

UNIVERSIDAD NACIONAL HERMILIO VALDIZÁN HUÁNUCO

FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS

ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL



**DETERMINACIÓN DE LOS PARÁMETROS ÓPTIMOS PARA LA
ELABORACIÓN DE VINO TINTO A PARTIR DEL FRUTO DE ESPINA
AMARILLA (*Berberis laurina*).**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:
INGENIERO AGROINDUSTRIAL**

TESISTA

ORTÍZ GARGATE, Bilha Magdiel

ASESOR

Mg. ROGER ESTACIO LAGUNA

HUÁNUCO – PERÚ

2018

DEDICATORIA

A Dios como todo ser supremo y creador, por haberme dado la inteligencia, y ser mi guía en cada momento de mi vida.

A mi padre y a mi madre. Que siempre han estado ahí para mí, brindándome su apoyo incondicional.

A mi asesor en este trabajo de investigación, el Mg. Roger Estacio Laguna.

AGRADECIMIENTO

- A Dios porque es tan justo y está a cada momento en mi vida.
- A mis padres y hermanos por el apoyo incondicional que siempre me ha brindado para lograr mi objetivo en mi carrera profesional.
- Al Mg. Roger Estacio Laguna por su asesoramiento y apoyo para el desarrollo y ejecución del presente trabajo de investigación.
- A los docentes de la Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial por brindarnos sus consejos, enseñanza y dedicación incondicional durante la carrera profesional.
- A mis amigos, quienes incondicionalmente me apoyaron para hacer realidad mi proyecto.

RESUMEN

La investigación se realizó con el objetivo de obtener vino a partir de los frutos de espina amarilla (*Berberis laurina*) y evaluar el contenido de polifenoles, contenido de antocianinas, los azúcares reductores y la capacidad antioxidante de este producto frente a los beneficios que puede aportar al organismo al consumir el producto. Se estudió tres diluciones de fruta y agua (1/5, 1/10, 1/15) y dos pH del mosto (3,5 y 3,8) formando seis tratamientos T₁(1/5 y 3,5), T₂(1/10 y 3,5), T₃(1/15 y 3,5), T₄(1/5 y 3,8), T₅(1/10 y 3,8) y el T₆(1/15 y 3,8). A cada tratamiento se realizó evaluación de antioxidantes (polifenoles totales y antocianinas), y azúcares reductores, como también se realizó el análisis sensorial en el cual se evaluó el color, aroma, sabor y transparencia. La dilución 1 kg de fruto de espina amarilla en 5 L de agua con pH de 3,5 fueron los óptimos para la elaboración del vino del fruto de la espina amarilla (*Berberis laurina*) que es el tratamiento T₄ presentando mayor contenido de polifenoles ($99,03 \pm 1,69$ mg/mL), mayor contenido de antocianinas ($26,27 \pm 0,17$ mg/L), menor contenido de azúcares reductores ($93,14 \pm 7,83$ g/L) y mayor capacidad antioxidante ($90,88 \pm 5,67$ mg TE/mL). Así mismo fue el tratamiento que presentó mayor aceptación sensorial, obteniendo un calificativo de “alta” por parte del atributo color, aroma, sabor y transparencia, alcanzando una aceptabilidad de 78,57%.

ABSTRACT

The research was carried out with the objective of obtaining wine from the fruits of yellow spine (*Berberis laurina*) and to evaluate the content of polyphenols, content of anthocyanins, reducing sugars and the antioxidant capacity of this product against the benefits that can contribute to the organism when consuming the product. Three dilutions of fruit and water (1/5, 1 / 10.1 / 15) and two pH of the must (3.5 and 3.8) were studied, forming six T1 treatments (1/5 and 3.5), T2 (1/10 and 3.5), T3 (1/15 and 3.5), T4 (1/5 and 3.8), T5 (1/10 and 3.8) and T6 (1/15 and 3,8). Antioxidants (total polyphenols and anthocyanins) and reducing sugars were evaluated for each treatment, as well as the sensory analysis in which the color, aroma, taste and transparency were evaluated. The dilution of 1 kg of yellow spine fruit in 5 L of water with a pH of 3.5 was the optimum for the elaboration of the wine of the yellow spine fruit (*Berberis laurina*), which is the T4 treatment with the highest polyphenol content ($99,03 \pm 1.69$ mg / mL), higher content of anthocyanins (26.27 ± 0.17 mg / L), lower content of reducing sugars (93.14 ± 7.83 g / L) and higher antioxidant capacity (90.88 ± 5.67 mg TE / mL). Likewise, it was the treatment that presented the greatest sensory acceptance, obtaining a qualification of "high" by the attribute color, aroma, taste and transparency, reaching an acceptability of 78.57%.

INDICE

I.	INTRODUCCIÓN	1
II.	MARCO TEÓRICO	3
2.1.	FUNDAMENTACION TEÓRICA	3
2.1.1.	Espina amarilla	3
2.1.1.1.	Origen	3
2.1.1.2.	Descripción botánica	3
2.1.1.3.	Taxonómica	4
2.1.1.5.	Usos posibles	4
2.1.1.6.	Propiedades Medicinales	4
2.1.1.7.	Composición química	5
2.1.2.	Vinos	5
2.1.2.1.	Definición de vino de frutas	6
2.1.2.2.	Clasificación	6
2.1.2.3.	Requisitos	8
2.1.2.4.	Enfermedades del vino	9
2.1.2.5.	Los vinos de fruta	12
2.1.2.6.	Las levaduras	12
2.1.2.7.	Fermentación alcohólica	15
2.1.2.8.	Rendimiento de la fermentación alcohólica	18
2.1.2.9.	Diagrama de flujo de la obtención de vino de fruta	19
2.1.3.	Antioxidantes	26
2.1.3.1.	Antioxidante y su importancia en la salud	26
2.1.3.2.	Influencia del tratamiento térmico sobre los antioxidantes	27
2.1.3.3.	Influencia de fermentación alcohólica sobre los antioxidantes	28
2.1.3.4.	Influencia de la clarificación sobre los antioxidantes del vino	28
2.1.3.5.	Influencia del almacenamiento sobre los antioxidantes del vino	29
2.1.3.6.	Compuestos fenólicos	29

2.1.3.7.	Radicales libres	36
2.2.	ANTECEDENTES	37
2.3.	HIPOTESIS	39
2.3.1.	Hipótesis general	39
2.3.2.	Hipótesis específica	39
2.4.	VARIABLES Y OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES	40
2.4.1.	Variables	40
2.4.1.1	Variable independiente	40
2.4.1.2.	Variable Dependiente	40
2.4.2.	Operacionalización de variables	40
III.	MATERIALES Y METODOS	42
3.1.	LUGAR DE EJECUCIÓN	42
3.2.	TIPO Y NIVEL DE INVESTIGACIÓN	42
3.3.	POBLACIÓN MUESTRA Y UNIDAD DE ANÁLISIS	42
3.3.1.	Población	42
3.3.2	Muestra	42
3.3.3.	Unidad de análisis	42
3.4.	TRATAMIENTOS DE ESTUDIO	42
3.5.	PRUEBA DE HIPÓTESIS	43
3.5.1.	Diseño de la investigación	44
3.5.1.1.	En el estudio de las características antioxidantes, azúcares reductores.	44
3.5.1.2.	En el estudio de la evaluación sensorial	44
3.5.2	Datos a registrar	45
3.5.3	Técnicas e instrumentos de recolección y procesamiento de la información	45
3.6.	MATERIALES MÉTODOS E INSUMOS	45
3.6.1.	Materia prima	45
3.6.2.	Materiales	45
3.6.3.	Equipos e instrumentos de control	46
3.6.4.	Reactivos	46
3.7.	CONDUCCIÓN DE LA INVESTIGACIÓN	47

3.7.1.	Obtención de la materia prima	47
3.7.2	Elaboración del vino según tratamientos	48
3.7.3	Evaluación de azúcares reductores, polifenoles y antioxidantes	51
3.7.4	Análisis sensorial	51
3.7.5	Análisis estadístico	51
IV.	RESULTADOS	52
	PARÁMETROS OPIMOS PARA LA ELABORACIÓN DE VINO TINTO A PARTIR DEL FRUTO DE ESPINA AMARILLA	
4.1.	DE VINO TINTO A PARTIR DEL FRUTO DE ESPINA AMARILLA	52
4.2.	CARACTERIZACION DEL FRUTO DE ESPINA AMARILLA.	54
	EVALUACIÓN DE CARACTERISTICAS	
4.3	ANTIOXIDANTES, AZÚCAR REDUCTORES Y ANÁLISIS SENSORIAL.	55
4.3.1.	Evaluación de los polifenoles totales, antocianinas y azúcares reductores	55
4.3.1.1.	Efecto de los niveles de factor dilución en polifenoles totales, antocianinas y azúcares reductores.	55
4.3.1.2.	Efecto de los niveles de factor pH en polifenoles totales, antocianinas y azúcares reductores.	56
4.3.1.3.	Efecto de interacción de los niveles del factor pH en cada uno de los niveles de factor dilución en polifenoles totales, antocianinas y azúcares reductores.	57
4.3.1.4.	Efectos generales de los tratamientos del contenido de los polifenoles totales, antocianinas y azúcares reductores.	59
4.3.2	Evaluación de la capacidad antioxidante	61
4.3.3	Evaluación sensorial	61
V.	DISCUSIÓN	63

5.1.	DE LOS PARÁMETROS ÓPTIMOS PARA LA ELABORACIÓN DE VINO TINTO A PARTIR DEL FRUTO DE ESPINA AMARILLA	63
5.2.	DE LA CARACTERIZACIÓN DEL FRUTO DE LA ESPINA AMARILLA.	63
5.3.	DE LA EVALUACIÓN DE POLIFENOLES, ANTOCIANINAS, AZÚCAR REDUCTORES, CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y ANÁLISIS SENSORIAL.	64
VI.	CONCLUSIONES	69
VII.	RECOMENDACIONES	70
VIII.	LITERATURA CITADA	71
IX.	ANEXOS	75

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1	Composición química del fruto de espina amarilla	5
Cuadro 2	Diluciones del mosto para los vinos de fruta	21
Cuadro 3	Contenido en mg/kg de ácido fenólico en frutas rojas	32
Cuadro 4	Contenido de antocianos en frutas y vino tinto	34
Cuadro 5	Operacionalización de las variables	41
Cuadro 6	Descripción de los tratamientos	43
Cuadro 7	Parámetros óptimos para la elaboración de vino	52
Cuadro 8	Resultados de los análisis fisicoquímicos de los diferentes tratamientos y fruto frescos de espina amarilla	53
Cuadro 9	Resultado de los grados alcohólicos de vino de los frutos de espina amarilla (<i>Berberis laurina</i>).	54
Cuadro 10	Resultado promedio de la caracterización de la espina amarilla	54
Cuadro 11	Prueba de tukey para el efecto del factor dilución en el contenido de polifenoles totales, antocianinas y azúcares reductores.	56
Cuadro 12	Prueba de tukey para el efecto del factor pH del mosto en el contenido de polifenoles totales, antocianinas y azúcares reductores.	57
Cuadro 13	Contenido de polifenoles totales por tratamientos de polifenoles totales, antocianinas y azúcares reductores.	60
Cuadro 14	Resultados de los análisis de la capacidad antioxidante	61
Cuadro 15	Evaluación sensorial del vino a partir de los frutos de espina amarilla (<i>Berberis laurina</i>)	62

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1	Diagrama de flujo para la elaboración de vino de fruta	19
Figura 2	Compuestos fenólicos presente en alimentos	30
Figura 3	Estructura química de los principales ácidos fenólicos	32
Figura 4	Estructura química del ácido gálico y elágico	33
Figura 5	Estructura química de los estilbenos	33
Figura 6	Estructura química de los flavonoides	34
Figura 7	Esquema experimental del trabajo de investigación	47
Figura 8	Flujograma para la elaboración de vino de espina amarilla	48
Figura 9	Interacción de los niveles en el contenido de polifenoles totales.	58
Figura 10	Interacción de los niveles en el contenido de antocianinas	58
Figura 11	Interacción de los niveles en el contenido de azúcares reductores	59

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1	Caracterización de la espina amarilla	76
Anexo 2	Análisis de varianza del vino tinto de espina amarilla	77
Anexo 3	Cinetica de reacción e inactivación del radical DPPH en cada uno de los tratamientos	78
Anexo 4	Análisis sensorial de los diferentes tratamientos	82
Anexo 5	Metodología experimental	83
Anexo 6	En evaluación de actividad antioxidante mediante el método: radical 2,2-dyphenyl-1-picrylhydrazil (dpph).	87
Anexo 7	Cuantificación de azúcares reductores mediante el método: 2,4 dinitrofenol.	89
Anexo 8	Cuantificación de polifenoles totales, mediante el método de azul de prussian	91
Figura 9	Cuantificación de antocianinas totales por el método del pH diferencial	92
Figura 10	Evaluación sensorial por atributo	93

I. INTRODUCCIÓN

En la actualidad el Perú posee una gran diversidad de recursos, tanto en la flora como en la fauna silvestres; en los diversos pisos ecológicos de los andes, variedades de especies alimenticias son desaprovechadas; en algunos casos estos recursos no están siendo aprovechados en forma eficiente a pesar de sus potencialidades agroindustriales que poseen.

En los andes de nuestra Región - Huánuco la mayoría de los agricultores se dedican a cultivar cultivos conocidos que requieren cuidado permanente. Estos cultivos silvestres como la espina amarilla (*Berberis laurina*), que es un arbusto que no es tan exigente para su producción es resistente a las sequias, heladas, también sirven como cercos vivos, etc. Herrera (1989).

Además, tiene propiedades curativas según las investigaciones que se hicieron como antirreumáticas, anti infecciosas, antiinflamatorias (infecciones del aparato urinario), trastornos del hígado, enfermedad de gota, efectos beneficiosos sobre el sistema cardiovascular Bastón (1983).

La espina amarilla cuenta con los atributos organolépticos y nutricionales, a la vez tiene características potenciales para la obtención de vino tinto por su contenido de azúcar y proteínas de 6.1, fibra 6.8. según Tipe H. (1989).

En la actualidad el consumo per cápita de vino en el Perú es de 1.5 litros al año por habitante. El consumo actual de vino en el Perú es de alrededor de 40 millones de litros anuales. Para el 2014, se estima que el consumo de dicha bebida se incremente entre un 5% y 8%, según previsiones hechas por la compañía Santiago Queirolo (2014).

Por otro lado, el consumo de vino está creciendo en el ámbito local e internacional, por ser rico en polifenoles, siendo uno de ellos el beneficioso resveratrol, una sustancia química rica en antioxidantes que nos ayuda a cuidar de nuestros vasos sanguíneos, ya que evita la formación de coágulos y la reducción del llamado colesterol. Fariña (2016).

Los antioxidantes son sustancias que pueden proteger a la célula de los efectos nocivos de los oxidantes o radicales libres y contrarrestan, de una

manera directa o indirecta, los efectos de lo mismo. A López, C Fernando (2012).

Por todo ello se requiere mejorar la explotación, se requiere evaluar las alternativas de producción, una alternativa de resolver esta situación es la industrialización de este fruto como vino tinto a partir de la fruta espina amarilla (*Berberís laurina*). Con la industrialización del fruto de la espina amarilla como vino tinto estaremos dando una mayor relevancia en nuestro estudio, determinado los parámetros óptimos que nos permitirán conocer la composición del vino y la capacidad antioxidante que presenta el vino tinto elaborado a partir del fruto espina amarilla (*Berberís laurina*), esta última parte es la más importante puesto hoy en día el consumo de antioxidantes en sus diferentes maneras de consumo se viene intensificando por sus múltiples beneficios que estas producen en nuestro organismo.

Teniendo en cuenta que en la provincia de Huamalies presenta las condiciones adecuadas para la producción de esta fruta con la producción de vino tinto se estaría incentivando a los agricultores que se dedican a sembrar el fruto de espina amarilla puesto que no es tan exigente para su producción (resistente las sequias, heladas, etc.) por lo que no requiere muchos gastos para la producción de la espina amarilla a comparación de los otros cultivos. Con esta se pretende generar trabajos de investigación como la generación de nuevas empresas emprendedoras de empleo en nuestra provincia. Por lo indicado se planteó lo siguiente.

Objetivo general:

- Determinar los parámetros óptimos para la elaboración de vino tinto a partir del fruto de espina amarilla (*Berberís laurina*).

Objetivos específicos:

- Evaluar el contenido de características antioxidantes y azúcares reductores, del vino tinto a partir del fruto de espina amarilla (*Berberís laurina*).
- Evaluar las características sensoriales del vino tinto a partir del fruto de espina amarilla (*Berberís laurina*).

II. MARCO TEÓRICO

2.1. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICO

2.1.1. Espina amarilla

Bastón (2013) menciona que la espina amarilla es un arbusto de 2 – 3 m de altura. Se localiza en bordes de bosques ribereños, cumbres de quebradas, cerros chatos, cornisas areniscas y pequeños bosques de la serranía.

2.1.1.1. Origen

Brussa y Grela (2012) indican que es una especie nativa originaria de la región sur de Brasil, Argentina y Uruguay. Habita en bosques y montes serranos y es frecuente en las praderas rocosas o sedimentarias de casi todo el país; prefiere generalmente posiciones soleadas en los bordes exteriores de bosquecillos y el matorral.

2.1.1.2. Descripción botánica

Es un arbusto leñoso de aproximadamente 1,5 – 4,0 m de altura. Follaje persistente verdoso claro, hojas simples verticiladas y duras, con la nervadura visible y el haz de color verde brillante (envés opaco), de 3 - 8 cm de largo y 5 - 12 mm de ancho. La lámina de la hoja es convexa y de forma romboide, con tres pequeñas espinas amarillas en cada nudo; las flores son hexámeras de 4 - 5 mm de largo de color amarillo anaranjado y se agrupan en racimos de 6 - 13 cm de largo compuesto por 6 sépalos y 6 estambres; florece a fines de invierno y principios de primavera, el fruto o baya es de color negra azulada de 6 - 9 mm de largo, con 1 - 3 semillas pardas oscuras cuyas semillas son ricas en amigdalina un compuesto anti alimentario para disuadir a los herbívoros (Bastón, 2013).

2.1.1.3. Taxonómica

Según Tipe (2014) la clasificación taxonómica de la espina amarilla es la siguiente:

Reino	:	<i>Plantae</i>
Filo	:	<i>Magnoliophyta</i>
Clase	:	<i>Magnoliopsida</i>
Orden	:	<i>Ranunculales</i>
Familia	:	<i>Berberidaceae</i>
Género	:	<i>Berberis</i>
Especie	:	<i>Berberis laurina</i> L.

2.1.1.4. Usos posibles

Posee una serie de propiedades útiles; tales como su valor medicinal, como especie tintórea (para teñir de amarillo) y para la confección de licor, restando por confirmar sus posibles cualidades para la producción de miel. Así mismo posee gran valor ornamental tanto por su floración como por su fructificación vistosa (Brussa y Grela 2012).

2.1.1.5. Propiedades medicinales

Según Plantamed (2010) se trata de una especie con propiedades antirreumáticas, antiinfecciosas, antimicrobianas, depurativas, hepáticas y sedativas. Las partes utilizadas son los frutos y la cáscara de la raíz para infecciones del aparato urinario, problemas del hígado y dispepsia. Para quemaduras leves se utiliza externamente el té de raíz, en tanto que las raíces se emplean en homeopatía para el tratamiento de gota, piedras de los riñones y reumatismo.

Keller (2013) menciona que las especies del género *Berberis* se caracterizan por contener berberina, la cual posee actividad bacteriostática y bactericida, fungicida, antiviral y antiprotozoaria, pudiendo emplearse en diarreas bacterianas, infecciones parasitarias intestinales e infecciones oculares.

2.1.1.6. Composición química

La composición química del fruto de la espina amarilla en seco; Se muestra en el cuadro 1.

Cuadro 1. Composición química del fruto espina amarilla.

Determinación	Porcentaje (%)
Humedad	21,2
Ceniza	10,2
Fibra	6,1
Grasa cruda	1,7
Proteínas	6,8
Azúcares reductores	6,7
Colorante bruto	23,6
Pepa (sin colorante)	23,7

Fuente: Tipe (2014).

2.1.2. Vinos

INDECOPI (2012) indica que en el Perú se define como vino, a la bebida resultante de la fermentación completa o parcial de la uva fresca o de su mosto.

Vogt (2012) menciona que según la legislación alemana toda bebida semejante al vino puede comercializarse sólo bajo una denominación que haga referencia a la fruta de la que fueron elaborados; es decir, puede denominarse “vino” siempre que a este término siga el nombre de la fruta. Así como: vino de manzana, vino de fresa, vino de grosella, etc. El vino tiene una alta capacidad antioxidante que es función de su contenido en polifenoles. La contribución de cada componente depende de su calidad como antioxidante, concentración e interacción con su microambiente. Estudios in vitro demuestran su capacidad de proteger las LDL de la oxidación.

Leighton *et al.* (2008) realizó estudios in vivo con voluntarios demuestran que la ingestión de vino tinto está asociada a un aumento de la capacidad

antioxidante del plasma, además de un aumento de algunos compuestos polifenólicos en el plasma.

2.1.2.1. Definición de vino de frutas

ICONTEC (2010) indica que vino de fruta es la bebida proveniente de mostos de fruta distinta de la uva, sometida a la fermentación alcohólica y que ha sufrido un proceso semejante a los exigidos para los vinos.

Avalos *et al.* (2013) define al vino de frutas como el vino obtenido por fermentación del mosto de frutas frescas y sanas, cuya graduación se encuentra entre 10 - 15 grados alcohólicos.

2.1.2.2. Clasificación

En nuestro país a la fecha no encontramos normas existentes que regulen la producción de vinos de frutas, sin embargo, los vinos de uva se clasifican según INDECOPI (2012).

a) Por sus grados alcohólicos

- Vinos ligeros: 7,0° - 10,0°GL.
- Vinos comunes: 10,0° hasta 14,0°GL.
- Vinos generosos: más de 14,0°GL, se clasifican en: (1) Generosos naturales cuando no tienen adiciones de alcohol y (2) Generosos alcoholizados cuyo grado alcohólico proviene en parte de la adicción de alcohol vínico en cualquier momento de su elaboración. Las mediciones se efectuarán a la temperatura de 20°C.

b) Por su calidad

Vinos finos

- Grandes vinos: son los vinos finos que después del proceso de estacionamiento, han adquirido un alto grado de perfección en el conjunto de sus cualidades organolépticas.
- Vinos reservados o reservas: son los vinos que después del proceso de estacionamiento, habiendo adquirido un buen grado de perfección en el

conjunto de sus cualidades organolépticas, no han alcanzado la calidad de grandes vinos.

Vinos de mesa

Son vinos lanzados al consumo poco después terminado su elaboración.

Vinos corrientes

Son aquellos que proceden del prensado del orujo fermentado o del prensado, filtrado y/o centrifugado de barras.

c) Por su color

- Vinos tintos: son los vinos obtenidos por fermentación del mosto proveniente de uvas tintas, en contacto con los hollejos.

