profesor Asociado, Guillermo Wells M.
Ing. Agrónomo, Mg. Cs.

Decano

RECONOCIMIENTO

Proyecto “Aplicación de tecnologías limpias para la obtención de ingredientes bioactivos, seguros y sostenibles, procedentes de subproductos vitivinícolas” – FOVI230048 (ANID)

TABLA DE CONTENIDOS

	Página
Resumen.....	1
Summary.....	1
Introducción.....	2
Materiales y métodos.....	5
Resultados y discusión.....	10
Conclusiones.....	13
Referencias.....	13

ÍNDICE DE FIGURAS Y TABLAS

	Página
Figura 1 Esquema del Proceso de secado por aspersión.....	5
Tabla 1 Formulación de los tratamientos realizados.....	8
Tabla 2 Distribución correspondiente de los distintos tratamientos en brotes de Raps mediante aplicación de bioestimulante.....	8
Tabla 3 Ensayos de actividad antioxidante, DPPH y polifenoles totales.....	10
Tabla 4 Ensayo de HPLC para identificación de polifenoles totales en orujo y bioestimulante.....	11
Tabla 5 Ensayo de cromatógrafo de gases para identificación de terpenos.....	12
Tabla 6 Crecimiento de los brotes de raps en respuesta a los 4 tratamientos realizados, peso fresco y peso seco.....	12

DESARROLLO DE UN BIOESTIMULANTE DE ORUJO DE UVA BLANCA A TRAVÉS DE SECADO POR ASPERSIÓN

DEVELOPMENT OF BIOSTIMULANT BASED ON WHITE GRAPE POMACE THROUGH SPRAY-DRYING

Palabras índice adicionales: Bioestimulante, residuos, secado por aspersión, maltodextrina, polifenoles, terpenos.

RESUMEN

Los bioestimulantes son sustancias que estimulan el crecimiento y desarrollo de las plantas. Existen subproductos vegetales, que contienen metabolitos secundarios los cuales pueden ser una fuente importante de bioestimulación natural hacia la planta. Para ello, se trabajó con orujo de uva blanca, ya que es considerado una rica fuente de compuestos terpénicos, y se encapsuló, utilizando maltodextrina como material encapsulante a través de un secado por aspersión. Se midieron características químicas del orujo y del bioestimulante encapsulado, como polifenoles totales, terpenos y actividad antioxidante. Finalmente, se realizó un ensayo del bioestimulante en plantas de raps. Los resultados obtenidos reflejaron que al encapsular el orujo hay un aumento de la actividad antioxidante de 998,38 a 1228,38 $\mu\text{mol Trolox } 100 \text{ g}^{-1}$ y hay una respuesta en el crecimiento de los brotes de raps. Estos resultados respaldan la eficacia de la bioestimulación como una estrategia prometedora para mejorar el crecimiento de los brotes de raps y da inicio a futuras investigaciones, sobre el uso de subproductos de la vid para el diseño de bioestimulantes.

SUMMARY

Biostimulants are substances that stimulate the growth and development of plants. There are by-products of plant that contain secondary metabolites, which can serve as an important source of natural biostimulation for plants. For this study, white grape pomace was used, as it is considered a rich source of terpenic compounds. It was encapsulated using maltodextrin as the encapsulating material through a spray-drying process. Chemical characteristics of the pomace and the encapsulated biostimulant were measured, including total polyphenols, terpenes, and antioxidant activity. Finally, a trial of the biostimulant was conducted on rapeseed plants. The results showed that encapsulating the pomace increased antioxidant activity from 998.38 to 1228.38 $\mu\text{mol Trolox } 100 \text{ g}^{-1}$, and there was a positive response in the growth of the rapeseed

sprouts. These findings support the efficacy of biostimulation as a promising strategy to enhance the growth of rapeseed sprouts and initiate future research on the use of winery by-products for the design of biostimulants.

INTRODUCCION

Las uvas son uno de los cultivos frutales convencionales más cultivados y valorados, desde hace miles de años, produciendo un elevado impacto económico a nivel mundial. De acuerdo con la OIV (International Organisation of Vine and Wine) en los últimos años la producción de vino a nivel mundial se ha mantenido en alrededor de 26 millones de hectolitros anuales. La superficie de vides para vinificación en Chile alcanzó 129.016,5 hectáreas durante el año 2022. El 73,63% de la superficie de cultivo de uva vinífera a nivel nacional corresponde a variedades tintas y un 26,37% a variedades blancas. La mayor superficie plantada corresponde a Cabernet sauvignon con 37.207,05 ha (28,84% del total plantado), le sigue Sauvignon blanc con 14.456,90 ha (11,21%), Merlot con 10.651,51 ha (8,26%), País 10.385,15 ha (8,05%), Carmenere con 10.219,62 ha (7,92%) y Chardonnay 10.205,51 ha (7,91%) (ODEPA, 2023).

Durante el proceso de elaboración del vino se generan diversas y grandes cantidades de subproductos. Dentro de estos residuos, el orujo representa el mayor subproducto sólido, representando hasta un 30% del peso total de las uvas producidas en los viñedos y se estima que por cada 6 litros de vino elaborado se obtiene 1 kilo de orujo de uva.

