

UNIVERSIDAD AUSTRAL DE CHILE

FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
ESCUELA DE INGENIERIA EN ALIMENTOS

**Elaboración de Vino de Arándano (*Vaccinium corymbosum*)
como Materia Prima para la Producción de Vinagre**

Tesis presentada como parte de los
requisitos para optar al grado de
Licenciado en Ciencia de los Alimentos

Pamela Soledad Scheihing Riquelme

VALDIVIA – CHILE

2005

PROFESOR PATROCINANTE

Fernando Figuerola R.
Ing. Agrónomo., M. Sc. Food Science
Instituto de Ciencia y Tecnología de
los Alimentos

PROFESOR INFORMANTE

Bernardo Carrillo L.
Ingeniero Agrónomo, M. Sc.e Ingeniería
de Alimentos.Instituto de Ciencia y
Tecnología de los Alimentos

PROFESOR INFORMANTE

Kong Shun Ah-Hen
Ingeniero en Alimentos, (Dipl.- Ing. ;
Dr.- Ing.) Doctor en Ingeniería
Instituto de Ciencia y Tecnología de
los Alimentos

*A mis padres por haber ayudado con su
gran amor y sacrificio a forjar mi futuro
dedico de todo corazón este logro.*

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar agradezco al Sr. Fernando Figuerola R, quien fue guía y patrocinante de esta investigación todo su apoyo y dedicación, que permitieron culminar exitosamente esta etapa de mi vida.

A mis padres y hermanos por siempre estar a mi lado mostrándome su apoyo, dedicación y gran amor. Siempre me llevaron por el buen camino, con su buen ejemplo y sus enseñanzas. Los grandes valores que me han enseñado a través de cada paso de mi vida, han sido muy importantes y determinantes para hacer realidad mis metas y sueños.

Agradezco también al ICYTAL por facilitarme los laboratorios para llevar a cabo esta investigación, además a todas las personas que trabajan en éste y que de una u otra forma participaron y ayudaron en el desarrollo de mi tesis. Especialmente al profesor Fernando Asenjo y a Don José por su buena disposición.

A Dany, Pao y Oli mis grandes amigas a lo largo de los años de estudio y en el desarrollo de mi tesis, con quienes compartimos muy buenos momentos y experiencias enriquecedoras e inolvidables. También a Osvaldo, Pame, Nico, y a todos mis amigos y compañeros.

A Juan por su inmenso amor y apoyo, quien a pesar de la distancia fue mi compañía en la búsqueda de esta tan ansiada meta.

A Dios que está siempre conmigo....

INDICE DE MATERIAS

Capítulo		Página
1	INTRODUCCION	1
2	REVISION BIBLIOGRAFICA	3
2.1	Vino	3
2.1.1	Principales componentes del vino	3
2.1.2	Operaciones básicas en la elaboración del vino	4
2.1.3	Vino tinto	6
2.1.4	Color del vino	6
2.1.5	Dulzor y contenido de alcohol del vino	6
2.1.6	Componentes polifenólicos del vino	7
2.1.6.1	Compuestos fenólicos	8
2.1.6.2	Antocianinas	8
2.1.7	Propiedades sensoriales del vino	9
2.1.8	Factores que afectan la calidad del vino	10
2.1.9	El concepto de susceptibilidad del vino y su utilidad para predecir la estabilidad de éste	11
2.2	Fermentación alcohólica	12
2.2.1	Composición y propiedades de los sustratos de la fermentación	13
2.2.2	La temperatura como parámetro fundamental de la fermentación	15

2.3	Levaduras	15
2.3.1	Clasificación de las levaduras	16
2.3.2	Relación de las levaduras respecto al oxígeno	16
2.3.3	Levaduras y el vino	17
2.4	Vino de frutas	18
2.4.1	Fermentación de los zumos de frutas	19
2.4.2	Fermentación de pulpa de fruta	19
2.5	Características generales del vinagre	19
2.5.1	Tipos de vinagre	19
2.5.2	Requisitos de los vinos usados para la producción de vinagre	20
2.6	Antecedentes generales del arándano (<i>Vaccinium corymbosum L.</i>)	21
2.6.1	Composición química del arándano	21
2.6.2	Consideraciones dietéticas del arándano	21
2.6.2.1	Capacidad antioxidante y procesamiento de berries	23
2.6.2.2	Contenido de antocianinas y fenoles totales en arándano	24
2.6.3	Usos e industrialización del arándano	24
2.6.4	Mercado nacional	24
2.7	Capacidad antioxidante de frutas y vegetales	25
3	MATERIAL Y METODO	27
3.1	Lugar del ensayo	27
3.2	Materiales	27
3.2.1	Materia primas	27
3.2.2	Material de vidrio y otros materiales	27
3.2.3	Reactivos químicos y otros	27
3.2.4	Equipos e instrumentos	28
3.2.5	Acondicionamiento de la materia prima	28

3.2.6	Microorganismo iniciador de la fermentación	28
3.3	Método	28
3.3.1	Preparación y mezcla de las materias primas	28
3.3.2	Preparación del inóculo de levaduras	28
3.3.3	Metodología utilizada	29
3.3.4	Determinaciones analíticas	30
3.3.4.1	Materia prima	30
3.3.4.2	Producto terminado	30
3.3.5	Diseño experimental y análisis estadístico de los datos	31
4	PRESENTACION Y DISCUSION DE RESULTADOS	33
4.1	Determinaciones analíticas de la materia prima	33
4.2	Control del proceso fermentativo	36
4.3	Determinaciones analíticas del producto terminado	38
5	CONCLUSIONES	48
6	RESUMEN	50
	SUMMARY	51
7	BIBLIOGRAFIA	52

INDICE DE CUADROS

Cuadro		Página
1	Composición química del vino tinto	5
2	Concentración en mg/L de algunos constituyentes polifenólicos del vino. (expresados como ácido gálico).	7
3	Poder alcohológeno de distintas especies de levaduras de relevancia enológica	17
4	Composición química del arándano	22
5	Contenido de antocianinas de algunos productos alimenticios.	23
6	Distribución de porcentaje en peso, antocianinas monoméricas totales, fenoles totales de arándano	24
7	Superficie regional de arándanos	25
8	Composición de los tratamientos a utilizar	29
9	Resultados de las determinaciones analíticas de las mezclas de materia prima	34
10	Resultados de las determinaciones analíticas de pH y acidez del vino de arándano	39
11	Resultados de la determinación del grado alcohólico del vino de arándano	42
12	Resultados de la determinación del contenido de azúcar residual del vino de arándano	43
13	Resultados de las determinaciones analíticas del contenido de fenoles totales y antocianinas del vino de arándano	46

INDICE DE FIGURAS

Figura		Página
1	Factores que afectan la estabilidad del vino	14
2	Diagrama de flujo elaboración vino de arándano	32
3	Densidad del vino en función del tiempo para los seis tratamientos a 20, 25 y 30° Brix.	37
4	pH del mosto y vino de arándano	40
5	Acidez del mosto y del vino de arándano	41
6	Contenido de fenoles totales del vino de arándano	45
7	Contenido de antocianinas del vino de arándano	47

1. INTRODUCCION

La uva es la materia prima ideal y más usada para la elaboración del vino. Sin embargo, desde el punto de vista tecnológico, nada impide obtener un producto equivalente a partir de otras frutas, teniendo en cuenta claramente factores que determinan que las levaduras encargadas de la fermentación puedan desarrollarse satisfactoriamente en un jugo de frutas distinto del de la uva, como son la acidez y el contenido de azúcar.

El arándano conocido internacionalmente como *blueberry*, es un frutal que en los últimos años ha logrado posicionarse como un fruto de importancia. Esto principalmente debido a las características nutricionales del fruto, rico en vitaminas, minerales, bajas calorías y su alta proporción de antioxidantes, todo lo cual lo hacen un fruto apetecible, dado los nuevos gustos de los consumidores de mercados altamente exigentes, de preferir alimentos “sanos” y que contribuyan a la salud, además de su sabor agridulce, otra característica de este fruto que lo hace particularmente agradable.

Por lo antes mencionado el vino de arándano, presenta la posibilidad de disponer de materia prima que pueda ser utilizada para la elaboración de un producto alternativo, capaz de abastecer nuevos e interesantes mercados, específicamente el del vinagre de arándano.

La hipótesis de este trabajo plantea, que el contenido de azúcar de la pulpa de Arándano y las levaduras utilizadas en el proceso, afectarían el desarrollo de la fermentación alcohólica y por ende se afectarían, las características

del producto, como la graduación alcohólica y los atributos organolépticos del Vino de Arándano para elaborar vinagre.

El objetivo general de este trabajo es la elaboración de vino de arándano (*Vaccinium corymbosum L.*), obteniendo un producto de calidad y con las características propias de un vino que permitan elaborar a partir de éste un vinagre de arándano.

Los objetivos específicos propuestos en esta investigación son los que se presentan a continuación:

- Caracterizar la materia prima (mosto de arándano) y el producto con respecto a su pH, acidez, densidad, grado alcohólico, fenoles totales, antocianinas y azúcar residual.
- Determinar el rendimiento alcohólico bajo condiciones de fermentación controlada.

2. REVISION BIBLIOGRAFICA

2.1 Vino

Vinificación es el proceso que transforma el jugo de uvas en vino, al originarse la fermentación alcohólica mediante la acción de las levaduras. La fermentación, convierte los azúcares que contiene el jugo de uva en alcohol.

El vino es, por lo tanto una bebida que resulta de la fermentación del jugo de uva por las levaduras adicionadas, con el procedimiento controlado. Esta bebida ha sido producida desde tiempos antiguos. La diversidad y la calidad del vino son el resultado del tipo de uva, la calidad distintiva del suelo, el clima y los procesos diseñados en las diferentes partes del mundo. Todos los vinos son hechos en un proceso común, con variaciones de acuerdo al tipo que se pretende producir. Según la clase de vino, el jugo de uva puede ser separado de la piel y tratado con dióxido de azufre para prevenir la oxidación o el crecimiento de los microorganismos que deterioren la materia prima. La fermentación ocurre en grandes cubas y toma de 10 a 30 días. Después de la fermentación, el vino es filtrado para separar el sedimento de levaduras. Las partículas suspendidas deben ser removidas por clarificación. El vino por lo general es envejecido en barricas de madera de roble. El proceso de envejecimiento puede durar muchos meses o varios años. Finalmente antes del embotellado, el vino puede requerir ser mezclado y filtrado (CHRISTAKI y TZIA, 2002).

2.1.1 Principales componentes del vino. SÁDECKA y POLONSKY (2000), señalan que los principales componentes del vino son el etanol, azúcares, ácidos orgánicos, proteínas, aminoácidos y colorantes.

- El etanol que corresponde a un subproducto de la fermentación de los azúcares presentes en los jugos de uva por medio de las levaduras. Además de contribuir al sabor y la estabilidad microbiana de los vinos.
- Los aminoácidos son un factor significativo en el crecimiento de las levaduras y las bacterias que producen el vino. Además de considerar que se admite el hecho de que generalmente los aminoácidos contribuyen al aroma y sabor del vino.
- Los azúcares, cuyo contenido en el vino, determina la clasificación de éste, en mayor o menor grado de calidad.
- Los compuestos fenólicos juegan un importante rol en la calidad del vino, ya que estos contribuyen en los atributos sensoriales, además de ser importantes en la química del color del vino en el proceso de envejecimiento.
- Las proteínas son el constituyente del vino presente en menor cantidad, contribuyen en la calidad de éste. Por otra parte las proteínas son las responsables de la sensación de “cuerpo” en los vinos, además de retener ciertos aromas. Sin embargo, pueden causar problemas tecnológicos, tales como dificultades en la filtración y clarificación.

FERREIRA *et al.* (2002), con respecto a las proteínas del vino señalan que éstas provienen de la pulpa de la uva y resisten el proceso de vinificación simplemente porque son altamente resistentes a la proteólisis y a los bajos pH característicos del vino.

Por otra parte, SPRANGER *et al.* (2004), señalan que al llevar a cabo el proceso de vinificación por medio de distintas tecnologías, no existen grandes diferencias al analizar la composición del vino y algunos de sus parámetros, a excepción del alcohol, azúcar residual y la acidez. En el CUADRO 1 se presenta la composición química del vino tinto.

2.1.2 Operaciones básicas en la elaboración del vino. Según FLEET (1999), las operaciones básicas en el proceso de vinificación son las siguientes:

molienda de las bayas y extracción del jugo, fermentación alcohólica del jugo por acción de las levaduras, fermentación maloláctica del vino por acción de las bacterias ácido lácticas (opcional), almacenamiento y envejecimiento del vino en bodegas, envasado, eventual envejecimiento en botellas y venta. La producción de vinos fortificados (oportos, jerez) y espumantes involucra operaciones especializadas adicionales.

CUADRO 1. Composición química del vino tinto

Componentes	Vino tinto (% en peso)
Agua	87
Azúcar	0,05
Etanol	10
Otros volatiles	0,04
Extracto	2,7
Glicerol	1,1
Acidos	0,6
Pectinas	0,3
Aminoácidos	0,25
Cenizas	0,25
Grasas, terpenos	0,02
Fenoles	0,2
Vitaminas, etc	0,01
Total	100

FUENTE: CORDOVA *et al.* (2005).

Por otra parte, es importante mencionar que la tecnología utilizada en la elaboración del vino afecta claramente la composición de éste en cuanto a su contenido fenólico, de antocianinas, así como también sus propiedades sensoriales, en especial el aroma, razón por la cual es muy trascendental evaluar estos parámetros al momento de seleccionar la tecnología a utilizar (SPRANGER *et al.*, 2004).

2.1.3 Vino tinto. El vino tinto es un fluido complejo, que contiene agua, azúcares, ácidos, alcoholes y un amplio rango de compuestos fenólicos. Estos compuestos fenólicos pueden ser derivados de la uva o también ser metabolitos de las levaduras en la fermentación. Una dieta rica en frutas, vegetales, aceite de oliva y vino tinto, ha sido demostrado que ayuda a prevenir el desarrollo de enfermedades coronarias y algunos tipos de cáncer. El componente activo de estas dietas se cree que incluye componentes fenólicos, los cuales actúan como antioxidantes. Los compuestos fenólicos se encuentran contenidos en la piel, semillas y pulpa de las uvas. El proceso de viticultura y vinificación, varía entre países, regiones y empresas elaboradoras de vino, lo cual determina el contenido de compuestos fenólicos en el vino. Por otra parte la calidad de las uvas es también importante y determinante en el contenido fenólico del vino. Finalmente, es importante destacar que la actividad antioxidante del vino es atribuida a los componentes fenólicos (BURNS *et al.*, 2001).