- Vinos blancos: son los vinos de color pajizo, pajizo verdoso o amarillentos más o menos dorado, obtenidos por la fermentación del mosto de uvas blancas o a partir de mosto blanco de uvas de hollejo rosado o tinto elaborado con precauciones especiales.

- Vinos rosados o claretos: son los vinos de color rojo poco intenso obtenidos por fermentación del mosto de uvas tintas blancas, que han estado muy pocas horas en contacto con los hollejos, o la mezcla de vinos blancos con vinos tintos.

d) Por su contenido de azúcares reductores

- Vinos secos: con 4 g/L de azúcar como máximo o cuando su acidez total (expresada en gramos de ácido tartárico/litro) no es inferior en más de 2 gramos al contenido de azúcar.

- Vino semiseco: cuando sus valores alcanzan un máximo de 12 g/L ó 18 g/L cuando su contenido de acidez total está fijado en lo anterior ya mencionada.

- Vino semidulce: cuando el vino contiene del valor descrito anteriormente y alcanzan un máximo de 45 g/L.

- Vino dulce: cuando el vino tiene un contenido mínimo de azúcar de 45 g/L.

e) Vinos espumantes o espumosos

- Vinos espumosos o espumantes “naturales” o champaña: Son los vinos que se expenden en botellas a una presión no inferior a tres atmosferas a 20°C, cuyo anhídrido carbónico proviene exclusivamente de una segunda fermentación alcohólica realizada en envase cerrado. Esta fermentación puede obtenerse por la adición de azúcar refinada de caña. Se permite el uso de sacarosa para obtener el producto que provoque la formación de espuma y que lleva el nombre de “licor de tiraje”. Para obtener características gustativas especiales como tipo “seco”, “semiseco” y “dulce”, se permite la adición de “licor” de expedición”, a base de sacarosa, mosto de uva sin fermentar o parcialmente fermentado o concentrado, concentrado rectificado, o la mezcla de dichos productos, con adición de pisco o coñac. Las denominaciones bruto seco con contenido de azúcares totales menor a 15 g/L, semiseco de 15 g/L - 50 g/L y dulce de más de 50 g/L, solo serán autorizadas para los vinos espumosos naturales basados en su contenido de azúcares totales.

- Vinos espumantes gasificados: Son los vinos que han sido adicionados de anhídrido carbónico puro, su riqueza alcohólica no deberá ser inferior de 6,5°GL a 20°C, sin tolerancia.
- Vinos aperitivos o compuestos: son los vinos elaborados a base mínima de 70% de vinos alcohólicos o no, con la adición de sustancia aromáticas, amargas, estimulantes, pudiendo edulcorarse con sacarosa, mosto con uva concentrado.

f) Por su origen

Los vinos podrán denominarse de acuerdo a la variedad de la uva de que proceden, por ejemplo: Pinot, Cabernet, etc.

g) De acuerdo a la zona de origen

Como, por ejemplo: vino de Ica, Chincha, Moro, etc.

2.1.2.3. Requisitos

Según INDECOPI (2012) los requisitos son las siguientes:

a) Características organolépticas

- Color de acuerdo a su clasificación.
- Aspecto límpido al momento de librarse al consumo.
- Sabor característico de su clasificación.
- Olor propio de su clasificación.

b) Características fisicoquímicas

- Título alcohólico (expresado en % volumen a 20°C)
- Vinos ligeros: de 7,0° - 10,0°GL.
- Vinos comunes: Más de 10,0°GL hasta 14,0°GL.
- Vinos generosos: Más de 14,0°GL.
- Vino base para la elaboración de vinos espumosos con un mínimo de titulación alcohólica de 6,5°GL a temperatura de 20°C.
- Acidez volátil: Máxima 1,4 g/L (expresada en Ácido acético) con tolerancia de 0,18 g/L.
- Sulfatos: Máximo 1,8 g/L (expresado como sulfato de potasio) con tolerancia de 0,005 g/L.
- Cloruros: Máximo 1,00 g/L (expresados como cloruro de sodio) con tolerancia de 0,05 g/L.
- Metanol: Máximo 300 mg/L para los vinos tinto, máximos 150 mg/L para los vinos blancos y rosados.

2.1.2.4. Enfermedades del vino

Las alteraciones del vino producido por las bacterias, hongos con micelios y hongos productores de la flor del vino se denomina “enfermedades”, a la vez señala que no todas las bacterias que aparecen en el vino son productores de enfermedades. Así, las bacterias que desdoblan el ácido málico del vino en ácido láctico y el dióxido de carbono son microorganismos útiles (Vogt, 2012).

Las enfermedades microbianas en el vino son producidas por microorganismos que se multiplican a expensas de ciertos componentes, modificando su composición casi siempre desfavorable (Bremond, 2013).

a) Las flores del vino

Esta enfermedad es producida cuando el vino se deja en contacto con el aire de tal forma y al cabo de un tiempo, se forman en las superficies una especie de velo o telina rosácea. Poco a poco esta película se hace más gruesa, se vuelve blanca o rosada. Estos microorganismos se denominan "*micoderma vini*" y es un energético agente de oxidación y se desarrolla especialmente en vinos de baja graduación alcohólica (Bremond, 2013).

b) Picado o avinagramiento

Esta enfermedad es producida por diversas bacterias que en su gran mayoría se desarrolla en frutas dañadas y abiertas, las bacterias que pasan por la prensa y llegan al mosto. Entre las bacterias acéticas se tienen como más importantes al *Acetobacter ascendens*, *Acetobacter viniacetiti* y *Acetobacter xylinoides*. Cuando el aire tiene acceso al vino estos microorganismos transforman el alcohol en ácido acético. El avinagramiento constituye uno de los mayores peligros en la industria vinícola; por esta enfermedad se pierde grandes cantidades de vino de alta graduación alcohólica, ya que la sensibilidad de las bacterias acéticas frente al alcohol es mínima. Un tratamiento preventivo de máxima eficiencia y seguridad es la siguiente: limpieza de las frutas, saturación intensa del mosto, mantener las cubas llenas, almacenamiento en bodegas frescas, trasiego y embotellado temprano (Vogt, 2012).

c) Picaduras lácticas y fermentación mállica

Se produce al final de la fermentación en los vinos, aunque contienen azúcares y de débil acidez. Los azúcares residuales se transforman en parte en "manita" sustancia cristalina soluble de sabor dulce por lo que el vino adquiere un gusto desagradable (agridulce), el microorganismo productor de la "manita" es el *Bacillus maunitopeum* (Bremond, 2013).

d) Ratoneo del vino

Esta enfermedad es extremadamente grave, pero sin embargo se produce solo raras veces en los vinos de uva. Con relativa frecuencia se encuentra en los vinos de frutas y de bayas. Esta enfermedad se manifiesta con un fuerte

olor a ácido úrico y un sabor muy repulsivo que persiste en la parte superior de la lengua durante cierto tiempo. Esta alteración se da en vinos de acidez baja conservados en bodegas de temperatura muy altas y mantenidas durante un tiempo excesivo en contacto con las heces. El tratamiento preventivo del “ratoneo” consiste en limpiar a fondo la bodega eliminar las heces a su debido tiempo y azufrar intensamente. Los vinos que solo manifiestan un sabor poco acusado pueden tratarse mediante un azufrado fuerte y posterior mezcla con vino sano y de alta acidez (Vogt, 2012).

e) Viscosidad

Es una de las enfermedades más complejas, pero menos peligrosas que se manifiesta en los vinos de uva y de otras frutas. Es producido por diversos agentes (bacilos) y se manifiesta por la aparición de mucilagos en el vino, pierde su matiz brillante que queda sustituido por un aspecto viscoso y oleoso. Estos vinos se caracterizan por su sabor rancio y la falta de color. La viscosidad se presenta en los vinos de frutas que perdieron su acidez baja y escaso contenido de sustancias tánicas; aparece así mismo en vinos de frutas que perdieron su acidez y tuvieron poco en contacto con el aire, los vinos tintos no están propensos a esta enfermedad debido a su abundante acidez. Entre las medidas de la viscosidad, son sustratos del mosto, fermentación completa, separación a tiempo del vino y las heces (Vogt, 2012).

f) Descomposición del ácido tartárico y la glicerina

Los vinos tintos presentan a veces enturbiamientos que alteran el color sobre todo cuando el aire tiene acceso, el color rojo turbio se transforma en pardo, el enturbiamiento es más intenso en el fondo de la cuba. El vino adopta un sabor y un color totalmente repugnante y a medida que avanza la enfermedad progresa también las diferentes alteraciones. Esta enfermedad se desarrolla principalmente en vinos con acidez baja, almacenados en bodegas de temperaturas elevadas, ni las sustancias tánicas ni el alcohol hasta valores aproximados de 90° g/L paralizan el desarrollo de la bacteria *Bacterianum*, que sin embargo es poco resistente al ácido sulfuroso (Vogt, 2012).

Las medidas preventivas de esta enfermedad son: separar las frutas podridas de las sanas, azufrado del mosto antes de la fermentación, trasiego a su debido tiempo y bajo sulfuración intensa y almacenamiento del vino en lugares frescos. Los vinos que manifiestan la enfermedad muy avanzado pueden utilizarse en el mejor de los casos para elaborar vinagre (Vogt, 2012).

g) Amargor del vino tinto

Los vinos tintos presentan una enfermedad que se manifiesta en el sabor amargo a la consecuencia de la cual desaparecen el color rojo vivo, implica a sí mismo un sabor extraño. El agente productor de esta enfermedad es el *Bacillus amaracrylus*, que descompone la glicerina y forma divinilglicol, acroleína, ácido acético y ácido acrílico. El sabor amargo se debe sobre todo al divinilglicol; los tratamientos preventivos del amargor de los vinos son la separación de las frutas podridas, impedir el acceso de aire a las cubas, azufrado intenso y al realizar el embotellado del vino tinto conviene utilizar únicamente tapones de corcho de óptima calidad (Bremond, 2013).

2.1.2.5. Los vinos de fruta

Casares (2010) define a los vinos de fruta como una bebida que proviene de mostos de frutas frescas, distintos de la uva, sometidos a la fermentación alcohólicas y que han sufrido procesos semejantes a los exigidos para los vinos. Un vino de fruta debe ser agradable y saber a la fruta de que este hecho, debe mantener el aroma fresco y agradable que caracteriza a esta fruta.

2.1.2.6. Levaduras

Las levaduras son microorganismos unicelulares de composición sencilla. Con un microscopio de gran aumento puede observarse que son células redondas, óvales o elípticas, envueltas en una membrana muy fina y elástica, cuyo diámetro es de 0,004 mm hasta 0,014mm. La levadura pertenece al género de los hongos, es decir que se trata de organismos vegetales (Vogt, 2012).

Hashizume (2013) afirma que cuando el medio no es muy favorable la vida de la levadura a temperatura baja o muy elevada, ausencia de azúcares,

porcentaje insuficiente de agua y otros, genera que esporolula y está en vida latente. Las esporas colocadas en medios favorables a una temperatura a 25°C, se liberan dando origen a nuevas células activas. La población de la levadura en el mosto en plena concentración es de 6 000 000 por mililitro.

Kunz (2006) menciona que la mayoría de las levaduras se desarrollan exclusivamente en medios ácidos (pH de 3,5 – 4,5) a la vez señala que las levaduras contienen un gran número de enzimas que desdoblan la albúmina y los azúcares cuya presencia varía con los distintos tipos de *saccharomyces*.

Reproducción

Vogt (2012) manifiesta que las levaduras auténticas se reproducen por gemación. En condiciones favorables se forma al lado de la célula de levadura, uno o varios brotes que al cabo de pocas horas alcanzan la dimensión de la célula madre y se desprenden de ella en el transcurso de 24 horas, a partir de una célula se forma una colonia de células de levadura. Las levaduras se reproducen con mayor rapidez cuando la temperatura es de 25°C.

Nutrición

Jorgensen (2008) manifiesta que al hablar de exigencias nutritivas de las levaduras debe recordarse, ante todo, que la *saccharomyces cereviciae* y otras levaduras cerveceras difieren de las levaduras “salvajes” porque no sólo necesitan agua, sustancias nutritivas, carbohidratos y combinaciones nitrogenadas para su desarrollo si no también la presencia de prebióticos y vitaminas.

Catabolismo

Jorgensen (2008) indica que el catabolismo es la actividad por la cual los componentes de un sustrato pueden ser utilizados por los microorganismos como fuente de energía; así tenemos que el azúcar se transforma por intermedio de las levaduras en alcohol y en anhídrido carbónico con cierta liberación de energía.

Vogt (2012) manifiesta que la transformación del azúcar en alcohol y dióxido de carbono es un proceso exotérmico, que libera energía y produce calor. Este proceso de degradación del azúcar constituye la fuente de energía necesaria para mantener la vida de la levadura.

a) Levaduras utilizadas para la obtención de vino

Las principales levaduras de la fermentación alcohólica del vino son: *saccharomyces cereviciae* y *saccharomyces pastorianus*; estas levaduras presentan a diferencia de las células redondas de la levadura de cerveza un cuerpo celular de forma elipsoidal, casi alargada y puede producir mayores cantidades de alcohol hasta (145 g/L). Son relativamente sensibles a los ácidos y taninos y tienen mayor resistencia al ácido sulfuroso que otros organismos fermentables. La fermentación producida por levaduras de vino origina numerosas sustancias aromáticas responsables del bouquet (Vogt, 2012).

Jorgensen (2008) menciona que las levaduras *saccharomyces cereviciae*, se usa para la fermentación del jugo de frutas para obtener vino. Se le puede encontrar como levaduras cultivadas.

b) Otras levaduras fermentativas

Levaduras osmófilas

Son levaduras insensibles a las concentraciones de azúcares máximas, sólo producen pequeñas y mensurables cantidades de alcohol. Esta levadura perteneciente al género *saccharomyces*, deja de fermentar tras haber producido de 75 - 90 g/L de alcohol. (Vogt, 2012).

Levaduras apiculadas

Llamadas también levaduras agudas por su forma de limón, aparecen siempre en las uvas y otras frutas y poseen una capacidad de reproducción muy notable al iniciar la fermentación, estas levaduras se suelen encontrar en grandes cantidades en todos los zumos de uva y otras frutas, pero a medida que avanza el proceso de fermentación las levaduras del vino van

progresivamente desplazándolas. Estas levaduras varían el curso normal de la fermentación y con ello influyen sobre la calidad del vino formando ácidos volátiles (ácido acético) y ésteres volátiles (Vogt, 2012).

Levaduras superficiales

Estas levaduras se desarrollan en la superficie del vino y llegan a constituirse capas densas, grises, blanquecinas y arrugadas cuando están en contacto con el aire, dado que son levaduras que forman esporas. Las levaduras del género *hansenula* son las únicas que pueden fermentar los azúcares en cantidades dignas de ser mencionadas y producir pequeñas dosis de alcohol (30 g/L). Las levaduras superficiales destruyen valiosos componentes del vino y por ello se clasifican entre los productores de enfermedades (Vogt, 2012).

2.1.2.7. Fermentación alcohólica

Hashizume (2013) menciona que la fermentación alcohólica sólo puede sufrir los azúcares fermentables (glucosa y fructosa). El azúcar de caña ha de convertirse primero en glucosa y fructosa, transformación que realiza la invertasa, fermento elaborado por la levadura. Además de los productos fundamentales alcohol y dióxido de carbono se forma glicerina, ácido succínico, ácidos volátiles, glicol, alcoholes superiores, acetaldehído, ácido láctico, etc.

Alcohol etílico

Hashizume (2013) indica que el producto más importante de la fermentación es el alcohol (etanol - alcohol etílico) C_2H_5OH cuya cantidad de (40 - 140 g/L), depende del contenido de azúcar del mosto de uva o de otras frutas. El alcohol etílico es un líquido incoloro de olor agradable se quema con llama azul produciendo agua y dióxido de carbono alcanza un peso específico de 0,7894 a 20°C y 78,37°C entra en ebullición. De acuerdo con la ecuación global 100 gramos de azúcar de uva o de frutas producen 51,1 gramos de alcohol y 48,9 gramos de dióxido de carbono.

Glicerina

Vogt (2012) menciona que a la glicerina también se le conoce como trialcohol $C_3H_5(OH)_3$ puro es un líquido incoloro, espeso de sabor dulce y no tóxico. Se mezcla con agua y alcohol en cualquier proporción y disminuye considerablemente el punto de congelación del agua. La glicerina pura tiene un peso específico de 1,2613 a la temperatura de 20°C. A 290°C aún puede ser destilado sin descomponerse. La glicerina es uno de los productos más valiosos de la fermentación, ya que presta integridad al vino. La proporción de glicerina presente en el vino depende fundamentalmente de la graduación final, de la fermentación y de la proporción de alcohol producidas por estas; depende además de la clase de levadura. Los vinos presentan generalmente la proporción de 7,5 – 10 gramos de glicerina por cada 100 gramos de alcohol.

Glicol

Vogt (2012) señala que se trata de un dialcohol que se encuentra en el vino en cantidades de hasta 0,6 g/L. El butilenglicol es un derivado del diacetilo elaborado durante la fermentación por la levadura. La presencia de este en los vinos demuestra que se produjo la fermentación.

Alcoholes superiores

Amerine y Ough (2006) mencionan que los alcoholes superiores son productos relativamente tóxicos y originan intoxicaciones semejantes al del aguardiente. El vino sólo contiene dosis pequeñas de alcoholes superiores (0,1 – 0,3 g/L), a la vez manifiesta que los vinos selectos y ricos en alcohol contienen por lo general dosis mayores de alcoholes superiores que los vinos comunes de baja graduación. Los alcoholes superiores son probablemente un factor decisivo a lo que respecta al bouquet del vino.

Ácido succínico

Vogt (2012) señala que este ácido está emparentado con el ácido málico y el ácido tartárico. Es soluble en agua y en alcohol y es de sabor puramente

ácido, la cantidad de ácido succínico que se forma durante la fermentación es de (0,6 g/L).

Ácidos volátiles

Vogt (2012) mencionan que los ácidos orgánicos como el ácido acético (C_2H_4-COOH) el ácido propiónico (C_3H_7-COOH) y el ácido butírico (C_4H_8-COOH), son arrastrados por los vapores de agua y de alcohol producidos al calentar el vino y destilarlo, se conocen con el nombre de ácidos volátiles. Durante el proceso de fermentación se forma en cantidades pequeñas y variables según la naturaleza de la sustancia seleccionada para el proceso fermentativo, las concentraciones de azúcares y la especie de levadura. Los vinos blancos normales presentan una acidez volátil oscilante entre 0,3 y 0,6 g/L, considerándolo como ácido acético y los vinos tintos superan la cantidad de 1,2 g/L.

Ácido acético

Amerine y Ough (2006) señala que el ácido acético en estado puro es un líquido incoloro de olor y sabor fuertemente ácidos. Tiene un punto de ebullición a 118°C, su densidad es de 1,0492 a 20°C. El ácido acético se produce en la fermentación sólo en cantidades muy pequeñas, pero también procede de las bacterias por oxidación del alcohol etílico; a la vez mencionan que, durante la fermentación alcohólica normal sin bacteria, se forman pequeñas, pero mensurables cantidades de ácido acético que normalmente no superan los 0,03 g/100ml.

Ésteres

Vogt (2012) manifiesta que los ésteres de los ácidos volátiles tienen un punto de ebullición muy bajo, son también volátiles y de sabor muy agradable responsable del aroma y del bouquet de los vinos. A la vez manifiesta que la química orgánica denomina ésteres a todas las combinaciones de los alcoholes y los ácidos, las levaduras apiculadas y la *Saccharomyces cerevisiae* elaboran ésteres acéticos en cantidades considerables.

Sustancias del bouquet

Vogt (2012) señala que las sustancias del bouquet formados durante la fermentación son volátiles y se producen a partir de la proteína de la levadura por esta razón difieren con el tipo de levadura utilizada.

Dióxido de Carbono

Según Stuppiello (2013) el gas que se escapa durante la fermentación es el dióxido de carbono (CO_2), el anhídrido del ácido carbónico (H_2CO_3). Este último no se encuentra libre, sino que está formando diversas sales (los carbonatos), un carbonato muy conocido es la calcita (CaCO_2). El dióxido de carbono es un gas inodoro, incoloro, de un peso 1,52 mayor que el aire; es un gas que no oxida. Durante la fermentación quedan libres grandes cantidades de dióxido de carbono.

2.1.2.8. Rendimiento de la fermentación alcohólica

Stuppiello (2013) menciona que la cantidad de alcohol obtenida a través de la fermentación alcohólica constituye el principal coeficiente de medida de la actividad de la levadura, por las determinaciones cuantitativas de los azúcares totales contenidos en el mosto, y del contenido alcohólico del vino.

Hashizume (2013) menciona que se admite que la producción de alcohol etílico es de orden de 51,1% en peso del azúcar transformado, entre tanto en la práctica en condiciones experimentales bien controladas, el rendimiento más elevado no ultrapasa del 48% en el proceso industrial.

2.1.2.9. En la siguiente figura se muestra el diagrama de flujo para la Obtención de vino de fruta y a continuación descripción de las operaciones.