El orujo de uva también se considera una fuente económica de fitoquímicos que se aplican posteriormente en la alimentación animal, la cosmética, la industria farmacéutica y la industria alimentaria (Sirohi et al., 2020). El principal residuo seco son las semillas de uva, que representan entre el 38 y el 52% del peso total de los residuos sólidos, seguido de las pieles, que representan alrededor del 5 al 10% de los residuos, y el resto es pulpa residual y tallos. Estos residuos de bodega, considerados como orujos de uva, representan aproximadamente el 20% del peso total de la uva procesada, dando lugar a más de 9 Mt de residuos anuales (Cañadas et al., 2024). En el caso del orujo de uva blanca, este es el resultado del prensado de uvas en la elaboración de vino blanco antes de la fermentación (López-Astorga et al., 2023).

Dentro del orujo de uva se encuentran parte de las semillas que contienen altos contenidos de ácidos grasos insaturados (como el oleico y linoleico) y compuestos fitoquímicos (como compuestos fenólicos o terpenoides) en su piel (Sirohi et al., 2020b). A su vez, la pulpa aporta el agua que constituye entre un 80-90 % del volumen del vino y componentes mayoritarios del metabolismo primario como son los azúcares glucosa y fructosa y los ácidos orgánicos, fundamentalmente el ácido málico y tartárico (Acenología, 2022). El orujo de uva blanca suele contener una buena fuente de taninos, polifenoles representativos como la (+)-catequina y la (-)-epicatequina (Onache et al., 2022), compuestos volátiles como alcoholes (1-hexanol), fenoles (alcohol bencílico), terpenos (geraniol), entre otros (Liang et al., 2020).

Actualmente, se han diseñado nuevos bienes desde los subproductos de la vinificación, que pueden ser valorizados a diferentes industrias y entre los cuales encontramos los bioestimulantes. Los bioestimulantes son sustancias o mezcla de sustancias o microorganismos, aplicables a semillas, plantas o rizósfera, que estimulan los procesos naturales de nutrición de las plantas, con el objeto de mejorar la eficiencia en el uso de nutrientes, la tolerancia al estrés abiótico, los atributos de calidad, o la disponibilidad de nutrientes inmovilizados en el suelo o en la rizósfera (Ley Chilena 21349, 2023). Los bioestimulantes son sustancias derivadas de fuentes naturales, que, a diferencia de los fertilizantes, no aportan directamente nutrientes a las plantas. En cambio, mejoran la absorción de nutrientes, por lo tanto, reducen la necesidad de aplicar fertilizantes. La bioestimulación se puede entender como la inducción para promover o retrasar un proceso fisiológico, lo que implica la aplicación de productos con dicho fin, integrados con prácticas de manejo de suelo o del follaje que faciliten el adecuado crecimiento y desarrollo de la planta, que son compatibles con sistemas agroecológicos sustentables, ya que permiten mantener un equilibrio dinámico intrapredial (Morales-Carmen Gloria et al., 2017).

Las principales fuentes de bioestimulantes incluyen microorganismos (bacterias, levaduras y hongos), algas (principalmente algas marinas), hidrolizados de proteínas y aminoácidos, derivados de quitina y quitosano, sustancias húmicas, extractos de residuos y compost, y extractos de partes superiores de las plantas (semillas, hojas y raíces).

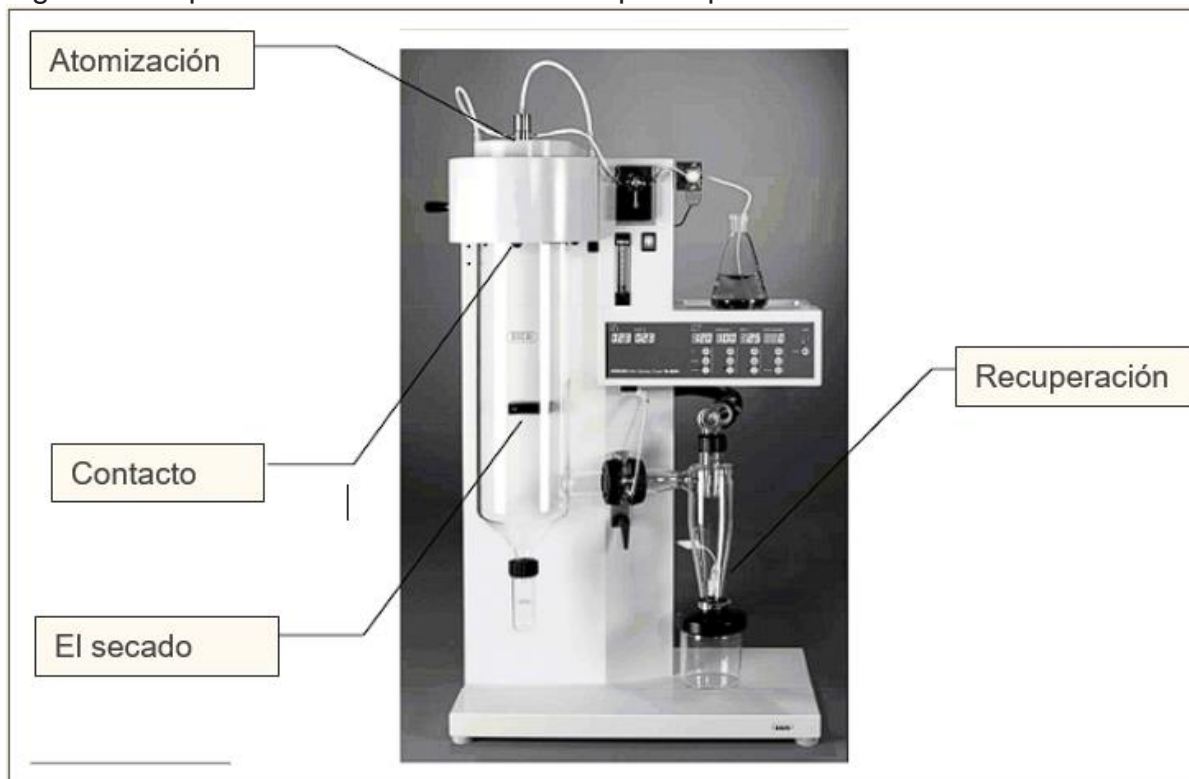
Un ejemplo de bioestimulante, son los extractos de algas marinas, especialmente las de las algas pardas *Ascophyllum nodosum*, las que están disponibles comercialmente y han logrado un uso cada vez mayor y extensivo en la agricultura debido a sus efectos bioestimulantes significativos en la absorción de nutrientes de las plantas, la tolerancia al estrés y la calidad del producto (Kisirico et al., 2021).