2.1.4 Color del vino. Las variedades de uva varían en el color de su piel desde púrpura intenso, pasando por rojo hasta verde pálido. Los vinos tintos se producen cuando son estrujados los hollejos y la pulpa de las variedades de uva roja o púrpura, se dejan macerar en el mosto durante su fermentación, y cuanto más tiempo permanecen en éste, más intenso se vuelve el color. El alcohol producido contribuye a extraer los pigmentos (POTTER y HOTCHKISS, 1999).

2.1.5 Dulzor y contenido de alcohol del vino. El dulzor y el contenido de alcohol de los vinos están interrelacionados porque la fermentación convierte los azúcares de la uva en etanol. A medida que se va produciendo alcohol, el dulzor disminuye; cuando teóricamente todo el azúcar ha sido fermentado el vino no presenta dulzor, y se dice que es seco. Los vinos secos contienen todo el alcohol que la variedad de uva es capaz de proporcionar bajo condiciones de fermentación, y que generalmente es de entre 12-14 % de alcohol en volumen (POTTER y HOTCHKISS, 1999).

2.1.6 Componentes polifenólicos del vino. El número de compuestos que constituye el vino es complejo, pero aún así una gran cantidad de éstos han sido identificados gracias al desarrollo de nuevas tecnologías analíticas. La mayoría de sus componentes provienen de la uva y del proceso fermentativo. Los principales constituyentes fenólicos del vino con capacidad antioxidante son: derivados de ácidos fenólicos, ácidos cinámicos y tirosina; flavonoides y procianidinas como se observan en el CUADRO 2. La concentración total de compuestos polifenólicos en el vino varía entre 1,80 y 4,06 g/L equivalentes en ácido gálico, con un promedio de 2,57 g/L para vino tinto, y de 0,16 a 0,33 g/L con un promedio de 0,24 g/L, para el vino blanco (LEIGHTON y URQUIAGA, 2000).

CUADRO 2. Concentración en mg/L de algunos constituyentes polifenólicos del vino. (Expresados como ácido gálico)

Vino	Tinto	Blanco
Catequina	191	35
Epicatequina	82	21
Acido Cafeico	7,1	2,8
Cianidina	2,8	0
Malvidina 3 – glucosa	23,5	1,0
Rutina	9,1	0
Miricetina	8,5	0
Quercetina	7,7	0
Revesratrol	1,5	0,3

FUENTE: LEIGHTON y URQUIAGA (2000).

La composición fenólica del vino depende del tipo de fruta utilizada (usualmente uvas) en la vinificación, extracción, así como de procedimientos empleados en la fabricación del vino y las reacciones químicas que ocurren durante el envejecimiento de éste. El contacto del mosto y vino con los barriles de madera también influye en la presencia de algunos fenoles en vinos. La composición

fenólica es también modificada por las levaduras, como un resultado de la conversión de sustancias no fenólicas, solubilizadas y extraídas de fenoles por el etanol producido durante la fermentación (SHAHIDI y NACZK, 1995).

Por otra parte FERNANDEZ *et al.* (2004), señalan que el vino tinto posee una alta capacidad antioxidante a diferencia del vino blanco y el sherry. Estos últimos no presentan mayor significancia con respecto a la capacidad antes mencionada. Por lo que se asume que la actividad antioxidante del vino tinto se debe a su elevado contenido fenólico.

Finalmente CAMPOS y LISSI (1996), señalan que el vino tinto chileno posee un alto potencial antioxidante reactivo total, y que éste es independiente de la marca comercial, del año y del tipo de uvas empleadas.

2.1.6.1 Compuestos fenólicos. Los compuestos fenólicos presentes en uvas y vinos tienen estructuras químicas muy diversas, pudiendo ser clasificados en dos grupos, de acuerdo a la complejidad de sus moléculas. Las estructuras más simples corresponden a los ácidos fenólicos, en tanto las más complejas se agrupan bajo el nombre de flavonoides. Finalmente existen moléculas fenólicas de tamaño mayor que se denominan taninos que son el resultado de condensaciones y polimerizaciones de catequinas y proantocianidinas (GONZALEZ *et al.*, 1997).

Los compuestos fenólicos son importantes componentes del vino. Ellos contribuyen en las características sensoriales como el color, sabor y astringencia del vino directamente o por interacción con proteínas, polisacáridos u otros compuestos fenólicos. Los fenoles son también importantes en la higiene de alimentos debido a su efecto bactericida y sus considerables y esenciales elementos en el envejecimiento del vino (SHAHIDI y NACZK, 1995).

2.1.6.2 Antocianinas. Dentro de los compuestos fenólicos que comprenden un gran grupo de sustancias orgánicas, existe el subgrupo flavonoide que comprende a flavonoles, flavanos (catequinas y proantocianidinas) y

antocianinas. Las antocianinas, uno de los grupos de pigmentos mas ampliamente distribuidos en el mundo vegetal, son responsables de un amplio abanico de colores de las plantas, que incluyen el azul, púrpura, violeta, rojo y naranja (FENNEMA, 2000).

El color de las antocianinas está determinado por su estructura molecular y el carácter físico químico del ambiente en el que se encuentran. Los factores más importantes que afectan al color de las antocianinas son: el grado de hidroxilación y metoxilación, el pH, la concentración de éstas y la presencia de otros flavonoides. Además estos pigmentos son poco estables, pueden degradarse en el tejido fresco, en el procesado o almacenamiento; entre los factores más importantes que afectan la estabilidad de las antocianinas están: las enzimas, la temperatura, el tiempo de proceso y almacenamiento, el oxígeno, pH, el ácido ascórbico, etc (AUSEJO *et al.*,1999).

En la uva son los pigmentos característicos del hollejo de las variedades tintas y poseen gran importancia enológica, ya que junto a las proantocianidinas, son las moléculas responsables de la coloración de los vinos tintos y rosados, además de la evolución del color en ambos tipos de vinos a lo largo del tiempo (REVILLA *et al.*, 1998).

Por otra parte KONG *et al.* (2003), señalan que las antocianinas poseen conocidas propiedades farmacológicas, que permiten su uso con fines terapéuticos. Con respecto a dichas propiedades existen muchas publicaciones sobre la actividad antioxidante in vitro de las antocianinas así como de otras de sus funciones, además de la correlación entre la actividad antioxidante y la estructura química. Sin embargo estos estudios aún son escasos comparados con los realizados a otros flavonoides.

2.1.7 Propiedades sensoriales del vino. El sabor del vino es una percepción general que suele pasar desde la integración de la apariencia, aroma, gusto, palatabilidad. Aunque los aromas del vino son a menudo muy complejos, con un pequeño esfuerzo, éstos pueden ser descritos en términos que son precisos y

pueden ser entendidos por distintos grupos de personas. El sabor del vino es influenciado por la variedad de uvas, el clima y la ubicación geográfica en la cual éstas se cultivan, las prácticas de vinicultura y condiciones de almacenamiento (NOBLE y PFEIFFER, 1998).

Recientemente los fabricantes e investigadores del vino están llegando a la conclusión de que las levaduras no pertenecientes al género *Saccharomyces* también contribuyen de manera significativa en el sabor y calidad del vino. Esta situación ha conducido a estudiar la presencia y la evolución de las levaduras ajenas al género *Saccharomyces* en las uvas y en el interior de éstas, para determinar sus efectos potenciales sobre la calidad organoléptica del producto final (ROMANO *et al.*, 2003).

Durante todo el proceso, las uvas, el mosto y el vino son susceptibles a varios peligros y riesgos con respecto a su calidad. Estos peligros se relacionan con la apariencia, aceptabilidad, gusto, sabor, color, componentes (alcohol, ácidos) y características importantes del producto para la aceptabilidad del consumidor (CHRISTAKI y TZIA, 2002).

Finalmente, es importante mencionar el aspecto visual ya que cada vez cobra más importancia en la calidad de los productos alimenticios por su clara y directa incidencia sobre la aceptación y preferencia de los consumidores. El vino no es ajeno a esta situación, por lo que su aspecto visual se hace más importante sobre todo a medida que el consumidor es más exigente y adquiere más conocimientos sobre el producto. Es evidente que factores como la limpidez (brillo, transparencia, etc.) y color, en su sentido más amplio, son las características visuales más importantes de los vinos, y todas ellas están estrechamente ligadas a los compuestos fenólicos que posea el vino en cuestión (GONZALEZ, 2002).

2.1.8 Factores que afectan la calidad del vino. La graduación alcohólica, la acidez, la fracción aromática y polifenólica, así como el color son los parámetros más importantes que definen la calidad del vino tinto, así como también es

lógico que estos mismos parámetros sean los que se utilicen en la valoración de la calidad de la uva tinta (ALADREN y CRESPO, 1999).

Uno de los factores antes mencionados que afectan la calidad del vino, es la concentración relativa de ácidos orgánicos e inorgánicos. Los ácidos orgánicos dominantes en el vino son el ácido tartárico y el ácido málico, que representan el 70 - 90 % de la acidez total de la uva. La concentración de ácido málico en la uva es de entre 1 y 10 g/L dependiendo ésta de varios factores, sin embargo, el clima es el más importante, ya que las regiones que poseen climas más fríos son usualmente las que tienen niveles más altos de ácido málico. El ácido málico no sólo contribuye al sabor ácido del vino, sino que también sirve como sustrato para la contaminación con bacterias ácido lácticas que pueden producir residuos no deseables una vez que el vino ha sido embotellado. Por esta razón es esencial remover el exceso de ácido málico del vino para asegurar la calidad y estabilidad física, bioquímica y microbiana de este (REDZEPOVIC *et al.*, 2003).

Otro factor que afecta la calidad del vino son los residuos microbianos, principalmente en el caso de las bebidas fermentadas, donde los metabolitos producidos preferentemente contribuyen al sabor, aroma, y gusto del producto final. Sin embargo una pequeña fracción de estos residuos puede producir alteraciones que no son fácilmente definibles o atribuibles a un residuo u otro (LOUREIRO y MALFEITO, 2003).

Por otra parte FERREIRA *et al.* (2002), señalan que si bien es cierto las proteínas del vino contribuyen en cierta medida en la sensación de “cuerpo” del vino, asumen también una importancia tecnológica y económica considerable porque afectan enormemente la claridad y estabilidad del vino y por consiguiente la calidad.

2.1.9 El concepto de susceptibilidad del vino y su utilidad para predecir la estabilidad de éste. Dado la imposibilidad de saber y mucho menos medir el efecto de los agentes contaminantes y de los metabolitos microbianos en acción

de la levadura, es especialmente útil definir el concepto de la susceptibilidad del vino. Este concepto se refiere a preestablecer mediante condiciones experimentales la resistencia del vino frente a condiciones de colonización de una o más levaduras.

La susceptibilidad del vino a la colonización de las levaduras es fuertemente dependiente en la calidad higiénica de las uvas y de su grado de madurez, así como también de la contaminación de las uvas con productos químicos.

En lo que a las levaduras concierne, los enólogos poseen ciertas prioridades fundamentales para conservar la estabilidad del vino, tales como asegurar que el vino a granel no es alterado por la actividad contaminante de las levaduras, asegurar también que el vino embotellado sea microbiológicamente estable o, en caso de que no sea, predecir su vida útil. Sin embargo, augurar la estabilidad microbiológica del vino, no es una tarea fácil, pues depende de muchos factores. En la FIGURA 1 se presenta un esquema de dicha situación (LOUREIRO y MALFEITO, 2003).

2.2 Fermentación alcohólica

La fermentación alcohólica se define como el proceso bioquímico por medio del cual las levaduras transforman los azúcares del mosto en etanol y CO₂ (MESAS y ALEGRE, 1999).

Normalmente las levaduras usadas en la fermentación alcohólica, pertenecen a la especie *Saccharomyces cerevisiae* y la transformación del azúcar por esta levadura puede ser representada químicamente en la siguiente reacción según POTTER y HOTCHKINS (1999):



La fermentación es el corazón del proceso de elaboración del vino, donde el azúcar de las uvas es convertido en etanol por acción de las levaduras (*Saccharomyces cerevisiae*). La existencia de elevadas temperaturas durante la fermentación pueden producir la muerte de las levaduras añadidas y tensiones

térmicas que pueden comprometer el fin de la fermentación, además de producir subproductos no deseables (CHRISTAKI y TZIA, 2002).

Desde el inicio de la fermentación el azúcar proporcionado por la materia prima en cuestión, es la fuente de intermediarios biosintéticos así como también de energía para las levaduras, teniendo presente eso si que no todo el azúcar es convertido en etanol. Algo es dirigido a la producción de glicerol y ácido succínico. Esto conduce, por lo tanto, a una disminución en la producción de etanol, en la que una producción realista teórica sería del 95 %, y una producción buena práctica del 90 %.

El progreso de la fermentación puede ser monitoreado visualmente observando la tasa de evolución del dióxido de carbono, pero más confiablemente por determinación del peso específico o contenido de alcohol de la mezcla (WOOD, 1985).

Los cambios ocurridos a los carbohidratos que son los sustratos de los microorganismos deben llevarse a cabo en condiciones de incubación que permitan a los microorganismos llevar a cabo su labor, como es el caso de una de las levaduras mas utilizadas en la elaboración de vinos, *Saccharomyces cerevisiae ellipsoideus*, cuyas condiciones de incubación son de alrededor de 25-30°C por 100 - 360 h (FELLOWS, 1988).

Finalmente, se puede mencionar que la fermentación es una fase trascendental en la elaboración de vinos, que depende de muchos aspectos que requieren de atención, tales como los tratamientos previos a los que es sometido el mosto, la preparación del inóculo de levaduras seleccionadas, la cantidad de SO₂ agregado, etc (SADECKA y POLONSKY, 2000).

