



UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS
ESCUELA DE POSTGRADO

**EFFECTO DEL USO DE TANINOS ENOLOGICOS SOBRE LA COMPOSICIÓN
FENÓLICA, ESTABILIDAD COLORANTE Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE EN
JUGOS DE UVA CONCENTRADOS DE LA VARIEDAD TINTORERA**

TESIS PARA OPTAR AL TÍTULO PROFESIONAL DE INGENIERO AGRÓNOMO
Y AL GRADO DE MAGÍSTER EN ENOLOGÍA Y VITIVINICULTURA

SEBASTIÁN ANDRÉS SANDOVAL CARRASCO

DIRECTOR DE TESIS

ÁLVARO PEÑA NEIRA

SANTIAGO DE CHILE

2016

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS
ESCUELA DE POSTGRADO

**EFFECTO DEL USO DE TANINOS ENOLOGICOS SOBRE LA COMPOSICIÓN
FENÓLICA, ESTABILIDAD COLORANTE Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE EN
JUGOS DE UVA CONCENTRADOS DE LA VARIEDAD TINTORERA**

TESIS PARA OPTAR AL TÍTULO PROFESIONAL DE INGENIERO AGRÓNOMO
Y AL GRADO DE MAGÍSTER EN ENOLOGÍA Y VITIVINICULTURA

SEBASTIÁN ANDRÉS SANDOVAL CARRASCO

	Calificaciones (Memoria de Título)	Calificaciones (Tesis de Grado)
Director de Tesis Sr. Álvaro Peña Neira Ingeniero Agrónomo – Enólogo, Dr.
Profesores Consejeros Sr. Italo Chiffelle Gomez Bioquímico, Dr.
Sr. Elías Obreque Slíer Ingeniero Agrónomo – Enólogo, Dr.

Santiago, Chile

2016

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a la Empresa Jugos del Maipo (JDM) y su equipo, por el apoyo otorgado durante el desarrollo de este proyecto, por las facilidades que me dieron durante el desarrollo de la investigación, materiales e infraestructura.

También agradecer al Profesor Álvaro Peña N., por su paciencia y tiempo entregado para poder terminar este proceso que se extendió por un período un poco más largo de lo habitual. También dar las gracias a Elías Obreque S., que sin su respaldo el término de este proceso se habría complicado aún más.

Como no mencionar esas largas conversaciones con Rosita del laboratorio de Microbiología, que hoy se encuentra disfrutando de su propio tiempo con sus seres queridos, también mencionar al resto de los profesionales del departamento de enología de la facultad, a Hector por la paciencia y ayuda en el proceso de término de la investigación, a su apoyo, paciencia y por sobre todo a su profesionalismo.

A mis colegas-amigos universitarios: Cynthia e Italo que gracias a su ayuda, me permitieron seguir adelante con este proceso que hoy llega a su fin. También mencionar a Laura que terminó siendo mi pilar de apoyo fundamental para poder concluir, entregándome su energía y vitalidad para seguir día a día, muchas gracias.

A mis amigos de la vida que siempre estuvieron presentes en todo momento, apoyándome y dándome las energías necesarias para seguir y no caer en el camino. Sus constantes bromas y consejos hicieron que hoy en día la decisión de terminar el proceso se haya hecho realidad.

Lo más importante es agradecer a mi familia, en especial a mi papá Sergio y mi hermana Constanza que siempre me dieron el apoyo y el respaldo en todas las decisiones que tomé hasta el día de hoy, gracias por la educación que me brindaron y los valores que me entregaron.

Una cita que hasta hoy la recuerdo y la tengo grabada en mi corazón:

*“Los árboles los conoceréis por sus frutos,
a ustedes por sus raíces”*

Santiago, 11 de diciembre de 2004

Para ti mamá!....

ÍNDICE

CAPÍTULO I

Revisión bibliográfica	1
Compuestos fenólicos y estabilidad del color	3
Agentes estabilizadores del color	8
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	9

CAPÍTULO II

Efectos del uso de agentes estabilizadores del color sobre la composición fenólica y capacidad antioxidante en jugos de uva de la variedad tintorera.....	22
RESUMEN	23
ABSTRACT	24
INTRODUCCIÓN	25
HIPÓTESIS Y OBJETIVO	27
MATERIALES Y MÉTODOS	28
Materiales	28
Lugar de trabajo	28
Muestras e insumos	28
Equipamiento	30
Metodología	31
Tratamientos	31
Procedimiento	32
Determinaciones analíticas	32
Análisis básicos.....	32
Análisis espectrofotométricos.....	33
Análisis cromatográficos	33
Análisis de capacidad antioxidante.....	34
Diseño Experimental	34
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	35
pH y Acidez de Titulación.....	35
Fenoles Totales.....	37
Taninos Totales.....	39
Antocianos Totales.....	41
Copigmentación, Intensidad Colorante (IC) y Matiz.....	43

Coordenadas del Espacio CIELab.....	46
Antocianos HPCL.....	49
Fenoles de Bajo Peso Molecular por HPLC	51
Capacidad Antioxidante mediante ORAC.....	55
CONCLUSIONES	58
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	59
ANEXOS	70
Anexo I: Clasificación compuestos fenólicos y algunos compuestos de ejemplo	70
Anexo II: Resultados análisis inicial de jugos de uva antes de su concentración.....	71
Anexo III: Diagrama de flujo de la elaboración de los jugos concentrados de uva producidos por la empresa agroindustrial Jugos del Maipo	72
Anexo IV: Equipamiento y operaciones unitarias utilizadas en la producción y envasado de jugos concentrados de uva.....	72
APÉNDICES	75
Apéndice I. Absorbancia a 420, 520 y 620 nm	75

ÍNDICE DE CUADROS

CAPÍTULO II

Cuadro 1. Valor de pH en 4 tratamientos del ensayo a 15 °Brix y 4 tratamientos del ensayo a 19 °Brix.....	35
Cuadro 2. Acidez de Titulación en los 4 tratamientos del ensayo a 15 °Brix y 4 tratamientos del ensayo a 19 °Brix.....	37
Cuadro 3. Concentración de fenoles totales en los 4 tratamientos del ensayo a 15°Brix y 4 tratamientos del ensayo a 19 °Brix.....	¡Error! Marcador no definido.38
Cuadro 4. Concentración de taninos totales en los 4 tratamientos del ensayo a 15 °Brix y 4 tratamientos del ensayo a 19 °Brix.....	39
Cuadro 5. Concentración de antocianos totales en los 4 tratamientos del ensayo a 15 °Brix y 4 tratamientos del ensayo a 18 °Brix.....	41
Cuadro 6. % Copigmentación, Intensidad Colorante (IC) y Matiz en cada ensayo.....	45
Cuadro 7. Evolución en diferencias de las coordenadas L*, C* y h* a partir del jugo de uva no tratado para los dos ensayos	48
Cuadro 8. Concentración de antocianinas totales determinadas por HPLC- DAD de ambos ensayos.....	51
Cuadro 9. Compuestos fenoles del ensayo a 15°Brix y el total de Fenoles de Bajo Peso Molecular para cada evaluación	52
Cuadro 10. Compuestos fenoles del ensayo a 19 °Brix y el total de Fenoles de Bajo Peso Molecular para cada evaluación.....	54
Cuadro 11. Valor ORAC para cada ensayo	56

ABREVIATURAS

EAG	Equivalente en Ácido Gálico
EMv3GI	Equivalente en Malvidina 3-Glucósido
FBPM	Fenoles de Bajo Peso Molecular
HPLC-DAD	Cromatografía Líquida de Alta Eficacia acoplada a un detector de fotodiodos alineados
N.D.	No Detectado
ORAC	Capacidad de Absorción de Radicales de Oxígeno
TE	Trolox Equivalente

CAPÍTULO I

Revisión bibliográfica

La unión de distintos factores y propiedades de un alimento determinan la calidad y aceptabilidad del mismo frente al consumidor, siendo el color uno de los factores organolépticos más importantes a la hora de seleccionar y evaluar un alimento. El motivo por el cual el color es un índice de evaluación importante es porque éste sufre procesos de degradaciones después de un tiempo prolongado de almacenamiento y le sigue a menudo un deterioro desagradable del alimento que puede reducir la aceptación del consumidor (Araya,2006).