Los subproductos de alimentos son una rica fuente de compuestos bioactivos y pueden ser usados para el desarrollo de bioestimulantes. Con el fin de proteger los compuestos bioactivos obtenidos a partir de los residuos de la uva y evitar su degradación con el tiempo, se han desarrollado técnicas de encapsulación que aseguran su estabilidad. Entre ellas, el secado por aspersion o atomización (spray-drying) ha sido ampliamente utilizado para la encapsulación y producción a gran escala, ya que es económico, adaptable y logra obtener un resultado de excelente calidad. El proceso de secado por atomización es una operación básica que consiste en la transformación de una suspensión o disolución en un material seco particulado, mediante la atomización del primero en un medio caliente y seco (Mondragón et al., 2013). El proceso genera estabilidad y protección a los compuestos bioactivos al actuar como barrera física y permitir liberaciones lentas. En cuanto a la pérdida de contenido bioactivo, la alta temperatura en el proceso es el principal inconveniente, por lo que es necesario optimizar el proceso, mientras que se debe estudiar las propiedades y la bioactividad del ingrediente final (López-Belchí et al., 2021).

El proceso de secado por atomización, se puede dividir en cuatro etapas: Atomización del contenido en gotas, contacto de las gotas con aire caliente, secado de las gotas hasta obtener el contenido de humedad requerido y la recuperación del producto seco. La atomización implica la disolución del líquido en millones de gotitas, formando un rocío (Figura 1).

Para la encapsulación es necesario tener un material encapsulante, como por ejemplo la maltodextrina. Las maltodextrinas de diferentes equivalentes de dextrosa (DE) se utilizan comúnmente como ingrediente de la matriz por su alta solubilidad en agua, baja viscosidad, bajo contenido de azúcar y sus soluciones son incoloras. Estas propiedades las convierten en los materiales portadores o de pared más utilizados en la microencapsulación (Mahdavi et al., 2016).

Figura 1. Esquema del Proceso de secado por aspersion.



Fuente: Seville et al., 2007

Como se mencionó anteriormente, el orujo de uva tiene una gran cantidad de compuestos bioactivos con potencialidad para una reutilización. Es por esto que, se plantea la hipótesis de que un ingrediente enriquecido en compuestos volátiles y terpénicos de orujo de uva blanca encapsulados por secado por aspersion promueven el crecimiento vegetal. El objetivo de este trabajo fue desarrollar un bioestimulante mediante secado por atomización a base de orujo de uva blanca que promoviera el crecimiento vegetal, identificando compuestos volátiles y terpénicos y evaluando su eficacia a través de la bioestimulación de un ensayo con raps "*Brassica napus* L."

MATERIALES Y METODOS

El orujo de uva Chardonnay, se colectó en la estación experimental el Nogal Universidad de Concepción, Chillan, Región de Ñuble, (36°35'51.1"S 72°04'50.6"O) en la temporada 2024. El orujo se conservó a -80°C hasta análisis en el laboratorio BIOINVE (Laboratorio de Compuestos e Ingredientes Bioactivos de Plantas, Facultad de Agronomía, Universidad de Concepción, Concepción, Chile).

Preparación y producción de bioestimulante de orujo por secado por atomización.