2.2.1 Composición y propiedades de los sustratos de la fermentación. Al momento de efectuar un proceso de vinificación, o más específicamente un proceso de fermentación alcohólica, ya sea con mosto de uvas u otros frutos, es

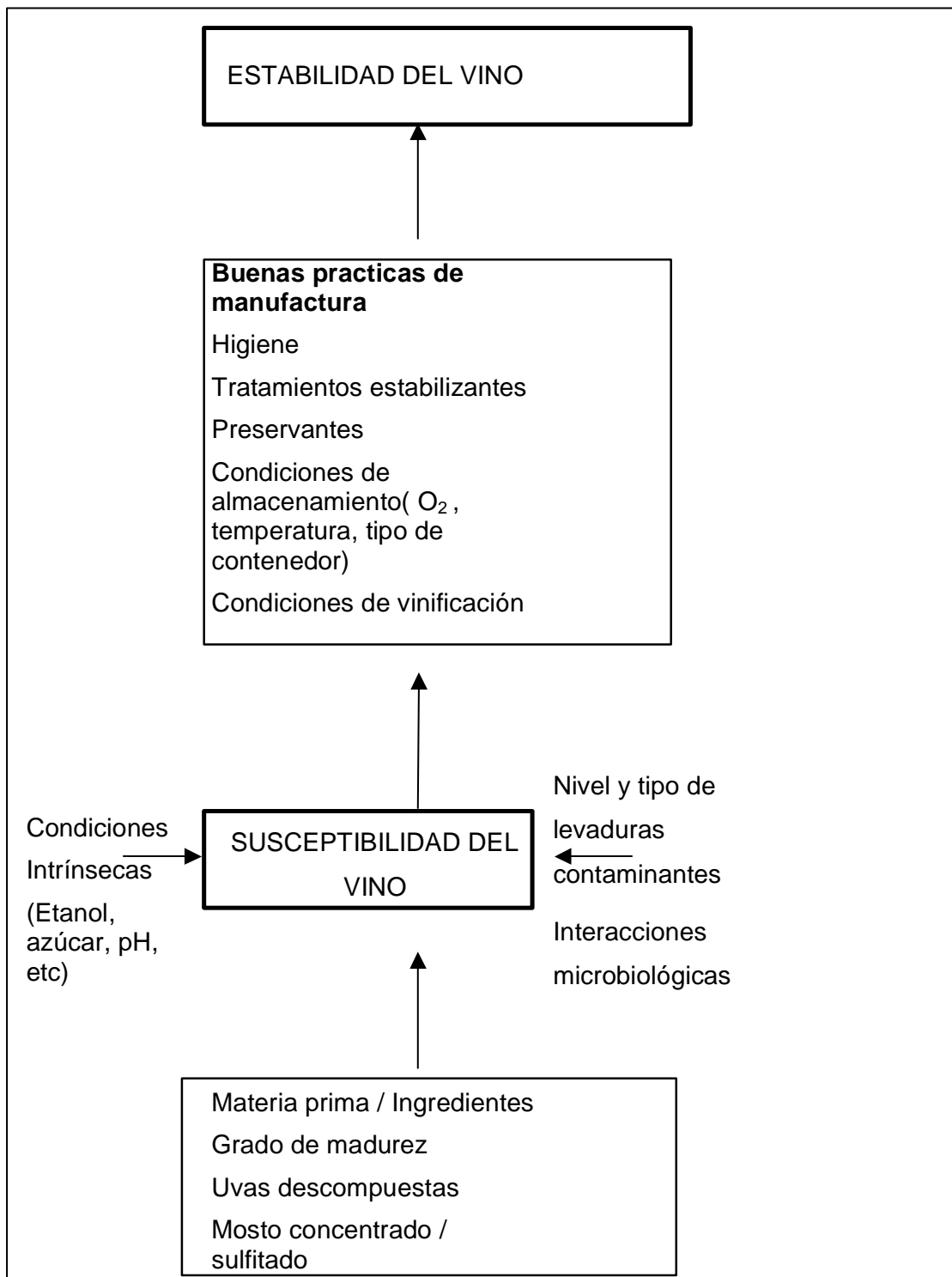


FIGURA 1. Factores que afectan la estabilidad del vino

FUENTE: LOUREIRO y MALFEITO (2003).

esencial considerar si la materia prima es un medio de cultivo óptimo para las levaduras, ya que es de considerable importancia el contenido de azúcares fermentables y la riqueza de nitrógeno pues ayuda al crecimiento de las levaduras al inicio de la fermentación, además del pH, y el contenido de ciertas vitaminas (BOURGEOIS y LARPENT, 1994).

2.2.2 La temperatura como parámetro fundamental de la fermentación. La temperatura es uno de los parámetros más importantes en el desarrollo de la fermentación alcohólica puesto que puede afectar la cinética del proceso en términos de la duración y calidad final del vino, además de la producción de metabolitos secundarios. Los productores de vino han orientado su interés a fermentaciones a bajas temperaturas 10 – 15 °C, lo que en la actualidad está teniendo importancia debido al realce de la producción y retención de los compuestos volátiles que pueden proporcionar un mejor perfil aromático al vino (TORIJA *et al.*, 2003).

Sin embargo, el autor anterior señala también que las fermentaciones realizadas a escala en laboratorios bajo condiciones controladas, se desarrollan mejor a 25 °C que a 13 °C, en términos de azúcar consumido y tiempo involucrado. Con relación a lo antes mencionado NOVO *et al.* (2003), señalan que la industria del vino ha manejado el control de la temperatura de fermentación efectivamente. No obstante, aquellos vinos producidos a bajas temperaturas (10 - 15 °C) son conocidos por el desarrollo de ciertas características de sabor y aroma especiales.

2.3 Levaduras

Las levaduras son hongos unicelulares pertenecientes en su mayor parte al grupo Ascomicetos, es decir, al grupo de hongos capaces de formar esporas contenidas en el interior de un asca (MESAS y ALEGRE, 1999).

PEYNAUD (1977), señala que las levaduras son los agentes de la fermentación y que por otra parte existe un gran número de especies de éstas que se diferencian en su aspecto, propiedades, modos de reproducción y por la forma en que transforman el azúcar.

Al observar al microscopio las distintas especies presentan formas variadas, ya sean elípticas (con forma de huevo) como las especies del género *Saccharomyces*; esféricas como *Torula*; alargadas como *Torulopsis stellata* y apiculadas con forma de limón como *Hanseniaspora* (Peynaud citado por MESAS y ALEGRE, 1999).

Durante el desarrollo de la fermentación alcohólica las levaduras son objeto de una serie de estrés, el primero y más importante comienza debido al stress osmótico atribuido al alto contenido de azúcar del mosto, así como también el etanol producido durante la fermentación, y el uso de compuestos antimicrobianos como el anhídrido sulfuroso (QUEROL *et al.*, 2003).

2.3.1 Clasificación de las levaduras. Las levaduras según MESAS y ALEGRE (1999), pueden ser clasificadas según sus diversas características bioquímicas.

- El tipo de azúcares que pueden fermentar.
- El rendimiento en alcohol, ya que existen levaduras que para producir 1 grado de alcohol consumen 17 a 18 g de azúcar, otras en cambio utilizan 21 a 22 g.
- Su poder alcohológeno, o grado máximo de alcohol que pueden alcanzar a producir, lo que se presenta en el CUADRO 3.
- Productos secundarios de la fermentación.
- Resistencia al anhídrido sulfuroso.

2.3.2 Relación de las levaduras respecto al oxígeno. El proceso de fermentación de la glucosa que se origina por medio de levaduras es un proceso anaeróbico; no obstante, las levaduras son aeróbicas. Bajo condiciones

anaeróbicas las levaduras fermentan de una forma muy intensa pero casi no crecen. Con la aireación se reduce la fermentación en favor de la respiración. En el caso de algunas levaduras la fermentación puede cesar casi totalmente bajo una aireación intensa. La aireación determina una disminución del consumo de glucosa y la producción de etanol y anhídrido carbónico (SCHLEGEL, 1997).

CUADRO 3. Poder alcohológeno de distintas especies de levaduras de relevancia enológica

Especie	Poder alcohológeno
<i>Saccharomyces cerevisiae ellipsoideus</i>	17 °
<i>Saccharomyces cerevisiae bayanus</i>	18 °
<i>Saccharomyces acidifaciens</i>	10 °
<i>Torulaspota rosei</i>	8 - 14°
<i>Kloeckera apiculata</i>	4 - 5 °
<i>Candida stellata</i>	10 – 11 °

FUENTE: MESAS y ALEGRE (1999).

2.3.3 Levaduras y el vino. Las levaduras juegan un papel trascendental en el proceso de elaboración del vino junto con factores climáticos, de cultivo, de la fruta, pH del mosto, etc. Las levaduras del género *Saccharomyces* son las más utilizadas en la elaboración del vino, sin embargo, varias especies no pertenecientes a este género han sido encontradas en el mosto fermentado, tales como *Hanseniaspora guilliermondii*, *Kloeckera apiculata*, *Pichia anomala*, *Candida stellata*, *Torulaspota delbrueckii*. Estas levaduras no pertenecientes al género *Saccharomyces* contribuyen a mejorar el bouquet del vino, sin embargo no son capaces de resistir todo el proceso de fermentación debido a su escasa tolerancia al etanol. Por esta razón, varios autores han estudiado la fermentación con mezclas de levaduras, aplicadas simultáneamente o en

cultivos secuenciales. Las levaduras favorecen el sabor del vino de tres modos significativos: influencia la ecología del proceso de la vinificación, el metabolismo y las actividades enzimáticas y el impacto organoléptico de especies individuales o combinaciones de especies en el sabor del vino (CLEMENTE *et al.*, 2005).

2.4 Vino de frutas

Se define como vino de frutas la bebida proveniente de mostos de frutas frescas, distintas de la uva, sometidos a la fermentación alcohólica y que han sufrido procesos semejantes a los exigidos para los vinos (BERNAL DE RAMIREZ, 1993).

Los vinos de frutas se producen a escala industrial, en diversos países de Europa y muchas otras partes del mundo, especialmente en aquellas zonas que no reúnen las condiciones adecuadas para el cultivo de las cepas de uva utilizadas para la elaboración del vino.

El vino de fruta fortificado con alcohol según la Asociación de Productores de Sidra y Vinos de Fruta de la Unión Europea, se define como: una bebida alcohólica obtenida por la fermentación total o parcial de zumo fresco, concentrado o reconstituido, o pulpa de frutas comestibles frescas o de otras partes de vegetales frescos, excepto uvas, con o sin adición de agua, azúcar y alcohol agrícola. Al producto fermentado se le puede añadir zumo fresco, concentrado o reconstituido, o aromas. El contenido alcohólico de los vinos de frutas tiene que hallarse entre un 8 y un 20% v/v.; la mayoría tendrá un contenido alcohólico de 12 a 15% v/v.

Existe gran variedad de frutas utilizadas en la elaboración de vinos de frutas como por ejemplo manzanas, cerezas, grosellas, peras, ciruelas y fresas, y de frutas salvajes, como arándanos, moras (ARTHEY y ASHURT, 1996).

Un vino de frutas que ha sido correctamente elaborado debe saber a la fruta de que está hecho; es decir, un vino de fresas debe mantener el aroma fresco y

agradable que caracteriza a esta fruta. Cada una de las frutas le confiere a su vino unas características especiales que se deben mantener (DONATH, 1992).

2.4.1 Fermentación de los zumos de frutas. La fermentación de los vinos de frutas se lleva a cabo fundamentalmente en cubas de hormigón, acero o alternativamente en barriles de madera. Es frecuente que en este proceso sea necesario ajustar la acidez del zumo mediante la adición de ácidos utilizados en la industria alimentaria o, mas comúnmente, por neutralización del exceso de acidez, con carbonato cálcico (ARTHEY y ASHURT, 1996).

2.4.2 Fermentación de pulpa de frutas. La fermentación de la pulpa permite niveles de extracción más altos de antocianos y otros pigmentos de frutas tales como arándanos, cerezas, fresas y facilita la extracción de los zumos de la mayor parte de las frutas. Por esto la clarificación final del vino se simplifica por ello. Sin embargo, las elevadas tasas de levaduras en la fruta hacen necesario asegurar la adición de inóculos de levadura pura de gran vigor, para competir eficazmente con la población salvaje. Como la pulpa es una fuente de nutrientes más rica que el zumo, la fermentación es vigorosa y no resulta necesaria la suplementación de nutrientes (ARTHEY y ASHURT, 1996).

2.5 Características generales del vinagre

El vinagre es el producto de dos fermentaciones. En la primera fermentación las levaduras, preferentemente del género *Saccharomyces*, convierten el azúcar en etanol anaeróbicamente, mientras que en el segundo proceso fermentativo el etanol es oxidado a ácido acético aeróbicamente por bacterias del género *Acetobacter* (ADAMS y MOSS, 2000).

El vinagre es considerado tradicionalmente como un producto industrial secundario, sin embargo existe una diversidad de productos que lo contienen, tales como salsas, ketchup, mayonesa, etc (DE ORY *et al.*, 2002).

2.5.1 Tipos de Vinagre. Existe una gran variedad de tipos de vinagre como por ejemplo de vino, de frutas, de vino envejecido, de sidra, de alcohol, etc.

LLAGUNO y POLO (1991), definen en vinagre de vino y de alcohol de la forma siguiente:

- Vinagre de vino: es aquel que proviene de la fermentación acética del vino, el cual es el sustrato más comúnmente utilizado en la producción de vinagre en la mayoría de los países vinícolas del mundo.
- Vinagre de alcohol: es el vinagre que se obtiene mediante la fermentación acética de soluciones acuosas de alcohol. En la mayoría de los países donde es elaborado, se emplea alcohol de origen agrícola que, para la fabricación de vinagre se diluye a concentraciones semejantes a las que se haya en el vino. No obstante, el alcohol no contiene los nutrientes que contiene el vino, por lo que han de añadirse a fin de que la multiplicación y el desarrollo de las bacterias acéticas tenga lugar.

En cuanto al vinagre de frutas WEISER (1962), señala que el vinagre de manzana es el más reconocido, sin embargo cualquier fruta que sea capaz de ser sometida a un proceso de fermentación alcohólica, es buena para elaborar este producto, siendo posible obtener variedad de sabores a partir de una gran cantidad de materias primas, tales como: uvas, peras, ciruelas, naranja, berries, miel, azúcar.

2.5.2 Requisitos de los vinos usados para la producción de vinagre. Para que la fermentación acética se lleve a cabo sin problemas LLAGUNO y POLO (1991), señalan que es necesario cumplir con ciertos requisitos que afectan a la materia prima.