Los compuestos fenólicos son los responsables del color en muchas frutas y productos derivados de ellos (Heinonen y Eiro, 2002). Éstos se clasifican como no flavonoides (ácidos benzoicos, ácidos cinámicos y estilbenos) y flavonoides (flavonoles, antocianos y flavanoles) siendo flavanoles y antocianos los que más influencia tienen en el color y su evolución (Zamora, 2003a). Este tipo de compuestos se almacena durante su maduración en la epidermis de las uvas tintas en forma de glucósidos y de manera excepcional en algunas variedades de vitis los podemos encontrar en la pulpa, como por ejemplo en la variedad tintorera (Zamora, 2003a).

Los compuestos fenólicos tienen efectos benéficos en los metabolismos glucídico, lipídico y mineral, como también tienen un efecto antiinflamatorio, cardioprotector, gastrointestinal, antibacterial y antifúngico. Algunos compuestos que están relacionados con lo descrito anteriormente son los ácidos fenoles como el ácido gálico, estilbenos como el resveratrol, flavonoles como la quercetina, flavanoles como catequinas y procianidinas, y los antocianos. Además, se encuentran muy involucrados con la actividad antioxidante y de eliminación de radicales libres que están asociados a distintas enfermedades y al proceso de envejecimiento (Frankel *et al.*, 1995; Rice-Evans *et al.*,1996; Jang *et al.*,1997; Bujanda *et al.*,1999; Kampa *et al.*, 2000; Mckay y

Blumberg, 2002; Cooper *et al.*, 2004; Pinent *et al.*, 2004; Sakanaka y Okada, 2004; Lattanzio *et al.*, 2008).

Los polifenoles están presentes en la mayoría de los vegetales en diferentes cantidades dependiendo de la planta, el grupo de compuesto fenólico buscado y la ubicación de la planta en donde se encuentren. Generalmente las raíces y tubérculos contienen escasas concentraciones de flavonoides, mientras que las flores, fruta, hojas y otros tejidos contienen glucósidos, los tejidos leñosos agliconas y las semillas ambas formas. (Shahidi y Naczk, 1995; Justesen *et al.*, 1998; Price *et al.*, 1997; Martínez-Valverde *et al.*, 2000).

Las frutas poseen un mayor contenido de polifenoles que las verduras, de ahí que la ingesta de bebidas elaboradas a partir de jugos de frutas como la uva resulte ser una buena fuente de consumo de dichos compuestos. (González- San José, 1989; Santos-Buelga y Scarlet, 2000; Ryan y Prescott, 2010). Sin embargo, la elaboración de estos productos conlleva a un deterioro de los antocianos y del color en el producto terminado que, incluso, puede degradarse más en el almacenamiento (Rein, 2005). Considerando que los compuestos fenólicos no están distribuidos de manera uniforme en los tejidos vegetales, durante el proceso de producción de alimentos elaborados a partir de frutas, tales como los jugos, se dan alteraciones cualitativas y cuantitativas que hacen que muchas veces el perfil de polifenoles no coincida con el de la fruta cuando está fresca. (Fleuriet *et al.*, 1990; Spanos y Wrolstad, 1992).

La estabilidad de estos compuestos en especial de los antocianos va en relación con la formación de pigmentos poliméricos entre estas moléculas y los taninos junto con la presencia de coloides protectores que son los que permiten la conservación de dicha asociación (Flanzy, 2003; Bautista-Ortín, 2005), es por ello que la industria vitivinícola utiliza agentes estabilizantes externos para lograrlo; para la industria de jugos resultaría valioso considerar su aplicación teniendo en cuenta las pérdidas de color que sufre el producto especialmente durante su almacenamiento.

Compuestos Fenólicos y estabilidad del color

Las uvas del género *Vitis* son el cultivo frutal con mayor cantidad de antocianos y por tanto es la fuente más importante de estos compuestos en el mundo (Rein, 2005). El fruto de la vid, llamado “baya”, se agrupa en racimos, está formada por tres tejidos que se encargan de rodear y dar protección a las semillas (endocarpo, mesocarpo y pericarpo) y sus componentes químicos son principalmente agua, azúcares, compuestos nitrogenados, elementos minerales, sustancias odorantes, lípidos, ácidos orgánicos y compuestos fenólicos como por ejemplo los antocianos (Boulton *et al.*, 2002; Ribéreau-Gayon *et al.*, 2006), estos últimos se ubican mayoritariamente en la piel, aunque en algunos casos, como el del cultivar *Lachryma Christi* de *Vitis vinifera* L., también se pueden encontrar en la pulpa (Gil y Pszczółkowski, 2007).

Los compuestos fenólicos se clasifican en flavonoides y no flavonoides, éstos a su vez se dividen en diversas familias químicas con características estructurales que le dan determinadas propiedades como el sabor, color y aroma. Los compuestos flavonoides se hallan mayoritariamente en los hollejos, escobajo y semillas, mientras que los no flavonoides en la pulpa (Zamora, 2003; Cheynier *et al.*, 2006).

Los flavanoles se encuentran como monómeros u oligómeros y polímeros llamados proantocianidinas o también conocidos como taninos condensados. El aporte sensorial de estos últimos es la astringencia y el amargor a la solución en donde se encuentran, además son mediadores en la estabilización del color en las reacciones de copigmentación con las antocianinas, como también pueden participar en las reacciones de pardeamiento oxidativo, enzimático y químico y en la turbidez o formación de precipitados (Terrier *et al.*, 2009).

Las unidades monoméricas comúnmente presentes en uvas de *Vitis vinifera*, son; (+)-catequina, (-)-epicatequina, (+)- galocatequina, y (-) epigalocatequina, pudiendo encontrarse como monómeros o metilados, glucosilados, acilados o esterificados con ácido gálico.

Las proantocianidinas, tienen la propiedad de liberar antocianidinas a la solución por el calentamiento en medio ácido, diferenciándose dos grupos de antocianidinas liberadas (cianidina o delphinidina) en medio ácido (reacción Bate-Smith): las procianidinas compuestas por (+)-catequina y (-)-epicatequina, y las prodelphinidinas; compuestas por (+)-galocatequina y (-)-epigalocatequina, las primeras contenidas sólo en las semillas de las bayas, mientras que los hollejos poseen ambos grupos (Zamora, 2003b; Cheynier *et al.*, 2006).

Los flavonoles, son pigmentos que aportan la componente amarilla y al fenómeno de copigmentación de las antocianinas, debido a su estructura planar (Boulton, 2001; Hermosín-Gutiérrez *et al.*, 2005). Se presentan principalmente como heterósidos (glucósidos, galactósidos, ramnósidos, rutinósidos o glucurónidos) de cuatro agliconas principales; kaempferol, quercetina, miricetina, e isoramnetina, o de forma libre por hidrólisis de glicósidos durante el procesamiento de la uva (Chernier *et al.*, 2006).

En el caso de las antocianinas o antocianos son responsables del color rojo azulado en la piel de uvas tintas y del color de los productos derivados. Estos se almacenan en forma de glucósidos en el hollejo y, en algunos casos muy particulares, en la pulpa de variedades como la tintorera.

La malvidina 3-glucósido es el antociano más abundante en la uva y también es el más estable debido a su grupo metilo ubicado en la posición 3 del anillo fenólico, el cual protege la posición 4 del catión flavilium del ataque nucleofílico del agua evitando que se formen radicales a partir de ella (Gomez-Cordovés *et al.*, 2003).

Las antocianinas se encuentran presentes bajo 4 estructuras químicas diferentes en equilibrio en un medio acuoso, estas son: base quinoidal (color azul), catión flavilium (color rojo), pseudo base carbinol (incolores) y chalcona (incolores), las cuales dependiendo del pH de la solución presentan distintas características cromáticas; en condiciones de pH inferiores a 2 el catión flavilium es el más predominante, a medida que el pH aumenta, éste sufre una pérdida de protones dando lugar a las bases

quinoidales y al mismo tiempo se produce una hidratación de dicho catión generando la pseudo-base carbinol.