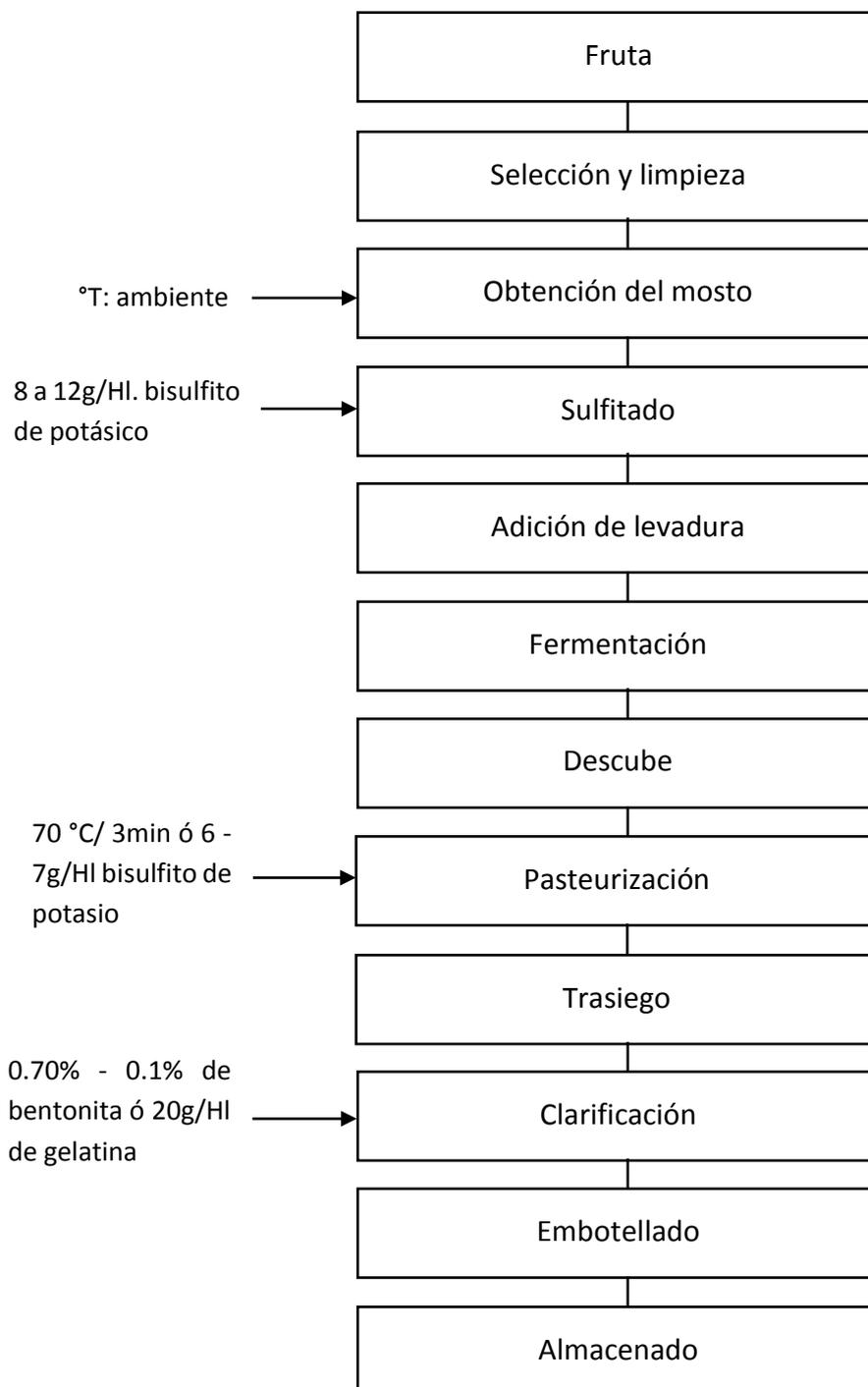


Figura 1. Diagrama de flujo para la elaboración de vino de fruta
Fuente: Casares (2010).

a) fruta

La fruta es recepcionado de acuerdo a los requerimientos establecidos por la ficha técnica Casares (2010).

b) Selección y limpieza

Una vez que la fruta ha sido recepcionado se realiza la selección y limpieza para eliminar algunas frutas dañadas y algunas impurezas que puedan haber venido en la materia prima Casares(2010).

c) Obtención del Mosto

Vogt (2012) señala que la elaboración del vino comienza con la obtención del mosto. En esta operación se debe tener un máximo cuidado, porque los defectos y enfermedades de los vinos son frecuentemente ocasionados por la falta de limpieza de las frutas, por sufrir un tratamiento inadecuado o por utilizar un procedimiento incorrecto. A la vez manifiesta que es importante vigilar los instrumentos y recipientes que se va a utilizar para la preparación de los mostos.

Bremond (2013) indica que los factores determinantes de la calidad del mosto de fruta son: el peso específico y el índice de madurez de la fruta. Los mostos de fruta siempre pesan más que el agua, un litro de mosto pesa de 1080 - 1100 gramos.

d) Corrección del mosto

Según Bremond (2013) las correcciones en el mosto de fruta son las siguientes operaciones:

Dilución del mosto o Zumo

Si el mosto obtenido es muy denso se hará la dilución respectiva con agua. Las proporciones varía de acuerdo a la fruta.

Cuadro 2. Diluciones del mosto para los vinos de fruta.

Fruta	Agua
Melocotón	1,5 :1
Sauco	1:2
Manzana	2:1
Ciruela	0,2:0,1
Maracuyá	1,5:1
Níspero	1.5:1
Melón	0,3:0,1
Fresa	1,5:1

Fuente: Bremond (2013).

Corrección de nutrientes

Señala que la acción de la levadura sobre el sustrato, está en razón directa al contenido de nitrógeno presente en el mosto, la cual se encuentran en forma de combinación amoniacal y nitratos (Vogt, 2012).

Vogt (2012) manifiesta que para conducir una fermentación alcohólica las levaduras deben colmar sus necesidades en el líquido o mosto donde se desarrollan, además de los glúcidos fermentables en cantidad suficiente, necesitan de sustancias minerales y nitrogenadas asimilables. Se debe añadir como nutrientes nitrogenadas para las levaduras de 25 a 40 gramos de sulfato o fosfato amónico por hectolitro.

Corrección azúcar

Vogt (2012) señala que este sistema se emplea en algunos países con el nombre de Chaptalización donde se debe agregar hasta obtener un mosto con la cantidad normal de azúcar; los zumos de frutas suelen presentar un contenido de azúcar que oscila entre 50 - 150 g/L. Las normas técnicas para vinos de frutas permiten la adicción de azúcares al mosto para tratar de obtener los grados alcohólicos requeridos por las normas, pero a la vez limitan la cantidad a utilizar.

INCOTEC (2010) señala que la adicción de azúcar al mosto de frutas no debe excederse de 160 g/L. En esta operación consiste en agregar azúcar

hasta obtener un mosto, hasta obtener un mosto con calidad normal de azúcar; los zumos de frutas que oscilan entre 50 - 150 g/L. las normas técnicas para la elaboración de vinos permiten la adición de azúcares al mosto para tratar de obtener los grados alcohólicos requeridos, pero a la vez limitan la cantidad a utilizar. Para ello se puede fijar la concentración en función de los grados °Brix, en el cual debe ajustarse de 24 – 28°Brix (asumiendo 240 gramos de azúcar por cada litro de mosto).

Corrección acidez

Vogt (2012) la acidez de zumos de frutas debe estar entre (5 – 25 g/L), en caso de excesiva acidez del mosto, este debe desacidificar utilizando carbonato de calcio, bicarbonato de sodio o potasio. En caso de insuficiencia de acidez en el mosto recomienda usar ácido cítrico o tartárico.

Bremond (2013) recomienda fermentar el mosto a un pH de 3.5 ya que a valores más altos se activan fermentos perjudiciales.

Por su parte Delanue (2008) aconseja un pH entre 3 y 4 debido a que facilita el desarrollo de las levaduras alcoholígenas y se impide la proliferación de microorganismos patógenos.

Corrección del pH

La acidez comprendida entre un pH 3.0 a 4.0 permite seleccionar la flora del mosto, desarrollados en él, solamente las levaduras fermentativas e inhibiendo los microorganismos indeseables (Casares, 2010).

e) Pasteurización del mosto

La finalidad de la pasteurización es para evitar la acción de gérmenes indeseables que pudiesen producir alcoholes y productos secundarios de olor y sabor desagradables. La pasteurización puede realizarse por medio del calor y por medio del sulfatado (Guerra, 2013).

Pasteurización por medio del calor

Consiste en un tratamiento térmico que impide la fermentación del mosto por acción de los microorganismos perjudiciales y a la vez evita la pérdida del sabor y aroma del mosto original. El calentamiento de corta duración a 87°C del mosto por un tiempo 2 minutos fuera del contacto del aire e inmediato enfriamiento a 15°C, inactivan las enzimas oxidativas presentes en el mosto y mueren las levaduras y bacterias (Vogt, 2012).

Pasteurización por medio del sulfatado

El sulfatado es una operación que consiste a la vendimia de una proporción de gas sulfuroso, con el objetivo de conseguir fermentaciones sanas y mejor constituidas (Guerra, 2013).

Según Vogt (2012) el sulfatado se realiza por diferentes procedimientos y utilizando distintos productos, resultando común a todos ellos que el mosto reciba dióxido de azufre que inmediatamente se transforma en ácido sulfuroso. Esto evita que los mostos y vinos jóvenes adquieran un sabor subido de matiz pardo, además combate el desarrollo de microorganismos nocivos (bacterias acéticas, levaduras, hongos, etc.), porque el anhídrido sulfuroso les roba el oxígeno necesario para su vida. Las cantidades a adicionar son de 4 - 6 g/hl de anhídrido sulfuroso (SO₂) o bien de 8 - 12 g/hl de metasulfito potásico.

f) Adición de levadura

Según Guerra (2013) esta operación constituye el complemento indispensable a la pasteurización del mosto, ya que la acción antiséptica del calor o del anhídrido sulfuroso retarde la iniciación de las fermentaciones, y en estas condiciones las siembras de levaduras favorecen una mejor utilización del azúcar por parte de las mismas, asegurándose un rendimiento de calidad.

La dosis del empleo de cultivo puro de levadura a sembrar en el mosto es de 10 - 20 g/hl de mosto o por quintal de productos a fermentar, para ello se

rehidrata la levadura seca activada en 10 partes de agua tibia (máximo a 35°C) azucarada durante 20 - 30 minutos (Guerra, 2013).

g) Fermentación

Vogt (2012) menciona que ni las frutas ni las bayas contienen naturalmente levaduras nobles que permitan una fermentación limpia y pura; por ello se recomienda utilizar en la fabricación de vinos de frutas y bayas, levaduras en cultivo puro. Se emplearán las mismas cepas utilizadas en la elaboración del vino de 2 a 3 semanas después de concluir la fermentación principal puede retirarse las heces de los vinos de fruta bien clarificados y otra vez se azufrarán con 4 – 5 g/hl de SO₂, durante el proceso de fermentación debe evitarse que el aire contacte con el vino durante el trasiego, en ello no solo la sufren los azúcares fermentables (glucosa y fructuosa) sino una serie de compuestos presentes en el mosto.

h) Descube

Bremond (2013) señala que cuando se culmina la fermentación tumultuosa se procede al descube, que consiste en separar la parte sólida de la líquida mediante un filtrado o colado, traspasando el vino a otros recipientes estériles para la culminación de la fermentación.

i) Inactivación de levadura

La fermentación es detenida cuando se ha alcanzado el grado alcohólico apropiado, se puede realizar por tratamiento de calor (70°C/3min) o en su defecto pasteurizándolo por medio del sulfitado; como por ejemplo metasulfito de potasio de 6 - 7 g/hl lo cual protege el pardeado (Vogt, 2012).

j) Trasiago

Négre y Francot (2010) señala que el trasiego consiste en separar el vino claro de las heces precipitadas en el fondo de los depósitos por sucesión de trasiego se eliminan de los vinos las materias que van insolubilizándose y que se depositan en forma de sedimento.

Una vez sedimentada las heces y demás partículas que lo enturbian al vino, ha de procederse a separar del vino. Pudiéndose realizarse hasta 3 trasiegos únicamente cuando el primer trasiego no ha sido suficiente para eliminar toda sustancia sedimentada (Vogt, 2012).

k) Clarificación

Vogt (2012) indica que clarificar significa en la terminología vinícola agregar al vino una determinada cantidad de cierta sustancia cuya acción consiste en arrastrar consigo las partículas enturbadoras y sedimentarlo en el fondo de la cuba. Las sustancias válidas para clarificar el vino son: ictiocola, gelatina, agar agar, bentonita no ferruginosa, tanino, amianto, celulosa, carbón animal, carbón vegetal y ferrocianuro potásico químicamente puro.

l) Filtración

Vogt (2012) menciona que los consumidores de vino han elevado su nivel de exigencias hasta el punto de aceptar únicamente vinos claros y brillantes. Siendo esta la condición para el comercio de vinos se generalizó el procedimiento de filtración. Un buen aparato filtrador no debe alterar el vino y debe conservar íntegros el bouquet, el frescor y el ácido carbónico contenido en el vino.

m) Embotellamiento

Vogt (2012) señala que el embotellado del vino debe realizarse en el momento oportuno. El vino debe haber alcanzado ya cierta madurez y además debe ser resistente a la acción del aire; no debe ser un vino añejo ni tampoco demasiado joven. Las botellas han de lavarse y esterilizarse antes de llenarlos con vino. El lavado de las botellas se lleva a cabo utilizando máquinas lavadoras de botellas aclarándolas con ácido sulfuroso en solución al 1 - 2% para eliminar todos los gérmenes; la esterilización puede realizarse con vapor calentado o bien en el tratamiento con ácido sulfuroso en solución al 1.5%.

n) Almacenamiento

Darwin *et al.* (2012) afirma que, una vez obtenido el producto se almacena durante 2 meses antes de ser lanzado al mercado, tiempo suficiente para adquirir el bouquet y sabor característico.

Duthie (2010) señala que ciertamente los aromas son debido a sustancias de función aldehído y no ésteres.

Vogt (2012) menciona que el vino de frutas durante el almacenamiento debe conservarse en buen estado de sanidad para así tratar de obtener vinos de calidad, para lo cual se recomienda agregar algún conservante químico como sorbato de potasio o metabisulfito de potasio.

2.1.3. Antioxidantes

Robards *et al.* (2012) los antioxidantes son compuestos cuya función primordial en nuestro organismo es protegernos del daño oxidativo que causan moléculas conocidas como radicales libres, el daño oxidativo es el responsable de importantes enfermedades de carácter degenerativo del sistema circulatorio, enfermedades cardiovasculares, cataratas, envejecimiento precoz y cáncer, todas las cuales hoy son la principal causa de muerte en nuestra sociedad.

Martínez (2010) define a los antioxidantes como sustancias que en bajas cantidades actúan y previenen retardando generalmente la oxidación de materiales fácilmente oxidables tales como las grasas. Las principales características de un compuesto o sistema antioxidante son la prevención o detección de una cadena de propagación oxidativa, mediante la estabilización del radical generado y la regeneración del oxidante ayudando así el daño oxidativo en el cuerpo humano.

2.1.3.1. Antioxidante y su importancia en la salud

En el organismo se produce un equilibrio entre oxidante y antioxidantes, cuando ese equilibrio se rompe a favor de los antioxidantes se produce un estrés oxidativo el cual está implicado en muchos procesos fisiopatológicos. Por lo tanto, es de vital importancia el consumo de alimentos que contengan antioxidantes naturales de esta manera se puede mantener el equilibrio entre

oxidantes y antioxidante. Además, si tenemos en cuenta que durante la vida se produce un equilibrio entre los oxidantes y antioxidantes, y a medida que el individuo envejece dicho balance está a favor de los oxidantes, es de vital importancia un consumo de alimentos ricos en antioxidantes naturales para contrarrestarlo. En los últimos años han cobrado especial interés la capacidad antioxidante que determinados polifenoles en especial flavonoides presentes en diferentes vegetales a partir de la fenilalanina y la tirosina combinados con unidades de acetato. Entre los compuestos presentes en las plantas con mayor actividad antioxidante informada se encuentran: polifenoles (taninos, flavonoides, derivados del ácido cinámico, xantonas, coumarinas, lignanos, quinonas, rotenoides, estilbenos, etc.), aceites esenciales (terpenoides y aromáticos), los ácidos grasos (saturados e insaturados), algunos alcaloides (derivados de la isoquinoleína) y otros compuestos como los carotenos, los ácidos benzoicos y ascórbico, tocoferoles, el sitosterol y elementos minerales (Martínez, 2010).

2.1.3.2. Influencia del tratamiento térmico sobre los antioxidantes

La gran parte de la capacidad antioxidante de las frutas y vegetales provienen de compuestos como vitaminas C, vitamina E, β -carotenos y polifenoles de las plantas (flavonoles, antocianinas y fenilpropanoles (CENIC, 2008).

Matos (2012) menciona que el contenido de antocianinas en los jugos de uva es afectado por la temperatura respecto a la estabilidad de antocianinas y estos son notoriamente destruidos por el calor durante el procesamiento de los alimentos esto debido que a elevadas temperaturas el equilibrio cambia hacia las chalconas (acetona aromática 1,3-difenil-2-propen-1-ona) en una dirección de izquierda a derecha.

La pasteurización es un proceso necesario para prolongar la vida útil de los productos líquidos, el procesamiento térmico de jugos a altas temperaturas si bien elimina la posibilidad del daño microbiológico y reduce la actividad enzimática, afecta la calidad del producto. Así mismo la disminución de la capacidad antioxidante hidrosoluble (Acevedo *et al.*, 2014).

2.1.3.3. Influencia de fermentación alcohólica sobre los antioxidantes

Se puede definir la fermentación alcohólica como el proceso bioquímico por la cual las levaduras transforman los azúcares del mosto en etanol y CO₂. Para que la fermentación tenga lugar el mosto debe hallarse en condiciones de limitaciones de oxígeno. La fermentación alcohólica conducida generalmente por las levaduras que pertenecen al género *Saccharomyces* y a la especie *Cerevisiae*, industrialmente estas levaduras son organismos altamente especializados (Casares, 2010).

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 °Brix disminuye y una vez que el vino no presente dulzor todo el azúcar ha sido fermentado convirtiéndose en un vino seco. Los vinos secos contienen todo el alcohol que generalmente es de 12 - 14% de alcohol en volumen (Muller, 2014).

Lopera (2010) menciona que, durante la fermentación alcohólica el alcohol extrae compuestos fenólicos de la uva dando al vino un poder antioxidante muy potente, se ha constatado que el poder antioxidante además del resveratrol, como la catequina, epicatequina, ácido gálico, elágico y otras sustancias. Por otra parte, uno de los principales efectos de la fermentación es la disminución de la acidez de los mostos. Durante el proceso tiene lugar la solubilización del potasio liberado del hollejo, lo cual provoca la salificación parcial del ácido total (1 – 1,5 g ácido sulfúrico/L) y un aumento de pH de los mostos, sobre todo en las primeras horas de la maceración (5 - 7 h).

2.1.3.4. Influencia de la clarificación sobre los antioxidantes del vino

Los sistemas fermentativos después de ser clarificados presentan una disminución en su capacidad antioxidante, antocianinas y fenoles totales esto puede deberse a que la albumina precipita además de las impurezas otros compuestos con actividad antioxidante (Lopera, 2010).

En el caso de utilizar clarificantes existe una tendencia generalizada al descenso de la intensidad colorante del vino en todos los tratamientos y se ve acentuada en aquellos tratamientos en los que se ha empleado la combinación gelatina – bentonita. En cuanto al resto de los parámetros

destaca la disminución de antocianinas con la utilización de las gelatinas líquidas, así como en el aumento en el índice de ionización de antocianinas. Los taninos en este caso bajan llegando en algunos casos incluso a alcanzar pérdidas de más de 50% (Recio y Ciria, 2012).

Por otra parte, se usan agentes clarificantes para mejorar la claridad y el color, sabor y estabilidad física de los vinos. La clarificación no elimina únicamente las partículas en suspensión enturbiantes del vino, también sedimenta algunas partículas coloidales que posteriormente podrían generar un enturbiamiento como es el caso de la materia colorante. En este caso de los vinos tintos destinados al embotellado se convierte en una práctica e para obtener la estabilidad óptica del vino (Recio y Ciria, 2012).

2.1.3.5. Influencia del almacenamiento sobre los antioxidantes del vino

Rommel (2014) señala que durante el almacenamiento de los vinos el color del vino tinto y su posterior estabilidad se deben principalmente a la presencia de antocianinas, taninos y el fenómeno de copigmentación, en cual consiste en las asociaciones moleculares entre pigmentos y otras moléculas orgánicas. Además la pérdida de color y el deterioro (pardeamiento) así como la formación de sedimentos durante el almacenamiento de los vinos de frutas son los principales problemas comerciales cuyos responsables de estos efectos son la escasa presencia de las antocianinas.

Mejía *et al.* (2006) menciona que el tiempo de almacenamiento influye de manera negativa en la concentración de ácido ascórbico, carotenoides y compuestos fenólicos libres.

2.1.3.6. Compuestos fenólicos

Los compuestos polifenólicos de las uvas tintas, en particular antocianinas y taninos, son los principales responsables de las características de color y gustativas buscadas en la actualidad (Matos, 2014).

Son un grupo de compuestos presentes en la naturaleza que poseen anillos aromáticos con sustituyente hidroxilo. Estos compuestos son en su mayoría potentes antioxidantes por su estructura química (donador de H⁺ o electrones)

necesarios para el funcionamiento de las células vegetales; que se encuentran en las frutas y verduras. los compuestos fenólicos presentan un anillo benceno hidroxilado como elemento común en sus estructuras moleculares, las cuales pueden incluir grupos funcionales como ésteres, metilésteres y glucósidos (Martínez, 2010).

La actividad antioxidante de los fenoles es el origen de funciones biológicas tales como la antimutagénica, anticancerígena y antienvjecimiento. Los fenilpropanoides simples poseen un esqueleto básico de 9 carbonos (C₆-C₃) y derivan de los aminoácidos fenilalanina y tirosina producidos en la ruta del ácido químico. Las distintas familias de compuestos fenólicos se caracterizan principalmente por el número de átomos de carbono de su esqueleto básico molecular (Martínez, 2010).

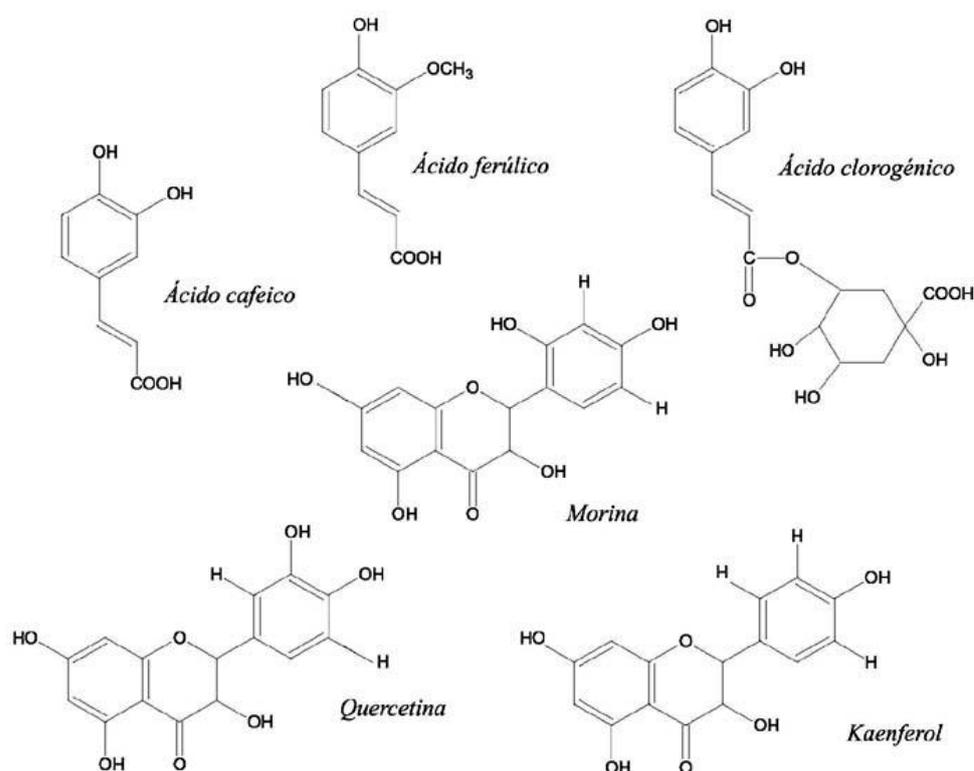


Figura 2. Compuestos fenólicos presente en alimentos.

Fuente: Manach *et al.* (2014).