- Los vinos utilizados como materia prima han de ser sanos y potables, libres de olores y sabores extraños.

- Además deben ser secos, sin restos de azúcares que puedan provocar contaminaciones posteriores con levaduras.

- En cuanto a su graduación alcohólica, tradicionalmente se ha considerado que los vinos utilizados en la acetificación debían ser de baja graduación. En la actualidad, sin embargo las técnicas de fermentación permiten utilizar vinos con graduación alcohólica de 10-12°.

- Otro posible factor que puede afectar la acetificación es la presencia de nutrientes en la materia prima, sin embargo en el caso de la fabricación del vinagre de vino de uva no es preciso tener en cuenta su adición, ya que tales nutrientes se encuentran en cantidades suficientes en los vinos empleados como materia prima

2.6 Antecedentes generales del arándano (*Vaccinium corymbosum L*)

Los arándanos corresponden a los llamados “Blueberries”. Pertenecen a la familia Ericaceae. Estos arbustos son nativos de Norteamérica. Su fruto es de color azul metálico con 8 – 18 semillas blandas y pequeñas (SUDZUKI, 2002).

Como se mencionó anteriormente el arándano es un frutal menor nativo de Norteamérica, que es considerado dentro del grupo de los berries, que fue introducido en Chile a principios de la década de los ochenta. Existen tres tipos de arándano: arándano “alto” (highbush), *Vaccinium corymbosum L.*; el arándano “ojo de conejo” (rabbiteye), *V. ashei R.*; y el arándano bajo (lowbush), *V. angustifolium*. El fruto es una baya casi esférica, que dependiendo de la especie y cultivar puede variar en tamaño de 0,7 a 1,5 cm de diámetro y en color de azul claro hasta negro (BUZETA, 1997).

2.6.1 Composición química del arándano. En el CUADRO 4 se presenta la composición química del arándano con la finalidad de crear una visión general de la composición de este fruto.

2.6.2 Consideraciones dietéticas del arándano. Los antocianos, pigmento presente en el arándano, ha sido utilizado para mejorar problemas de visión, así como también para tratamientos de desórdenes circulatorios. Muchas de estas

propiedades biológicas son asociadas con la actividad antioxidante de los antocianos, flavonoides, y otros compuestos fenólicos (SKREDE *et al.*, 2000).

CUADRO 4. Composición química del arándano

Componente	Cantidad
Agua (%)	83,2
Carbohidratos (%)	15,3
Fibras(%)	1,5
Proteínas (%)	0,7
Grasas (%)	0,5
Pectinas (%)	0,5
Azúcares totales (%)	10 - 14
Azúcares reductores (%)*	> 95
Sacarosa (%)	0,24
Fructosa (%)	4,04
Glucosa(%)	3,92
Contenido de sólidos solubles (%)	10,1 – 14,2
Acidez titulable (%)	0,3-0,8
Principal ácido orgánico	Cítrico
Pigmentos	
Antocianinas (ug /100g)	0,2- 0,3
Carotenoides (ug/ 100g)	
β Caroteno (ug/ 100g)	
Vitamina A (UI)	100
Acido ascórbico (ug /100g)	14
Componentes volátiles de significancia organoléptica	trans-2-hexanol

*Sobre azúcar total.

FUENTE: DINAMARCA *et al.* (1986).

Los antocianos contenidos en muchas frutas y vegetales han sido determinados por varios grupos de investigadores, utilizando distintos métodos. Varios resúmenes han sido publicados. Por esta razón en el CUADRO 5 se presentan datos relacionados con el contenido de antocianos de frutos tales como:

arándano, uva, frutilla, zarzaparrilla negra, frambuesa, y también del vino (CLIFFORD, 2000).

La capacidad antioxidante del arándano es relacionada significativamente con el contenido fenólico total y las antocianinas, mientras que la vitamina C hace una pequeña contribución en la capacidad antioxidante total (KALT *et al.*, 2000).

2.6.2.1 Capacidad antioxidante y procesamiento berries. LEE *et al.* (2002), señalan que en algunas etapas del procesamiento del jugo concentrado y clarificado de arándano se produce una pérdida considerable de antocianinas y polifenoles, tales como el descongelamiento, molienda, la despectinización y al prensar. No obstante en aquellos procesos productivos en que se utiliza calor y SO₂ el rendimiento de antocianinas es mayor. Estas afirmaciones por lo tanto sugieren que la actividad antioxidante del jugo clarificado y concentrado de arándano es mas bajo que en el fruto entero.

CUADRO 5. Contenido de antocianinas de algunos productos alimenticios

Producto	Contenido de antocianinas (mg/ L)
Arándano	825 – 4200
Uva	300 – 7500
Frutilla	150 – 350
Zarzaparrilla negra	1300 – 4000
Frambuesa	1700 – 4277
Vino tinto	240 – 350

FUENTE: CLIFFORD (2000).

Por otra parte, en el caso de la elaboración de néctar de otros berries, como las grosellas negras la retención de antocianinas y vitamina C durante la producción dependen del proceso así como también la naturaleza de la materia prima al igual que como antes ha sido mencionado. Pero por ejemplo el uso de un proceso de producción continuo donde el néctar pasteurizado final sea producido dentro de 4 horas, la pérdida que se produce en el proceso de

antocianinas y vitamina C es menor, eso si bajo estas condiciones de proceso (IVERSEN, 1999).

2.6.2.2 Contenido de antocianinas y fenoles totales en arándano. La piel del arándano posee el mayor contenido de antocianinas, fenoles totales y actividad antioxidante, comparado con la pulpa y las semillas, como se presenta en el CUADRO 6.

2.6.3 Usos e industrialización del arándano. El principal consumo de este fruto se realiza en su estado fresco, en postres preparados, solo o en combinación con otros frutos. Variados son los productos elaborados a partir de arándano, entre ellos es posible mencionar las bebidas de consumo masivo, productos tipo “snack” y productos deshidratados. La empresa industrializadora estadounidense posee una amplia experiencia en el procesamiento del arándano, obtenida a través de años de elaboración (BUZETA, 1997).

CUADRO 6. Distribución de porcentaje en peso, antocianinas monoméricas totales, fenoles totales de arándano

	Distribución en peso (% peso)	Antocianinas monoméricas totales (mg/L cyanidin 3 glucoside)	Fenoles totales (mg/100g ácido gálico)
Fruto entero	100,0	230,0	39,9
Piel	19,0	188,5	28,7
Pulpa	74,4	5,8	7,0
Semillas	1,5	0,1	0,3
Total	-----	194,5	36,1
% Pérdida	5,1	15,5	9,7

FUENTE: LEE *et al.* (2004).

2.6.4 Mercado nacional. La producción de arándanos en Chile se ha desarrollado básicamente durante la década de los 90, así la superficie de arándanos que era de aproximadamente 400 Há en la temporada 93/94 se ha quintuplicado a la temporada 2001/2002, llegando a las aproximadamente 2000

Há. Este crecimiento del arándano no ha sido igual en todas las regiones del país, ya que debido a los requerimientos agroclimáticos de este frutal, su desarrollo se ha focalizado en la zona centro sur. El CUADRO 7 elaborado por la Oficina de Estudios y Políticas Agrarias (ODEPA) muestra la distribución regional de las plantaciones de arándanos, al año 2001.

Como es posible apreciar en el siguiente cuadro, el 77,1% de la superficie de arándanos se encuentra entre las regiones VIII y X, siendo esta última la de mayor relevancia en cuanto a superficie.

La producción en la X Región al igual que los antecedentes que señalan plantaciones en la IV Región, pretenden ampliar el período de producción abarcando los meses de marzo-abril para las plantaciones de la X Región y el mes de octubre para la de las IV Región, meses en los cuales se obtienen los mejores precios en el mercado estadounidense.

Actualmente la producción en Chile se encuentra concentrada en los meses de diciembre a febrero, lo cual repercute en forma positiva en las exportaciones y por ende en los precios de retorno.

CUADRO 7. Superficie regional de arándanos

Regiones	IV	V	RM	VI	VII	VIII	IX	X	Total
Hectáreas	3	59	115	55	202	429	362	685	1910
Porcentaje (%)	0,16	3,1	6,0	2,9	10,6	22,4	18,9	35,8	100

FUENTE: ODEPA¹ (2001).

2.7 Capacidad antioxidante de frutas y vegetales. El consumo de frutas y vegetales está asociado con la protección frente a enfermedades cardiovasculares, cerebrovasculares y el cáncer. Una posible razón de esto es

que las frutas y vegetales poseen vitaminas antioxidantes en su composición, como la E, C y pro vitamina beta caroteno. Sin embargo, es imposible dejar de mencionar que los fenoles y polifenoles que tienen también las frutas y vegetales, poseen una capacidad antioxidante mas potente que las vitaminas (VINSON *et al.*, 2001).

La defensa proporcionada contra las enfermedades por las frutas y vegetales ha sido atribuida a varios antioxidantes contenidos en estos alimentos como ya antes se ha mencionado. Actualmente, esta evidencia es determinante al indicar que los radicales libres causan una oxidación dañina de los lípidos, proteínas y ácidos nucleicos. Estos radicales libres pueden alterar la etiología del corazón o la historia natural de algunas enfermedades, incluyendo entre estas el cáncer, enfermedades vasculares y neurodegenerativas. Es de vital importancia señalar por lo tanto que los antioxidantes pueden neutralizar los radicales libres y prevenir estas enfermedades (PRIOR *et al.*, 1998).

En efecto, estudios epidemiológicos recientes han indicado que un consumo elevado de frutas y vegetales, se encuentra asociado con la reducción del riesgo de una serie de enfermedades crónicas. Esto se atribuye al hecho de que estos alimentos pueden proporcionar una mezcla óptima de fotoquímicos tales como antioxidantes naturales, fibras y otros compuestos bioactivos. Entre estos últimos, los antioxidantes que están presentes en frutas y vegetales, poseen el máximo de interés (NICOLI *et al.*,1999).

¹ <http://www.iris.cl/Articulos/Arandano/Default.htm>

3. MATERIAL Y METODO

3.1 Lugar del ensayo

El proceso y los análisis fueron desarrollados en los laboratorios del Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos (ICYTAL), de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Austral de Chile.

3.2 Materiales

A continuación se detallan los materiales que se utilizaron en la investigación.

3.2.1 Materias primas. La materia prima utilizada para llevar a cabo el proceso fue pulpa de arándano con un contenido de sólidos solubles de 14 °Brix y jugo concentrado con 65 °Brix de sólidos solubles. El jugo antes mencionado fue proporcionado por la empresa Bayas del Sur, ubicado en la ciudad de Purrunque, X Región de Los Lagos. La pulpa de arándano fue elaborada en los laboratorios del Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos a partir del fruto fresco, cultivado en la Provincia de Valdivia.

3.2.2 Material de vidrio y otros materiales. Durante el desarrollo de la investigación se utilizaron diversos materiales como frascos de vidrio de 1 litro, placas Petri, pipetas de 1, 3, 5 10, 100 ml tanto parciales como totales, bureta, vasos precipitados de 250 y 1000 ml, matraces de 250 ml, tubos de ensayo. Además se emplearon un pie de bureta, pinzas, cucharas , espátulas, baguetas, probeta de 100 ml, cubetas, etiquetas, un jarro plástico, lápiz marcador, papel filtro Whatman n° 42, toalla de papel absorbente.

3.2.3 Reactivos químicos y otros. Dentro de los reactivos químicos usados se puede mencionar hidróxido de sodio, cloruro de potasio, acetato de sodio,

carbonato de sodio, reactivo Folin Ciocalteu, ácido gálico, carbón activado, reactivo Fehling A y B, glucosa anhidra, tiamina, fosfato diamónico.

3.2.4 Equipos e instrumentos. Densímetro, alcoholímetro, balanza analítica, espectrofotómetro, baño termorregulado, termómetro, peachímetro, sistema de destilación simple, agitador orbital (shaker), agitador magnético, refractómetro.

3.2.5 Acondicionamiento de la materia prima. Debido a que el arándano posee un bajo contenido de sólidos solubles, es decir alrededor de 14 °Brix, se utilizó en el proceso de elaboración un jugo concentrado de arándano de 65 °Brix debido a su alto contenido de sólidos solubles, el cual fue adicionado con la finalidad de aumentar el contenido de azúcar de la materia prima para elaborar el vino, en los volúmenes que sean requeridos de acuerdo al volumen a utilizar.

3.2.6 Microorganismo iniciador de la fermentación. Una vez que se haya realizado el acondicionamiento de la materia prima se le adicionaron las levaduras del género *Saccharomyces cerevisiae bayanus* y *Saccharomyces cerevisiae bayanus* PM, respectivamente.

3.3 Método

La metodología seguida en la investigación se describe en los puntos siguientes.

3.3.1 Preparación y mezcla de las materias primas. De acuerdo a las distintas concentraciones de azúcar requeridas para los distintos tratamientos con pulpa de arándano, jugo concentrado de arándano y agua, se prepararon las mezclas con las composiciones mencionadas en el CUADRO 8. Las concentraciones de los tratamientos utilizados se determinaron mediante preensayos.

3.3.2 Preparación del inóculo de levaduras. Las levaduras utilizadas como ya se mencionó antes fueron *Saccharomyces cerevisiae bayanus* y *Saccharomyces cerevisiae bayanus* PM. El inóculo de éstas se preparó

pesando 60 g/hl respectivamente de cada levadura, es decir 0,6 g/L y activándolas según las indicaciones del distribuidor, a 38 – 40 °C y dejándolas reposar por 15 minutos, para luego adicionarlas al mosto.

CUADRO 8. Composición de los tratamientos a utilizar

Tratamientos	Contenido de sólidos solubles (° Brix)	Levadura utilizada	Pulpa de arándano (%)	Jugo concentrado de arándano (%)	Agua (%)
T 1	20	<i>S.c bayanus</i> PM	39,1	21,8	39,1
T 2	25	<i>S.c bayanus</i> PM	34,8	30,8	34,8
T 3	30	<i>S.c bayanus</i> PM	30,4	39,2	30,4
T 4	20	<i>S.c Bayanus</i>	39,1	21,8	39,1
T 5	25	<i>S.c Bayanus</i>	34,8	30,8	34,8
T 6	30	<i>S.c Bayanus</i>	30,4	39,2	30,4

3.3.3 Metodología utilizada. El proceso de elaboración de vino de arándano se detalla a continuación en los siguientes pasos:

Pesado de la pulpa y jugo concentrado de arándano.