En torno al pH 4 y 5 con temperaturas elevadas la pseudo-base carbinol es convertida a las formas *cis* o *trans* chalcona, que pueden ser incoloras y neutras o tomar color levemente amarillo luego de ionizarse. En el rango del pH 3,5 que corresponde a los jugos de uva, existe un balance entre las formas mencionadas anteriormente, el catión flavilium esta presente en un 12,2%, pseudo-base carbinol 45,2% y chalcona en un 27,6% y base quinoidal en un 15% (Glories, 1999; Castañeda-Ovando *et al.*, 2009).

El color de soluciones con antocianinas, según diversos estudios, se encuentra influenciado por el pH, la estructura y concentración del pigmento, presencia de copigmentos (flavonoides, ácidos fenólicos), presencia de flavanoles, iones metálicos, presencia de enzimas, oxígeno, azúcares, luz, ácido ascórbico y sus productos de degradación, proteínas, dióxido de azufre, la temperatura y el tiempo. (Heinonen y Eiro, 2002; Bao *et al.*, 2005; Patras *et al.*, 2010).

Durante el proceso al cual es sometida la uva para la obtención de sus derivados, ocurre una extracción de los compuestos fenólicos desde la baya generando cambios en los equilibrios de las distintas formas químicas en la que éstos se encuentran y por lo tanto su estabilidad y evolución se ven condicionadas (Zamora, 2003a; Brownmiller *et al.*, 2008). Durante este proceso se extraen antocianinas y proantocianidinas de hollejos en menor cantidad debido a su naturaleza soluble en etanol, y para el caso de proantocianidinas la maceración debe ser por un tiempo mas prolongado para así eliminar sus lípidos (Glories y Saucier, 2000).

Existen dos mecanismos que describen la evolución de estos compuestos, el primero de ellos agrupa reacciones bioquímicas mediadas por enzimas, y el segundo fenómenos químicos. Las reacciones enzimáticas que originan degradaciones y oxidaciones de los compuestos fenólicos pueden darse por la participación catalizadora de enzimas endógenas (principalmente polifenoloxidasas) y exógenas (cinamato esterasas, tanino acil-hidrolasas y β -glicosidasas) de la uva.

Para el caso de la polifenoloxidasas, se encuentra presente desde la molienda de la uva y en presencia de oxígeno generan *o*-quinonas que oxidan a otros compuestos fenólicos a partir de sus sustratos de ácido caftárico y cutárico. Para las β -glicosidasas pueden ser aportadas en preparados enzimáticos del tipo glucanasas o pectinasas, actuando en los enlaces de algunos flavonoles y antocianinas, liberando las correspondientes agliconas que son mas inestables y de fácil degradación (Monagas y Bartolomé, 2009).

Además existen reacciones que involucran adiciones nucleofílicas, acoplamiento de radicales e interacciones electrostáticas que estabilizan y modifican el color de los productos finales como también influyendo en su tonalidad e intensidad del mismo (Zamora, 2003). Las reacciones mas importantes en este tipo de soluciones son las de copigmentación, condensación de antocianinas-flavonoles y la interacción entre flavonoides con otras macromoléculas.

En el caso de la copigmentación las moléculas implicadas son las antocianinas coloreadas y planas que corresponden a la forma flavilium y a la base quinoidal junto con los otros compuestos presentes no coloreados denominados copigmentos. Esta interacción genera complejos de apilamiento vertical que se mantienen unidos por enlaces de baja energía y débiles, enlaces de Van der Waals e interacciones hidrofóbicas que se mantienen estables por las moléculas de azúcar unidas mediante puentes de hidrógeno (Boulton, 2001). Este tipo de complejacion mantiene el agua alejada del cromóforo del catión flavilium evitando la hidratación de éste y por ende la decoloración y formación de bases incoloras como el carbinol, desplazando el equilibrio hacia sus formas coloreadas (Gómez-Míguez *et al.*, 2006).

Del fenómeno de copigmentación mediado por cationes metálicos se produce un desplazamiento de la longitud de onda máxima hacia longitudes de onda mayores conocido como efecto batocrómico o hacia longitudes de onda menores denominado efecto hipsocrómico, ambos acompañados de un aumento de la absorbancia (efecto hiperocrómico). La intensidad de dichos efectos esta determinada por el pH, la

naturaleza del cromóforo y copigmento, la temperatura y la relación molar copigmento/pigmento. Estos complejos de copigmentación se forman en medios ácidos y pueden incrementar el color visual y estabilidad del color de los sistemas alimentarios (Boulton, 2001).

Los flavonoides y ácidos hidroxinámicos están entre los copigmentos mas importantes, aunque, a su vez, los aminoácidos, polisacáridos, nucleótidos y ácidos fenólicos pueden comportarse como copigmentos, siendo los flavonoles los que presentan un potencial mayor en comparación con los ácidos hidroxinámicos y flavanoles (Brouillard *et al.*, 1991; Gómez- Míguez *et al.*, 2006), ya que la ausencia de una estructura planar de estos dos últimos condiciona su capacidad, observándose una eficiencia diferencial de acuerdo a la conformación molecular del flavanol implicado (González-Manzano *et al.*, 2009).

En la formación de los complejos antocianina-flavanol y flavanol-antocianina, el primero comienza con el ataque nucleofílico de la posición C₈-C₆ del flavanol a la posición electrofílica C₄ de la antocianina en forma de catión flavilium generando un flaveno que puede deshidratarse con el fin de formar pigmentos amarillos o forma xantilium, o formar un producto incoloro de condensación bicíclica (Bishop y Nagel, 1984; Santos-Buelga *et al.*, 1999). Respecto al segundo (flavanol-antocianina), la reacción es entre carbocationes y la forma hemiacetal hidratada de la antocianina en la posición C₆ o C₈, dando paso a formas incoloras que siendo deshidratadas generan la forma flavilium que es de color roja (Monagas *et al.*, 2005a).

La estabilidad del color será función, entre otros, del grado de extracción de antocianos y taninos de la uva durante el proceso de elaboración, de las condiciones del medio y de las posteriores modificaciones de estas moléculas durante su almacenamiento, debido a transformaciones de degradación y estabilización de los compuestos fenólicos. Es por eso que el uso de agentes estabilizadores del color es una herramienta que se utiliza para favorecer estas uniones que permitan mantenerlo y evitar su deterioro a lo largo del tiempo.

Agentes estabilizadores del color

Hoy en día la industria vitivinícola, basada en muchos antecedentes sobre la evolución como también la estabilidad de los compuestos fenólicos, ha comenzado a realizar prácticas para mejorar la estabilidad del color cuando el equilibrio de antocianos y taninos no son los óptimos, en este caso la industria usa agentes estabilizantes externos a la materia prima siendo los taninos enológicos y la goma arábiga los productos más utilizados (Flanzy, 2003).

En el caso de los taninos existen los del tipo condensado que son los que tienen una naturaleza similar a los que se encuentran en la uva y ellos facilitan la combinación de antociano-tanino y por lo tanto estabilizan el color (Bauista-Ortín, 2005). En el caso de los taninos hidrolizables contribuyen a la protección del antociano de la oxidación y por ende regulan los procesos de Oxido-reducción (Vivas, 1997). Además podemos considerarlos unos posibles contribuyentes al proceso de copigmentación incrementando el color del vino.

Existen preparados de estos taninos que son obtenidos de varios materiales vegetales incluyendo cortes de árboles como Quebracho de América del sur (*Schinopsis lorentzii*), la Acacia Australiana (*Acacia mearnsii*), y muchas otras que contienen tanto taninos hidrolizables como condensados. Algunos taninos enológicos extraídos de una sola especie son relativamente puros, mientras que otros son mezclas de una numerosa cantidad de especies. Estos orígenes botánicos condicionan su composición química y por tanto en su utilidad (Obreque- Slier, Peña- Neira, López- Solís, Ramírez- Escudero y Zamora- Marin, 2009).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALCALDE-EON, C.; ESCRIBANO-BAILÓN, M.; SANTOS-BUELGA, C.; RIVAS-GONZALO, J. 2006. Changes in Detailed Pigment Composition of Red Wine during Maturity and Ageing. A Comprehensive Study. *Anal. Chim. Acta.* 563: 238-254

ARAYA, E. 2006. *Guía de Laboratorio: curso evaluación sensorial de los alimentos.* Universidad de Chile. Santiago, Chile. 105p.