- Ácidos cinámicos (C₆-C₃)
- Ácidos benzoicos (C₆-C₁ o C₆-C₂)
- Flavonoides (C₆-C₃-C₆)
- Proantocianidinas o taninos condensados (C₆-C₃-C₆)_n
- Estilbenos (C₆-C₂-C₆)
- Cumarinas (C₆-C₃)
- Lignanós (C₆-C₃-C₃-C₆)
- Ligninas (C₆-C₃)_n

Los compuestos fenólicos comprenden desde moléculas simples como ácidos benzoicos hasta polímeros complejos como las ligninas. Dentro de cada familia, el número de compuestos fenólicos existentes será más o menos variado, por ejemplo, se conocen más de 4000 flavonoides diferentes, distribuidos en varias familias, estos compuestos están presentes en los vegetales y sus cantidades varían de acuerdo a la especie vegetal y partes de la planta (frutos, semillas, hojas, tallos, etc.). En los alimentos los compuestos fenólicos habitualmente se presentan conjugados con azúcares como la glucosa, galactosa, arabinosa, ramnosa, xilosa o los ácidos glucurónico y galacturónico. También pueden unirse a ácidos carboxílicos, ácidos orgánicos, aminas y lípidos (Duthie, 2010).

a) Ácidos fenólicos

Los ácidos fenólicos son abundantes en los alimentos, los más frecuentes son el ácido cafeico y en menor medida el ácido ferúlico que se encuentran asociados a la fibra dietética mediante la formación de enlaces éster con la hemicelulosa. El ácido cafeico también se encuentra esterificado, principalmente en el ácido químico dando lugar al ácido clorogénico (ácido 5 - cafeilquínico), que está presente en el café y en muchas frutas y verduras. Se pueden diferenciar en dos grupos principales: ácido fenólico y los ácidos cinámicos (Duthie, 2010).

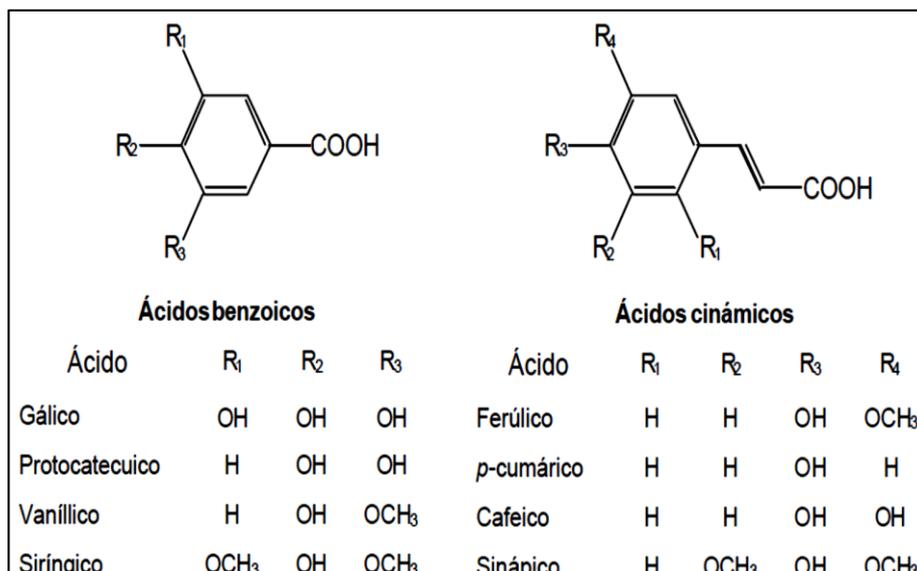


Figura 3. Estructura química de los principales ácidos fenólicos.
Fuente: Manach *et al.* (2014).

Cuadro 3. Contenido en mg/kg de ácido fenólicos de frutas rojas

Frutas	Ácidos benzoicos	Ácidos cinámicos
Zarzamora	80 - 270	15
Frambuesa	60 - 100	3
Cereza	2.5	110 - 115
Grosella	40 - 135	-
Fresa	20 - 90	19 - 27
Arándano	-	200 - 220

Fuente: Manach *et al.* (2014).

b) Taninos hidrolizables

Los taninos hidrolizables resultan de la esterificación de los ácidos gálico y elágico. Se distinguen dos grupos principales; los galotaninos que son frecuentes en frutas como en el mango y los elagitaninos característicos de las frutas rojas como las fresas, frambuesas y zarzamoras (Clifford y Scalber 2011).

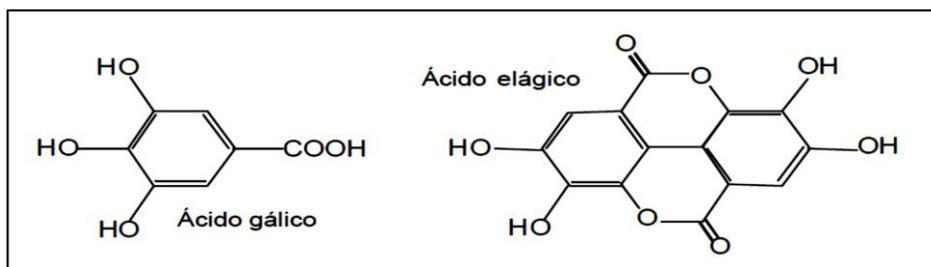


Figura 4. Estructura química del ácido gálico y elágico.

Fuente: Clifford y Scalbert (2011).

c) Estilbenos

Tienen un esqueleto básico de 14 carbonos ($C_6-C_2-C_6$) y su distribución en alimentos vegetales no es muy amplia, con mayor interés nutricional son el resveratrol (3, 5, 4-trihidroxiestilbeno) y el piceido (resveratrol-3-O-D-glucosido) presentes en uvas y vinos (Manach *et al.*, 2014).

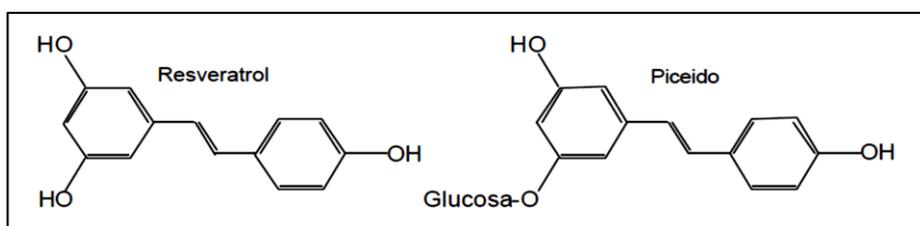


Figura 5. Estructura química de los estilbenos.

Fuente: Manach *et al.* (2014).

d) Flavonoides

Los flavonoides son constituyentes del grupo los compuestos fenólicos más diversos y ampliamente distribuidos en las plantas su estructura básica (flaván) consta de dos grupos fenilo (A y B) unidos por un puente de tres carbonos que forman un anillo heterocíclico oxigenado (anillo C). En función de los grados de oxidación e insaturación del anillo heterocíclico se puede diferenciar varias clases de flavonoides y dentro de cada clase se puede establecer diferencias en base a la naturaleza y número de los sustituyentes unidos a los anillos (Robards *et al.*, 2012).

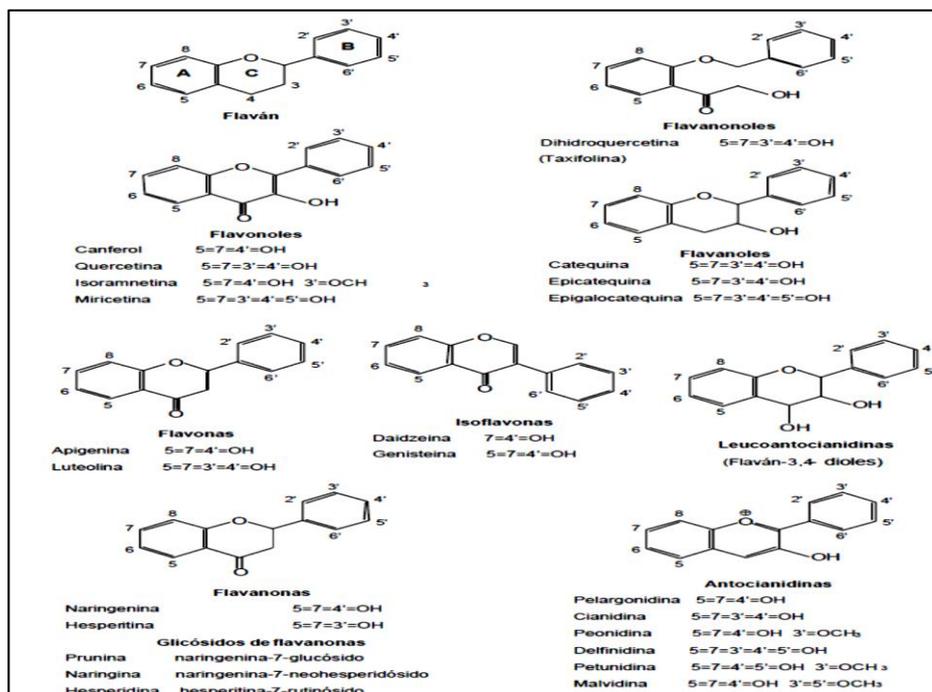


Figura 6. Estructura química de los flavonoides.

Fuente: (Robards *et al.* (2012).

e) Antocianinas

Los antocianos son responsables del color de los vinos tintos y están involucrados en las reacciones de polimerización que suceden durante el envejecimiento, su estructura se caracteriza por un esqueleto básico de quince átomos de carbono (C₆-C₃-C₆) de tipo 2-fenil benzopirona. Son sales de núcleo flavilio y glucósidos que están unidos por enlace glucosídico a una molécula de azúcar (Robards *et al.*, 2012).

Cuadro 4. Contenido de antocianos en frutas y vino tinto.

Fruta	Contenido (mg/kg o mg/L)
Zarzamora	1150
Cereza	20 - 4500
Grosella roja	1300 – 4000
Uva roja	3000 – 7500
Frambuesa roja	100 – 600

Frambuesa negra	1700 – 4277
Arándano	600 – 2000
Fresa	150 – 350
Vino tinto	240 – 320

Fuente: (Robards *et al.* (2012).

Las antocianinas son los principales compuestos que se encuentran en las frutas rojas considerándose las responsables de impartir el color a éstas. Los más abundantes en la naturaleza son las de tipo 3-glucósidos, malvidina-3-glucósido, peonidina-3-glucósido y petunidina-3-glucosido. Los factores intrínsecos como la temperatura, luz, y pH pueden afectar las características tales como el color, amargor y astringencia (Challem y Bolck, 2014).

Estabilidad de las antocianinas

Las antocianinas son compuestos lábiles y su estabilidad es muy variable en función a la estructura y a la composición de la matriz que se encuentra. Su estabilidad se ve afectada por el pH, temperatura de almacenamiento, presencia de enzimas, luz, oxígeno, estructura y concentración y la presencia de otros compuestos tales como otros flavonoides, proteínas y minerales (Challem y Bolck, 2014).

El color de los antocianos en disolución es dependiendo del medio donde se encuentren, estos equilibrios se encuentran regulados por el pH de la solución. Cuando el pH del medio es bajo la molécula se encuentra en forma de catión flavilium de color rojo vivo; a medida que el pH se eleva los antocianos se transforman en base quinónica de color azulado (Avalos *et al.*, 2013).

En vinos con un pH elevado el color tiende a ser menos vivo, más apagado, mientras que el pH sea más ácido las tonalidades lo harán hacia otras más rojizas (Challem y Bolck, 2014).

Durante la fermentación los antocianos monómeros, cuya disolución no necesita la presencia de etanol son extraídos en primer lugar, alcanzando un

máximo en los primeros días para después decrecer. Esta disminución puede ser debida a una degradación de las moléculas a una adsorción en las paredes de las levaduras y partes solidas de la uva y a una inclusión de cristales de bitartrato potásico. Así mismo los antocianos se pueden polimerarse con la procianidina de la uva y/o reaccionar con otros compuestos del vino como el ácido pirúvico, el acetaldehído, etc. Estas polimerizaciones y reacciones van a ser importantes para la estabilidad del vino, puesto que protegerá a los antocianos de la degradación (Romero, 2011).

Polimerización de las antocianinas

Las antocianinas son pigmentos lábiles que experimentan reacciones de degradación, la polifenoloxidasa, la peroxidasa y las enzimas glucosiladas pueden tener un efecto devastador sobre las antocianinas, las enzimas glucosiladas actúan directamente sobre las antocianinas, pero la acción de las polifenoloxidasas y peroxidasa son indirectas. Las antocianinas condensaran con otros compuestos fenólicos para formar pigmentos de color poliméricos; esta reacción puede ser acelerada con la presencia de acetaldehído. Durante el añejamiento de los vinos ocurren numerosas reacciones de polimerización que favorece la estabilidad del color del vino, y tiene lugar entre las antocianinas y otros fenoles principalmente flavonoides causando una disminución de la absorbancia de 520 nm y un aumento a 420 nm. En vinos tintos jóvenes casi la totalidad del color está dado por antocianinas manométricas (Challem y Bolck, 2014).

2.1.3.7. Radicales libres

Son todas aquellas especies químicas cargadas o no, que en su estructura atómica presentan un electrón desapareado o impar en el orbital externo dándole una configuración espacial que genera gran inestabilidad señalado por el punto situado a la derecha del símbolo; son muy reactivos, tienen una vida media corta, por lo que actúan cercano al sitio en que se forman y son difíciles de dosificar. Desde el punto de vista molecular son pequeñas moléculas y difusibles que se producen por diferentes mecanismos entre los

que se encuentran la cadena respiratoria mitocondrial, la cadena de transporte de electrones en los cloroplastos y las reacciones de oxidación, por lo que producen daño celular (oxidativo) al interactuar con las principales biomoléculas del organismo (Romero, 2011).

2.2. ANTECEDENTES

Muñoz *et al.* (2007) en su trabajo de investigación: “Evaluación de la actividad antioxidante y contenido de compuestos fenólicos en vinos producidos en Perú”. Estudiaron 13 tipos de vinos peruanos elaborados en los departamentos de Ica y Lima sobre el contenido de compuestos fenólicos se estimó usando el método Folin-Ciocalteu, obteniéndose valores de 627 - 3321 mg GAE/L. La actividad antioxidante se realizó usando dos métodos: primero aplicando el método DPPH los valores están entre 32 - 873 μ M DPPH, para un monitoreo de 5 minutos; luego usando el catión ABTS, los resultados se expresaron en TEAC (capacidad antioxidante trolox equivalente) y estuvieron entre 2,4 - 17,6 mM Trolox. Los compuestos fenólicos se cuantificaron por HPLC: clorogénico entre 0,13 – 3,28 mg/L, cafeico entre 0,47 – 15,08 mg/L, ferúlico entre 0,21 – 5,57 mg/mL, rutina entre 0,017 – 0,57 mg/L, quercetina entre 0,19 – 7,74 mg/L y kaemferol entre 0,023 – 1,39 mg/L. El vino elaborado con las variedades Tannat y Petit Verdot presentó mayor concentración de compuestos fenólicos y actividad antioxidante por ambos métodos. La presencia de estos compuestos antioxidantes permitiría un criterio de clasificación que debería considerarse en la información nutricional en la etiqueta de los vinos, proporcionando ventajas para productores y consumidores.

Rodrigo *et al.* (2011) en su investigación: “Compuestos fenólicos, actividad antioxidante, contenido de resveratrol y componentes del aroma de 8 vinos peruanos”. Tuvo como objetivo conocer las propiedades fisicoquímicas, actividad antioxidante, componentes del aroma y contenido de resveratrol y quercetina de 8 vinos peruanos. Se encontró que las densidades relativas de los vinos están dentro del rango de 0,9916 - 1,0174 g/mL, mientras que los valores de pH varían de 3,18 - 3,97. Mediante métodos espectrofotométricos

se pudo cuantificar la concentración de fenoles totales (2374,25 - 3610,43 mg/L), flavonoides totales (1869,19 - 3138,85 mg/L) y antocianinas totales (102,64 - 317,50 mg/L). Por medio de cromatografía líquida de alta performance (HPLC) se pudo detectar la presencia del compuesto trans-veratrol en 6 de los 8 vinos peruanos evaluados. El vino Tabernero Malbec-Merlot contiene la mayor concentración de dicho compuesto ($0,56 \pm 0,03$ µg/ml) y, además, es el que presenta la mejor actividad antioxidante en el test de DPPH. Por medio de cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS) se pudo determinar que los compuestos volátiles de mayor concentración en el aroma de los vinos fueron el ácido sórbico, feniletanol, ácido propanoico y monoetil éster del ácido butanodioico.

García *et al.* (2016) en su investigación: "Elaboración y caracterización fisicoquímica de un vino joven de fruta de borojó (*Patinoi Cuatrec*)". El objetivo principal de esta investigación fue la elaboración y caracterización fisicoquímica y microbiológica de un vino joven de fruta a partir de Borojó (Borojoa patinoi Cuatrec). Obteniendo como Resultados de los parámetros fisicoquímicos de vino de borojó. Contenido de alcohol destilado, expresado como % v/v a 20°C Min 6, lotes de referencia 9,25; Acidez total (ácido tartárico en g/dm³) Min 3,5 Max 10, LR 7,25; Acidez volátil (ácido acético en g/dm³) Max 1,2 LR 0,072; Azúcares totales, en g/dm³ Min 0 LR 0,5; pH Min 2.8 Max 4 LR 3.5; Metanol, en mg/dm³ Max 100 LR 31,74; Sulfatos, sulfato de sodio en g/dm³ Max 2 LR 0,943; Cloruros, cloruro de sodio en g/dm³ Max 1 LR 0.012; Anhídrido sulfuroso total, en mg/dm³ Max 350 LR 240; Cobre, en mg/dm³ Max 1; Hierro, en mg/dm³ Max 8; Densidad relativa LR 1.033; Extracto seco reducido, en g/dm³ Min 10 LR 16,377.

Resultados de la caracterización microbiológica de las pulpas y del vino de borojó. Análisis microbiológico: Coliformes totales NMP/ml, Pulpa de borojó <3 Vino de borojó N.D. Mesófilos aeróbicos UFC/ml, Pulpa de borojó 100 Vino de borojó N.D. Hongos y levaduras UFC/ml, Pulpa de borojó 150 Vino de borojó <3.

Los valores cifrados como mínimos y máximos fueron tomados de la NTC 708 bebidas alcohólicas vinos de frutas y fueron de aceptación para vino de frutas que cumple con lo establecido en el decreto 1686 del 2012 de la legislación vigente de bebidas alcohólicas. Los resultados de los análisis microbiológicos estuvieron dentro de los rangos permitidos para la pulpa de borjón y el vino joven obtenido.

José *et al.* (2010) en su investigación: “Determinación de parámetros para la formulación y obtención de vino de naranja (*Citrus sinensis*)”. El objetivo fue obtener una bebida alcohólica a partir de la naranja valencia. Fueron dos etapas; en la primera se realizó una caracterización fisicoquímica del fruto. En la segunda se determinó el efecto del grado de maduración, la adición de nutrientes y anhídrido sulfuroso, por un periodo de 21 días de fermentación. La caracterización fisicoquímica mostro dos estados de maduración (cinco y seis) aptos para el proceso de fermentación fueron: 9 g/kg de ácido cítrico, 20°Brix, 63 g de $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ /kg de levadura, 160,37 g de $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ /kg de levadura de y 0,8 mg de SO_2 molecular/L. el análisis estadístico arrojó para T_3 un valor de azúcar residual de 60,1 g/dm³, grado alcohólico 25°GL, viabilidad celular 70%, acidez total de 0,9689%, acidez volátil 0,090% y pH de 3,6, valores ajustado a la NTC 708, ideales para la fermentación de vinos dulces.

2.3. HIPÓTESIS

2.3.1. Hipótesis general

- Al determinar los parámetros óptimos para la obtención de vino tinto a partir de la espina amarilla (*Berberis laurina*), se podrá establecer los parámetros adecuados para elaborar vino tinto a partir de esta fruta con la finalidad de industrializar la producción del mismo en la provincia de Huamalíes.

2.3.2. Hipótesis específica

- Al evaluar las características antioxidantes y azúcares reductores, del vino tinto obtenido a partir del fruto de espina amarilla (*Berberis*

laurina), se podrán conocer los beneficios que el producto puede aportar a nuestro organismo.

- Al evaluar las características sensoriales que presentan el vino tinto elaborado a partir del fruto espina amarilla (*Berberis laurina*), se podrá conocer la aceptabilidad por parte de los potenciales consumidores.

2.4. VARIABLES Y OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

2.4.1. Variables

2.4.1.1. Variable independiente

Uso de diferentes diluciones y pH para la elaboración del vino tinto a partir de la espina amarilla.

a) Dilución (fruto/agua)

$$a_1 = 1:5 \text{ p/v}$$

$$a_2 = 1:10 \text{ p/v}$$

$$a_3 = 1:15 \text{ p/v}$$

b) pH de mosto

$$b_1 = 3,5$$

$$b_2 = 3,8$$

2.4.1.2. Variables dependientes

Parámetros óptimos para la elaboración del vino tinto a partir de la espina amarilla (*Berberis laurina*)

2.4.2. Operacionalización de variables

En el cuadro 7 se presenta la operacionalización de las variables.

Cuadro 5. Operacionalización de las variables

Variables	Dimensiones	Indicadores
Independiente		
Dilución fruto/agua y pH del mosto	▪ Dilución fruto/agua	a ₁ : 1:5 p/v a ₂ : 1:10 p/v a ₃ : 1:15 p/v
	▪ pH del mosto	b ₁ : 3,5 b ₂ : 3,8
Dependiente		
Obtención de parámetros óptimos para la elaboración del vino tinto a partir de la espina amarilla	▪ Características fisicoquímicas del fruto	▪ Capacidad antioxidante ▪ Azúcares reductores ▪ Polifenoles totales ▪ Antocianinas ▪ Acidez, pH, °Brix (inicio: primer día)
	▪ Características químicas del vino	▪ Capacidad antioxidante ▪ Azúcares reductores ▪ Polifenoles totales ▪ Antocianinas (A los 3 meses).
	▪ Evaluación sensorial	▪ Aroma ▪ Color ▪ Sabor ▪ Transparencia (A los 3 meses).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. LUGAR DE EJECUCIÓN

La fase experimental se realizó en un ambiente adecuado en provincia de Huamalies distrito de Llata la parte del proceso de elaboración del vino a partir de los frutos de espina amarilla (*Berberis laurina*) y los análisis de laboratorio se realizó en el laboratorio de análisis por instrumentación en la E.A.P de Ingeniería Agroindustrial de la Universidad Nacional Hermilio Valdizán, en el distrito de Pillcomarca, provincia de Huánuco, departamento de Huánuco, entre los meses de mayo del 2017 a enero del 2018.

3.2. TIPO Y NIVEL DE INVESTIGACIÓN

De acuerdo al tipo de investigación, pertenece a la investigación aplicada y nivel experimental.

3.3. POBLACIÓN MUESTRA Y UNIDAD DE ANÁLISIS

3.3.1. Población

La población estudiada fue el vino elaborado a partir de los frutos de espina amarilla (*Berberis lauriana*). de la provincia de Huamalies, Huánuco.