- ❖ Determinación del contenido de sólidos solubles de ambas materias primas con un refractómetro diluyendo las muestras para permitir una correcta apreciación.
- ❖ Mezcla del jugo concentrado de arándano, pulpa de arándano y agua.
- ❖ Verificación del contenido de sólidos solubles en el mosto.
- ❖ Estabilización de la temperatura del mosto en un baño termorregulado a 22 °C.
- ❖ Preparación del inóculo de levaduras como antes se mencionó.
- ❖ Adición del inóculo de levaduras al mosto que se encontraba a 22 °C.
- ❖ Inicio del proceso de fermentación alcohólica a 22 °C por 11 días.

- ❖ Adición de fosfato diamónico y tiamina, 0,2 g/L y 0,005 g/L respectivamente.
- ❖ Determinación de densidad del mosto a lo largo del proceso.
- ❖ Transcurridos 11 días se procedió a retirar del baño termostático el vino y posteriormente fue refrigerado a aproximadamente 6 °C.

Un resumen de la metodología utilizada, se presenta en el diagrama de flujo del proceso de elaboración del vino, el cual se muestra en la FIGURA 2.

3.3.4 Determinaciones analíticas. Se realizaron determinaciones analíticas para caracterizar, tanto a la materia prima como al producto terminado.

3.3.4.1 Materia prima. La materia prima utilizada en esta investigación fue sometida a los siguientes análisis.

–**Determinación de sólidos solubles.** Mediante el refractómetro Bellingham and Stanley RF330.

–**Determinación de pH.** Este análisis se realizó potenciométricamente

–**Determinación de acidez.** Por medio del método propuesto según Official Methods of Analysis International (AOAC, 1995).

–**Determinación del contenido de antocianinas.** Esta determinación se llevó a cabo por medio del método diferencial de pH (GIUSTI y WROLSTAD, 2002).

–**Determinación de fenoles totales.** Se realizó por medio del índice de Folin Ciocalteu (BORDEU y SCARPA, 1998).

3.3.4.2 Producto terminado. El producto terminado, por su parte fue sometido a los análisis señalados a continuación.

–**Determinación de densidad.** Esta determinación se llevó a cabo a lo largo del proceso por medio de un densímetro, debido a que el proceso fermentativo se considera completo cuando la densidad del vino alcanza alrededor de los 0,994 g/mL.

--**Determinación del azúcar residual.** Esta determinación se realizó empleando el método de Fehling Causee Bonnans (BORDEU y SCARPA, 1998).

--**Determinación de pH.** Este análisis se realizó potenciométricamente

--**Determinación de acidez.** Por medio del método propuesto según AOAC

--**Determinación del grado alcohólico.** Para determinar el contenido alcohólico del vino se realizó una destilación simple, con la finalidad de separar el alcohol en una mezcla alcohol-agua, y posteriormente medir directamente con un alcoholímetro centesimal de GAY-LUSSAC la graduación alcohólica (URETA, 1984).

--**Determinación del contenido de antocianinas.** Esta determinación se llevó a cabo por medio del método diferencial de pH (GIUSTI y WROLSTAD, 2002).

--**Determinación de fenoles totales.** Se realizó por medio del índice de Folin Ciocalteu (BORDEU y SCARPA, 1998).

3.3.5 Diseño experimental y análisis estadístico de los datos. En esta investigación se utilizó un diseño factorial categórico $3^1 \times 2^1$, lo que resulta en un diseño experimental con dos factores a tres y dos niveles respectivamente, por lo tanto 6 tratamientos. El primer factor considerado es la concentración de sólidos solubles de la pulpa una vez que ya ha sido acondicionada, cuyos niveles serían 20°, 25°, 30 °Brix. El segundo factor corresponde a las levaduras utilizadas, cuyos niveles serían *Saccharomyces cerevisiae bayanus* y *Saccharomyces cerevisiae bayanus* PM. Con la finalidad de obtener aleatoriedad en los datos se propone llevar a cabo los tratamientos en triplicado.

Los resultados de la investigación fueron analizados estadísticamente mediante el programa Statgraphics plus 5.1, a través de análisis de varianza con un nivel de significancia del 95 %. En caso de existir diferencias estadísticamente

significativas ($P \leq 0,05$) se realizó el Test de Rango Múltiple de Tukey al 95 % de significancia.

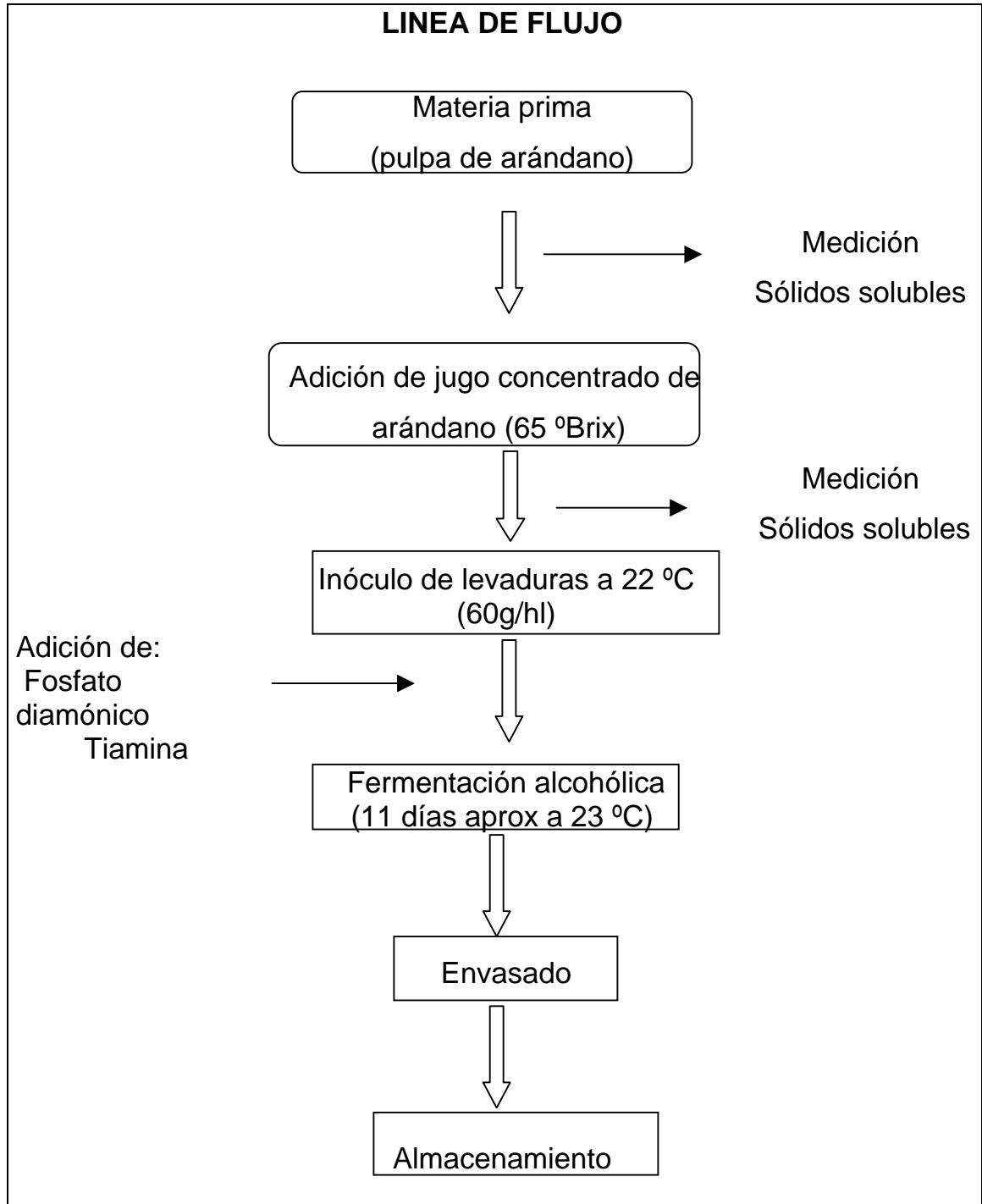


FIGURA 2. Diagrama de flujo elaboración de vino de arándano.

4. PRESENTACION Y DISCUSION DE RESULTADOS

Durante el proceso de elaboración del vino de arándano se llevaron a cabo diversos análisis, tanto al mosto que más tarde fue utilizado en la elaboración del vino así como también al producto terminado de cada uno de los tratamientos.

4.1 Determinaciones analíticas de la materia prima

Uno de los primeros análisis realizados en esta investigación correspondió a la caracterización de la materia prima, mejor dicho de las mezclas utilizadas en el proceso como mosto para la elaboración del vino de arándano.

Las determinaciones analíticas para la materia prima (mosto de arándano) fueron pH, acidez, fenoles totales y antocianinas. Los resultados obtenidos se presentan en el CUADRO 9 y son el promedio de tres repeticiones.

En cuanto al pH los valores obtenidos para las mezclas de los tres tratamientos, fluctúan entre 2,85 y 2,89, encontrándose diferencias significativas entre ellos siendo el factor crítico el contenido de sólidos solubles de las mezclas. La mezcla del tratamiento 1 analíticamente posee el menor pH.

Los valores de pH determinados son inferiores a los propuestos por NOBLE y PFEIFFER (1998), quienes indican como pH adecuado del mosto para la elaboración del vino entre 3,0 y 3,6 aproximadamente.

No obstante los valores de pH obtenidos según BOBADILLA² son bajos, considerando que las dos levaduras utilizadas en esta investigación, al ser empleadas en el caso de la elaboración de vino tinto presentan como favorable,

² Comunicación personal con Ricardo Bobadilla, Ing. Agrónomo, Industrias Vínicas S.A.

un pH del mosto de 3,2 a 4,2. Sin embargo esto no descarta su utilización bajo estas condiciones.

CUADRO 9. Resultados de las determinaciones analíticas de las mezclas de materia prima

Mezcla	pH	Acidez (g/ 100ml)	Fenoles totales (mg ácido gálico / 100 g)	Antocianinas (mg Cyanidin 3 glucoside/ L)
T 1	2,84±0,005 a	1,81±0,020 a	297 ±1,09 a	274 ±1,25 a
T 2	2,87±0,005 b	2,02±0,015 b	357 ±1,73 b	325 ±1,75 b
T 3	2,89±0,010 b	2,39±0,012 c	406 ±1,09 c	377 ±0,76 c

Letras distintas en las columnas indican diferencias estadísticamente significativas al 5 %, según la Prueba de Rango Múltiple de Tukey.

En tanto con respecto a la acidez total de las mezclas de los tres tratamientos presentados en el CUADRO 9, cuyos valores oscilan entre 1,81 y 2,39 % P/V, expresados como ácido cítrico ya que es el ácido presente en mayor cantidad en el arándano. Se encontraron también diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos, siendo el contenido de sólidos solubles la variable crítica.

Con respecto a la acidez del mosto de uva, PANREAC (1989) señala valores que oscilan entre 0,35 y 1,0 g/100 ml expresados como ácido tartárico, ya que éste se encuentra en mayor cantidad en la uva. Debido a que como antes se mencionó, el ácido utilizado para el cálculo de la acidez total, es distinto para la uva y el arándano, los valores antes mencionados se presentan solo como referencia.

En el CUADRO 9 se puede observar claramente que los valores obtenidos de pH en los tres tratamientos fueron bastante similares, a diferencia de la acidez de las tres mezclas utilizadas como materia prima, donde se aprecia que el aumento de acidez es proporcional al contenido de sólidos solubles de las mezclas (20, 25, 30 °Brix).

Las diferencias significativas encontradas en los dos casos anteriores, pH y acidez, se atribuyen principalmente a la composición de las mezclas utilizadas en los tres tratamientos, con respecto a las cantidades de pulpa y jugo concentrado de arándano que éstas poseen. Además por supuesto de la acidez propia del arándano, considerando que es mucho más ácido que la uva.

Con respecto a los fenoles totales del mosto de arándano, en el CUADRO 9, se presentan los valores obtenidos para las tres mezclas, los que fluctuaron entre 297 y 406 mg/100g (expresado como equivalentes de ácido gálico), encontrándose diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos.

LEE y WROLSTAD (2004), señalan que el arándano en sí, como fruto, posee 390 mg/100g (expresado como equivalentes de ácido gálico) de fenoles totales. Este último valor es inferior a los que presentaron los mostos utilizados, pero es muy importante hacer mención al uso de jugo concentrado de arándano en el acondicionamiento del mosto para elaborar el vino de arándano, que puede haber contribuido en el aumento del contenido de fenoles, además de la alta capacidad antioxidante del arándano.

Finalmente en el CUADRO 9 se observan los diferentes contenidos de antocianinas para las mezclas de los tres tratamientos, cuyos valores oscilaron entre 274 y 377 mg/ L (expresados como equivalentes de cianidin 3 glucoside), encontrándose diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos.

LEE y WROLSTAD (2004), señalan que el arándano en sí, como fruto, posee 2300 mg/L (expresados como equivalentes de cianidin 3 glucoside) de

antocianinas. CLIFFORD (2000), señala por su parte que el contenido de antocianinas del arándano es de aproximadamente 825 - 4200 (mg/L o mg/Kg). Con respecto a los dos parámetros antes mencionados, contenido de fenoles totales y antocianinas en el mosto de arándano, es trascendente destacar la alta proporción de antioxidantes que posee este fruto, y que lo ha posicionado en un lugar de importancia debido a las características nutricionales que posee. De los análisis de pH y acidez anteriormente mencionados al mosto de arándano y compararlos con un mosto de uva para la elaboración de vino tinto, es importante destacar que éstos presentaron valores más bajos de lo esperado, en relación con los valores de pH y acidez favorables para el desarrollo de la fermentación alcohólica, por lo que se utilizaron dos cepas de levaduras con alta tolerancia al alcohol *Saccharomyces cerevisiae bayanus* y *Saccharomyces cerevisiae bayanus* PM, esta última además utilizada en la elaboración de vinos blancos, con la finalidad de determinar cual levadura produce un vino que cumpla con la mayoría de los requisitos para elaborar vinagre.