Para llevar a cabo el procedimiento de encapsulación en un balón se depositaron 500

g de orujo de uva Chardonnay y 500 mL de agua tipo II. Posteriormente se realizó una hidrodestilación a través de un equipo Clevenger, para obtener los hidrolatos y aceites esenciales durante 5 horas aproximadamente, logrando 57,5 mL de hidrolatos con aceite esencial (5,75%). Por otra parte, se añadió 20 g de maltodextrina (MD) mezclado con 100 mL de agua tipo I (Maltodextrina al 20%) y se mezcló con los hidrolatos y aceite esencial extraídos anteriormente agitándose a 300 rpm. El polvo se obtuvo mediante un proceso de secado por atomización utilizando un Mini Spray Dryer—B290 (BÜCHI, Flawil, Suiza). La mezcla se hizo pasar por el secador por atomización con un caudal de 4 mL min⁻¹. La temperatura de entrada se mantuvo a 110°C, mientras que la temperatura del aire de salida fue de 53°C. El polvo seco se recolectó y almacenó en un recipiente para su posterior análisis. Se realizaron dos tratamientos (MD y MD+hidrolatos) y cada tratamiento se repitió 4 veces en un diseño completamente al azar.

Extracción de antioxidantes y fenoles totales del orujo de uva y bioestimulante.

Tanto al orujo como al bioestimulante se extrajeron los compuestos fenólicos. Se pesaron 0,1 gramos de bioestimulante y se trató con 1 mL de metanol/agua/ácido fórmico (50:49:1). El orujo inicial también fue analizado a partir de una homogenización de 50 g donde se pesaron tres muestras de 0,5 g dejándolas en tubos de centrífuga, agregándoles 0,5 mL de metanol/agua/ácido fórmico (50:49:1). Las soluciones se llevaron a ultrasonido marca BRANSON 5800 durante 1 hora, luego quedaron por 24 horas a -23°C, y al día siguiente se volvió a sonicar durante 1 hora, para finalmente llevarlo a la centrifuga marca L-535R a 1000 rpm durante 8 min.

Finalmente se trabajó con el sobrenadante, el cual se filtró y se mantuvieron en tubos Eppendorf para realizarles distintas evaluaciones.

Cuantificación de compuestos fenólicos y propiedades antioxidantes del orujo y bioestimulante

Los compuestos fenólicos fueron identificados y cuantificados a partir de sus estándares, tiempo de retención y espectro de absorción por HPLC-DAD (Hitachi, MERCK, Darmstadt, Alemania), donde las muestras fueron filtradas y se tomaron 25 µL e inyectadas en el equipo HPLC. Se utilizó una columna Chromolith RP-18 (Merck Millipore) con fase móvil compuesta por ácido fórmico al 1% (A) y acetonitrilo (B). Los resultados obtenidos se expresaron en mg 100 g⁻¹ de peso seco.

En cuanto a los polifenoles totales, se determinaron utilizando el método de Folin Ciocalteu para microplaca (Gu *et al*, 2019). Primero se preparó una curva de calibración de ácido gálico como estándar y además se preparó carbonato de sodio al 10 %. Posteriormente se agregaron 25 μL de muestra a la microplaca, luego 25 μL del reactivo de Folin Ciocalteu 0,5 N y 200 μL de agua destilada tipo I y se dejó un blanco el que fue sustituido por agua destilada. Se midió en un lector de microplacas (Microplate reader 800-TS, Biotek, Winooski, VT, EE.UU). La muestra fue agitada por 30 segundos, y después se incubaron a 25 °C durante 5 minutos. Pasados los 5 minutos se le agregó 25 μL de carbonato de sodio, y se incubó por 1 hora a 25°C. Los resultados se expresaron en mg ácido gálico 100 g⁻¹ de muestra.

La capacidad antioxidante se determinó mediante ensayos de DPPH con el método del 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (Gu *et al*, 2019), en donde se preparó una curva de calibración, preparando una solución patrón, donde se disolvieron 0,0125 gramos de Trolox en 50 mL de metanol al 80 %. Se utilizó el sobrenadante anteriormente realizado. A cada pocillo se le aplicó 25 μL de muestra, luego se adiciono 200 μL de solución DPPH, posteriormente se puso en el lector el cual lo agitó por 30 segundos y lo incubó a 25 °C por 30 minutos. Además, se volvió a agitar antes de la lectura a 517 nm. Se colocó un blanco que llevo 250 μL de metanol (MeOH) y otro con 250 μL de DPPH. Los resultados se expresaron en μmol trolox 100 g⁻¹ de muestra.

Extracción y Determinación de terpenos.

Para la extracción de terpenos, se pesaron 2 g de muestra deshidratada o liofilizada, transfiriéndolo a un papel filtro blanco (Whatman 40). Este se depositó en un tubo de extracción de Soxhlet, y se adicionó 200 mL de éter de petróleo, dejándolo en el manto calefactor por 5 horas. Luego de ese tiempo, se rotaevaporó y se le agregó 1 mL de hexano. Se agregaron 200 μL de extracto etéreo, 1 mL de hexano y 10 mL de solución HCL 5% en metanol. Se calentó a 70°C por 2 horas en reflujo. Transcurridas las 2 horas, se agregaron 2 mL de agua tipo 1 y se dejó reposar por 10 min. Luego se le agregaron 2 mL de hexano donde se separaron las fases y se eliminó el solvente de la fase orgánica. Finalmente se analizó por cromatografía gaseosa (CG-FID YL 6500, YL Instruments, Seúl, Corea) para ver los compuestos volátiles y terpenos del orujo.