3.3.2. Muestra

Se tomaron muestras de 750 mL de vino elaborado a partir de los frutos de espina amarilla (*Berberis laurina*) de los seis tratamientos.

3.3.3. Unidad de análisis

Para los análisis respectivos se tomó como unidad de análisis una botella de 750 mL para cada tratamiento.

3.4. TRATAMIENTOS DE ESTUDIO

Para determinar los parámetros óptimos para la elaboración del vino tinto a partir del fruto de espino amarillo se consideró los siguientes tratamientos en estudio.

Cuadro 6. Descripción de los tratamientos.

Tratamiento	Clave	Factor A (p/v)	Factor B (pH)
T ₁	a ₃ x b ₂	1:15	3,8
T ₂	a ₂ x b ₁	1:10	3,5
T ₃	a ₃ x b ₁	1:15	3,5
T ₄	a ₁ x b ₁	1:5	3,5
T ₅	a ₁ x b ₂	1:5	3,8
T ₆	a ₂ x b ₂	1:10	3,8

Factor A: dilución fruto/agua.

Factor B: pH del mosto.

Para determinar los parámetros óptimos para la elaboración del vino tinto partir del fruto de espino amarillo se realizó la caracterización fisicoquímica y el análisis sensorial.

3.5. PRUEBA DE HIPÓTESIS

Para este estudio se plantearon las siguientes hipótesis:

Hipótesis nula

H₀: Los diferentes niveles de dilución y pH del mosto no presentan diferencias en las características antioxidantes, azúcares reductores y sensoriales del vino tinto a partir del fruto de espina amarilla.

$$\mathbf{H_0: T_1 = T_2 = T_3 = T_4 = T_5 = T_6 = 0}$$

Hipótesis de investigación

H₁: Los diferentes niveles de dilución y pH del mosto presentan diferencias en las características antioxidantes, azúcares reductores y sensoriales del vino tinto a partir del fruto de espina amarilla.

$$\mathbf{H_1: Al menos un } T_i \neq 0$$

3.5.1. Diseño de la investigación

3.5.1.1. En el estudio de las características antioxidantes y azúcares reductores

Comprendió el estudio de la evaluación del efecto de la dilución y el pH en las características antioxidantes del vino de la espina amarilla, para lo cual se usó el Diseño Completamente al Azar con Arreglo Factorial (3 x 2), donde se estudiaron 3 niveles de dilución (1/5, 1/10 y 1/15 p/v) y dos niveles de pH (3,5 y 3,8), cuyo modelo aditivo lineal es la siguiente ecuación:

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

Dónde:

Y_{ijk} = Respuesta obtenida en la unidad experimental de la k-ésima repetición sometida a la interacción de la i-ésima dilución con el j-ésimo pH del sumo de la espina amarilla.

μ = Es el efecto de la media general.

α_i = Efecto del i-ésimo nivel del factor A (dilución).

β_j = Efecto del j-ésimo nivel del factor B (pH del sumo).

$(\alpha\beta)_{ij}$ = Efecto de la interacción entre el i-ésimo nivel del factor A con j-ésimo nivel del factor B.

ε_{ijk} = Es la variación del error asociado con las ijk unidades.

Para la evaluación de variables de tipo cuantitativo que se reportaron en el experimento se verificó previamente el cumplimiento de los supuestos de un análisis de varianza. Se aplicó la prueba de Tukey con un nivel de significación de 5%.

3.5.1.2. En el estudio de la evaluación sensorial

Para la evaluación sensorial se trabajó con la prueba de Friedman, alternativa no paramétrica.

3.5.2. Datos a registrar

En la investigación se registraron los siguientes datos: capacidad antioxidante (IC50 y mg TE/ml), azúcares reductores (g/L), polifenoles totales (mg/ml), antocianinas (mg/ml) y evaluación sensorial (color, aroma, sabor y transparencia).

3.5.3. Técnicas e instrumentos de recolección y procesamiento de la información

Técnicas de investigación documental o bibliografía

Fichaje: se empleó para construir el marco teórico y revisión bibliográfica de la tesis.

Fichas de registro o localización

Bibliográfico

Hemerográfico

USB

Instrumento de recolección de información

Formatos

Cuaderno de apuntes

Procesamiento y presentación de los resultados

Los datos obtenidos fueron ordenados y procesados en la computadora utilizando el programa de acuerdo al diseño de investigación propuesto: Excel 2016, SPSS 22 y Statgraphics.

3.6. MATERIALES, MÉTODOS E INSUMOS

3.6.1. Materia prima

El fruto de la espina amarilla (*Berberis laurina*)

3.6.2. Materiales

- Matraz Erlenmeyer de 50 y 250 ml
- Matraz aforado de 10, 50, 100 y 250 ml

- Probetas graduadas de 25 y 100 ml
- Pipetas de 5 y 10 ml
- Micropipetas de 20 – 200 ul y 100 – 1000 ul
- Vaso de precipitación de 100, 600 y 1000 ml
- Pinzas para tubos de ensayo
- Pastillas magnéticas
- Baldes
- Tamices
- Cuchillos de acero inoxidable
- Ollas de acero Inoxidable
- Cucharones
- Jarras

3.6.3. Equipos e instrumentos de control

- Balanza analítica (modelo AR3130, cap. Max. 310 g).
- Balanza digital (modelo SP601, cap. max. 600 g).
- Potenciómetro (modelo handylab pH 11).
- Estufa eléctrica (modelo UN 5b, rango de trabajo 25 - 300°C).
- Agitar magnético con calefacción (modelo C5).
- Equipo de ultrasonido (modelo UCS – 05, 40 KHz, 25 a 70°C).
- Cámara de conservación (modelo AG276).
- Espectrofotómetro UV/Vis (modelo Genesys 10s).
- Centrífuga (modelo C28A).
- Purificador de agua tipo II (modeli Micra).
- Colorímetro (modelo LC 100).

3.6.4. Reactivos

- Hidróxido de Sodio (NaOH), EMSURE Merck 99 – 100%.
- Ácido Clorhídrico (HCl), Sigma Aldrich p.a. 37%.
- 2,2-diphenyl-1-picrilhydrazyl (DPPH), Sigma Aldrich > 99%.
- Glucosa p.a. Spectrum > 98%.
- Metanol, Sigma Aldrich grado HPLC \geq 99.9%.
- Cloruro de potasio, Scharlau 99%.

- Acetato de sodio, EMSURE Merk $\geq 99\%$.
- 2,4 dinitrofenol, Sigma Aldrich 99%.
- Fenol cristalizado, Panreac $\geq 99\%$.
- Tartrato de sodio y potasio, Scharlau 99 – 102%.
- Ácido gálico, EMSURE Merck $\geq 98.0\%$.
- Ferrocianuro de potasio, Riedel - de Haën™ 99%.
- Cloruro de hierro hexahidratado, Riedel - de Haën™ 99%.

3.7. CONDUCCIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

En la figura 7 se muestra la secuencia del procedimiento de la ejecución del presente trabajo de investigación.

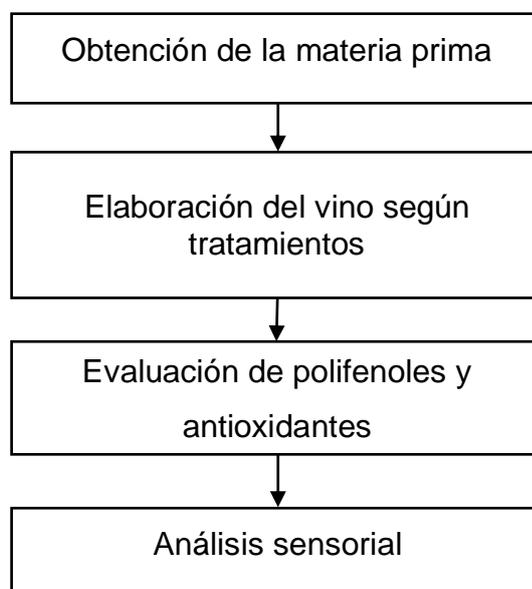


Figura 7. Esquema experimental del trabajo de investigación.

3.7.1. Obtención de la materia prima

Se identificó el lugar potencial (provincia de Huamiles) para la obtención de los frutos de espina amarilla para la elaboración del vino.

3.7.2. Elaboración del vino según tratamientos

En la figura 8, se muestra el diagrama de flujo para la elaboración del vino del fruto de la espina amarilla, empleado en el trabajo de investigación.

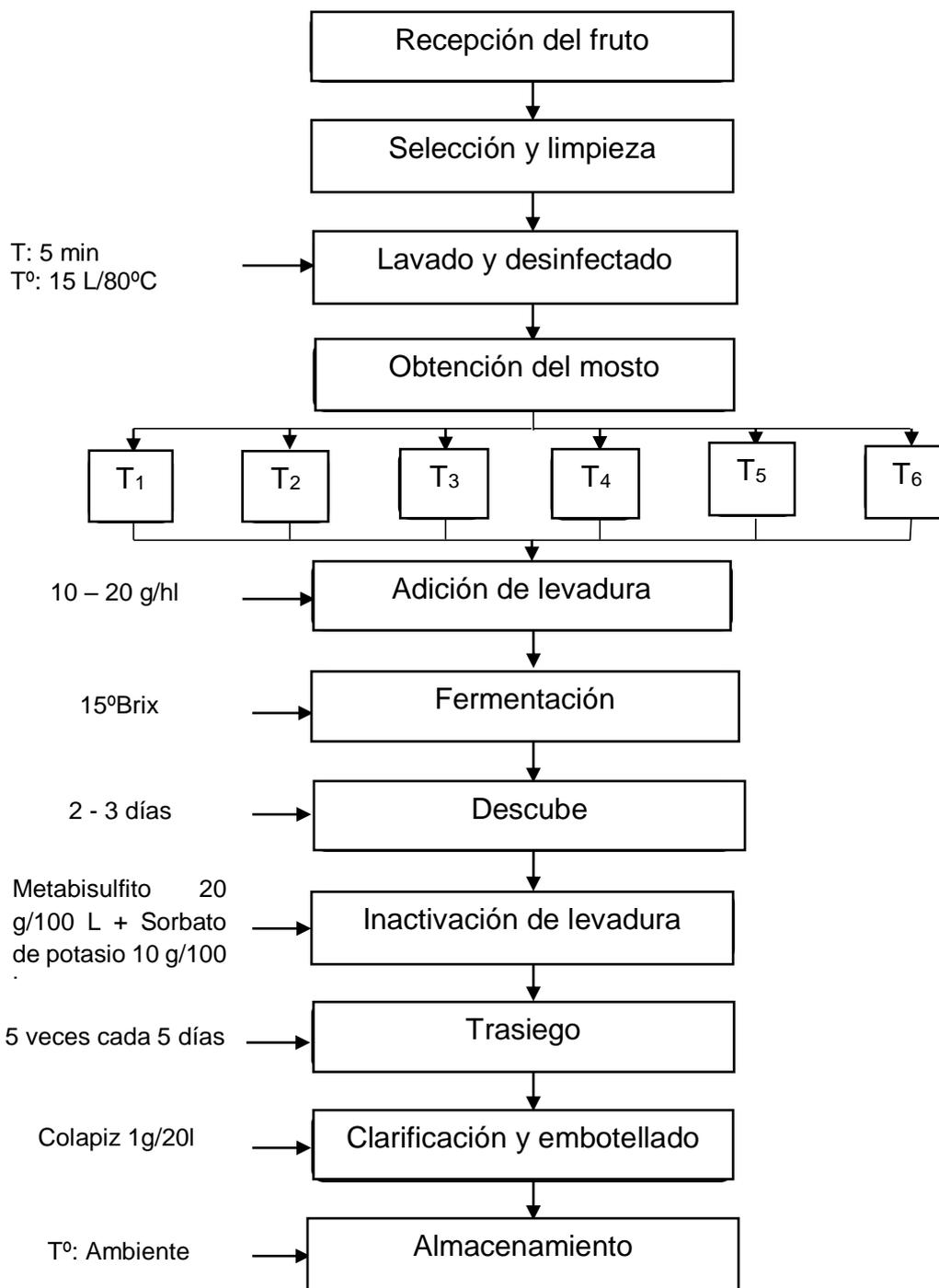


Figura 08: Flujograma para la elaboración de vino de espina amarilla.

Recepción

El fruto de la espina amarilla procedente de la provincia de Huamalíes fue cosechada y trasladada en bandejas (coolers) a un ambiente acondicionado para el proceso.

Selección y limpieza

Se descartó los frutos que presentaron magulladuras y síntomas de deterioro, lo cual nos permitió tener uniformidad de los frutos. Así mismo eliminando todo tipo de impurezas.

Lavado y desinfectado

Los frutos se colocaron en una malla y sometido en un recipiente de 15 L de agua a una temperatura de 80°C por un tiempo de 5 min. Esto se realizó con la finalidad de eliminar algunas partículas que se encuentran adheridos a la piel del fruto de la misma su desinfección.

Obtención del mosto

Para el estudio de la elaboración del vino del fruto de la espina amarilla, la etapa de la obtención del mosto fue de la siguiente manera; se estrujo los frutos y posterior a ello se realizó las diluciones con agua hervida según tratamiento (T₁, T₂, T₃, T₄, T₅ y T₆). Todos los tratamientos fueron llevados a 28°Brix.

Adición de levadura

A cada uno de los tratamientos se bajó la temperatura a 37°C, posterior a ello se adiciono la levadura 20 g/Hl de mosto por tratamiento.

Fermentación

Después de la adición de la levadura cada uno de los tratamientos fueron herméticamente cerrados y almacenados en bidones de 20 L a temperatura ambiente, realizándose de esa manera el proceso de la fermentación anaeróbica hasta alcanzar 15°Brix.

Descube

Al quinto día de la fermentación se retiró la parte sólida mediante el colado a cada uno de los tratamientos quedando solo con la parte líquida. Se colocó cada tratamiento en su respectivo recipiente, cerrándose herméticamente y continuando con su proceso de fermentación.

Inactivación de levadura

Cuando alcanzó cada uno de los tratamientos 15°Brix se inactivó la levadura con la adición de meta bisulfito 20g/100L, más la adición de sorbato de potasio 10g/100L, dejando la inactivación de las levaduras por un tiempo de 25 días.

Trasiego

Consiste en separar el vino claro de las heces precipitadas en el fondo del depósito. El primer trasiego se realizó a los dos meses y medio de la adición de la levadura, repitiéndose esta operación cada 5 días, haciendo un total 5 trasiegos.

Clarificación y embotellado

Se realizó en el último trasiego con la adición de colapiz 1g/20L a cada uno de los tratamientos. A los 5 días de la clarificación se procedió al embotellado del vino en botellas de 750 ml esterilizadas y un sellado hermético.

Almacenamiento

Una vez embotellados cada uno de los tratamientos; estos fueron almacenados a temperatura ambiente en un lugar limpio, seco y en ausencia de olores extraños que afecten la calidad del producto final, para su posterior análisis.

3.7.3. Evaluación de azúcares reductores, polifenoles y antioxidantes

Actividad antioxidante. Se determinó a través del método radical 2,2-Dyphenyl-1-Picrylhydrazil (DPPH) reportado por Brand (1995) citado por Williams (2005).

Cuantificación de azúcares reductores. Se determinó según el método de 2,4 dinitrofenol recomendado por Williams (2005).

Cuantificación de polifenoles totales. Se empleó el método de azul de prussian según Margraf (2015).

Cuantificación de antocianinas. Se determinó según el método de pH diferencial reportado por Macarone (2000).

3.7.4. Análisis sensorial

Se realizó a través de un panel de 20 jueces semientrenados de la Escuela Académico Profesional de Ingeniería Agroindustrial, en el que calificaron el grado de aceptabilidad mediante los atributos más relevantes como: aroma, color, sabor y transparencia de acuerdo a la ficha de evaluación sensorial presentada en el anexo 11. El análisis estadístico fue interpretado por la prueba de Friedman, alternativa no paramétrica para el diseño bloques completamente al azar DBCA.

3.7.5. Análisis estadístico

Se realizó el análisis a través del diseño DCA con arreglo factorial para las características fisicoquímicas con un nivel de significancia de $\alpha = 0.05$. Cuando se observaron diferencias significativas, se realizó el test de Tukey usando el programa estadístico SSPS 22 y Statgraphics para determinar al mejor tratamiento.

IV. RESULTADOS

4.1. PARÁMETROS ÓPTIMOS PARA LA ELABORACIÓN DE VINO TINTO A PARTIR DEL FRUTO DE ESPINA AMARILLA

En el estudio realizado sobre la elaboración del vino tinto a partir del fruto de la espina amarilla, los resultados que se muestran en el cuadro 7 (dilución de 1 kg de fruto por 5 L de agua y un pH de 3,5) presentaron mejor aceptación con respecto al análisis sensorial y mejor capacidad de antioxidante.

Cuadro 7. Parámetros óptimos para la elaboración del vino

Producto	Características	Resultados
Vino tinto del fruto de espina amarilla	Dilución (p/v)	1/5
	pH	3,5

En el cuadro 8 se observa que el tratamiento T₄ presentan mayor capacidad antioxidante (90.88 ± 5.67 mg TE/mL), mayor contenido de polifenoles ($99,03 \pm 1,69$ mg/mL), mayor contenido de antocianinas ($26,27 \pm 0,17$ mg/L) y menor contenido de azucares reductores ($93,14 \pm 7,83$ g/L), diferenciándose de los demás tratamientos.

Cuadro 8. Resultados de las características antioxidantes de los diferentes tratamiento y fruto frescos de espinaca amarilla

Muestra	Capacidad Antioxidante		Polifenoles Totales (mg/mL)	Antocianinas (mg/L)** (cianidina-3-glucosido)	Azúcares Reductores (g/L) (glucosa)
	mg TE/mL	IC50 (mg/mL)			
T1	39,16 ± 1,57 ^{cd}	0,5039	70,27 ± 1,24 ^c	14,24 ± 0,17 ^d	127,15 ± 1,36 ^{bc}
T2	32,60 ± 0,93 ^d	0,7423	66,43 ± 4,49 ^c	12,89 ± 0,29 ^e	130,90 ± 6,05 ^b
T3	38,12 ± 6,67 ^{cd}	0,8418	65,31 ± 3,93 ^c	15,72 ± 0,17 ^c	159,96 ± 5,50 ^a
T4	90,88 ± 5,67^a	0,9862	99,03 ± 1,69^a	26,27 ± 0,17^a	93,14 ± 7,83^d
T5	61,86 ± 0,70 ^b	0,7677	93,59 ± 3,12 ^a	18,67 ± 0,17 ^b	113,62 ± 1,52 ^c
T6	48,61 ± 7,86 ^{bc}	0,4038	80,01 ± 2,83 ^b	18,162 ± 0,59 ^b	157,01 ± 4,42 ^a

(**) Las antocianinas totales están expresadas como mg de Cianidin-3-glucosido por litro

En el cuadro 9 se observa los grados alcohólicos por tratamientos presentando los tratamientos T₄ y T₅ mayor contenido de grados alcohólicos (13.5 ,13.4 °GL) y con menor grado alcohólico los tratamientos T₁ y T₂ (11 y 12).

Cuadro 9. Resultados de grados alcohólicos de vino de los frutos de espina amarilla (*Berberis laurina*) por tratamiento

Tratamiento	°GL
T ₁	11
T ₂	12
T ₃	11.5
T ₄	13.5
T ₅	13.4
T ₆	12.5

4.2. CARACTERIZACIÓN DEL FRUTO DE LA ESPINA AMARILLA

En el anexo 1 se muestra las características fisicoquímicas del fruto de la espina amarilla provenientes de la provincia de Huamalíes. Lo cual fue usado para la elaboración del vino tinto.

Cuadro 10. Resultado promedio de la caracterización de la espina amarilla.

Procedencia	Características	Resultados
	Peso (g)	1,8
	Longitud (mm)	5
	Diámetro ecuatorial (mm)	8
	Capacidad antioxidante (mg TE/g)	221,71
Huamalíes	Polifenoles totales (mg/g)	282,65
	Antocianinas (mg/g)	256,86
	Azúcares reductores (g/kg)	50,85
	Sólidos solubles (°Brix)	13
	pH	3,5

Como se puede observar en el cuadro 10 el fruto de la espina amarilla presentó un peso de 1,8 g, capacidad antioxidante 221,71 mgTE/g, azúcares reductores 50,85 g/kg y sólidos solubles (13°Brix).

4.3. EVALUACIÓN DE CARACTERÍSTICAS ANTIOXIDANTES, AZÚCARES REDUCTORES, Y ANALISIS SENSORIAL.

4.3.1. Evaluación de los polifenoles totales, antocianinas y azúcares reductores

Realizado el análisis de variancia (anexo 2), al contenido de polifenoles totales determinados en el estudio, se encontró que el factor pH no presenta diferencias significativas. Sin embargo, el factor dilución y la interacción del factor pH y el factor dilución se evidenció diferencias significativas atribuidas a los niveles del factor dilución.

En el análisis de variancia (anexo 2), al contenido de antocianinas determinados en el estudio, se encontró que el factor dilución, el factor pH del mosto y la interacción del factor dilución con el factor pH presentan diferencias significativas atribuidas a ambos factores.

En el análisis de variancia (anexo 2) sobre el contenido de azúcares reductores determinados en el estudio presentaron diferencias significativas con respecto del factor dilución, el factor pH del mosto y la interacción del factor dilución con el factor pH, atribuidas a ambos factores.

4.3.1.1. Efecto de los niveles del factor dilución en polifenoles totales, antocianinas y azúcares reductores.

En el cuadro 11 se presenta los resultados del efecto del factor dilución en el contenido de polifenoles totales. Se aprecia que existen diferencias significativas entre los niveles del factor dilución. Siendo a_1 (1/5) con 96,31 el que ocupa el primer lugar con mayor contenido de polifenoles totales, seguido de a_3 (1/15) con 75,14 y finalmente a_2 (1/10) con 65,87 del contenido de polifenoles totales.

En el cuadro 11 se presenta los resultados del efecto del factor dilución como influye en el contenido de antocianinas. Se aprecia que existen

diferencias significativas entre los niveles del factor dilución; siendo el nivel a₁ con 27,97 lo cual ocupa el primer lugar con mayor contenido de antocianinas, seguido del nivel a₃ con 16,21 y finalmente el nivel a₂ con 14,21 del contenido de antocianinas.

En el cuadro 11 se aprecia los resultados del factor dilución como influye en el contenido de azúcares reductores, en el cual se aprecia que existen diferencias significativas. Siendo a₂ y a₃ que ocupan el primer lugar con una media (145,93 y 142,08) y finalmente a₁ con una media 103,38 del contenido de azúcares reductores.

Cuadro11. Prueba de Tukey para el efecto del factor dilución en el contenido de polifenoles totales, antocianinas y azúcares reductores.