4.2 Control del proceso fermentativo

Uno de los parámetros utilizados como indicador durante el proceso de elaboración del vino de arándano, más específicamente en la fermentación alcohólica propiamente tal, fue la densidad del vino, cuya medición se realizó diariamente a través del proceso, con la finalidad de determinar la variación de la densidad (g/mL) en el tiempo (días) y comparar además el comportamiento de las dos levaduras utilizadas en esta investigación.

En la FIGURA 3 se presentan las gráficas de la evolución de cada uno de los tratamientos, los que representan el promedio de las tres repeticiones.

Al observar el comportamiento de la densidad en todos los tratamientos, se aprecia una disminución a lo largo del proceso fermentativo, lo que concuerda con lo señalado por URETA (1984), sin embargo este mismo autor señala como densidad final del vino tinto 0,995 g/mL, lo que en el caso del vino de arándano no fue posible obtener ya que su densidad final fue de 1,000 g/mL,

atribuyéndose esto último principalmente a la diferencia en la materia prima utilizada.

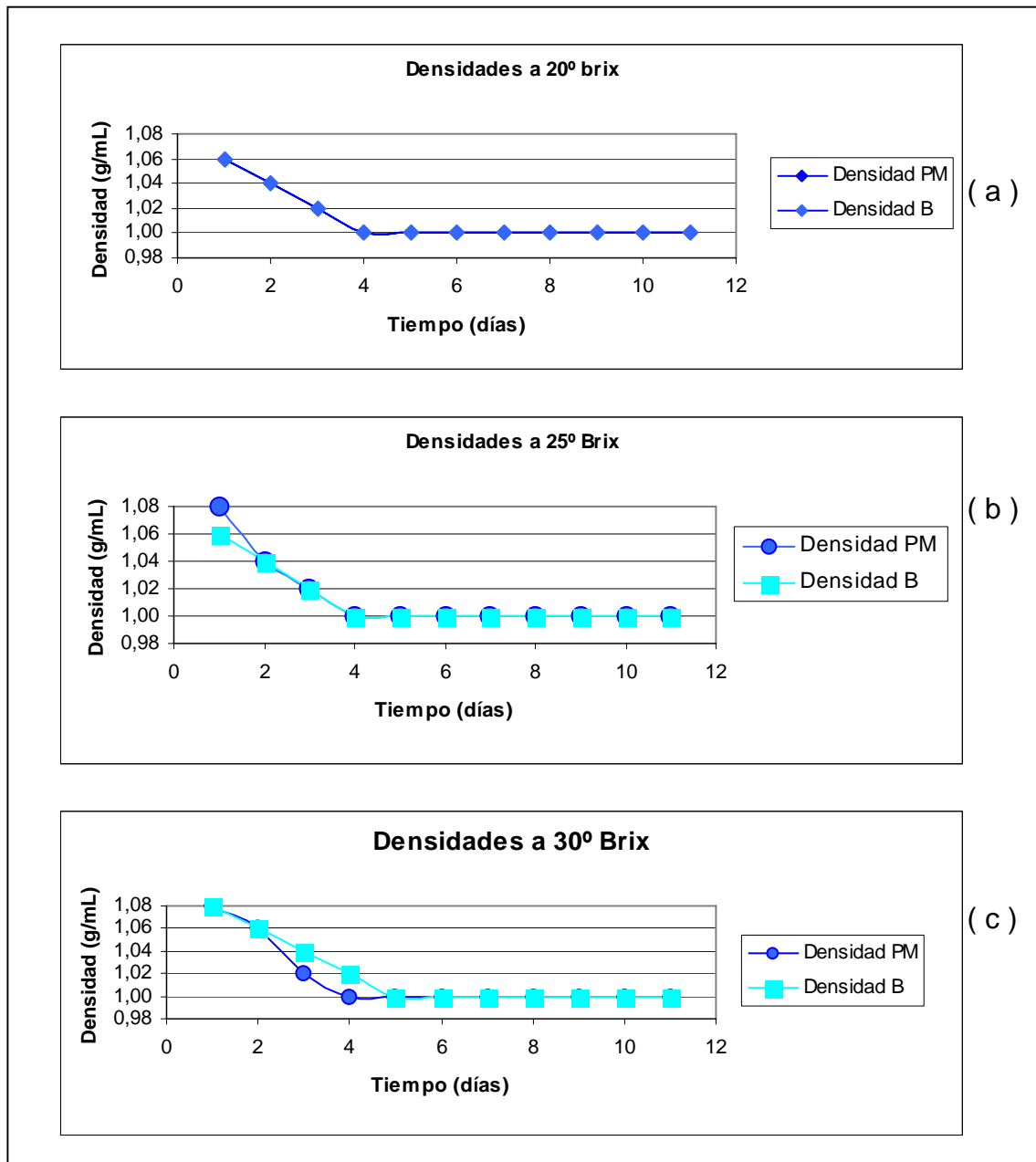


FIGURA 3 Densidad del vino en función del tiempo para los seis tratamientos a 20, 25 y 30 °Brix.

SPRANGER *et al.*, (2004) indican como densidad del vino tinto valores entre 0,992 – 0,993 g/mL aproximadamente, los cuales son próximos a los propuestos por el autor anterior.

Como es posible observar en la FIGURA 3, el gráfico (a) presenta el primer tratamiento a 20 °Brix para ambas levaduras, cuyo comportamiento frente a la densidad fue idéntico. Iniciando el proceso de fermentación con una densidad de 1,060 g/mL, la que fue disminuyendo y al cabo de 4 días se conservó constante en 1,000 g/mL hasta el final del proceso fermentativo.

En los gráficos (b) y (c) de la FIGURA 3, se presenta una leve diferencia de las levaduras entre sí para cada tratamiento, al inicio del proceso fermentativo para el caso de (b) y en el desarrollo de éste para (c), sin embargo, posteriormente la densidad del vino de arándano se mantiene constante al cabo de 4 días en 1,000 g/mL hasta el fin del proceso fermentativo.

4.3 Determinaciones analíticas del producto terminado

Una vez finalizado el proceso fermentativo en la elaboración del vino de arándano, este último fue sometido a varias determinaciones analíticas con la finalidad de caracterizar el producto.

Las determinaciones analíticas realizadas al vino de arándano fueron pH, y acidez, grado alcohólico, azúcar residual, fenoles totales y antocianinas; los resultados obtenidos son el promedio de tres repeticiones y se presentan en el CUADRO 10, 11, 12 y 13 respectivamente.

Al analizar los valores presentados en el CUADRO 10 se observa que el pH de los vinos de arándano elaborados oscilan entre 3,10 y 3,22, encontrándose diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos.

Se aprecia además que el vino elaborado con la levadura *Saccharomyces cerevisiae bayanus* posee un pH ligeramente superior al obtenido con *Saccharomyces cerevisiae bayanus* PM. Al comparar los valores de pH antes mencionados de los vinos de arándano, se observa que concuerdan con lo

planteado por PEYNAUD (1977), que considera que el pH del vino tinto varía de 2,8 a 3,8. Por otra parte PANREAC (1989), a diferencia del autor anterior, considera un rango más estrecho para el pH del vino tinto, que varía entre 2,8 y 3,4. Finalmente REDZEPOVIC *et al.*, (2003) indican como pH del vino tinto valores que oscilan entre 3,20 y 3,36 aproximadamente. Por lo tanto, es posible mencionar que el pH de los vinos elaborados se encuentran dentro de los rangos mencionados por los autores anteriormente citados, a pesar de que el mosto utilizado como materia prima presentara valores de pH inferiores a los considerados favorables para las levaduras utilizadas en esta investigación, pero que no impedían su utilización como se mencionó anteriormente en los análisis de la materia prima.

CUADRO 10. Resultados de las determinaciones analíticas de pH y acidez del vino de arándano

Tratamiento	pH	Acidez total (g/100ml)
T1 (PM)	3,10 ± 0,018 a	1,87 ± 0,035 a
T2 (PM)	3,11 ± 0,025 ab	2,21 ± 0,028 b
T3 (PM)	3,18 ± 0,020 ab	2,66 ± 0,024 c
T4 (B)	3,13 ± 0,019 ab	1,81 ± 0,030 a
T5 (B)	3,21 ± 0,023 b	2,15 ± 0,029 b
T6 (B)	3,22 ± 0,027 b	2,56 ± 0,031 c

Letras distintas en las columnas indican diferencias estadísticamente significativas al 5 %, según la Prueba de Rango Múltiple de Tukey.

En la FIGURA 4 se presenta una gráfica de la variación del pH, al inicio del proceso de elaboración y una vez terminado el producto.

Al observar los contenidos de acidez total del vino de arándano en el CUADRO 10, se aprecia que los valores oscilan entre 1,81 y 2,66 g/100ml de ácido cítrico, encontrándose diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos según el contenido de sólidos solubles. Los tratamientos 1 y 4 poseen mayor acidez total, lo cual se puede explicar porque son las mezclas que inicialmente poseían mayor cantidad de pulpa de arándano. PANREAC (1989), considera para el vino tinto una acidez total mayor o igual a 0,45 g/100ml de ácido tartárico. Por otra parte REDZEPOVIC *et al.*, (2003) indican como acidez total del vino tinto 0,8 g/100ml de ácido tartárico. De lo anterior es importante mencionar que el vino de arándano posee una acidez total y un sabor más ácido que un vino tinto disponible en el comercio, debido a la acidez propia del fruto. En la FIGURA 5 se presenta una gráfica de la acidez total del mosto y del vino de arándano elaborado, donde se observa claramente la leve variación acidez total del mosto con respecto a la acidez total del vino .

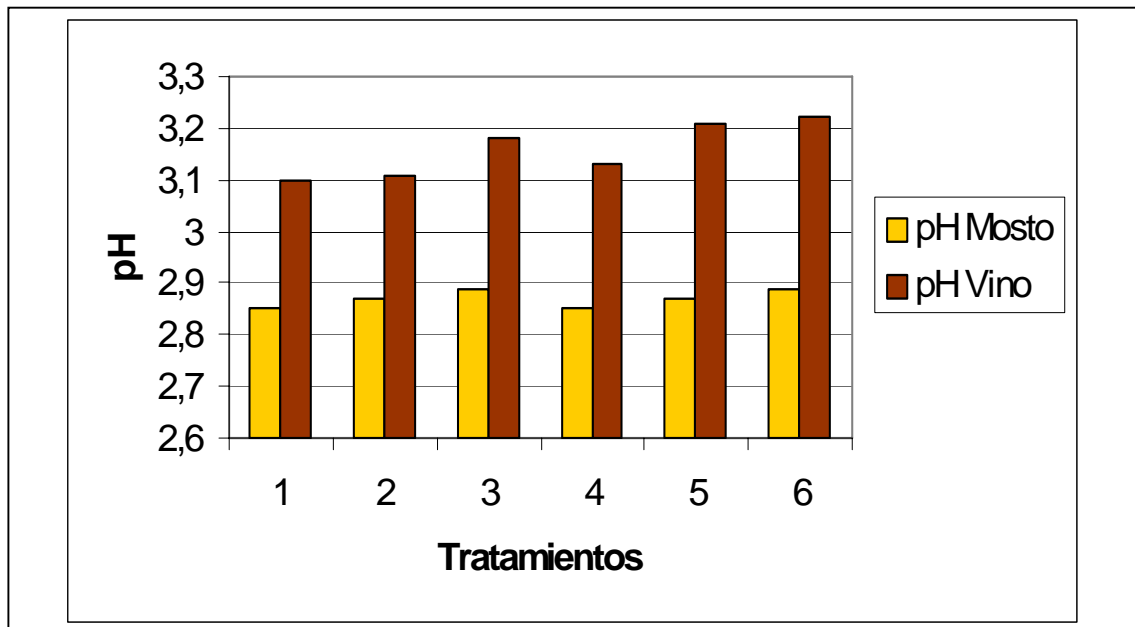


FIGURA 4 pH del mosto y del vino de arándano.

En cuanto a la graduación alcohólica, el CUADRO 11 muestra los valores obtenidos para los seis tratamientos, los cuales poseen valores entre 7 y 12° alcohólicos, encontrándose diferencias estadísticamente significativas entre los

tratamientos según el contenido de sólidos solubles. Los tratamientos 3 y 6 indican analíticamente que poseen los mayores contenidos de alcohol, lo cual era de esperarse ya que estos tratamientos inicialmente tenían el mayor contenido de sólidos solubles (30 °Brix).

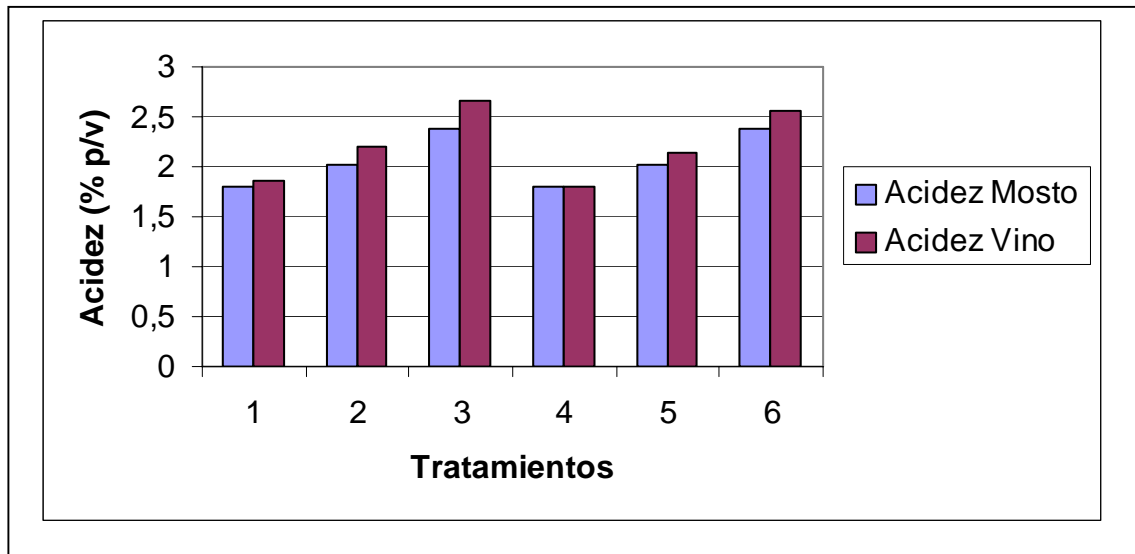


FIGURA 5 Acidez del mosto y del vino de arándano.