La determinación de compuestos volátiles del bioestimulante, se realizó por determinación de aromas donde se mezcló 1 g de bioestimulante con 3 mL de cloruro

de sodio (NaCl) con la ayuda de un homogenizador durante 10 min. La muestra se agitó a 360rpm, con 40°C durante 30 min, con una fibra de microextracción en fase sólida (SPME), que se expuso al espacio de cabeza para absorber volátiles. Se hizo la desorción en el equipo de cromatógrafo de gases (CG-FID YL 6500, YL Instruments, Seúl, Corea) durante 2 min y se identificaron los compuestos volátiles.

Bioensayo en planta

Para evaluar la capacidad de bioestimulante del producto encapsulado se realizó un ensayo en plantas de raps. Se realizaron 4 tratamientos (Tabla 1), para la realización del experimento.

Tabla 1. Formulación de los tratamientos realizados.

Tratamientos	MD	Orujo
T1	20%	-
T2	20%	5,75%
T3	-	1g
T4	-	-

MD: Maltodextrina; T: Tratamiento; 20 % de maltodextrina: 20 g en 100 mL de agua tipo I.

Por cada tratamiento se realizaron 4 repeticiones. El estudio se realizó con un diseño completamente al azar (Tabla 2).

Tabla 2. Distribución correspondiente de los distintos tratamientos en brotes de Raps mediante aplicación de bioestimulante.

Repetición 1	Repetición 2	Repetición 3	Repetición 4
MD	O+MD	O	CR
O	CR	MD	O+MD
CR	O	O+MD	MD
O+MD	MD	CR	O

CR: Control; MD: Maltodextrina al 20%; O+MD: 57,5 mL de hidrolato con aceite esencial de orujo y maltodextrina al 20%; O: 1g de orujo.

La investigación se llevó a cabo en una cámara de crecimiento en el laboratorio BIOINVE de la Universidad de Concepción, campus Concepción. Las macetas se

trasladaron a una cámara de ambiente controlado con un ciclo de fotoperiodo de 16:8 y temperatura del aire de 20 °C (18° C noche). La humedad relativa (HR) fue del 60%. Primero se aproximó un cálculo de la pérdida de agua en el sustrato (Fibra de coco) en estas condiciones de crecimiento, por ende, se aplicaron en la cámara 3 macetas con fibra de coco y se agregó agua hasta su saturación. Se fue midiendo la pérdida de peso después de 2 días y se calculó cuánta agua perdía, teniendo así nuestro 100%. Las semillas de Raps (*Brassica napus* L.) se obtuvieron de Semillería CisAgro. Las semillas se remojaron en 5 g L⁻¹ de hipoclorito de sodio durante 24 horas. Las semillas se esparcieron en macetas (1 g por maceta), sobre el sustrato.

Durante los tres primeros días, todas las bandejas se mantuvieron en condiciones de oscuridad controlada con papel aluminio para fomentar su germinación. Posteriormente, cada dos días se repuso el 100% de agua hasta llegar al día 30, donde los brotes fueron cortados y pesados para su análisis.

El día 5 y 15 se le colocó 1 g de bioestimulante, orujo, maltodextrina y el control (sin aplicación) a los respectivos tratamientos. El ensayo se recolectó el día 30 y se realizaron las posteriores evaluaciones.

Desarrollo de longitud y biomasa

La longitud del brote se determinó midiendo con una regla la distancia entre la base del hipocótilo y el ápice de 10 brotes de raps de cada tratamiento y luego se calculó un promedio por tratamiento. Por otra parte, se calculó al inicio el peso fresco promedio (g) mediante una balanza digital y posteriormente se liofilizaron las muestras mediante un equipo liofilizador (OPERON, Corea) para registrar el peso seco (g).

Análisis estadístico

Los resultados de las muestras se analizaron mediante el análisis de varianza (ANDEVA), para determinar las diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos ($P \leq 0,05$), a través de la comparación de medias efectuado por la prueba de Tukey. Previamente, se comprobaron los supuestos del análisis de varianza, con la prueba de Shapiro-Wilk para la distribución normal y la prueba de Levene para homogeneidad de varianzas.

Los resultados se analizaron utilizando el software Infostat.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Con la extracción de hidrolatos y aceites esenciales, se logró obtener 57,5 mL lo que equivale a 5,75% del total. Este se mezcló con maltodextrina al 20 % y fue secado por aspersión. Luego del secado por aspersión, se recolectó el bioestimulante, el cual se obtuvo 10,8819 g.

Polifenoles totales y capacidad antioxidante de orujo y bioestimulante.

En relación con los polifenoles totales, se observaron diferencias significativas, ya que su concentración disminuyó considerablemente tras el proceso de encapsulación del bioestimulante (Tabla 3). En cuanto a la actividad antioxidante medida mediante el ensayo DPPH, también se encontraron diferencias significativas después de la encapsulación registrándose un aumento en la actividad antioxidante. Aunque los polifenoles disminuyen, otros compuestos presentes en el orujo, como los terpenos y los ácidos grasos, contribuyeron a este incremento en la actividad antioxidante.