	Niveles de A (Dilución fruto/agua)	Medias	Significancia ($\alpha = 5\%$)
POLIFENOLES	a ₁	96,31	a
TOTALES	a ₃	75,14	b
	a ₂	65,87	c
ANTOCIANINAS	a ₁	27,97	a
	a ₃	16,21	b
	a ₂	14,31	c
AZUCARES	a ₂	145,43	a
REDUCTORES	a ₃	142,08	a
	a ₁	103,38	b

4.3.1.2. Efecto de los niveles del factor pH en polifenoles totales, antocianinas y azúcares reductores

Para el efecto de los niveles del factor pH (b₁: 3,5 y b₂: 3,8) del mosto la prueba de significación de Tukey muestra en el cuadro 12 que no presenta diferencias significativas con respecto al contenido de polifenoles totales.

Para el efecto de los niveles del factor pH del mosto la prueba de Tukey muestra diferencias significativas; lo cual se aprecia en el cuadro 12. El nivel b_1 (3,5) con una media de 18,70 representa el primer lugar del contenido de antocianinas y el nivel b_2 (3,8) el segundo lugar con una media de 17,19.

Para el efecto de los niveles del factor pH del mosto la prueba de Tukey muestra diferencias significativas; lo cual se aprecia en el cuadro 12. El nivel b_2 con una media de 136,71 representa el primer lugar del contenido de azúcares reductores y el nivel b_1 el segundo lugar con una media de 123,89

Cuadro 12. Prueba de Tukey para el efecto del factor pH del mosto en el contenido de polifenoles totales, antocianinas, y azúcares reductores.

	Niveles de B (pH del mosto)	Medias	Significancia ($\alpha = 5\%$)
POLIFENOLES	b_1	126,71	a
TOTALES	b_2	126,70	a
ANTOCIANINAS	b_1	18,70	a
	b_2	17,19	b
AZUCARES TORES	b_2	136,71	a
	b_1	123,89	b

4.3.1.3. Efecto de interacción de los niveles del factor pH en cada uno de los niveles del factor dilución en polifenoles totales, antocianinas y azúcares reductores.

La figura 09 muestra los efectos de la interacción entre el factor pH en cada nivel del factor dilución, donde se aprecia que los polifenoles totales son sensibles a la interacción de factores en sus diferentes niveles.

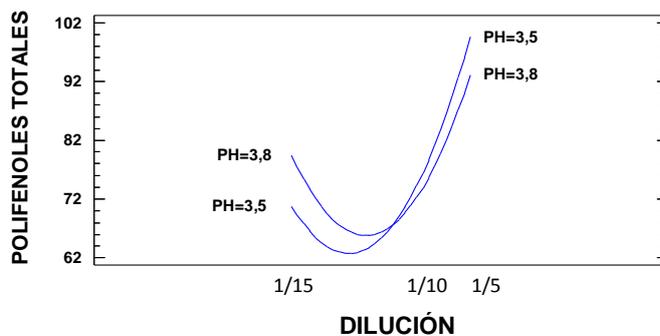


Figura 09. Interacción de los niveles en el contenido de polifenoles totales.

La figura 10 muestra gráficamente la variación del contenido de antocianinas según los niveles de los factores evaluados, siendo visible que al pasar del nivel más bajo (1/15) al más alto (1/5) de dilución se incrementa la respuesta; para el factor pH no se muestra mucha variación entre los niveles evaluados, por lo que no resulta significativo.

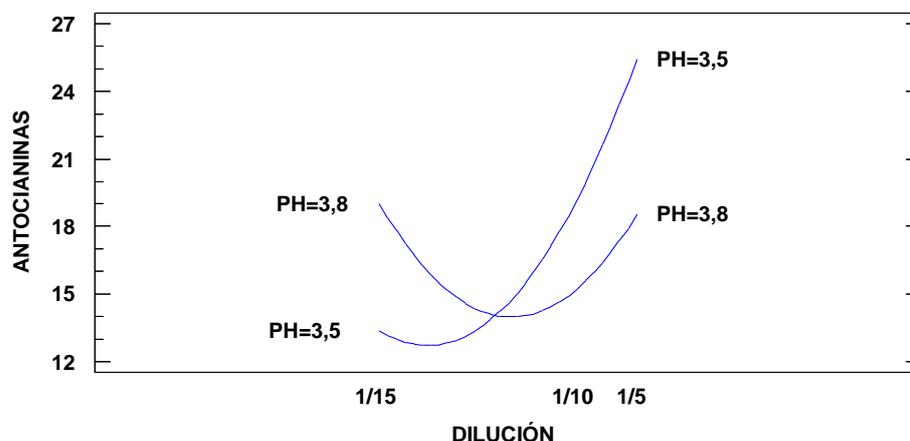


Figura 10. Interacción de los niveles en el contenido de antocianinas.

La figura 11 muestra de forma gráfica los efectos de la interacción entre factores, donde es visible que los azúcares reductores son sensibles a la interacción de factores en sus diferentes niveles.

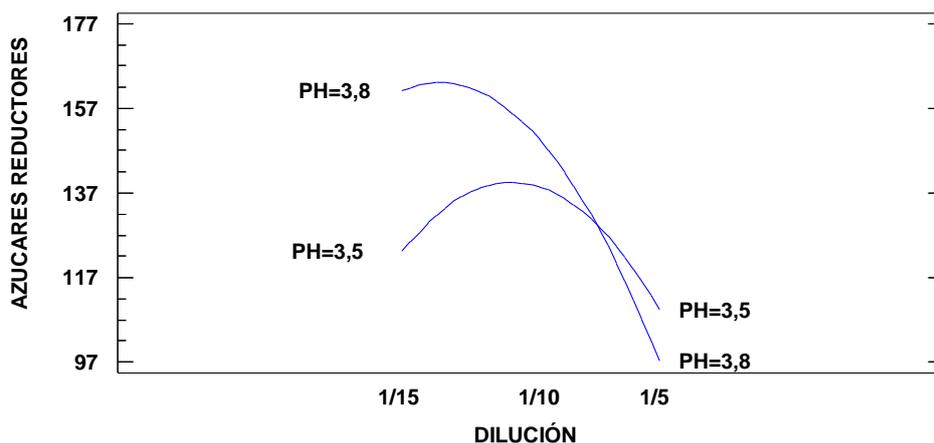


Figura 11. Interacción de los niveles en el contenido de azúcares reductores.

4.3.1.4. Efectos generales de los tratamientos del contenido de polifenoles totales, antocianinas, y azúcares reductores.

En el cuadro 13 se observan diferencias estadísticas entre tratamientos, destacando los tratamientos T₄ y T₅ que en promedio reportaron mayor contenido de polifenoles totales (99,03 y 93,59) respectivamente, diferenciándose estadísticamente de los otros tratamientos, el segundo grupo conformado por el tratamiento T₆ cuyo promedio (80,01) y el tercer grupo conformado por los tratamientos T₁, T₃ y T₂ cuyos promedios (70,27; 65,31 y 66,43).

En el cuadro 13 se observa las diferencias significativas entre tratamientos, destacando el tratamiento T₄ que en promedio reporta mayor contenido de antocianinas (26,26), diferenciándose estadísticamente de los otros tratamientos; el segundo grupo conformado por los tratamientos T₆ y T₅ cuyo promedio (18,16 y 17,68) lo cual no presentan diferencias significativas y el último tratamiento conformado por T₂ cuyo promedio (12,89) de antocianina.

En el cuadro 13 se observan diferencias estadísticas entre tratamientos, destacando los tratamientos T₃ y T₆ que en promedio reportaron mayor contenido de azúcares reductores (159,96 y 157,01) respectivamente, el

segundo grupo conformado por los tratamientos T₂ y T₁ con una media (130,89 y 127,15) y, el tercer grupo conformado por los tratamientos T₃ y T₁ cuyos promedios (127,15 y 113,62) y; finalmente el T₄ y T₅ con (93,14 y 113,62) según el estudio con menor contenido de azúcares reductores es mejor.

Cuadro 13. Contenido de polifenoles totales, antocianinas, y azúcares reductores por tratamientos.

	Tratamiento (A x B)	Interacción	Medias	Significancia ($\alpha = 5\%$)
POLIFENOLES TOTALES	T ₄	a ₁ b ₁	99,03	a
	T ₅	a ₁ b ₂	93,59	a
	T ₆	a ₂ b ₂	80,01	b
	T ₁	a ₃ b ₂	70,27	c
	T ₂	a ₂ b ₁	66,43	c
	T ₃	a ₃ b ₁	65,31	c
ANTOCIANINAS	T ₄	a ₁ b ₁	26,26	a
	T ₆	a ₂ b ₂	18,16	b
	T ₅	a ₁ b ₂	17,68	b
	T ₃	a ₃ b ₁	15,72	c
	T ₁	a ₃ b ₂	14,25	d
	T ₂	a ₂ b ₁	12,89	e
AZUCARES REDUCTORES	T ₃	a ₃ b ₁	159,96	a
	T ₆	a ₂ b ₂	157,01	a
	T ₂	a ₂ b ₁	130,89	b
	T ₁	a ₃ b ₂	127,15	b c
	T ₄	a ₁ b ₁	93,14	c
	T ₅	a ₁ b ₂	113,62	d

A: Dilucion (fruta/agua);B:Ph del mosto

4.3.2. Evaluación de la capacidad antioxidante

Se observa en el cuadro 14 que los tratamientos presentan diferencias significativas, ubicándose los tratamientos T₄ con mayor capacidad antioxidante ($90,88 \pm 5,67^a$ mg TE/ml). y en cuanto IC₅₀ el tratamiento T₆ tiene mayor capacidad antioxidante (0,4038 mg/mL) Así mismo T₄ es el tratamiento con menor capacidad antioxidante en IC₅₀ (0,9862 mg/ml) y el T₂ con menor capacidad antioxidante ($48,61 \pm 7,86^{bc}$ mg TE/ml).

Cuadro 14. Resultados de los análisis de la capacidad antioxidante

Tratamientos	Capacidad antioxidante	
	mg TE/ml	IC ₅₀ (mg/ml)
T4	$90,88 \pm 5,67^a$	0,9862
T5	$61,86 \pm 0,70^b$	0,7677
T6	$48,61 \pm 7,86^{bc}$	0,4038
T1	$39,16 \pm 1,57^{cd}$	0,5039
T3	$38,12 \pm 6,67^{cd}$	0,8418
T2	$32,60 \pm 0,93^d$	0,7423

4.3.3. Evaluación sensorial

En el cuadro 15 se observa. evaluación sensorial del vino a partir de los frutos de espina amarilla (*Berberis laurina*). Degustados por los 20 panelistas semientrenados.

Los resultados promedios de la evaluación sensorial del atributo color se muestra en el cuadro 15, lo cual presentan diferencia significativa entre tratamientos. Destacando el tratamiento T₁ (4.4) un calificativo de “rojo ligeramente oscuro” frente a los 20 panelista semi entrenados. Los tratamientos T₄, T₆, T₂, T₃, y T₅ presentaron que no existe diferencia significativa y mayor aceptación por los panelistas, obteniendo un calificativo de “rojo claro ligeramente perceptible”.

Los resultados promedios de la evaluación sensorial del atributo aroma se muestra en el cuadro 15, en lo cual se observan que no existe diferencias significativas entre tratamientos. Destacando el tratamiento T₄ con mayor aceptación y obteniendo un calificativo de “bueno”, mientras que los tratamientos T₅, T₃ y T₆ T₂ y T₁ obtuvieron un calificativo de “aceptable”.

En el cuadro 15 se muestra los resultados promedios de la evaluación sensorial del atributo sabor, en el cual los tratamientos que existe diferencias significativas estadísticamente. Los tratamientos T₄ y T₃ obtuvieron un calificativo de “bueno” y los tratamientos T₅, T₂, T₆ y T₁ un calificativo de “aceptable”.

En el cuadro 15 se muestra los resultados promedios de la evaluación sensorial del atributo transparencia, en el cual los tratamientos presentaron diferencia significativa. Los tratamientos T₄, T₃, T₂ y T₅ obtuvieron un calificativo de “rojo claro ligeramente traslucido” y los tratamientos, T₁, y T₆ un calificativo de “rojo claro con partículas en suspensión”.

Cuadro 15. Evaluación sensorial del vino a partir de los frutos de espina amarilla (*Berberis laurina*)

Tratamiento	Medias - significancia ($\alpha = 5\%$)			
	Color	Aroma	Sabor	Transparencia
T4	5.4 ^b	5.2 ^a	5 ^c	5.2 ^{abc}
T1	4.4 ^a	4.6 ^a	4.9 ^c	4.8 ^{ab}
T2	5.2 ^b	4.9 ^a	4.9 ^c	5.4 ^c
T3	5.1 ^b	4.7 ^a	5.5 ^c	5.1 ^{abc}
T5	5.3 ^b	4.7 ^a	4.1 ^{ab}	5.1 ^{abc}
T6	5.2 ^b	4.7 ^a	4.1 ^a	4.8 ^a

V. DISCUSIÓN

5.1. DE LOS PARÁMETROS ÓPTIMOS PARA LA ELABORACIÓN DE VINO TINTO A PARTIR DEL FRUTO DE ESPINA AMARILLA

En el cuadro 7 se muestra los resultados de los parámetros óptimos (dilución 1/5 y pH de 3,5) para la elaboración del vino del fruto de la espina amarilla. Estos parámetros representan al tratamiento T₄, lo cual fue uno de los tratamientos que presentó mayor aceptación por los 20 panelistas semientrenados, obteniendo un calificativo de “bueno” por parte del atributo aroma y sabor, por parte de color obteniendo un calificativo de “Rojo claro ligeramente perceptible” y por parte del atributo transparencia obteniendo un calificativo de “rojo claro ligeramente traslucido”, alcanzando una aceptabilidad de 78,57%. Así mismo se puede apreciar en el cuadro 8 los resultados del tratamiento T₄ con mayor capacidad antioxidante (90.88 ± 5.67^a mg TE/mL), mayor contenido de polifenoles ($99,61 \pm 1,69$ mg/mL), mayor contenido de antocianinas ($26,27 \pm 0,17$ mg/L) y menor contenido de azúcares reductores ($93,14 \pm 7,83$ g/L), diferenciándose de los demás tratamientos.

El pH obtenido se encuentra del rango que menciona Stienner (2001) sobre el mosto y/o vino que generalmente oscila el pH entre 3,0 y 4,0, pero los valores de pH en el rango de 3,2 – 3,6 son más comunes, de igual manera la NTC 708 (2000) afirma que los vinos de fruta deben trabajar a un pH de 2,8 – 4,0, así misma clásica la norma a los vinos de acuerdo al color en vino blanco, vino tinto y vino clarete o rosado, considerándose el vino del fruto de la espina amarilla como un vino “tinto”.

Por otra parte, Villanueva et al. (2016) afirmaron que la mejor dilución para trabajar en elaboración de vinos de frutas es de 1/3 – 1/6, encontrándose el vino del fruto de la espina amarilla dentro de los rangos que establece.

5.2. DE LA CARACTERIZACIÓN DEL FRUTO DE LA ESPINA AMARILLA

En el cuadro 10, se observa las medidas biométricas del fruto de la espina amarilla referido al peso, longitud y el diámetro ecuatorial. Según Zapata *et al.* (2014) menciona que tiene una similitud al fruto de los arándanos, lo cual

posee ciertas características (1,5 - 2,1 g, 4 – 6 mm y 6 – 8 mm) peso, longitud y diámetro ecuatorial respectivamente.

En su investigación Zapata *et al.* (2014) cuantificaron el contenido de polifenoles en muestras, del fruto de arándanos (240,3 mg AGE/g) y en el camu-camu (142,83 mg AGE/g), de acuerdo a estos resultados el fruto de la espina amarilla presenta mayor cantidad de polifenoles totales (282,65 mg/g).

Respecto al contenido de antocianinas registro (256,86 mg/g) atributo que se encuentra superior a los resultados obtenidos por Zapata *et al.* (2014), lo cual determino en el fruto maduro y pintón de los arándanos (146,42 y 133,83 mg cianidina-3-glucósido/g).

En su trabajo de investigación Zapata *et al.* (2014), cuantificaron el contenido de azúcares reductores en los frutos de arándanos (90,85 g/kg) valor superior al contenido de azúcares reductores del fruto de la espina amarilla (50,85 g/kg).

En cuanto a los resultados de los sólidos totales y pH se obtuvo (13°Brix y 3,5 de pH) valores próximos a lo obtenido por Villanueva (2010). Por lo tanto, se puede clasificar como una fruta muy acida de acuerdo a la tabla clasificación de alimentos (Potter, 2013).

En cuanto al contenido de sólidos solubles, se puede observar que existe un incremento durante la maduración. Sin embargo, este contenido aun es bajo (13°Brix), hecho que representa un problema para la metodología de vinificación, pero que se puede solucionar con la adición de azúcar (Vogt, 2012).

5.3. DE LA EVALUACIÓN DE POLIFENOLES, ANTOCIANINAS, AZÚCAR REDUCTORES, CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y ANALISIS SENSORIAL

Del análisis de varianza del anexo 2, el resultado del contenido de polifenoles totales del vino del fruto de la espina amarilla presento diferencias significativas con respecto al factor dilución y a la interacción del factor dilución y pH. Al respecto Martinez (2010) afirma que a mayor dilución (fruta/agua) menor será el contenido de polifenoles. En el cuadro 11 se puede apreciar que el nivel α_1 con una dilución de 1 kg de fruto de espina amarilla en 5 L de

agua obtuvo una media (96,61) que representa mayor contenido de polifenoles totales con respecto a los niveles a_3 (1/15) y a_2 (1/10), en su estudio sobre diferentes diluciones (1/2, 1/4 y 1/6) de zumos de arándanos Anticona *et al.* (2016) afirmaron que las diluciones con más del 50% de fruta contienen más polifenoles.

En el cuadro 12 se muestra el factor pH que no presentó diferencia significativa, pero influyó en la extracción de los polifenoles ya que representa un medio ácido, Dorta *et al.* (2009) afirmaron que las condiciones ácidas favorecen la extracción de fenoles y menciona que los frutos intensamente coloreados poseen mayor cantidad de antocianinas y constituyen un importante grupo dentro de los compuestos bioactivos, los cuales se extraen mejor en medio ácido.

En el cuadro 13 los resultados de los tratamientos presentaron diferencia significativa destacando el T_4 (1/5 : 3,5) y T_5 (1/5 : 3,8) con mayor contenido de polifenoles, esto es debido a que los tratamientos presentaron mayor contenido de fruta en las diluciones y aun pH más ácido mayor será la extracción de polifenoles (Dorta *et al.*, 2009).

En cuanto al resultado promedio de la antocianina del vino de la espina amarilla que se muestra en el anexo 2 presenta diferencia significativa con respecto al factor dilución, factor pH y la interacción de los factores dilución y pH; al respecto Cosavalente *et al.* (2016) mencionaron que son atribuidas a las diluciones y al pH ácido, ya que a mayor concentración de fruta en las diluciones y un pH ácido se obtiene mayor contenido de antocianinas totales, esto se refleja en el cuadro 11 en el cual se presenta los resultados medios de los niveles del factor dilución que presentan diferencia significativa. Presentando el mayor contenido de antocianinas en nivel a_1 (27,97), seguido por el nivel a_3 (16,21) y a_2 (14,31). Las antocianinas son responsables del color atractivo de muchas frutas y verduras, su intenso color rojo-púrpura es una fuente atractiva de colorante de alimentos naturales para la industria alimentaria y textil, constituyendo una alternativa a los colorantes alimentarios sintéticos (Cosavalente *et al.*, 2016).

Con respecto al factor pH cuadro 12, en el cual se muestra los resultados sobre el contenido de antocianinas del vino del fruto de la espina amarilla que presenta diferencia significativa; ubicándose el nivel b_1 con una media (17,80) y b_2 (17,19) al respecto Dorta *et al.* (2009) afirmaron que aun pH más ácido mayor será el contenido de antocianinas. Por otra parte, el color de los antocianos en disolución es dependiendo del medio donde se encuentren, estos equilibrios se encuentran regulados por el pH de la solución. Cuando el pH del medio es bajo la molécula se encuentra en forma de catión flavilium de color rojo vivo; a medida que el pH se eleva los antocianos se transforman en base quinónica de color azulado (Avalos *et al.*, 2013). En vinos con un pH elevado el color tiende a ser menos vivo, más apagado mientras que el pH sea más ácido las tonalidades lo harán hacia otras más rojizas (Challem y Bolck, 2014).

En el cuadro 13 los resultados de los tratamientos presentaron diferencia significativa destacando el T_4 (1/5 : 3,5) el primer lugar y el segundo lugar por los T_6 (1/10 : 3,8) y T_5 (1/5 : 3,8) con mayor contenido de antocianinas, esto es debido a que los tratamientos presentaron mayor contenido de fruta en las diluciones y aun pH ácido, lo cual produce una mayor extracción de antocianinas (Dorta *et al.*, 2009).

Del análisis de varianza del anexo 2, el resultado de azúcares reductores del vino del fruto de la espina amarilla presentan diferencias significativas atribuidas al factor dilución, factor pH y la interacción del factor dilución y pH, al respecto Vogt (2012) afirma que en soluciones más densas el proceso de fermentación genera mayor reducción de los azúcares, producido por la reacción enzimática de las levaduras fermentativas. Por otra parte, si la fermentación se vuelve demasiado caliente, el crecimiento y metabolismo de la *Saccharomyces* se inhibirán durante la fase más activa de la fermentación, reduciendo la capacidad de la levadura para consumir todo el azúcar disponible (Bison, 2001).

En el cuadro 13, los resultados promedios de los tratamientos sobre los azúcares reductores presentan diferencia significativa, resaltando el T_4 (93,14) con menor contenido de azúcares, debido a que se produjo mayor reacción

enzimática durante el proceso de la fermentación frente a los demás tratamientos. Según la NTC 708 (2000) clasifica a los vinos por su contenido de azúcar, destacando al vino del fruto de la espina amarilla como un “vino dulce”, ya que el valor determinado se encuentra dentro del rango de la normativa.

En el cuadro 14, los resultados promedios de los tratamientos sobre la capacidad antioxidante del vino del fruto de la espina amarilla presentan diferencia significativa. El tratamiento T₄ ($90,88 \pm 5,67$ mg TE/ml) presenta mayor capacidad antioxidante con respecto a los demás tratamientos en cuanto a IC₅₀ el tratamiento T₆ presentó ($0,4038$ mg/mL). Al respecto Harumi (2009) en su investigación Capacidad antioxidante in vitro de bebidas comerciales de té verde después de la extracción en fase sólida obtuvo como resultado (46 ± 4 mmol Trolox.200 mL⁻¹) expresado en mg/mL (11.7641 mg/mL). Frente a estos resultados el vino del fruto de espina amarilla presenta mayor capacidad antioxidante para inhibir el radical DPPH.