Con respecto a lo anterior REDZEPOVIC *et al.*, (2003) indican 12 o 13 % v/v. como contenido de alcohol del vino tinto. SPRANGER *et al.*, (2004) concuerdan con el autor anterior en el contenido de alcohol del vino. Otros autores como SIMUNOVIC (1999), señalan que el contenido mínimo de alcohol del vino tinto es de 11,5 % v/v, esta situación ocurre porque los vinos no producen, en condiciones normales, una graduación alcohólica inferior a la mínima antes mencionada..

Además es importante mencionar que el contenido de alcohol de los tratamientos que inicialmente poseían un contenido de sólidos solubles de 20 y 25 °Brix que finalmente obtuvieron 8 y 10 % v/v respectivamente, alcanzaron contenidos de alcohol inferiores a lo esperado, ya que en el caso de los mostos de uva, contenidos de sólidos solubles de 25 °Brix producen aproximadamente 14 % v/v de alcohol. Atribuyéndose esta situación al fruto elegido como materia prima y sus características intrínsecas, ya que en la elaboración del vino tinto

los contenidos de °Brix de los mostos de uva para iniciar la fermentación alcanzan los 21 °Brix y obtienen como mínimo los 11,5 % v/v de alcohol como antes se mencionó.

Finalmente es trascendental recalcar que la graduación alcohólica de los vinos de arándano obtenidos cumplen con los requisitos de un vino utilizado como materia prima para elaborar vinagre según lo citado por LLAGUNO y POLO (1991).

CUADRO 11. Resultados de la determinación del grado alcohólico del vino de arándano

Tratamiento	Grado alcohólico (%v/v)
T1 (PM)	7 ± 0,10 a
T2 (PM)	10 ± 0,11 b
T3 (PM)	12 ± 0,13 c
T4 (B)	8 ± 0,10 a
T5 (B)	10 ± 0,12 b
T6 (B)	12 ± 0,14 c

Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas al 5 %, según la Prueba de Rango Múltiple de Tukey.

Al analizar el contenido de azúcar residual en el CUADRO 12 de cada uno de los tratamientos realizados, es posible observar que los valores oscilaron entre 2,52 y 4,08 g/L de azúcar, encontrándose diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos, siendo la variable crítica las cepas de levaduras utilizadas en esta investigación. Los tratamientos en que se empleó la levadura *Saccharomyces cerevisiae bayanus* presentaron un contenido

levemente menor de azúcar residual, en comparación con la levadura *Saccharomyces cerevisiae bayanus* PM.

Esto no concuerda con lo propuesto por TORIJA *et al.*, (2003) que indican como concentración de azúcar residual del vino, valores \leq a 2 g/L. Sin embargo otros autores clasifican los vinos con mayor contenido de azúcar como semi-secos. De lo anterior es posible mencionar que los vinos de arándano elaborados no pueden ser clasificados como vinos secos, debido a que sus contenidos de azúcar residual son $>$ a 2 g/L.

CUADRO 12. Resultados de la determinación del contenido de azúcar residual del vino de arándano

Tratamiento	Azúcar residual(g/L)
T1 (PM)	4,08 \pm 0,15 a
T2 (PM)	3,78 \pm 0,14 b
T3 (PM)	3,51 \pm 0,12 c
T4 (B)	3,29 \pm 0,14 d
T5 (B)	3,10 \pm 0,13 e
T6 (B)	2,52 \pm 0,11 f

Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas al 5 %, según la Prueba de Rango Múltiple de Tukey.

SPRANGER *et al.*, (2004) a su vez, consideran que el contenido de azúcar residual del vino de uva debe oscilar entre 2,3 y 3,1 g/L. Al comparar este rango con los valores obtenidos en el CUADRO 12 algunos tratamientos concuerdan con lo señalado por el autor anterior, preferentemente los vinos en

que se utilizó *Saccharomyces cerevisiae bayanus*. BOBADILLA³, señala además que el contenido de azúcar residual de los vinos de arándano puede estar relacionado con el pH del medio, ya que es probable que las levaduras hayan cesado la fermentación alcohólica no por falta de sustrato, sino debido a lo ácido del vino.

Por otra parte los contenidos de azúcar residual de los vinos de arándano elaborados con la levadura *Saccharomyces cerevisiae bayanus* PM son levemente superiores a los obtenidos con la levadura *Saccharomyces cerevisiae bayanus*, lo que se relaciona con la mayor tolerancia al alcohol de esta última.

Finalmente los contenidos de azúcar residual de los vinos de arándano elaborados no permiten clasificarlos como vinos secos (≤ 2 g/L) ya que poseen contenidos de azúcar residual superiores a 2g/L, lo cual es desfavorable considerando que un vino para producir vinagre debe como requisito de la materia prima ser seco.

Como se puede observar en el CUADRO 13, los contenidos de fenoles totales fluctúan entre 252 y 375 mg/100g (expresados como equivalentes de ácido gálico), encontrándose diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos. Los tratamientos 3 y 6 poseen el mayor contenido de fenoles totales como se observa en la FIGURA 6, ya que estos tratamientos poseían inicialmente un mayor contenido de sólidos solubles debido a la composición de las mezclas.

GONZALEZ *et al.* (1997), presentan para el vino tinto un contenido de fenoles totales de 690 mg de ácido gálico/L y 1820 mg de ácido gálico/L, mínimo y máximo respectivamente.

LEIGHTON y URQUIAGA (2000), señalan que concentración total de compuestos polifenólicos en el vino varía entre 1800 y 4060 mg/L equivalentes

3 Comunicación personal con Ricardo Bobadilla, Industrias Vínicas S.A.

en ácido gálico, con un promedio de 2570 mg/L para vino tinto, y de 160 a 330 mg/ L con un promedio de 240 mg/L, para el vino blanco.

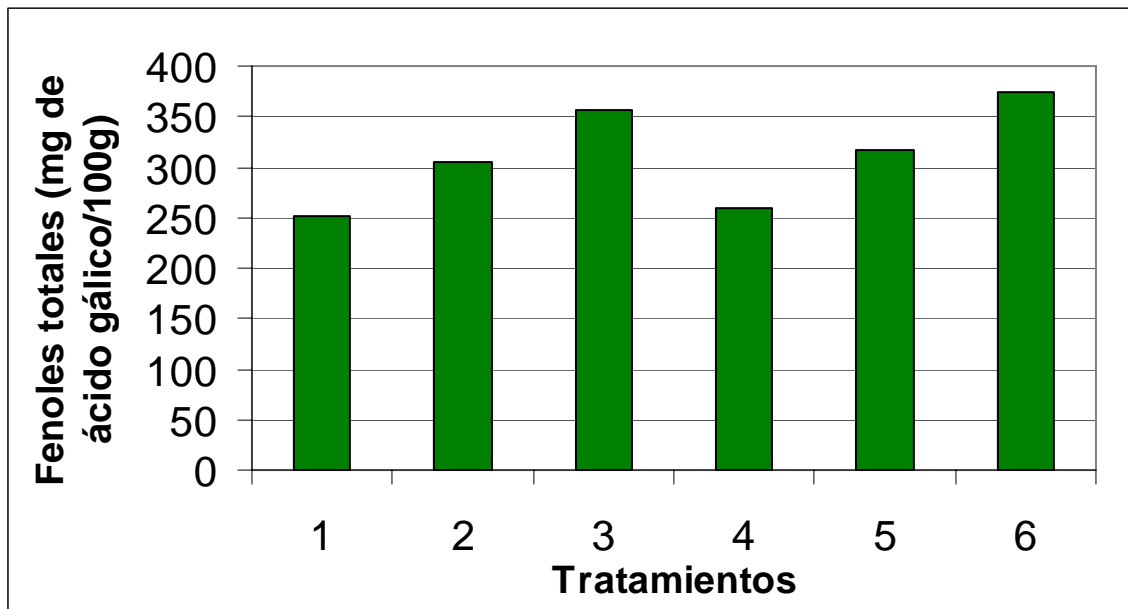


FIGURA 6 Contenido de fenoles totales del vino de arándano.

Los valores señalados por los autores citados anteriormente, exponen que el vino tinto posee una concentración de fenoles totales bastante similar a la del vino de arándano elaborado, lo cual era de esperarse, ya que así como la uva es rica en compuestos fenólicos que se encuentran contenidos en la piel, semillas y pulpa como señala BURNS *et al.* (2001), el arándano también es rico en compuestos fenólicos y conocido por su alta proporción de antioxidantes.

Finalmente al considerar los contenidos de antocianinas para los seis tratamientos en el CUADRO 13, es posible observar que los valores fluctúan entre 245 y 354 mg/L (expresados como cyanidin 3 glucoside), encontrándose diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos. En este caso al igual que en el de los fenoles totales los tratamientos 3 y 6 poseen el mayor contenido de antocianinas como se observa en la FIGURA 7, lo cual era de esperarse ya que los mostos de estos tratamientos presentaban el mayor contenido de sólidos solubles (30 °Brix) inicialmente. Esta situación puede

atribuirse a lo señalado por YOKOTSUKA *et al.* (1999) que dice relación con que en el caso del vino tinto, en el rango de 15 a 21° Brix, que corresponde a la madurez comercial de la uva, el contenido de fenoles totales y antocianinas en la piel del fruto aumenta al aumentar los ° Brix y que además esto tiene una alta correlación en los cambios en sus contenidos.

CUADRO 13. Resultados de las determinaciones analíticas del contenido de fenoles totales y antocianinas del vino de arándano

Tratamiento	Fenoles totales (mg Acido gálico /100g)	Antocianinas (mg cyanidin 3 glucoside /L)
T1 (PM)	252 ± 1,15 a	245 ± 0,72 a
T2 (PM)	304 ± 1,19 b	296 ± 0,74 b
T3 (PM)	356 ± 1,11 c	340 ± 0,71 c
T4 (B)	259 ± 1,13 a	253 ± 0,77 a
T5 (B)	317 ± 1,17 b	306 ± 0,73 b
T6 (B)	375 ± 1,14 c	354 ± 0,75 c

Letras distintas en las columnas indican diferencias estadísticamente significativas al 5 %, según la Prueba de Rango Múltiple de Tukey.

Por otra parte a modo de referencia GONZALEZ *et al.* (1997) señalan que el contenido mínimo y máximo de antocianinas en el vino tinto es de 31,3 y 253,3 mg monoglucósido de malvidina /L respectivamente.

Al observar los contenidos de fenoles totales y antocianinas de los vinos de arándano producidos, es importante considerar su alta proporción de antioxidantes, ya que lo transforman en un producto atractivo como materia prima para la producción de vinagre, debido a que se obtendría un producto con

características químicas y sensoriales típicas de los berries, con muy buenas proyecciones para la agroindustria alimentaria.

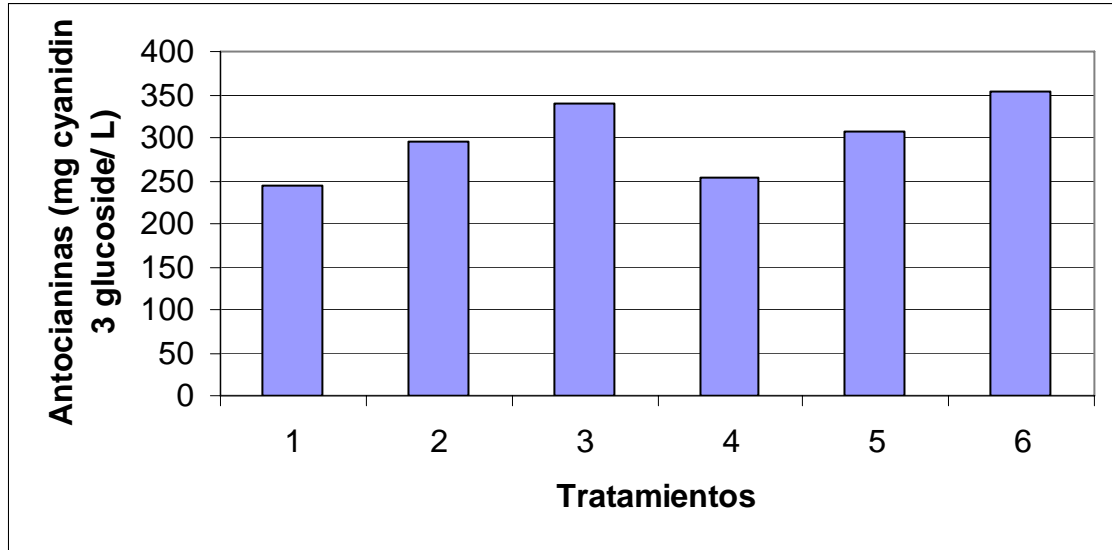


FIGURA 7 Contenido de antocianinas del vino de arándano.

5. CONCLUSIONES

De la presente investigación es posible concluir lo siguiente:

- La utilización del arándano como materia prima en el proceso de vinificación, permite la obtención de un vino de fruta similar al vino tradicional cuya materia prima es la uva.
- Además se determinó que el vino de arándano elaborado posee un alto contenido de fenoles totales y antocianinas.
- Los vinos de arándano elaborados, materia prima para la producción de vinagre, alcanzaron la graduación alcohólica requerida, sin embargo no lograron los contenidos de alcohol esperados de acuerdo al porcentaje de azúcar inicial, lo que originó contenidos de azúcar residual mayores a los esperados, en todos los tratamientos.
- Se puede concluir además que al analizar el mosto y vino de arándano con respecto al pH y acidez, estos son notablemente más ácidos que el mosto y vino de uvas, razón por la cual la fermentación alcohólica puede haber cesado anticipadamente no por falta de sustrato, sino por lo ácido del medio.
- Los vinos elaborados con la levadura *Saccharomyces cerevisiae bayanus* presentaron menor contenido de azúcar residual, con respecto a la levadura *Saccharomyces cerevisiae bayanus PM*, pero sin embargo ambos no pueden ser calificados como vinos secos ($\leq 2\text{g/L}$ de azúcar residual), ya que sus contenidos de

azúcar residual son levemente superiores a los requeridos en la elaboración de vinagre.