Tabla 3. Ensayos de actividad antioxidante, DPPH y polifenoles totales.

Tratamientos	PT (mg 100 g ⁻¹)	DPPH (μmol Trolox 100 g ⁻¹)
Orujo	43,38 A	998,38 B
Bioestimulante	7,46 B	1228,38 A

PT: Polifenoles totales; DPPH: Capacidad antioxidante; Letras distintas representan diferencias significativas entre tratamientos según prueba de Tukey ($P \leq 0,05$). Comparación dentro de la columna.

Otros autores (Akbarbaglu et al., 2021) demostraron un aumento en la actividad antioxidante tras el proceso de encapsulación, sin embargo, los formulados utilizados en su estudio eran diferentes de los propuestos en este ensayo, ya que emplearon otros materiales de encapsulación. En investigaciones adicionales (Rigon & Noreña, 2015) realizadas con jugo de mora, se observaron pérdidas de compuestos fenólicos durante el proceso de secado por atomización, que alcanzaron $10,039 \pm 162.5$ mg (GAE) 100 g⁻¹ en el jugo de mora, y 2,106.56 a 2,429.22 mg (GAE) 100 g⁻¹ en el encapsulado. Estas pérdidas podrían atribuirse a reacciones oxidativas y a las altas temperaturas utilizadas en el secado por aspersión, dado que algunos compuestos fenólicos son termolábiles. Asimismo, en otras investigaciones (Zhang et al., 2019), los compuestos fenólicos evaluados en polvo de arándano variaron de 5,416 a 8,219 GAE μg g⁻¹, y la recuperación de estos compuestos, utilizando diferentes materiales

de pared, mostró un aumento de entre 138 % y 216 %. Estos hallazgos son consistentes con una investigación previa que examinó la recuperación de compuestos fenólicos en jugos (de naranja, sandía, carambola y piña) encapsulados con un 20% de maltodextrina, utilizando el método de secado por aspersión (Saikia et al., 2015). Esta investigación reveló que el contenido de polifenoles en el polvo de naranja aumentó cuatro veces después del secado por aspersión, mientras que los otros tres polvos de frutas presentaron niveles de polifenoles totales similares o reducidos. Esto sugiere que las variaciones en los compuestos fenólicos durante el secado por aspersión pueden estar relacionadas con el tipo de jugo.

Se identificaron tentativamente doce compuestos fenólicos: siete ácidos fenólicos y derivados, dos flavan-3-ol y tres pertenecientes a otros grupos químicos (Tabla 4).

Al momento de realizar el encapsulado, se pierde gran parte de los compuestos encontrados, quedando solo 3-hidroxitirosol, siendo uno de los de mayor concentración en el orujo y que se mantuvo casi intacto después del encapsulado.

Tabla 4. Ensayo de HPLC para identificación de polifenoles totales en orujo y bioestimulante.

COMPUESTOS	Orujo mg 100 g ⁻¹	Bioestimulante mg 100 g ⁻¹
Ácidos fenólicos y derivados		
4-hidroxibenzoico	N.D	N.D
Ácido elágico	0,066 ± 0,050	N.D
Ácido gálico	0,892 ± 0,192 *	N.D
3-hidroxitirosol	2,979 ± 0,326	2,943 ± 0,170
p-tirosol	0,088 ± 0,028 *	N.D
Ácido vanílico	0,247 ± 0,147 *	N.D
3,4-dimetoxibenzil alcohol	3,585 ± 0,879 *	N.D
Vainillina	7,291 ± 0,120 *	N.D
2,6-dimetoxifenol	N.D	N.D
Flavan-3-ol		
Catequina	0,158 ± 0,185	N.D
Epicatequina	1,973 ± 2,758	N.D
Epigallocatequin galato	N.D	N.D
Otros		
5-HMF	0,419 ± 0,152 *	N.D
3,4 DHPglicol	2,408 ± 167 *	N.D
4 metilcatecol	3,550 ± 4,092	N.D

ND: No detectado. Resultados con * representan diferencias significativas entre tratamientos según prueba de Tukey ($P \leq 0,05$). Comparación dentro de cada fila.

En el análisis de terpenos, se encontraron 6 más relevantes: geraniol, linalool, terpineol, aristoleno, farnesol y fitol (Tabla 5). Son terpenos que se encontraban en mayor cantidad en el orujo de uva y se mantuvieron durante el proceso de encapsulación.

Tabla 5. Ensayo de cromatógrafo de gases para identificación de terpenos

Nombre del compuesto	Orujo	Bioestimulante	
Terpenos	Tiempo Retenc. [min]	Área [%]	Área [%]
Geraniol	7,947	1,7	8,5
Linalool	10,02	2,2	21
Terpineol	18,053	1,9	10,7
Aristoleno	43,635	2,7	2
Farnesol	49,063	12,9	9,9
Fitol	57,227	23,7	9,1
Área total		45,1	61,2

En un estudio realizado con la cepa chardonnay en Australia (Liang et al., 2020b), se encontraron 6 tipos de terpenos principalmente: linalool, β -ciclocitral, terpineol, carvona, nerol y geraniol, donde concuerdan con tres de los encontrados en este estudio.