BAO, J.; CAI, Y.; SUN, M.; WANG, G.; CORKE, H. 2005. Anthocyanins, flavonols, and free radical scavenging activity of Chinese bayberry (*Myrica rubra* L.) extracts and their color properties and stability. *J. Agric. Food Chem.* 53(6): 2327-2332.

BAUMES, R.; WIRTH, J.; BUREAU, S.; GUNATA, Y.; RAZUNGLES, A. 2002. Biogenesis of C13- norisoprenoid compounds: experiments supportive for an apocarotenoid pathway in grapevines. *Anal. Chim. Acta.* 458: 3-14.

BAUTISTA-ORTÍN, A. 2005. *Técnicas enológicas para la obtención de vinos de Monastrell de alto contenido polifenólico.* Tesis doctoral. Universidad de Murcia.

BISHOP, P.; NAGEL, C. 1984. Characterization of the condensation product of malvidin-3,5- diglucoside and catechin. *J. Agric. Food Chem.* 32: 1022-1026.

BOULTON, R. 2001. The copigmentation of anthocyanins and its role in the color of red wine: a critical review. *Am. J. Enol. Vitic.* 52: 67-87.

BOULTON, R.; SINGLETON, V.; BISSON, L.; KUNKEE, R. 2002. *Viticultura para elaboradores de vino.* En *Teoría y Práctica de la Elaboración del Vino* Acibia (Ed.). Zaragoza, España. 15-85.

BROUILLARD, R.; CHASSAING, A.; FOURGEROUSSE, A. 2003. Why are grape/fresh wine anthocyanins so simple and why is it that red color wine last so long?. *Phytochem.* 64: 1179-1186.

BROUILLARD, R.; WIGAND, M.; DANGLES, O.; CHEMINAT, A. 1991. pH and solvent effects on the copigmentation reaction of malvin with polyphenols, purine and pyrimidine-derivatives. *Journal of the Chemical Society-Perkin Transactions.* 2: 1235-1241.

BROUILLARD, R.; DANGLES, O. 1994. Anthocyanin molecular interactions: the first step in the formation of new pigments during wine aging. *Food Chem.* 51: 365–371.

BROWNMILLER, C.; HOWARD, L. R.; PRIOR, R. L. 2008. Processing and storage effects on monomeric anthocyanins, percent polymeric colour, and antioxidant capacity of processed blueberry products. *J. Food Sc.* 5(73): H72-H79.

SANTOS-BUELGA, C.; SCALBERT, A. 2000. Proanthocyanidins and tannin-like compounds: nature, occurrence, dietary intake and effects on nutrition and health. *J. Food Sci. Agric.* 80(7):1094–1117.

BUJANDA L; GUTIÉRREZ STAMPA M.; MARIMÓN J. 1999. Wine at moderate doses: health or disease?. *Med Clin.* 112:29-35.

CALLEMIEN D.; COLLIN S. 2002. Use of RP-HPLC-ESI(-)-MS/MS to differentiate various proanthocyanidin isomers in lager beer extracts. *J. Am. Soc. Brew. Chem.* 66:109-115.

CASTAÑEDA-OVANDO, A; PACHECO-HERNÁNDEZ, M.; PÁEZ-HERNÁNDEZ, M.; RODRÍGUEZ, J.; GALÁN-VIDAL, C. 2009. Chemical studies of anthocyanins: A review. *Food Chem.* 113: 859–871.

CHASSAING, S.; LEFEUVRE, D.; JACQUET, R.; JOURDES, M.; DUCASSE, L.; GALLAND, S.; GRELARD, A.; SAUCIER, C.; TEISSEDE, P.; DANGLES, L.; QUIDEAU, S. 2010. Physicochemical studies of new anthocyano- ellagitannin hybrid pigments: About the origin of the influence of oak C-glycosidic ellagitannins on wine color. *Eur. J. Org. Chem.* 1: 55-63.

CHEYNIER, V.; DUEÑAS-PATON, M.; SALAS, E.; MAURY, C.; SOUQUET, J.; SARNI-MANCHADO, P.; FULCRAND, H. 2006. Structure and properties of wine pigments and tannins. *Am. J. Enol. Vitic.* 57: 298-305.

CHEYNIER, V.; MOUTOUNET, M. y SARNI-MANCHADO, P. 2000. Los compuestos fenólicos. pp.114-136. In: Flanzy, C. *Enología: fundamentos científicos y tecnológicos*. Ed. AMV y Mundi- Prensa. Madrid, España. 783p.

CLIFFORD MN. 1992. Sensory and dietary properties of phenols. *Proceedings of the 16th International Conference of Grape Polyphenol.* 16(11):18-23.

CONDE, C.; SILVA, P.; FONTES, N.; DIAS, A.; TAVARES, R.; SOUSA, M.; AGASSE, A.; DELROT, S.; GERÓS, H. 2007. Biochemical changes throughout grape berry development and fruit and wine quality. *Food.* 1: 1-22.

COOPER, K.; CHOPRA, M.; THURNHAM, D. 2004. Wine polyphenols and promotion of cardiac health. *Nutrition Research Reviews.* 17: 111–129.

DARIAS-MARTÍN, J.; MARTÍN-LUIS, B.; CARRILLO-LÓPEZ, M.; LAMUELA-RAVENTÓS, R.; DÍAZ-ROMERO, C.; BOULTON, R. 2002. Effect of caffeic acid on the color of red wine. *J. Agric. Food Chem.* 50: 2062-2067.

DOCO, T.; WILLIAMS, P.; PAULY, M.; O'NEILL, M.; PELLERIN, P. 2003. Polysaccharides from grape berry cell walls. Part II. Structural characterization of the xyloglucan polysaccharides Carbohydr. Polymers. 53: 253-261.

DUEÑAS, M.; FULCRAND, H.; CHEYNIER, V. 2006. Formation of anthocyanin-flavanol adducts in model solutions. Anal. Chim. Acta. 563: 15-25.

ESCRIBANO-BAILÓN, M.; DANGLES, O.; BROUILLARD, R. 1996. Coupling reactions between flavilium ions and catechin. Phytochem. 41: 1583-1592.

FANZONE- SÁNCHEZ, M.L. 2012. Caracterización de la composición fenólica de uvas y vinos de la variedad Malbec (*Vitis vinifera* L.): su relación con el origen geográfico, factores vitivinícolas y valor comercial. Tesis doctoral. Departament de Bioquímica i Biotecnologia de la Facultat d'Enologia de la Universitat Rovira i Virgili. Tarragona, España. 727p.

FERNÁNDEZ, J.; SANTAMARÍA, C.; SPARZA, I. 2006. Chromatic characterization of three consecutive vintages of *Vitis vinifera* red wine. Effect of dilution and iron addition. Anal. Chim. Acta. 563: 331-337.

FLANZY, C. 2003. Enología: fundamentos científicos y tecnológicos. 2da ed. AMV Ediciones Mundi Prensa. Madrid, España. 797p.

MACHEIX, J.; SAPI, J.; FLEURIET, A. 1990. Phenolic compounds and polyphenoloxidase in relation to browning in grapes and wines Review Critical Reviews . Food Science & Nutrition. 30(4): 441-486.

FRANKEL, E.; WATERHOUSE, A.; TEISSEDE, P. 1995. Principal Phenolic Phytochemicals in Selected California Wines and Their Antioxidant Activity in Inhibiting Oxidation of Human Low-Density Lipoproteins. J. Agric. Food Chem. 43: 890-894.

GARCÍA RAMÍREZ, B. 2005. Absorción in vivo de oligómeros de epicatequina. Tesis doctoral. Departament de Bioquímica i Biotecnologia de la Facultat d'Enologia de la Universitat Rovira i Virgili. Tarragona, España. 251p.