También al respecto Villanueva *et al.* (2016) afirmaron sobre la actividad antioxidante de la cáscara de camu-camu en el cual muestra que el extracto acuoso de la cáscara pintón tuvo mayor eficiencia para inhibir el radical DPPH con $92,89 \pm 0,44$ mg TE/ml, seguido con $90,17 \pm 3,02$ mg TE/ml y $82,62 \pm 8,54$ mg TE/ml, para la cáscara del fruto maduro y verde respectivamente, lo cual destaca que el vino del fruto en la espina amarilla presenta igual actividad para inhibir el radical DPPH que el extracto acuoso del fruto del camu-camu maduro. El radical DPPH, es útil para evaluar la actividad antirradical de polifenoles (Lebeau *et al.*, 2000), así como la toxicidad en células y extractos microbianos (Ko *et al.*, 1998); El antioxidante al

colisionar con el radical libre le cede un electrón, oxidándose a su vez y transformándose en un radical libre débil no tóxico (Perón *et al.*, 2001).

Por otro lado, la actividad antioxidante en arándanos evaluado por Dorta *et al.* (2009) reportaron $52,62 \pm 8,04$ mg TE/ml de actividad para inhibir el radical DPPH, menor que la actividad del vino del fruto de la espina amarilla.

En cuanto a la evaluación sensorial del vino del fruto de la espina amarilla con respecto del atributo color (cuadro 15) los tratamientos presentaron diferencia significativa, mostrándose el tratamiento T₄ (5,4) con una media de mayor aceptación y obteniendo un calificativo de “rojo claro ligeramente perceptible”. Con respecto al atributo aroma (cuadro 15) no presento diferencia significativa entre tratamientos, resaltando el tratamiento T₄ (5,2) con una media de mayor aceptación, obteniendo un calificativo de “bueno”. Así mismo el atributo sabor (cuadro 15) los tratamientos presentaron diferencias significativas entre tratamientos, sobresaliendo el tratamiento T₄ (5), T₃ (5.5) con una media de mayor aceptación, lo cual obtuvo un calificativo de “bueno”. Por otra parte, el atributo transparencia (cuadro 15) mostro que presenta diferencia significativa entre tratamientos, destacando el tratamiento T₄ (5,2) y T₂ (5,4) con una media de mayor aceptación, lo cual obtuvo un calificativo de “rojo claro ligeramente translucido”. Se trató de un análisis de aceptabilidad frente a los 20 panelistas semientrenados mediante una escala Hedónica, lo cual determinaron al tratamiento T₄ con mayor aceptación frente a los atributos color, aroma, sabor y transparencia.

VI. CONCLUSIONES

- La dilución (1/5) 1 kg de fruto de espina amarilla en 5 L de agua con pH de 3,5 fueron los óptimos para la elaboración del vino del fruto de la espina amarilla.
- El tratamiento T₄ con un PH de 3.5 y una dilución de 1/5 fue quien presento mayor contenido de polifenoles ($99,03 \pm 1,69$ mg/mL), mayor contenido de antocianinas ($26,27 \pm 0,17$ mg/L), menor contenido de azúcares reductores ($93,14 \pm 7,83$ g/L) y mayor capacidad antioxidante (90.88 ± 5.67 mg TE/mL) y en cuanto a IC₅₀ menor capacidad antioxidante (0.9862mg/mL). A diferencia del tratamiento T₆ que presento menor capacidad antioxidante ($48,61 \pm 7,86$ mg TE/mL) y en cuanto a IC₅₀ mayor capacidad antioxidante (0.4038 mg/mL).
- Así mismo fue el tratamiento T₄ que presentó mayor aceptación por los 20 panelistas semientrenados, obteniendo un calificativo de “bueno” en cuanto al atributo sabor y aroma, por parte del atributo color un calificativo de “rojo ligeramente perceptible”, y por parte del atributo transparencia obtuvo un calificativo de “rojo ligeramente traslúcido” a, alcanzando una aceptabilidad de 78,57% frente a los 20 panelistas semientrenados.

VII. RECOMENDACIONES

- Realizar estudios con diferentes tecnologías emergentes para inactivar las levaduras y mejorar la calidad de antioxidantes en el mosto.
- Realizar el análisis fisicoquímico durante el proceso de elaboración de vino del fruto de la espina amarilla.
- Estudiar otras fuentes de antioxidantes en fruto de espina amarilla (*Berberis laurina*)
- Realizar un estudio económico para la industrialización de vino de los frutos de espina amarilla (*Berberis laurina*).
- Incentivar a los agricultores que cultivan espina amarilla (*Berberis laurina*) y de esta manera pueda convertirse en un cultivo nativo cultivable por los agricultores.

VIII. LITERATURA CITADA

- Acevedo, B., Montiel, M., Avanza, J. 2004. Estudió cinético de la degradación de la actividad antioxidante hidrosoluble de jugos cítricos por tratamiento térmico, Univ. Nacional del Noreste. Argentina, pág. 95 - 98.
- Amerine M. y Ough C. 2006. "Análisis de mostos y vinos", ed. Acribia, pág. 13-15.
- Anticonna M, Frígola A, Esteve, C. 2016. Determinación de polifenoles totales en arándanos y productos derivados. UCV - Scientia, pág. 13-22.
- Avalos k. Sgroppo s. y Avanza J. 2013. "Actividad antioxidante y contenido en fenoles totales en vinos de origen nacional" Perú, pág. 36-56.
- A Lopez, CFernando, Z Lazarova. 2012. Revista ANACEM. Estudio antioxidantes, un paradigma en el tratamiento de enfermedades. Pag 48-53
- Bastón J. 2013. Estudio de la flora arbórea de los bosques de la sierra de las Animas. Montevideo, Facultad de Agronomía, pág. 102-125.
- Bremond E. 2013. Técnicas modernas de conservación de vinos. Edit. Montesi. Barcelona – España, pág. 12-17.
- Brussa C. y Grela L. 2012. Estudio sobre la flora arbórea del Uruguay, con énfasis en las especies de Rivera y Tacuarembó, COFUSA.
- Casares A. 2010. Tesis titulada "Análisis de polifenoles en los vinos mediante técnicas de separación". Título en Ingeniería técnico Industrial de la especialidad de Química. Barcelona – España. Universidad Pontificia de Catalunya, pág. 16 – 19.
- Cosavalente, K., Ruiz, S., Ganoza, M. 2016. Antocianinas totales y capacidad antioxidante in vitro de extractos de diferente grado etanólico del fruto de *Vacciniumcorymbosum* "Arándano", UCV - Scientia 8(1), pág. 45- 50
- CENIC Revista de Ciencias Químicas 2008. Estudios de la relación sobre la actividad de flavonoides con acción estrogénica., Nº 1, pág. 27-33.
- Challem, J. y Bolck, M. 2014. Antioxidantes naturales, 1ed., Editorial Nowtilus S.L. Madrid – España, pág. 78 -86.
- Clifford, M. y Scalbert, A. 2011. Eligitaninos; Hecho natural y problemas

- dietéticas. *Science Food Agriculture*, pág. 1118 – 1125.
- Darwin R., Huamán A., Harrinson F., Eguizabal C. 2012. Influencia de las operaciones enológicas sobre la actividad antioxidante del vino Jaramullaca (*Vaccinium floribundum*). Perú. Universidad Nacional Hermilio Valdizan de Huánuco.
 - Duthie G. 2010. En su investigación sobre plantas con polifenoles; *Sociedad de Nutrición*, pág. 599 – 603.
 - Fariña, M. 2016. Estudio sobre vino y salud .Articulo riull.ull.es.
 - García, Z., Luis, A., Florez M., Cielo I., Marrugo, L. (2016) en su investigación: “Elaboración y caracterización fisicoquímica de un vino joven de fruta de borjón (*Patinoi Cuatrec*). *Ciencia, docencia y tecnología*; pág. 507-5019.
 - Guerra Y., Betancourt K., Carrasco Y., Velar R., Escalona Arranz C. y Garrido J. 2013. Estudio QSAR de flavonoides con actividad estrogénica. *Revista Cubana de Química*; Vol. XI, Nº 1, pág. 69-73.
 - Harumi K, Schmidt G, y Maria L. 2009. En supublicacion de articulo Capacidad antioxidante in vitro de bebidas comerciales de té verde después de la extracción en fase sólida. Departamento de Alimentos y Nutrición Experimental, Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Universidade de San Paulo Brasil pag. 1080.
 - Hashizume K. y Samuta T. 2013. “Grape maturity and light exposure affect berry methoxypyrazine concentration”, pág. 194–198.
 - Herrera R. 2014. Estudio realizado sobre los diferentes pisos altitudinales de plantas silvestres. *Nutriente Ciclan en Amazonia Forestal.*, pág. 57-89.
 - INCOTEC 2010. Norma Técnica Colombiana para bebidas alcohólicas. Vino de frutas Nº 708. Bogotá.
 - INDECOPI 2012. Norma Técnica para Análisis de Vinos y Bebidas Alcohólicas Nº 212.014. Lima, Perú, pág. 12–15.
 - Jorgensen A. y Hansen A. 2008. *Microbiología de las fermentaciones Industriales*. 6ta ed. Zaragoza: ACRIBIA, pág. 102–115.
 - José Hoyos, Fabio Urbano, Hector Villada, Silvio Mosquera, Diana Navia (2010) en su investigación: “determinación de parámetros para la formulación y obtención de vino de naranja (*Citrus sinensis*). Facultad de

- ciencias agrarias; Vol. 8 N° 1, pág. 26-34.
- Keller H. 2013. En su investigación: "Uso de la barberis laurina como bactericida" Argentina, pág. 67-78.
 - KUNZ B. 1986. Cultivos de microorganismos para la producción de alimentos, pág. 77-78.
 - Leighton F. Urquiaga I. Diez M. 2008. Propiedades antioxidantes del vino y sus componentes. Bulletin de L'OIV. Vol. 807-808 (463-490), pág. 89-99.
 - Lopera, Y. 2010. Fermentación alcohólica del zumo de mortiño (*Vaccinium meridionales*) y determinación de la capacidad antioxidante. Colombia. Universidad Nacional de Colombia, pág. 213.
 - Manach, C., Williamson, G., Morand, C., Scalbert A., Remesy, C. 2014. Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. I. Review of 97 bioavailability studies. Am J Clin Nutr., pág. 230-242.
 - Martínez, O. y García, P. 2010. Resveratrol content in wines and musts from the south of Spain, pág. 253 – 256.
 - Matos, P. 2012. Tesis titulada "Elaboración de vinagre a partir de vino de arándano (*Vaccinium Corymbosum L.*)", Grado en Ciencias de los alimentos. Chile. Escuela de Ingeniería de alimentos de la Universidad Austral de Chile, pág. 189.
 - Mejía, L., Narváes, C. Rescrepo L. 2006. Cambios físicos, químicos y sensoriales durante el almacenamiento congelado de la pulpa de arazá (*Eugenia stipitata*) Universidad Nacional de Colombia, pág. 156.
 - Muller, P. 2014. Tesis titulada "Elaboración de vinagre a partir de vino de arándano (*Vaccinium corymbosum L.*)" Grado de Licenciado en ciencias de los alimentos. Chile. Escuela de Ingeniería de alimentos de la Universidad Austral de Chile, pág 189.
 - Muñoz, J., Ana M., Fernández, G., Ramos, E., Fernando, A., Carlos S. (2007) en su trabajo de investigación: Evaluación de la actividad antioxidante y contenido de compuestos fenólicos en vinos producidos en Perú; Revista de la Sociedad Química del Perú, vol. 73, núm. 1, enero-marzo, 2007, pág. 30-40.
 - Négre y Francot. 2010. Vinificación y conservación de los vinos. Buenos Aires, Ed. N° 1, pág. 27-33.

- Plantamed R. 2010. En su trabajo de investigación: “Propiedades curativas y medicinales de berberis laurina”, pág. 109-130.
- Recio, E. y Ciria, A. 2012. Efecto de la clarificación de los vinos de navarra España. Estación de viticultura y Enología de Navarra, pág. 24 – 27.
- Robards K, Prentzler D, Tucker G, Swatsitang P., Glover W. 2012. Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits. Food Chem, pág. 401-436.
- Rodrigo, S., Giovana, E., Candy, R., María de Fátima, F., Rosario, R., (2011) en su investigación: “Compuestos fenólicos, actividad antioxidante, contenido de resveratrol y componentes del aroma de 8 vinos peruanos”. Rev Soc Quím Perú, pág. 135-143.
- Romero, D., Bueno Gómez J. 2011. Radicales libres del oxígeno y antioxidantes en medicina (Editorial). Rev Clin Española, pág. 80- 98.
- Rommel, A., Heatherbell, A., Wrolstad R. 2014. Red raspberry juice and wine: effect of processing and storage on anthocyanin pigment composition, color and appearance, pág. 1011-1017.
- Suarez, S. 2006. En su trabajo de investigación sobre agente innovador de demo-cosmético. Colombia. Asociación científica colombiana de medicina estética, pág. 156.
- Stupiello J. 2013.” Influencia de impurezas en el análisis de la panela de caña prensada”. Piracicaba: ESALQ, Depto. de Ciencia y Tecnología Agroindustrial (Palestra), pág. 201-221.
- Tipe H., Olga M., 2014. En su estudio: “Estudio Técnico para la Obtención de los Colorantes a partir de los frutos del opuntia Soehrensi (Ayrampo)”, UNSCH de Ayacucho, pág. 68-90.
- Vogt E. 2012. En su trabajo de investigación: Elaboración y análisis del vino, Ed. Acribia S.A. 9^{na} Ed. Zaragoza, España, pág. 204-220.

ANEXOS

ANEXO 1
CARACTERIZACIÓN DE LA ESPINA AMARILLA

Nº	Peso (g)	Longitud (mm)	Diámetro ecuatorial (mm)	pH	Sólidos solubles (°Brix)
1	1,5	5,6	7,4	3,2	12
2	1,6	5,4	8,0	3,4	13
3	2,0	4,4	8,2	3,6	13
4	2,1	5,0	8,4	3,8	13
5	1,7	4,5	7,9	3,5	11
6	1,8	4,6	7,8	3,4	12
7	1,8	4,8	7,6	3,5	13
8	1,9	5,2	8,6	3,8	13
9	1,5	5,2	8,4	3,4	13
10	1,9	4,8	8,2	3,2	14
Promedio	1,8	5,1	8,2	3,5	13

Nº	Capacidad antioxidante IC50(mg/g)	Capacidad antioxidante (mg TE/g)	Polifenoles totales (mg/g)	Antocianinas (mg/g)	Azúcares reductores (g/kg)
1	0,0012	220,90	281,64	255,55	50,95
2	0,0011	221,01	282,52	256,45	51,01
3	0,0013	220,74	282,67	257,24	51,00
4	0,0013	222,12	282,98	258,55	50,54
5	0,0012	221,21	281,89	256,89	50,46
6	0,0011	221,54	282,56	255,12	50,90
7	0,0013	221,45	282,98	255,78	50,80
8	0,0013	222,41	282,99	256,42	50,85
9	0,0012	221,80	281,09	257,42	50,46
10	0,0013	222,10	281,54	256,42	50,78
Promedio	0,0013	221,71	282,65	256,86	50,85

ANEXO 2

ANÁLISIS DE VARIANZA DEL VINO TINTO DE ESPINA AMARILLA

Análisis de varianza polifenoles totales

Fuente de varianza	SC	gl	CMe	F	Sig.	$\alpha= 0,05$
Tratamiento	3109,86	5	621,97	64,59	0,0001	DS
Dilución	2921,39	2	1460,70	151,68	0,0001	DS
pH	5,08	1	5,08	0,53	0,4817	NS
Dilución * pH	183,39	2	91,69	9,52	0,0033	DS
Error experimental	115,56	12	9,63			
Total	3225,41	17				

*NS: No existe diferencia significativa.

*DS: Si existe diferencia significativa.

CV: 3,92 R²: 0,96

Análisis de varianza antocianina

Fuente de varianza	SC	gl	CMe	F	Sig.	$\alpha= 0,05$
Tratamiento	336,65	5	63,33	750,24	0,0001	DS
Dilución	191,08	2	95,54	1064,58	0,0001	DS
pH	1,70	1	1,70	18,93	0,0009	DS
Dilución * pH	143,87	2	71,94	801,56	0,0001	DS
Error experimental	1,08	12	0,09			
Total	337,73	17				

*DS: Si existe diferencia significativa.

CV: 1,71 R²: 1,00

Análisis de varianza azúcares reductores

Fuente de varianza	SC	gl	CMe	F	Sig.	$\alpha= 0,05$
Tratamiento	9787,89	5	1957,58	77,33	0,0001	DS
Dilución	6553,62	2	3276,81	129,44	0,0001	DS
pH	739,46	1	739,46	29,21	0,0002	DS
Dilución * pH	2494,81	2	1247,40	49,28	0,0001	DS
Error experimental	303,78	12	25,31			
Total	10091,67	17				

*DS: Si existe diferencia significativa.