Longitud y peso de brotes de raps.

Se evaluó la respuesta de los diferentes tratamientos (Orujo, Maltodextrina, Maltodextrina + Orujo y Control) en términos de peso (g) y longitud del brote (mm). Los resultados indicaron diferencias significativas entre los tratamientos con bioestimulante de orujo con maltodextrina y el control. El tratamiento con el bioestimulante mostró la mayor longitud de brotes, alcanzando un promedio de 30.55 mm (Tabla 6).

Tabla 6. Crecimiento de los brotes de raps en respuesta a los 4 tratamientos realizados, peso fresco y peso seco

Tratamientos	L Brotes(mm)	PF (g)	PS (g)
Control	27,30 B	8,10 A	2,55 A
Orujo	29,25 AB	7,95 A	2,55 A
MD+Orujo	30,55 A	6,85 A	2,43 A
MD	28,48 AB	7,03 A	2,50 A

L brotes: Longitud brotes; PF: Peso fresco; PS: Peso seco; MD: Maltodextrina. Letras distintas representan diferencias significativas entre tratamientos según prueba de Tukey ($P \leq 0,05$). Comparación entre filas

Según la tabla, se sugiere una respuesta positiva al bioestimulante en el desarrollo de los brotes. Sin embargo, en cuanto al peso fresco y peso seco, no se observaron diferencias significativas, ya que ambos se mantuvieron constantes en cada tratamiento.

En un estudio reciente sobre bioestimulantes comerciales y naturales (Toscano et al., 2023) aplicado a dos especies de brassicas, se determinó que no hubo efecto en el crecimiento de estas plantas, aunque sí se observó un impacto en su biomasa, tanto en peso fresco como seco, lo cual contrasta con los resultados de este experimento. En otro estudio que utilizó un bioestimulante a base de extracto de algas e isabion en brócoli (Iqbal et al., 2023), se registró una mejora del 11% en la altura de la planta, un aumento del 4% en el peso seco, del 7% en el área foliar y del 5% en el rendimiento total de la planta. Por otro lado, otros estudios realizados en raps (Kanwal et al., s. f.) mostraron que un bioestimulante a base de extracto de hoja de moringa promovió un aumento en el rendimiento, el crecimiento y las características bioquímicas y fisiológicas de la planta.

CONCLUSIONES

A partir de los resultados obtenidos se puede afirmar que:

1. El desarrollo de un bioestimulante a base de orujo de uva blanca a partir de secado por atomización es factible a temperaturas no tan elevadas.
2. Los compuestos fenólicos se pierden después del proceso de encapsulación, sin embargo, se observa una estabilidad del hidroxitirosol, mientras que la actividad antioxidante aumenta luego del encapsulado.
3. Los principales compuestos terpénicos encontrados se mantuvieron y se concentraron luego de ser encapsulado el orujo.
4. En cuanto al ensayo de bioestimulación se observó un aumento en la longitud del brote para el tratamiento bioestimulante.

REFERENCIAS

1. Acenología. (2022). Estructura y composición de la uva y su contribución al vino - Acenología. Acenología. Recuperado en: https://www.acenologia.com/estructura_composicion_vino_cienc1013/#:~:text=La%20pulpa%20aporta%20el%20agua,los%20%C3%A1cidos%20m%C3%A1lico%20y%20tart%C3%A1rico
2. Akbarbaglu, Z., Peighambardoust, S. H., Sarabandi, K., & Jafari, S. M. (2021). Spray drying encapsulation of bioactive compounds within protein-based carriers;