GIL, G.; PSZCZÓŁKOWSKI, P. 2007. Viticultura: Fundamentos para Optimizar producción y calidad. Ediciones Universidad Católica de Chile. Santiago, Chile. 69-220.

GLORIES, Y. 1999. Substances responsables de lástringence, de l'amertume et de la couleur des vins. Journal Int. Des Sciences de la Vigne et du Vin. La dégustation. 115-118.

GLORIES, Y.; SAUCIER, C. 2000. Tannin evolution from grape to wine. Effects on wine taste. En Proceedings of the ASEV 50th Anniversary Annual Meeting; J.M. Rantz (Ed.), ASEV. Davis, CA. 353-355.

GÓMEZ- CORDOVÉS, C.; BARTOLOMÉ, B.; MONAGAS, M.; SUÁREZ, R.; NÚÑEZ, V.; MORATA, A.; SUÁREZ, J. 2003. Respuesta del color a variaciones puntuales durante el proceso vitivinícola en los vinos tintos. Actas X Congreso Brasileiro de Viticultura e Enología. 19-41.

GÓMEZ-MIÍGUEZ, M.; GONZÁLEZ-MANZANO, S.; ESCRIBANO-BAILÓN, M.; HEREDIA, F.; SANTOS- BUELGA, C. 2006. Influence of different phenolic copigments on the color of malvidin-3-glucoside. J. Agric. Food Chem. 54: 5422-5429.

GONZÁLEZ-SAN JOSÉ, M. L. 1989. Comportamiento de compuestos del metabolismo secundario en la maduración de la uva de *Vitis vinifera*. Tesis Doctoral. Instituto de Fermentaciones Industriales, CSIC. Facultad de Ciencias. Universidad Autónoma de Madrid. 889p.

GONZÁLEZ-MANZANO, S.; DUEÑAS, M.; RIVAS-GONZALO, J.; ESCRIBANO-BAILÓN, M.; SANTOS-BUELGA, C. 2009. Studies on the copigmentation between anthocyanins and flavan-3-ols and their influence in the colour expression of red wine. *Food Chem.* 114: 649-656.

HAMMERSTONE, J.; LAZARUS, S.; SCHMITZ, H. 2000. Proanthocyanidin content and variation in some commonly consumed foods. *J. Nutr.* 130: 2086-2095.

EIRO, M.J.; HEINONEN, M. 2002. Anthocyanin color behavior and stability during storage: Effect of intermolecular copigmentation. *J. Agric. Food Chem.* 50: 7461-7466.

HERMOSIN, I. 2007. Copigmentación y piranoantocianos: el papel de los flavonoles y los ácidos hidroxicinámicos en el color del vino tinto. *Acenología* 31/05/07. Disponible en: http://www.acenologia.com/ciencia81_2.htm. Leído el 5 de Septiembre 2016.

HERMOSÍN GUTIÉRREZ, I.; SÁNCHEZ-PALOMO LORENZO, E.; VICARIO ESPINOSA, A. 2005. Phenolic composition and magnitude of copigmentation in young and shortly aged red wines made from the cultivars, Cabernet Sauvignon, Cencibel, and Syrah. *Food Chem.* 92: 269-283.

HERNANZ, D.; RECAMALES, Á.; MELÉNDEZ-MARTÍNEZ, A.; GONZÁLEZ-MIRET, M.; HEREDIA, F. 2008. Multivariate Statistical Analysis of the Color-Anthocyanin Relationships in Different Soilless-Grown Strawberry Genotypes. *J. Agric. Food Chem.* 56(8): 2735–2741.

HHS (UNITED STATES DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES ON WOMEN'S HEALTH) 2010. Pregnancy: Staying healthy and safe – Substance abuse. Disponible en: <http://www.womenshealth.gov/pregnancy/you-are-pregnant/staying-healthy-safe.cfm#h>. Leído el 25 de Septiembre de 2016.

HIDALGO, J. 2003. Tratado de Enología. Volumen 1. Mundi-Prensa Libros. Madrid, España. 1423 p.

HOSHINO, T.; MATSUMOTO, U.; GOTO, T. 1980. The stabilizing effect of the acyl group on the copigmentation of acylated anthocyanins with c-glucosylflavones. *Phytochem.* 19: 663.

HUFNAGEL, J.; HOFMANN, T. 2008. Orosensory-directed identification of astringent mouthfeel and bitter-tasting compounds in red wine. *J. Agric. Food Chem.* 56: 1376-1386.

JANG M.; CAI L.; UDEANI G.; SLOWING K.; THOMAS C.; BEECHER C.; FONG H.; FARNSWORTH N.; KINGHORN A.; MEHTA R.; MOON R.; PEZZUTO J. 1997. Cancer chemopreventive activity of resveratrol, a natural product derived from grapes. *Science.* 275(5297): 218-220.

JUSTESEN U.; KNUTHSEN P.; LETH T. 1998. Quantitative analysis of flavonols, flavones, and flavanones in fruits, vegetables and beverages by high-performance liquid chromatography with photo-diode array and mass spectrometric detection. *Journal of Chromatography A.* 799(1-2): 101-110.

KAMPA M.; HATZOGLOU A.; NOTAS G.; DAMIANAKI A.; BAKOGEORGOU E.; GEMETZI C.; KOUROUMALIS E.; MARTIN P.; CASTANAS E. 2000. Wine antioxidant polyphenols inhibit the proliferation of human prostate cancer cell lines. *Nutr Cancer.* 37: 223-233.

KELLER, M. 2010. Developmental Physiology. En *The Science of Grapevines. Anatomy and Physiology.* Elsevier Academic Press. USA 169-225.

KELLER, M.; SMITH, J.; BONDADA, B. 2006. Ripening grape berries remain

hydraulically connected to the shoot. *J. Exp. Bot.* 57: 2577-2587.

KENNEDY, J.; FERRIER, J.; HARBERTSON, J.; PEYROT DES GACHONS, C. 2006. Analysis of tannins in red wine using multiple methods: correlation with perceived astringency. *American Journal of Enology and Viticulture.* 57: 481-485.

LATTANZIO, V.; KROON, P.A.; QUIDEAU, S. and TREUTTER, D. 2008. 2008. Plant Phenolics – Secondary Metabolites with Diverse Functions. In: Daayf, F. (Ed.) and Lattanzio, V. (Ed.). *Recent Advances in Polyphenol Research Volume 1.* Blackwell Publishing Ltd. West Sussex, United Kingdom. 393p.

MARTÍNEZ–VALVERDE, I.; PERIAGO, M. J.; ROS, G. 2000. Significado nutricional de los compuestos fenólicos de la dieta. *ALAN.* Caracas, Venezuela. 50(1): 5-18.

MCKAY D.; BLUMBERG J. 2002. The role of tea in human health: an update. *J. Am. Coll. Nutr.* 21: 1-13.

MCRAE, J.; KENNEDY, J. 2011. Wine and grape tannin interactions with salivary proteins and their impact on astringency: a review of current research. *Molecules.* 16: 2348-2364.

MÉNDEZ, J. 2005. Estudio de la Maduración Fenólica y Antociánica en Uvas Tintas de Bobal para Diferentes Condiciones Agrológicas. Tesis doctoral. Universidad Politécnica de Valencia. Valencia. 386p.

MONAGAS, M.; BARTOLOMÉ, B.; GÓMEZ-CORDOVÉS, C. 2005a. Updated knowledge about the presence of phenolic compounds in wine. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 45: 85-118.

MONAGAS, M.; BARTOLOMÉ, B. 2009. Anthocyanins and Anthocyanin-Derived Compounds. En *Wine Chemistry and Biochemistry.* M.V. Moreno-Arribas, & M.C. Polo (Eds.): Springer. New York, USA. 439-456.

MURRAY, N.; WILLIAMSON, M.; LILLEY, T.; HASLAM, E. 1994. Study of the interaction between salivary proline-rich proteins and a polyphenol by ¹H-NMR spectroscopy. *Eur. J. Biochem.* 219: 923- 935.