CV: 3,86 R²: 0,96

ANEXO 3

CINETICA DE REACCION E INHIBICIÓN DEL RADICAL DPPH EN CADA UNO DE LOS TRATAMIENTOS

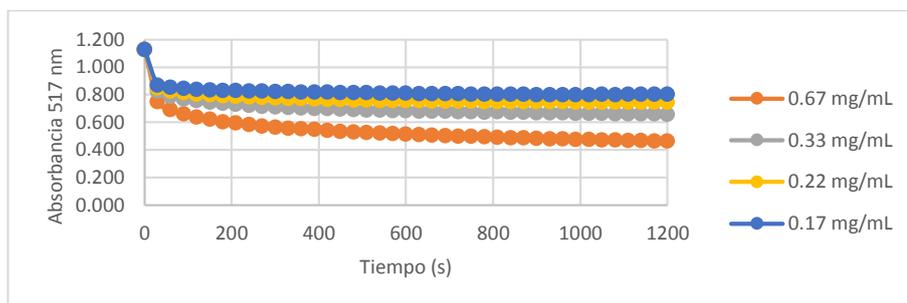


Figura 1. Cinética de reacción del radical DPPH frente al T₁

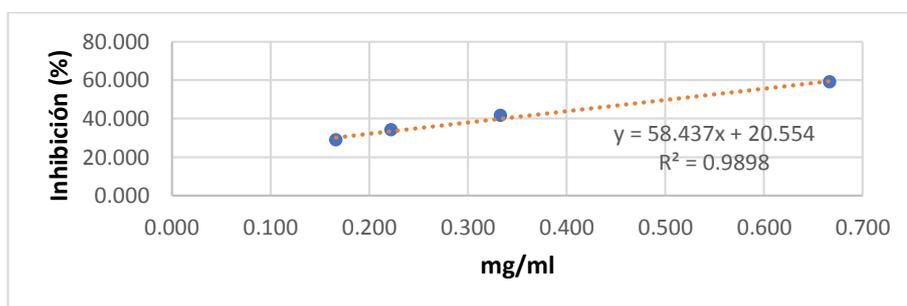


Figura 2. Concentración T₁ vs % Inhibición del radical DPPH a los 20 min

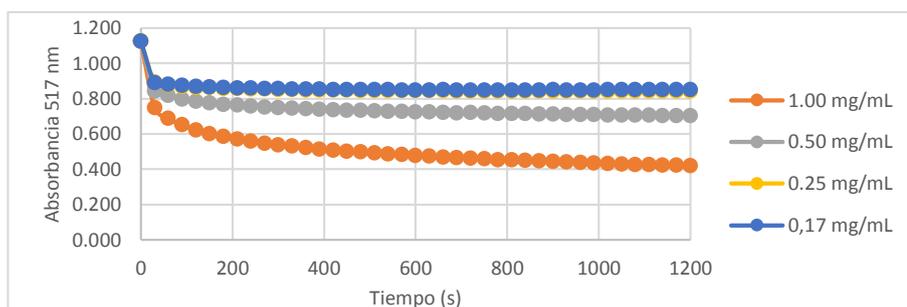


Figura 3. Cinética de reacción del radical DPPH frente al muestra de T₂

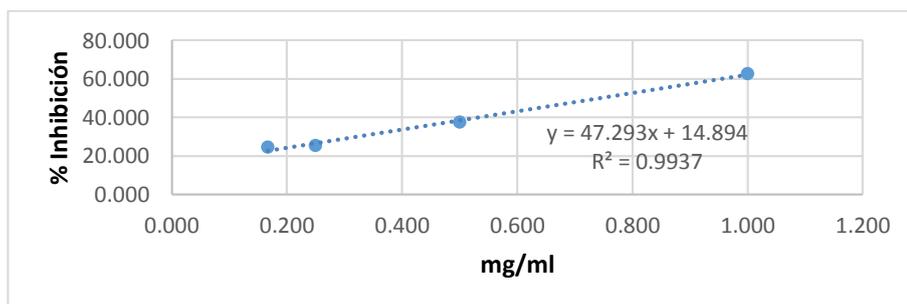


Figura 4. Concentración T₂ vs % Inhibición del radical DPPH a los 20 min

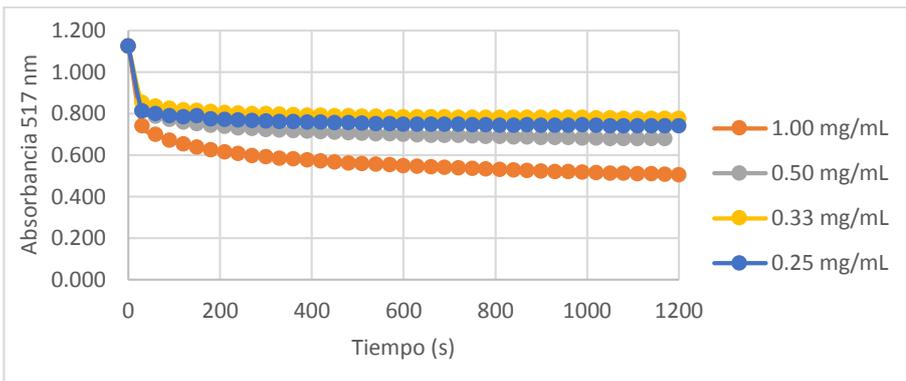


Figura 5. Cinética de reacción del radical DPPH frente al muestra de T₃

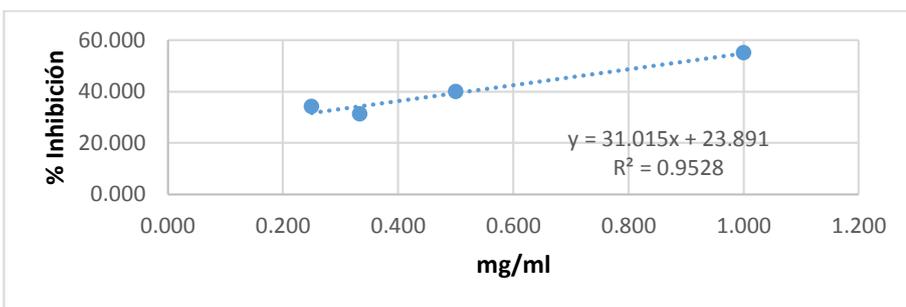


Figura 6. Concentración T₃ vs % Inhibición del radical DPPH a los 20 min

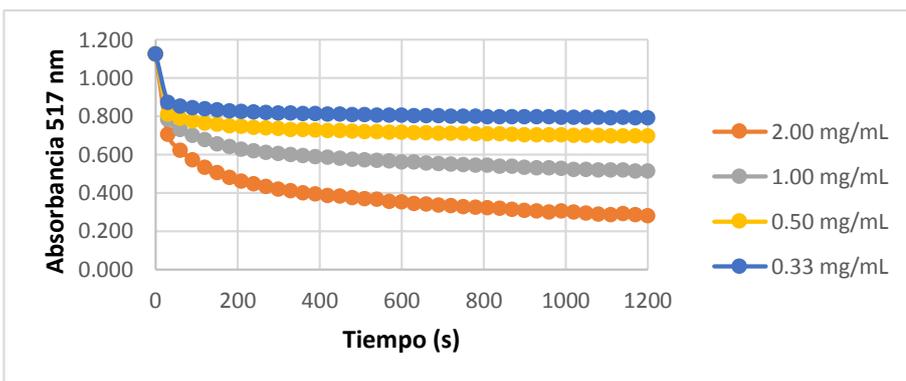


Figura 7. Cinética de reacción del radical DPPH frente al muestra de T₄

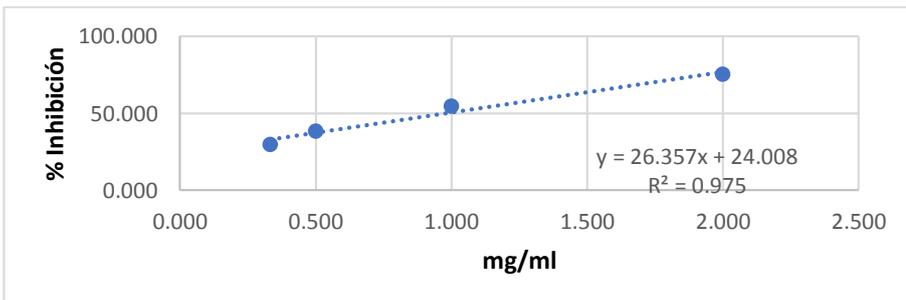


Figura 8. Concentración T₄ vs % Inhibición del radical DPPH a los 20 min

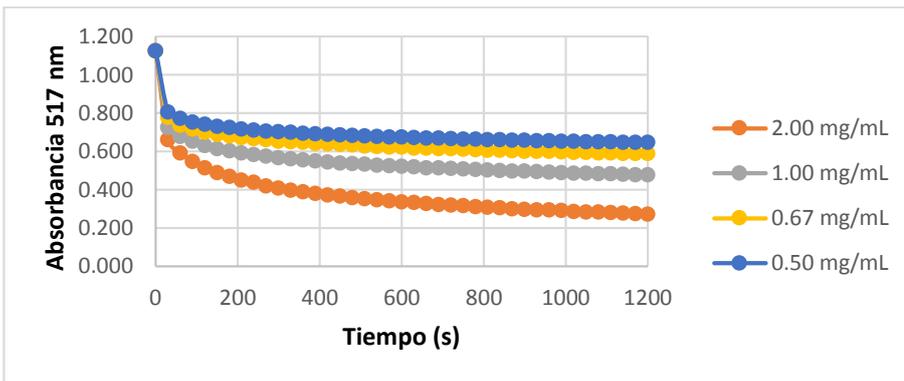


Figura 17. Cinética de reacción del radical DPPH frente al muestra de T₅

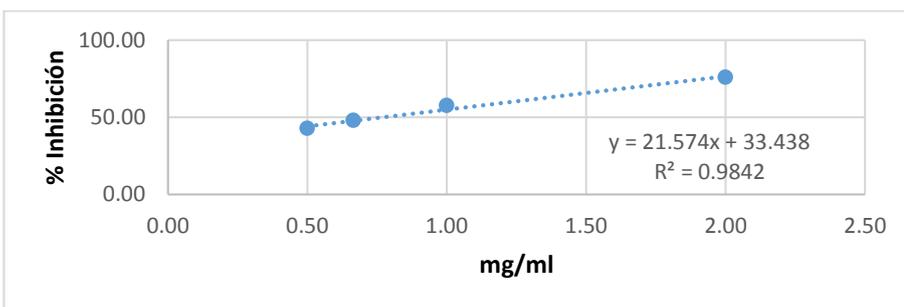


Figura 18. Concentración T₅ vs % Inhibición del radical DPPH a los 20 min

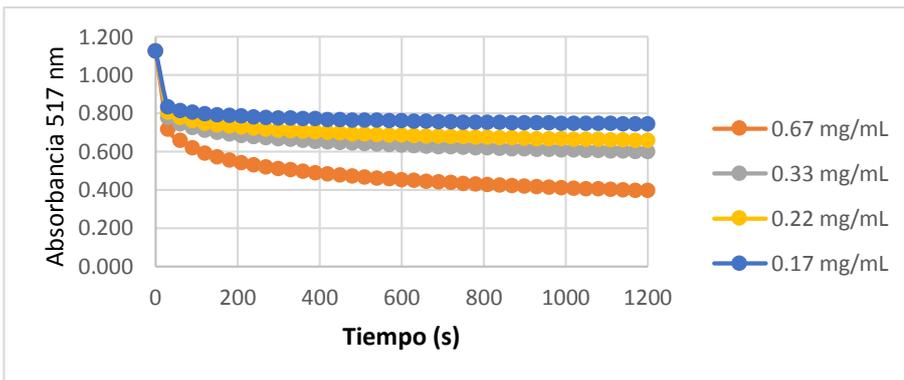


Figura 19. Cinética de reacción del radical DPPH frente al muestra de T₆

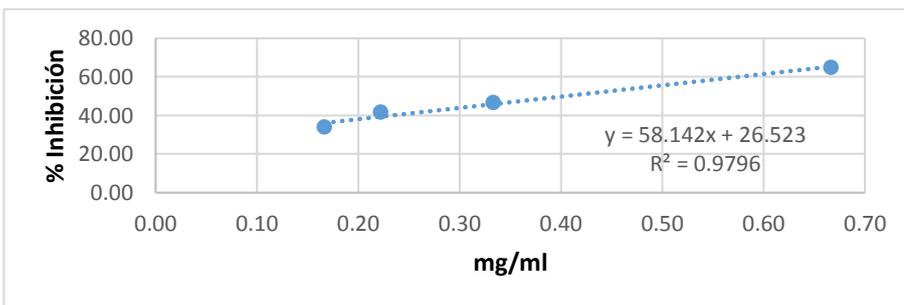


Figura 20. Concentración T₆ vs % Inhibición del radical DPPH a los 20 min

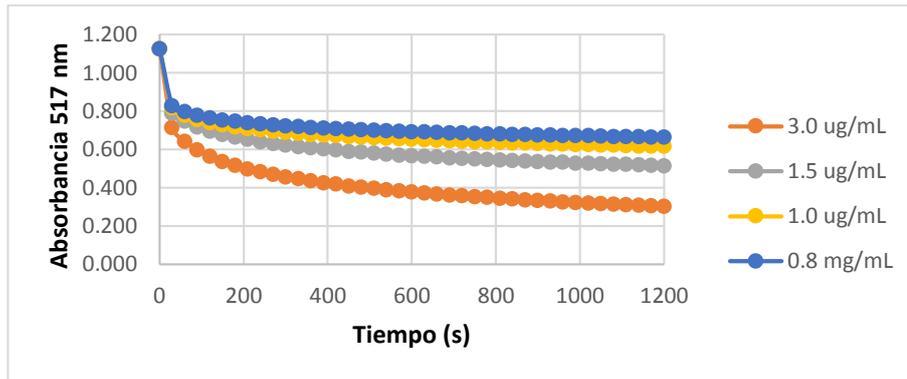


Figura 21. Cinética de reacción del radical DPPH frente extracto acuoso del fruto

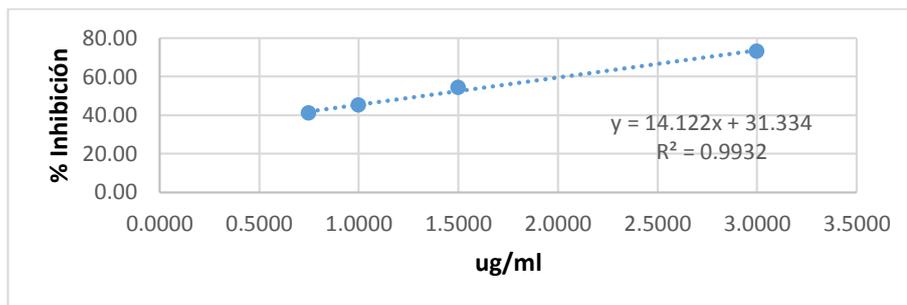


Figura 22. Extracto acuoso del fruto vs % Inhibición del radical DPPH a los 20 min

ANEXO 4
ANALISIS SENSORIAL DE LOS DIFERENTES TRATAMIENTOS

Nº	COLOR						Nº	AROMA						Nº	SABOR						Nº	TRANSPARENCIA					
	T6	T5	T2	T4	T3	T1		T6	T5	T2	T4	T3	T1		T6	T5	T2	T4	T3	T1		T6	T5	T2	T4	T3	T1
1	5	6	7	6	5	6	1	5	6	4	6	5	6	1	4	5	6	4	7	5	1	5	6	5	5	5	6
2	6	5	5	7	5	4	2	4	5	5	6	6	5	2	4	4	4	5	6	6	2	4	4	5	6	6	5
3	5	4	5	4	6	4	3	4	4	5	5	6	4	3	4	3	4	4	5	5	3	3	3	4	4	5	5
4	5	6	6	6	6	6	4	6	6	6	7	6	4	4	6	6	7	7	5	6	4	5	6	6	5	5	6
5	3	4	5	5	5	6	5	3	4	5	6	5	6	5	2	2	4	4	3	3	5	4	4	5	5	5	6
6	6	6	5	6	4	4	6	4	5	4	7	3	3	6	6	5	6	7	4	6	6	6	5	6	7	5	5
7	5	4	3	5	5	4	7	3	3	5	5	2	4	7	2	2	2	3	6	4	7	6	7	5	6	4	3
8	6	7	5	6	4	3	8	5	7	5	6	4	3	8	4	3	5	4	3	7	8	6	7	5	5	4	3
9	6	7	6	5	5	4	9	6	6	7	5	5	5	9	4	4	5	6	7	7	9	6	6	7	6	7	6
10	4	5	5	7	5	5	10	7	4	5	4	4	5	10	4	4	5	5	7	5	10	4	5	6	5	4	4
11	5	3	3	4	5	5	11	3	3	5	5	4	4	11	3	3	4	5	5	3	11	4	3	3	4	5	5
12	5	5	6	5	6	5	12	4	4	5	5	6	6	12	4	5	5	4	5	5	12	4	4	5	4	5	4
13	5	5	4	5	5	4	13	5	5	4	4	5	5	13	5	5	6	6	7	4	13	5	5	6	5	6	5
14	6	6	6	6	6	5	14	5	5	5	5	5	5	14	4	5	5	5	4	5	14	5	5	6	6	5	6
15	6	4	5	6	5	4	15	6	7	4	4	5	5	15	4	5	5	4	6	4	15	3	4	5	5	6	5
16	6	6	5	4	4	4	16	5	5	4	5	5	4	16	5	5	4	5	5	4	16	6	6	5	5	4	4
17	4	6	5	5	4	3	17	3	3	4	4	4	4	17	2	3	5	4	5	5	17	3	4	5	6	5	3
18	5	5	5	6	6	5	18	6	6	7	5	4	5	18	6	6	7	7	7	7	18	6	6	6	6	6	6
19	6	6	6	6	6	5	19	6	4	5	5	5	5	19	5	3	4	4	6	5	19	5	6	6	5	5	5
20	5	5	6	3	4	2	20	3	2	4	5	4	4	20	3	3	5	6	6	2	20	5	5	6	4	5	4

ANEXO 5
METODOLOGÍA EXPERIMENTAL



Figura 1. Materia prima



Figura 2. Selección y limpieza



Figura 3. Lavado y desinfección



Figura 4. Pesado



Figura 5. Obtención del mosto



Figura 6. Adición de levadura



Figura 7. Fermentación



Figura 8. Descubre



Figura 9. Inactivación de levadura



Figura 10. Trasiego

ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICO



Figura 12. Triturado



Figura 13. Filtrado



Figura 14. °Brix y pH



Figura 15. Acondicionado



Figura 16. Diluciones



Figura 17. Agitación



Figurado 18. Diluciones



Figura 19. Espectrofotometría



Figura 20. Diluciones



Figura 21. Diluciones

ANÁLISIS SENSORIAL DE LOS TRATAMIENTOS



Figura 12. Análisis sensorial



Figura 13. Análisis sensorial



Figura 14. Análisis sensorial



Figura 15. Análisis sensorial

ANEXO 6
EN EVALUACIÓN DE ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE MEDIANTE EL
MÉTODO: RADICAL 2,2-DYPHENYL-1-PICRYLHYDRAZIL (DPPH)

MATERIALES

- Espectrofotómetro
- Cubetas de poliestireno de 1 mL
- Papel filtro
- Micropipetas (20 – 200 µL, 100 – 1000 µL)
- Pipetas, Tips, vasos, etc.

REACTIVOS

- 2,2-diphenyl-1-picrilhydrazil (DPPH)
- 6-Hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchromane-2-carboxylic acid (Trolox)
- Metanol

PROCEDIMIENTO

a) Preparación de soluciones de trabajo

- 100 mL de 2,2-diphenyl-1-picrilhydrazil (100 µm) en metanol
- Soluciones de trabajo de Trolox 0 – 20 µm (concentración final)

b) Coeficiente de inhibición (IC₅₀)

- Se hará reaccionar 100 µL de muestra con 900 µL de DPPH (100 µm), la absorbancia será registrada a 517 nm, a intervalos de 30 segundos durante 10 a 30 minutos. Para la determinación de la actividad antioxidante, los resultados serán expresados en términos de IC₅₀.
- El IC₅₀ Se determina mediante un análisis de regresión de inhibición versus la concentración necesaria de los extractos, para inhibir el 50% del radical DPPH.
- El porcentaje de inhibición del radical DPPH será calculado de la siguiente manera:

$$\%INH\ DPPH = [((DPPH)_i - (DPPH)_f)/(DPPH)_i]*100$$

- Donde $(DPPH)_f$ es la absorbancia del radical DPPH al final de la reacción, $(DPPH)_i$ es la absorbancia del radical al inicio de la reacción. El valor de IC_{50} , se obtendrá, reemplazando 50 en el eje de Y, en la ecuación que se obtenga al final de procesar los datos ($Y = ax + b$)

c) Capacidad antioxidante total

- Para la curva estándar, se hará reaccionar 50 μ L de solución de trabajo o muestra con 950 μ L de DPPH (100 μ M) por 30 minutos en oscuridad, la absorbancia será registrada a 517 nm.
- Mediante $ARLn$ de las Abs Vs Concentración de Trolox, se obtiene la ecuación de la curva de calibración.
- Preparación de muestras. Las frutas serán licuadas, filtradas y centrifugadas recuperando el sobrenadante, Para muestras secas (hojas, tallos, harinas...), se realizará una extracción acuosa y/o metabólica, precediendo de igual manera para los frutos.
- Los resultados se expresan como promedio Trolox Equivalente (TE) \pm S.D.

ANEXO 7
CUANTIFICACIÓN DE AZÚCARES REDUCTORES MEDIANTE EL
MÉTODO: 2,4 DINITROFENOL

MATERIALES

- Espectrofotómetro de absorción molecular
- Balanza analítica
- Vasos de precipitación
- Pipetas volumétricas o Micropipetas (0-200 μL y 0-1000 μL)
- Celdas para espectrofotómetro (de 1 mL de capacidad)
- -Puntas para micropipetas (200 μL , 1000 μL)
- Papel filtro Watman # 40
- Cocina eléctrica
- Baño María
- Gradillas
- Tubos de ensayo con tapa

REACTIVOS

- 2,4 Dinitrofenol
- Tartrato de Sodio y potasio
- Fenol
- Hidróxido de Sodio
- Glucosa Anhidra

METODOLOGÍA

a) Preparación del reactivo de Ross.

La preparación del reactivo de Ross lo cual se realiza como se describe a continuación:

Solución A: Disolver 7.145 g de 2,4 dinitrofenol en 250 mL de hidróxido de sodio al 5%, calentar en agua hirviendo hasta que el 2,4 dinitrofenol se disuelva. Luego adicionar 2,5 g de fenol, calentar de 2 a 4 min más o menos hasta que la solución tenga trazas de color claro o transparente.

Solución B: Disolver 100 g de tartrato de sodio y potasio (Sal de Rochelle) en 500 mL de agua destilada aproximadamente.

Luego se procede a mezclar las soluciones A y B, completando a 1,000 mL con agua destilada en una fiola cuidando que el líquido esté frío. (Reactivo de Ross)

b) Curva Estándar

Seguidamente se procede a realizar la curva estándar, a partir de la solución patrón (0,10 g de glucosa en 100 mL de agua), se preparará concentraciones de 0,1; 0,2; 0,3; 0,5; 1,0; 2,0 mL de solución madre o patrón, completándose a 2 mL con agua destilada. Las concentraciones preparadas se tratan como una muestra adicionando 6 mL del reactivo de Ross, se calienta por 6 minutos; se enfría (lavado con agua de caño sobre las paredes de los tubos de ensayo) y se realiza la lectura de absorbancia en el espectrofotómetro a 620 nm.

Nota. Tener presente la presencia y lectura de absorbancia de un "blanco".

Consideraciones a tener en cuenta para la cuantificación de azúcares reductores en la muestra:

Análisis de azúcares reductores en muestras sólidas: Se puede tomar muestras desde 0,5 hasta 2 g muestra (si la muestra es sólida debe estar seca y finamente molido), se colocan en un matraz Erlenmeyer y se agrega 50 mL de agua destilada, luego se agrega 0,5 g de bisulfito de sodio. Agitar bien filtrar con papel watman N° 40, del filtrado se toma 0,5 a 2 mL, al cual se agrega 6 mL del reactivo de Ross. Se calienta en agua hirviendo por 6 minutos, enfriar con agua de caño que corra por las paredes exteriores del tubo, luego se lee la absorbancia de la muestra a 620nm, procurar hacer las lecturas en menor tiempo.

ANEXO 8
CUANTIFICACIÓN DE POLIFENOLES TOTALES, MEDIANTE
EL MÉTODO DE AZUL DE PRUSSIAN

MATERIALES Y EQUIPOS

Espectrofotómetro Uv – Vis, balanza analítica, agitador magnético, vasos de precipitación, fiolas, micropipetas, tips (1000 y 200 μ L), embudos, papel filtro, tubos de ensayo, gradilla, cubetas de poliestireno para espectrofotómetro (1 mL).

REACTIVOS

$\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$, ácido gálico, HCl.

Solución A: 0,5 mM $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ en 0,01 N HCl

Solución B: 0,5 M $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ en H_2O destilada.

METODOLOGÍA

- a) **Preparación de los extractos acuosos.** Pesar 1 g de muestra y colocar en 100 mL de H_2O destilada caliente a temperatura de ebullición, agitar durante 5 minutos, filtrar y almacenar en refrigeración.

- b) **Curva de calibración**
 - Preparar una solución Stock de 1 mg/mL de ácido gálico
 - Colocar en un tubo de ensayo 500 μ L de ácido gálico (Sol. De trabajo de 1 hasta 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$), adicionar 500 μ L de sol. A, luego de 2 minutos adicionar 500 μ L de sol B. Transcurrido 10 minutos transferir a las cubetas de poliestireno y leer a Abs. a 725 nm. El blanco se realiza empleando las mismas proporciones, pero en lugar de sol. de trabajo se usa agua destilada (los valores de Abs. registrados en el espectrofotómetro, calibrarlo a cero).
 - Mediante ARLn de las Abs Vs Concentración de ácido gálico, obtener la ecuación de la curva de calibración.

ANEXO 9
CUANTIFICACIÓN DE ANTOCIANINAS TOTALES POR EL
MÉTODO DEL PH DIFERENCIAL

MATERIALES

- Espectrofotómetro Uv-Vis, balanza analítica, pH-metro, agitador magnético, vasos de precipitación, fiolas, pipetas, tubos de ensayo, micropipetas de volumen graduable, Tips, microcubetas de espectrofotómetro

REACTIVOS

- KCl, HCl, CH₃COONa.

MÉTODO

a) Preparación de soluciones

- Buffer pH = 1,0: 125 mL de 0,2 M KCl y 375 mL de 0,2 M HCl.
- Buffer pH = 4,5: 400 mL de 1 M CH₃COONa, 240 mL de 1 M HCl y 360 mL H₂O.
- Nota: verificar el pH de los buffers.

b) Preparación de los extractos

- 2,5 g de muestra será extraído en agitación con 100 mL de agua, alcohol u otro solvente, durante 15 minutos. El extracto será filtrado.

c) Cuantificación de antocianinas totales

- Tomar dos alícuotas de 400 ul de muestra y diluir con el buffer pH=1,0 y pH=4,5 (4600 ul). registrar la Abs. A 510 nm.
- La concentración de antocianinas será calculada mediante la siguiente ecuación:

$$C_{mg/L} = (Abs_{pH 1} - Abs_{pH 4.5}) \times 484.82 \times 1000/24825 \times FD$$

Donde: 484,82 es la masa molecular de la cianidina-3-glucósido, 24825 es la absortividad molar a 510 nm, a pH = 1,0; pH = 4,5 es la corrección de la formación de productos de degradación, FD es el factor de dilución.

ANEXO 10
EVALUACIÓN SENSORIAL POR ATRIBUTO

Apellidos y Nombres:.....

PRODUCTO: VNO TINTO DE ESPINA AMARILLA

INDICACIONES: Junto a usted tiene la muestra del vino tinto de espina amarilla, y un vaso con agua, antes de probar la muestra, tome un sorbo de agua y pruebe la muestra, al finalizar enjuáguese la boca. Dale el puntaje a la muestra correspondiente de acuerdo a la apreciación de su nivel de agrado o desagrado.

Código de la muestra	Color	Aroma	Sabor	Transparencia
V-001				
V-002				
V-003				
V-004				
V-005				
V-006				

CALIFICATIVO	SABOR		AROMA O BOUQUET	
	TPC		TPC	
Excelente	7		7	
Muy bueno	6		6	
Bueno	5		5	
Aceptable	4		4	
Ligeramente aceptable	3		3	
Desagradable	2		2	
Pésimo	1		1	

CALIFICATIVO	COLOR	
	TPC	
Rojo claro brillante	7	
Rojo claro	6	
Rojo claro ligeramente perceptible	5	
Rojo ligeramente oscuro	4	
Rojo oscuro	3	
Marrón claro	2	
Marrón oscuro desagradable	1	

CALIFICATIVO	Transparencia	
	TPC	
Rojo claro traslucido	7	
Rojo claro moderadamente traslúcido	6	
Rojo claro ligeramente traslúcido	5	
Rojo claro con partículas en suspensión	4	
Rojo moderadamente opaco	3	
Rojo ligeramente opaco	2	
Rojo opaco	1	

OBSERVACIONES:.....