- different options and applications. *Food Chemistry*, 359, 129965. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129965>
3. Biblioteca del congreso nacional de Chile. 2023. Ley Chilena 21349. Título 1. disposiciones generales, Art 2. Recuperado en: <https://www.bcn.cl/leychile/navegar?idNorma=1162023>
 4. Cañadas, R., Díaz, I., Sánchez-Monedero, A., González, E. J., & González-Miquel, M. (2024). Green extraction of natural antioxidants from white grape waste using bio-renewable solvents and ultrasonic process intensification. *Chemical Engineering And Processing - Process Intensification*, 196, 109644. Recuperado en: <https://doi.org/10.1016/j.cep.2023.109644>
 5. Gu C, Howell K, Dunshea FR, Suleria HAR. LC-ESI-QTOF/MS Characterization of Phenolic Acids and Flavonoids in Polyphenol-Rich Fruits and Vegetables and Their Potential Antioxidant Activities. *Antioxidants (Basel)*. 2019 Sep 17;8(9):405. <doi: 10.3390/antiox8090405>.
 6. Iqbal, W., Ayyub, C. M., Jahangir, M. M., & Ahmad, R. (2023). Effect of foliar application of bio-stimulants on growth, yield and nutritional quality of broccoli. *Brazilian Journal Of Biology*, 83. Recuperado en: <https://doi.org/10.1590/1519-6984.263302>
 7. Kanwal, H., Shoaib, I., Noman, A., Maqsood, M. F., Naheed, R., Alzoubi, O. M., Hashem, M., Elnour, R., Alzuaibr, F. M., Khalid, N., Irshad, M. K., & Aqeel, M. (s. f.). *Biostimulant-mediated cellular repair by improving antioxidant dynamics and osmoregulation against metal stress in canola*. TÜBİTAK Academic Journals. <https://journals.tubitak.gov.tr/agriculture/vol48/iss4/9/>
 8. Kisiriko, M.; Anastasiadi, M.; Terry, L.A.; Yasri, A.; Beale, M.H.; Ward, J.L. Phenolics from Medicinal and Aromatic Plants: Characterisation and Potential as Biostimulants and Bioprotectants. *Molecules* 2021, 26, 6343. <https://doi.org/10.3390/molecules26216343>
 9. Liang, Z., Pai, A., Liu, D., Luo, J., Wu, J., Fang, Z., & Zhang, P. (2020). Optimizing extraction method of aroma compounds from grape pomace. *Journal Of Food Science*, 85(12), 4225-4240. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.15533>
 10. López-Astorga, M., Molina-Domínguez, C. C., Ovando-Martínez, M., & Leon-Bejarano, M. (2023). Orujo de Uva: Más que un Residuo, una Fuente de Compuestos Bioactivos. *EPISTEMUS*, 16(33). <https://doi.org/10.36790/epistemus.v16i33.283>
 11. López-Belchí, M. D., Caamaño, E. F., Pascual, G., Noriega, F., Fierro-Morales, P., Romero-Román, M. E., Jara, P., Schoebitz, M., Serra, I., & Moreno, D. A. (2021c). Spray-Dried Formulations Rich in Malvidin from Tintorera Grape Wastes: Characterization, Stability, and Storage. *Processes*, 9(3), 518. <https://doi.org/10.3390/pr9030518>
 12. Mahdavi, S. A., Jafari, S. M., Assadpoor, E., & Dehnad, D. (2016b).

- Microencapsulation optimization of natural anthocyanins with maltodextrin, gum Arabic and gelatin. *International Journal Of Biological Macromolecules*, 85, 379-385. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.01.011>
13. Mondragón, R., Julia, J. E., Barba, A., & Jarque, J. C. (2013). El proceso de secado por atomización: formación de gránulos y cinética de secado de gotas. *Boletín de la Sociedad Española de Cerámica y Vidrio*, 52(4), 159-168. <https://doi.org/10.3989/cyv.212013>
 14. Morales A., Carmen Gloria (ed.) (2017). Manual de manejo agronómico del arándano [en línea]. Villa Alegre, Chile: Boletín INIA - Instituto de Investigaciones Agropecuarias. no. 371. Disponible en: <https://hdl.handle.net/20.500.14001/6673>.
 15. Onache, P. A., Geana, E., 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>
 16. Palma, A. V. (2023, 22 diciembre). Boletín del vino, diciembre 2023. ODEPA | Oficina de Estudios y Políticas Agrarias. <https://www.odepa.gob.cl/publicaciones/boletines/boletin-del-vino-diciembre-2023#:~:text=La%20superficie%20de%20vides%20para,baja%20de%20aproximadamente%201.069%20hect%C3%A1reas>
 17. Peter C. Seville, Hao-ying Li, & Tristan P. Learoyd. (2007). Spray-Dried Powders for Pulmonary Drug Delivery. https://www.researchgate.net/publication/5653327_Spray-Dried_Powders_for_Pulmonary_Drug_Delivery
 18. Raquel Cañadas, Ismael Díaz, Andrea Sánchez-Monedero, Emilio J. González, María González-Miquel, Green extraction of natural antioxidants from white grape waste using bio-renewable solvents and ultrasonic process intensification, *Chemical Engineering and Processing - Process Intensification*, Volume 196, 2024, 109644, ISSN 0255-2701, <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0255270123003811>
 19. Rigon, R. T., & Noreña, C. P. Z. (2015). Microencapsulation by spray-drying of bioactive compounds extracted from blackberry (*rubus fruticosus*). *Journal Of Food Science And Technology*, 53(3), 1515-1524. <https://doi.org/10.1007/s13197-015-2111-x>
 20. Saikia, S., Mahnot, N. K., & Mahanta, C. L. (2014). Effect of Spray Drying of Four Fruit Juices on Physicochemical, Phytochemical and Antioxidant Properties. *Journal Of Food Processing And Preservation*, 39(6), 1656-1664. <https://doi.org/10.1111/jfpp.12395>
 21. Sirohi, R., Tarafdar, A., Singh, S., Negi, T., Gaur, V. K., Gnansounou, E., & Bharathiraja, B. (2020). Green processing and biotechnological potential of

grape pomace: Current trends and opportunities for sustainable biorefinery. *Bioresource Technology*, 314, 123771. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.123771>

22. Toscano, S., Romano, D., & Patanè, C. (2023). Effect of Application of Biostimulants on the Biomass, Nitrate, Pigments, and Antioxidants Content in Radish and Turnip Microgreens. *Agronomy*, 13(1), 145. <https://doi.org/10.3390/agronomy13010145>
23. Zhang, J., Zhang, C., Chen, X., & Quek, S. Y. (2019). Effect of spray drying on phenolic compounds of cranberry juice and their stability during storage. *Journal Of Food Engineering*, 269, 109744. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2019.109744>