OMS (ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD). 2005. Un marco para la promoción de frutas y verduras a nivel nacional. Disponible en: <http://www.who.int/dietphysicalactivity/reportSP%20final.pdf>. Leído el 03 de Octubre de 2016.

OMS (ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD). 2006. Marco de referencia para la política sobre alcohol en la Región Europea de la OMS. Disponible en: <http://www.msc.es/profesionales/saludPublica/prevPromocion/docs/FrameworkSP.pdf>. Leído el 03 de Octubre de 2016

OMS (ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD). 2010. Estrategia mundial para reducir el uso nocivo del alcohol. Disponible en: http://www.who.int/substance_abuse/activities/msbalcstrategies.pdf. Leído el 03 de Octubre de 2016

PATRAS, A.; BRUNTON, N.; O'DONNELL, C.; TIWARI, B. 2010. Effect of thermal processing on anthocyanin stability in foods; mechanisms and kinetics of degradation. *Trends in Food Science & Technology.* 21: 3-11.

PINENT M.; BLAY M.; BLADÉ M.; SALVADÓ M.; AROLA L.; ARDÉVOL A. 2004. Grape seed-derived procyanidins have an antihyperglycemic effect in streptozotocin-induced diabetic rats and insulinomimetic activity in insulin-sensitive cell lines. *Endocrinology* 145(11): 4985-4990.

PRICE, A.; BACON, JR.; RHODES, M. 1997. Effect of storage and domestic processing on the content and composition of flavonol glucosides in onions (*Allium cepa*). *J. Agric. Food Chem.* 45: 938–942.

QUIDEAU, S.; JOURDES, M.; LEFEUVRE, D.; MONTAUDON, D.; SAUCIER, C.; GLORIES, Y.; PARDON, P.; POURQUIER, P. 2005. The chemistry of wine polyphenolic C-glycosidic ellagitannins targeting human topoisomerase II. *Chem. Eur. J.* 11: 6503-6513.

REIN, M. J. 2005. Copigmentation reactions and color stability of berry anthocyanins (dissertation). EKT series 1331. University of Helsinki, Department of Applied Chemistry and Microbiology. Helsinki, Finlandia. 88 pp.

RENTZSCH, M.; WILKENS, A.; WINTERHALTER, P. 2009. Non-flavonoid Phenolic Compounds. En *Wine Chemistry and Biochemistry*. M.V. Moreno-Arribas, & M.C. Polo (Eds.), Springer. New York, USA. 509-527.

RIBÉREAU-GAYON, P.; GLORIES, Y.; MAUJEAN, A.; DUBOURDIEU, D. 2006. Phenolic compounds. En *Handbook of Enology, The Chemistry of Wine Stabilization and Treatments*, 2nd Edition; John Wiley & Sons Ltd. (Ed.): Chichester, U.K. 2: 129-186.

RICE-EVANS, CA.; MILLER, J.; PAGANGA, G. 1996. Structure–Antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radical Biology and Medicine*. 20 (7): 933–956.

RIOU, V.; VERNHET, A.; DOCO, T.; MOUTOUNET, M. 2002. Aggregation of grape seed tannins in model– effect of wine polysaccharides. *Food Hydrocolloids*. 16: 17-23.

ROBINSON, W.; WEIRS, L.; BERTINO, J.; MATTICK, L. 1996. The relation of anthocyanins composition to color stability of New York State wines. *Am. J. Enol. Vitic.* 17: 178-184.

ROGIERS, S.; GREER, D.; HATFIELD, J.; ORCHARD, B.; KELLER, M. 2006. Mineral sinks within ripening grape berries (*Vitis vinifera* L.). *Vitis*. 45: 115-123.

RYAN, L. ; PRESCOTT, S.L. 2010. Stability of the antioxidant capacity of twenty-five commercially available fruit juices subjected to an in vitro digestion. *International J. Food Sci. Technol.* 45: 1191–1197.

SAIKO, P.; SZAKMARY, A.; JAEGER, W.; SZEKERES, T. 2008. Resveratrol and its analogs: Defense against cancer, coronary disease and neurodegenerative maladies or just a fad?. *Mutat. Res.* 658: 68-94.

SAKANAKA S.; OKADA Y. 1998. Inhibitory effects of greentea polyphenols on the production of a virulencefactor of the periodontal-disease-causing anaerobic bacterium *Porphyromonas gingivalis*. *J. Agric. Food Chem.* 52: 1668-1692.

SALAS, E.; DUEÑAS, M.; SCHWARZ, M.; WINTERHALTER, P.; CHEYNIER, V.; FULCRAND, H. 2005. Characterization of pigments from different high speed countercurrent chromatography wine fractions. *J. Agric. Food Chem.* 53: 4536-4546.

SALAS, E.; FULCRAND, H.; MEUDE, E.; CHEYNIER, V. 2003. Reaction of anthocyanin and tannins in model solutions. *J. Agric. Food Chem.* 51: 7951-7961.

SANTOS-BUELGA, C.; FRANCIA-ARICHA, E.; DE PASCUAL-TERESA, S.; RIVAS-GONZALO, J. 1999. Contribution to the identification of the pigments responsible for the browning of anthocyanin- flavanol solutions. *Eur. Food Res. Technol.* 209: 411-415.

SANTOS- BUELGA, C.; SCARBERT, A. 2000. Proanthocyanidins and tannin-like compounds: nature, occurrence, dietary intake and effects on nutrition and health. *J. Food Sci. Agric.* 80(7): 1094–1117.

SANZ, M.; MARTÍNEZ-CASTRO, I.; MORENO-ARRIBAS, M. 2008. Identification of the origin of commercial enological tannins by the analysis of monosaccharides and polyalcohols. *Food Chem.* 111: 778-783.

SEERAM, N.P.; AVIRAM, M.; ZHANG, Y.; HENNING, S.M.; FENG, L.; DREHER, M. and HEBER, D. 2008. Comparison of Antioxidant Potency of Commonly Consumed Polyphenol-Rich Beverages in the United States. *J. Agric. Food Chem.* 56(4): 1415–1422.

SHAHIDI, F.; NACZK, M. 1995. *Food phenolics. Sources, Chemistry, Effects, Application.* Tecnomonic, Publishing CO., INC eds. Lancaster, Pennsylvania, USA.

SPANOS, G.; WROLSTAD, R. 1992. Phenolics of apple, pear and white grape juice and their changes with their changes with processing and storage: a review. *J. Agric. Food Chem.* 40: 1478-1487.

SWEENEY, J.; IACOBUCCI, G. 1983. Effect of substitution on the stability of 3 deoxyanthocyanidins in aqueous solutions. *J. Agric. Food Chem.* 31: 531-533.

VIDAL, S.; WILLIAMS, P.; O'NEILL, M.; PELLERIN, P. 2001. Polysaccharides from grape berry cell walls. Part I: Tissue distribution and structural characterization of the pectic polysaccharides. *Carbohydr. Polym.* 45: 315-323.

VIDAL, S.; DAMIEN, C.; SOUQUET, J.; FULCRAND, H.; CHEYNIER, V. 2002. Changes in proanthocyanidin chain length in winelike model solutions. *J. Agric. Food Chem.* 50: 2261-2266.

VIVAS, N. 1997. Composition et propriétés des préparations commerciales de tanins à usage. *Enologique Revue des Oenologues.* 23: 15-21.

ZAMORA, F. 2003a. *Elaboración y crianza del vino tintos: aspectos científicos y prácticos* Madrid Vicente A. (Ed.), AMV Ediciones y Ediciones Mundi-Prensa Madrid, España. 225 p.

ZAMORA, F. 2003b. La copigmentación: un factor determinante del color del vino tinto. *Enólogos*. 26: 24-28.

CAPÍTULO II

Efecto del uso de taninos enológicos sobre la composición fenólica, estabilidad colorante y capacidad antioxidante en jugos de uva concentrados de la variedad tintorera.

RESUMEN

La información que hoy tenemos con respecto al uso de productos enológicos comerciales sobre el color en jugos de uva es mucho mas accesible que hace un tiempo atrás. En la industria del jugo, el color es un parámetro muy importante a evaluar como también lo es en la industria del vino, por eso que el uso de los agentes estabilizadores toman un papel fundamental en ambas producciones.