- Finalmente se puede concluir que de acuerdo con las características del vino de arándano elaborado se podría producir vinagre de arándano, producto que resulta muy atractivo para la agroindustria alimentaria debido a que se obtendría un producto con características químicas y sensoriales típicas de los berries,

6. RESUMEN

El arándano es un fruto que en los últimos años ha aumentado su importancia en el mundo y en Chile debido a sus características nutricionales, rico en vitaminas, minerales, bajas calorías y su alta proporción de antioxidantes. El objetivo de esta investigación fue elaborar vino de arándano con las características propias de un vino que permita obtener vinagre a partir de él. Se caracterizó el mosto y el vino de arándano producido. Así como también se midieron los contenidos de alcohol alcanzados en los diferentes tratamientos. Los factores involucrados en el estudio fueron los distintos contenidos de azúcar de los mostos (20, 25, 30 °Brix) y las dos levaduras utilizadas en la fermentación (*Saccharomyces cerevisiae bayanus* y *Saccharomyces cerevisiae bayanus* PM).

El arándano utilizado como materia prima en el proceso de vinificación, permitió la obtención de un vino similar al vino tradicional, cuya materia prima es la uva, pero mas ácido. Por otra parte, los tres diferentes contenidos de azúcar de los mostos influyeron en los contenidos de alcohol de los vinos, alcanzando éstos la graduación alcohólica requerida para producir vinagre. Además, la composición de los mostos, así como de los vinos producidos presentaron un alto contenido de fenoles totales y antocianinas. Por último, el contenido de azúcar de los vinos elaborados no permite clasificarlos como vinos secos, ya que el valor fue superior a 2 g/L en todos los casos.

SUMMARY

Blueberry is a fruit that in the last years has increased its world and Chilean importance due to its nutritional characteristics because is rich in vitamins, minerals, low in calories and is high in antioxidants. The objectives of this research was to elaborate blueberry wine with the normal characteristics of wine, which allows to obtain blueberry vinegar. Must and wine produced was characterized, as well as the alcohol content reached in different contents. The factors involved in the study were the different contents of sugar of the musts (20, 25, 30 °Brix) and two yeasts used in the fermentation (*Saccharomyces cerevisiae bayanus* and *Saccharomyces cerevisiae bayanus* PM).

The blueberry used as raw material in the process vinification, allowed obtaining a wine similar to the traditional wine whose raw material is the grape, highest in acidity. On the other hand, three different contents of sugar in the must influenced the contents of alcohol of the blueberry wines, reaching these the alcoholic graduation needed to produce vinegar. Besides, the composition of the musts as well as of the blueberry wines produced presented a high value for total phenols and anthocyanins. Finally, the sugar content of elaborated wines does not allow to classify them as dry wines, because the values were over 2 g/L in all the treatments.

7. BIBLIOGRAFIA

- ADAMS M. y MOSS M. 2000. Food microbiology second edition. Publisher by the Royal Society of Chemistry. Cambridge. 479 p.
- ALADREN, F. y CRESPO, I. 1999. Estudio de la relación entre el color de la uva tinta y el color del vino. *Viticultura / Enología profesional*. (63): 23 – 34.
- AOAC.1995. Official Methods of Analysis International. Food Composition; Additives; Natural contaminants.
- ARTHEY, D. y ASHURT, P.1999. Procesos de conservación de alimentos. Editorial Acribia.S.A., Zaragoza, España.273p.
- AUSEJO, A., LLUCH,M. y PEREZ, I. 1999. Cuantificación y características de la materia colorante en lías procedentes de vinos tintos de la zona de Utiel-Requena. *Viticultura/Enológica*. (60): 53 - 61.
- BERNAL DE RAMIREZ, I., 1993. Análisis de Alimentos. Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales, Bogotá, Colombia. 335p.
- BORDEU, E. y SCARPA,J. 1998. Análisis químico del vino. Ediciones Universidad Católica de Chile. Santiago. Chile. 253p.
- BOURGEOIS, C. y LARPENT, J. 1994. Microbiología alimentaria. Editorial Acribia. Zaragoza. España. 474p.
- BURNS,J., GARDNER,P., MATTEEWS,D,. DUTHIE,G., LEAN, M. y CROZIER,A. 2001. Extraction of Phenolics and Changes in Antioxidant Activity of Red Wines during Vinification. *Journal Agricultural Food Chemistry*. 49 (12): 5797-5808.
- BUZETA, A. 1997. Chile: Berries para el 2000. Fundación Chile. Departamento Agroindustrial. Santiago.Chile.133p.

- CAMPOS, A. y LISSI, E. 1996. Total antioxidant potential of Chilean wines. *Nutrition Research*. 16 (3): 385 – 389.
- CHILE. Oficina de Estudios y políticas Agrarias. ODEPA. INTERNET: <http://www.iris.cl/Articulos/Arandano/Default.htm>. Revisado Abril 26 de 2004.
- CLEMENTE, J., MINGORANCE, L., MARTINEZ, S., LAS HERAS, F. y RODRÍGUEZ, F. 2005. Influence of sequential yeast mixtures on wine fermentation. *International Journal of Food Microbiology*. (98): 301– 308.
- CLIFFORD, M. 2000. Anthocyanins – nature, occurrence and dietary burden. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 80: 1063 – 1072.
- CHRISTAKI, T. y TZIA, C., 2002. Quality and safety assurance in winemaking. *Food Control*. (13): 503 - 517.
- CORDOVA, A., JACKSON, M., BERKE, D. y SUMPIO, B. 2005. The Cardiovascular Protective Effect of Red Wine. *Journal of the American College of Surgeons*. 200 (3):428 – 439.
- DE ORY I., ROMERO L., CANTERO D. 2002. Optimum starting-up protocol of a pilot plant scale acetifier for Viniegra production. *Journal of Food Engineering*. 52:31-37.
- DINAMARCA, P., POBLETE, R. y SÁNCHEZ, R. 1986. Aspectos técnico-económicos en la producción de berries. Fundación Chile. Departamento agroindustrial (Publicación Técnica N° 16). Santiago. Chile.
- DONATH, E. 1992. Elaboración artesanal de frutas y hortalizas. Zaragoza. Barcelona. España. 135p.
- FELLOWS, P. 1988. *Food Processing Technology*. Ellis Horwood Ltda. Chichester, England. 505p.
- FENNEMA, O. 2000. *Química de los alimentos*. Editorial Acribia. 2da Edición. Zaragoza. España. 1258p.

- FERNÁNDEZ, M., VILLAÑO, D., GARCIA, M. y TRONCOSO, A. 2004. Antioxidant activity of wines and relation with their polyphenolic composition. *Analytica Chimica Acta*. (513): 113 – 118.
- FERREIRA, R., PICARRA, M., MONTEIRO, S., LOUREIRO, V. y TEIXEIRA, A. 2002. The wine proteins. *Trends in Food Science & Technology*. (12): 230 – 239.
- FLEET, G. 1999. Microorganism in food ecosystems. *International Journal of Food Microbiology*. (50): 101 - 117.
- GIUSTI, M. y WROLSTAD, R. 2002. Characterization and measurement of anthocyanins by UV-Visible spectroscopy. *Food Analytical Chemistry*. F1.2. 11p.
- GONZALEZ, G., BARREIRO, L., BOCHICCHIO, R., CURBELO, M., GATTO, G., GIL, G. y TESSORE, A. 1997. Composición fenólica y Color de vinos blancos, rosados y tintos de Uruguay. *Viticultura / Enología profesional*. (52): 14 – 22.
- GONZALEZ, M. 2002. Los compuestos fenólicos y las características sensoriales de los vinos. *Análisis Sensorial del Vino*. Area de Tecnología de los Alimentos. Facultad de Ciencias. Universidad de Burgos. España. 21p.
- IVERSEN, C. 1999. Black Currant Nectar: Effect of Processing and Storage on Anthocyanin and Ascorbic Acid Content. *Journal of Food Science*. 64 (1): 37 – 41.
- KALT, W., MACDONALD, J.E., y DONNER, H. 2000. Anthocyanins, Phenolics, and Antioxidant Capacity of Processed Lowbush Blueberry Products. *Journal of Food Science*. 65 (3): 390 – 393.

- KONG, J., CHIA, L., GOH,N., CHIA,T y BROUILLARD, R. 2003. Analysis and biological activities of anthocyanins. *Phytochemistry*. (64): 923 – 933.
- LEE, J., DURST, R. y WROLSTAD, R. 2002. Impact of juice processing on blueberry anthocyanins and polyphenolics: comparison of two pretreatments. *Journal of Food Science*. 67 (5): 1660 - 1667.
- LEE, J. y WROLSTAD, R. 2004. Extraction of anthocyanins and polyphenolics from blueberry processing waste. *Journal of Food Science*. 69 (7): 564 – 573.
- LEIGHTON, F. y URQUIAGA, I. 2000. Polifenoles del vino y salud humana. Antioxidantes y calidad de vida. (7): 5-13.
- LOUREIRO, V. y MALFEITO, M. 2003. Spoilage yeasts in the wine industry. *International Journal of Food Microbiology*. (86): 23 – 50.
- LLAGUNO C. y POLO M. C. 1991. El vinagre de vino. Consejo Superior de Investigaciones Científicas. Madrid. España. 238 p.
- MESAS, J. y ALEGRE, M. 1999. El papel de los microorganismos en la elaboración del vino. *Ciencia y Tecnología Alimentaria*. 2 (4): 174-183.
- NICOLI, M., ANESE, M. y PARPINEL, M. 1999. Influence of processing on the antioxidant properties of fruit and vegetables. *Trends in Food Science & Technology*. (10): 94 – 100.
- NOBLE, A. y PFEIFFER, J. 1998. Wine. University of California. Davis. California. EEUU.
- NOVO, M., BELTRÁN, G., TORIJA, M., POBLET, M., ROZES, N., GUILLAMON, J., y MAS, A. 2003. Changes in wine yeast storage carbohydrate levels during preadaptation, rehydration and low temperature fermentations. *International Journal Of Food Microbioloy*. (86): 153 – 161.
- PANREAC, J. 1989. Métodos analíticos en alimentaria: productos derivados de la uva y similares. Madrid. España. 464p.

- PEYNAUD, E. 1977. Enología práctica. Ediciones mundiprensa. Madrid. España. 414p.
- POTTER, N. y HOTCHKISS, J. 1999. Ciencia de los alimentos. Editorial Acribia. Zaragoza. España. 667p.
- PRIOR, R., CAO, G., MARTÍN, A., SOFIC, E., McEWEN, J., O'BRIEN, C., LISCHNER, N., EHLENFELDT, M., KALT, W., KREWER, G. y MIKE, C. 1998. Antioxidant capacity as influenced by total phenolic and anthocyanin content, maturity, and variety of vaccinium species. *Journal Agricultural Food Chemistry*. 46 (7) 2686 – 2693.
- QUEROL, A., FERNÁNDEZ, M., OLMO, M. y BARRIO, E. 2003. Adaptative evolution of wine yeast. *International Journal of Food Microbiology*. (86): 3 –10.
- REDZEPOVIC, S., ORLIC,S., MAJDAK,A., KOZINA, B., VOLSCHEK, H. y VILJOEN-BLOOM, M. 2003. Diferential malic acid degradation by selected strains of *Saccharomyces* during alcoholic fermentation. *International Journal of Food Microbiology*. (83): 49 – 61.
- REVILLA, E., MARTIN G., y RYAN, J. 1998. Problemática del análisis de antocianinas en uvas tintas frente a la diferenciación varietal. *Viticultura/ Enología Profesional*. (58): 50 – 54.
- ROMANO, P., FIORE, C., PARAGGIO, M., CARUSO, M., y CAPECE, A. 2003. Function of yeast species and strains in wine flavour. *International Journal of Food Microbiology*. (86): 169-180.
- SÁDECKÁ, J. y POLONSKÝ, J. 2000. Electrophoretic methods in the analisis of beverages. *Journal of Chromatography*. 880: 243 – 279.
- SCHLEGEL,H. 1997. Microbiología general. Editorial Omega. Barcelona. España. 645p.
- SHAHIDI, F. y NACZK, M. 1995. Food Phenolics. Technomic Publishing AG. USA. 331p.

- SIMUNOVIC, Y. 1999. Manual de Bebidas Alcohólicas y Vinagres. Ministerio de Agricultura. Servicio Agrícola Ganadero (SAG). Departamento jurídico. 54p.
- SKREDE, R., WROLSTAD, y DURST, R., 2000. Changes in Anthocyanins and Polyphenolics During Juice Processing of Highbush Blueberries (*Vaccinium corymbosum* L.). Journal of Food Science. 65 (2): 357 – 364.
- SPRANGER, M., CLÍMACO, M., SUN, B., EIRIZ, N., FORTUNATO, C., NUNES, A., CONCEIÇÃO, M., AVELAR, M. y BELCHOIR, A. 2004. Differentiation of red winemaking technologies by phenolic and volatile composition. Analytica Chimica Acta. (513): 151 – 161.
- SUDZUKI, F. 1993. Frutales menores nuevas alternativas de cultivo. Universidad de Chile. Santiago. Chile 286p.
- TORIJA, M., BELTRAN, G., NOVO, M., POBLET, M., GUILLAMON, J., MAS, A., y ROZES, N. 2003. Effects of fermentation temperature and *Saccharomyces* species on the cell fatty acid composition and presence of volatile compounds in wine. International Journal of Food Microbiology. (85): 127 – 136.
- URETA, F. 1984. Manual de análisis de vinos. Pontificia Universidad Católica de Chile. Facultad de Agronomía. Departamento de Ciencias Vegetales. Chile. 301p.
- VINSON, J., SU, X., ZUBIK, L. y BOSE, P. 2001. Phenol antioxidant quantity and quality in foods: fruits. Journal Agricultural Food Chemistry. 49 (11): 5315 – 5321.
- WEISER H. 1962. Practical food microbiology. The Avi Publishing Company, Inc. USA. 354p.
- WOOD, B. 1985. Microbiology of Fermented Foods. Elsevier Applied Science publishers. London and New York. vol 1.371p.

YOKOTSUKA, K., NAGAO, A., NAKAZAWA, K. y SATO, M. 1999. Changes in Anthocyanins in Berry Skins of Merlot and Cabernet Sauvignon Grapes Grown in Two Soils Modified with Limestone or Oyster Shell Versus a Native Soil over Two Years. *American Journal Enology Viticulture*. 50 (1): 1 – 12.