En el presente estudio, se evaluó el efecto de taninos enológicos comerciales en determinadas características de jugos de uva concentrados que provenían de dos fechas de cosecha diferentes y evaluados mensualmente por 5 meses. Las muestras fueron analizadas y cuantificadas mediante su intensidad colorante, concentración de compuestos fenólicos analizados por espectrofotometría y HPLC, como también su capacidad antioxidante mediante el análisis de ORAC.

Para el caso de ambos tratamientos, el uso de agentes estabilizadores de color utilizados normalmente en la industria del vino al ser utilizados en el proceso de elaboración de jugo de uva tuvieron un impacto positivo, aumentando el pH y la acidez total de las muestras, como también es el caso de los fenoles y taninos totales que sufrieron un aumento de sus concentraciones, los antocianos sufrieron una leve disminución, sin embargo, los porcentajes de copigmentación e intensidad colorante aumentaron en comparación a las muestras sin tratar para ambos ensayos. La capacidad antioxidante también sufrió un aumento en el tiempo en comparación a las muestras no tratadas con los taninos enológicos comerciales en ambos casos.

Palabras Claves: *Vitis vinifera* L. cv *Lachryma Christi*; color; Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC-DAD); compuestos fenólicos.

ABSTRACT

The aim of this study was to analyze the color intensity, phenolic compound concentration and antioxidant capability of 4 types of treatment apply to two different assays regarding your harvesting time, 15° and 18° Brix, with color keeper in fruit juice concentrates stored 5 months,. The color changes in the juice were quantified by color intensity ($OD_{420} + OD_{520} + OD_{620}$) and by CIELab color space coordinates. Phenolic compound concentration was analyzed by spectrophotometry and HPLC-DAD, while the antioxidant capability was quantified by ORAC_{FL} assay.

The results to 15° Brix assay, indicate that application of treatments has an effect on the concentration of phenolic compounds and pH, showing in those juices treated a higher concentrations of tannins, total phenolics, total anthocyanins and color intensity. Moreover, those juices treated with gum arabic had higher concentrations of total tannins. In turn, all treated juices had higher ORAC values The results to 18 °Brix assay, indicate a higher concentration of phenolic compounds, and higher color intensity and ORAC. In this essay is not possible to identify a clear distinction between the treatments.

In summary, application of oenological stabilizers in concentrated grape juice has an impact on the phenolic concentration, color intensity and ORAC, therefore the possibility of its use in the grape juice industry opens.

Keywords: *Vitis vinifera* L. cv *Lachryma Christi*; CIELab; color; HPLC-DAD; phenolic compounds.

INTRODUCCIÓN

El sector de frutas y hortalizas procesadas en Chile ha crecido sostenidamente en los últimos diez años, impulsado principalmente por las exportaciones de estos productos, por lo que, según los registros del año 2014, Chile ocupa la posición número cinco a nivel mundial en la venta de jugos de uva, siendo éste junto con el de manzana los que se procesan por mayor volumen. Sobre el 90% de la producción de ambos jugos es comercializado en el extranjero, en su totalidad a granel.

Los jugos representan el 14% del valor total de los productos exportados de dicho sector en Chile, alcanzando los USD \$ 240 millones, donde el jugo de uva participa con un 26% de la totalidad de los jugos con valores que bordean los USD \$62,3 millones (ODEPA, 2015). Actualmente, según el catástro hortofrutícola publicado en el año 2012, Chile cuenta con 21 plantas de procesamiento de jugos localizadas entre las regiones de Coquimbo y el Maule y también entre las regiones de Los Ríos y Los Lagos, de las cuales 5 plantas se encuentran en la región Metropolitana (ODEPA, 2013)

Dado que la uva es una de las mayores fuentes de antioxidantes naturales, lo que le confiere beneficios para la salud, la industria de los jugos tiende a mostrar un creciente interés en el desarrollo de productos para su consumo.

Logrado este posicionamiento, se abren desafíos para esta industria creciente que exige responder a estándares de calidad sensorial como lo son el color, el aroma y el sabor. El estándar de mayor importancia para la exportación es el color que depende en su mayoría de los compuestos fenólicos, principalmente de los antocianos y flavanoles (Heinonen y Eiro, 2002; Zamora, 2003a). En el procesamiento y aún más en el almacenamiento de los productos, pueden ocurrir pérdidas o enriquecimientos de estos compuestos, generándose así cambios significativos en el color (Mongas *et al.*, 2005a), por tal motivo resulta importante la implementación de métodos para la producción que puedan mantener dichas características sensoriales, que preserven el color, los compuestos fenólicos y los beneficios que éstos entregan a la salud.

Existen amplios estudios sobre el color del vino, su evolución y estabilización, los cuales avalan, por ejemplo, el uso de agentes estabilizantes del color como taninos (Darías-Martín *et al.*, 2001; Flanzy, 2003). Por esto resulta importante para la industria del jugo comprender los posibles efectos de la aplicación de estos mismos estabilizantes enológicos en la producción del jugo de uva para la conservación del color a lo largo del tiempo, y proveer así información respecto a la posibilidad de ser utilizados en este campo.

HIPÓTESIS Y OBJETIVO

Hipótesis

La adición de taninos enológicos comerciales a jugos de uva concentrados, provocan un aumento de la intensidad colorante, capacidad antioxidante y concentración de compuestos fenólicos, los cuales están relacionados con el momento de cosecha de la uva tintorera.

Objetivo

Evaluar el efecto de la aplicación de taninos enológicos, sobre la composición química, composición fenólica y capacidad antioxidante de dos jugos de uva concentrados cosechados en dos momentos distintos de uva de la variedad tintorera.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales

Lugar de trabajo

El estudio se realizará en la empresa agroindustrial Jugos del Maipo S.A. ubicada en la región vitivinícola del Valle del Maipo, comuna de Isla de Maipo, ciudad de Santiago, Región Metropolitana, Chile, durante la temporada agrícola 2010.

Los análisis básicos y específicos se realizarán en el Laboratorio Óscar Garrido L. y el Laboratorio de Cromatografía, ambas dependencias del Departamento de Agroindustria y Enología de la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de Chile a muestras elaboradas y ya tratadas por la empresa Jugos del Maipo S.A.

Muestras e insumos

Los jugos facilitados por la empresa Jugos del Maipo S.A. fueron obtenidos de bayas tintas de la variedad tintorera (*Vitis vinifera* L. cv Alicante Bouchet) provenientes de plantas con 3 años de edad, las cuales se encuentran conducidas por parrón, regadas por goteo, ubicadas en un marco de plantación de 3 metros entre hilera y 2 metros sobre hilera y conducidas bajo un sistema orgánico, durante la temporada 2010, con una producción promedio de 35 toneladas por hectárea.

A partir de este material vegetal se llevó a cabo el proceso de elaboración del jugo de uva concentrado. Este proceso de producción fue realizado por la empresa agroindustrial Jugos del Maipo S.A. y durante su desarrollo se utilizaron los siguientes equipos industriales:

- Despalilladora- moledora (Buccolini, mod. 50 TN, Argentina)
- Termo-macerador (Buccolini, mod. 18 TN, Argentina)
- Decanter (Westfalia, mod. CA 505-010, Alemania)
- Centrifuga Separadora (Westfalia, mod. GSC 200, Alemania)
- Evaporador (Unipektin, mod. FDVS1155SU, Suiza)

Para el desarrollo de los tratamientos se utilizaron durante el proceso de elaboración del jugo de uva concentrado los siguientes agentes estabilizantes del color: tres taninos enológicos, el primero es un tanino extraído del quebracho del tipo condensado, llamado comercialmente Enotan T y otro de castaño del tipo condensado e hidrolizable, bajo el nombre comercial de Tanenol rouge, el primero de la empresa Gransud y el segundo de la empresa Enartis y por último un tanino extraído de pepas de uva, del tipo condensado, llamado comercialmente Vintage.

Luego de la obtención de cada jugo concentrado correspondiente a cada tratamiento, éstos se envasaron en tambores de 300 kg. Se recopilaran por lo menos 5 muestras de cada uno de los tratamientos, para hacer los análisis respectivos durante 5 meses en bolsas plásticas herméticamente selladas de 250 mL aproximadamente. Cada una de las bolsas serán debidamente etiquetadas según su tratamiento aplicado. Las muestras serán retiradas todos los meses y almacenadas en las mismas condiciones con las que fueron tomadas y guardadas en las dependencias de la bodega.

Equipamiento

Para el desarrollo de las mediciones analíticas se utilizarán distintos equipos según el análisis químico, así en cuanto a las mediciones de compuestos fenólicos se utilizará un espectrofotómetro Shimadzu modelo UV-1700 PharmaSpec .

Para la medición de compuestos fenólicos de bajo peso molecular se usará un cromatógrafo de líquidos de alta resolución Agilent modelo 1200, constituido de una bomba modelo Quat G1311A, un inyector automático modelo ALS G1329A, constituido por un detector de arreglo de fotodiodos modelo G1315B y una columna de fase inversa Nova Pak C₁₈ de 4 µm, 3.9 mm i.d. x 300 mm; Waters Corp. Además para la determinación del perfil antociánico se utilizará un cromatógrafo Merk-Hitachi, modelo D-7000, equipado con un detector de arreglo de fotodiodos modelo L-7455, una bomba modelo L-6200, un inyector automático modelo L-7200 y una columna 5µm, 4,0 mm i.d. x 250 mm; LiChrospher 100 RP-18.

En cuanto a la determinación de la Capacidad de Absorción de Radicales de Oxígeno (ORAC, por sus siglas en inglés) esta se realizará mediante el uso de un espectrofluorímetro PerkinElmer modelo Victor X2, siguiendo el protocolo de análisis desarrollado por Zulueta *et al.* (2009).

Finalmente para analizar pH, se empleará un potenciómetro digital (Hanna Instruments, mod. HI-8417, EE.UU.)

Metodología

Tratamientos

Los ensayos realizados fueron seleccionados según la concentración de sólidos solubles en la cosecha, estos fueron ensayos totalmente independientes entre sí y siendo ambos cosechados en un mismo campo. Un ensayo de uva fue recolectado a los 15 °Brix y el otro con 19 °Brix. En ambos casos se realizaron análisis iniciales a las muestras de jugo que se muestran en el Anexo II. La aplicación de los tratamientos para cada uno de los casos fue totalmente independiente siendo las dosis aplicadas según las especificaciones de cada producto y relacionadas a las que son utilizadas en forma regular en la industria del vino. Los tratamientos son los siguientes:

Ensayo 1: Jugo de uva cosechada a 15 °Brix

- Tratamiento 1 (N): muestras testigo
- Tratamiento 2 (TR): muestras con aplicación de Tanenol Rouge 20 g hL⁻¹
- Tratamiento 3 (E): muestras con aplicación de Enotan 20 g hL⁻¹
- Tratamiento 4 (V): muestras con aplicación de Vintage 20 g hL⁻¹

Ensayo 2: Jugo de uva cosechada a 19 °Brix

- Tratamiento 1 (N): muestras testigo
- Tratamiento 2 (TR): muestras con aplicación de Tanenol Rouge 20 g hL⁻¹
- Tratamiento 3 (E): muestras con aplicación de Enotan 20 g hL⁻¹
- Tratamiento 4 (V): muestras con aplicación de Vintage 20 g hL⁻¹

Procedimientos

Una vez producidos los jugos, según Anexo III y IV, se obtuvieron muestras de 300 kg. con los tratamientos aplicados. De cada una de las muestras tratadas se seleccionaron 5 submuestras para cada uno de los meses de análisis. En forma mensual, durante 5 meses, se tomaron muestras en botellas plásticas de 250 mL para realizar los análisis con 2 repeticiones para cada uno.

Durante el período de análisis cada una se mas submuestras de 250 mL se mantuvieron refrigeradas, siendo modificadas en cuanto a su concentración de sólidos solubles hasta el punto en donde se encontraba el jugo como también a la concentración al cual es comercializado. Los valores alcanzados en °Brix son de 15 y 19, llegando a estos por medio de diluciones con agua destilada.

Una vez realizada la dilución de las muestras a los °Brix originales comienzan a desarrollarse en forma continua todos los análisis, la mantención de las muestras durante este período de análisis se hizo a -4°C emulando la condición de almacenaje de la planta de jugos

Determinaciones analíticas

Análisis básicos

- Acidez de titulación: mediante titulación con NaOH 0,1 N y con azul de bromotimol como indicador de viraje (OIV, 2009). Expresada como g·L de jugo⁻¹ eq. H₂SO₄.
- pH: se determinó a través de potenciometría (Bordeu y Scarpa, 1998).

Análisis espectrofotométricos

- Fenoles totales: mediante espectrofotometría UV-VIS (García-Barceló, 1990). Resultados expresados en mg·L de jugo⁻¹ EAG.
- Antocianos totales: por decoloración de bisulfito (García-Barceló, 1990). Resultados expresados en mg·L de jugo⁻¹ EMv3GI.
- Taninos totales: mediante precipitación por metilcelulosa (Método MCP) descrito por Mercurio *et al.* (2007). La concentración se mide por espectrofotometría a 280 nm y los resultados se expresan en mg·L de jugo⁻¹ EE.
- Análisis de copigmentación: mediante medición descrita por Boulton (2001).
- Intensidad colorante: mediante suma de lecturas espectrofotométricas a DO 420 nm, 520 nm, 620 nm (Glories, 1978).
- Coordenadas cromáticas del espacio CIELab (Zamora, 2003a), utilizando el *software* MSCV® (Grupo de Color, Universidad de La Rioja-Universidad de Zaragoza, 2001).

Análisis cromatográficos

- Fenoles de Bajo Peso Molecular: mediante HPLC-DAD, comparando el espectro de absorción UV y el tiempo de retención de cada compuesto con su respectivo estándar (Peña-Neira *et al.*, 2007). Se realizaron mediciones al inicio, mitad y final del estudio. Resultados expresados como mg·L de jugo⁻¹ de compuestos fenólicos.
- Antocianinas: mediante HPLC-DAD, identificando los compuestos antociánicos a través de su espectro de absorción UV (Peña-Neira *et al.*, 2007). Se realizaron mediciones al inicio, mitad y final del estudio. Resultados expresados como mg·L de jugo⁻¹ EMv3GI.

Análisis de capacidad antioxidante

- Por espectrofluorimetría mediante el Método ORAC-FL, empleando fluoresceína como sustancia fluorescente (Huang *et al.*, 2002). Se realizaron mediciones al final del estudio. Resultados expresados como $\mu\text{moles TE} \cdot 100 \text{ g de jugo}^{-1}$.

Diseño Experimental

El diseño experimental será completamente al azar, constituyendo dos ensayos independientes entre sí, el primero de ellos corresponde a 4 tratamientos aplicados a jugos de uva a 15° Brix; el Normal (N), aplicación de Tanenol Rouge (TR), aplicación de Enotan T (E) y la aplicación de Vintage (V). El segundo ensayo corresponde a los mismos 4 tratamientos aplicados a jugo de uva pero a 19° Brix; el Normal (N), aplicación de Tanenol Rouge (TR), aplicación de Enotan T (E) y aplicación de tanino Vintage (V).

Dado el carácter industrial de la producción de jugo concentrado (30.000 L) no se contará con repeticiones para cada tratamiento, por lo que el estudio será más bien de carácter descriptivo; no obstante lo anterior todos los análisis se realizarán por duplicado. Por consiguiente se utilizará como unidad experimental una submuestra del producto final, que corresponde a 20 muestras de 250 mL de jugo de uva concentrado para cada tratamiento, dispuestas de maneras arbitrarias y elegidas completamente al azar durante el desarrollo analítico. A partir de éstas se realizarán para el desarrollo de cada análisis 2 mediciones correspondientes a la muestra y contra muestra.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

pH y Acidez de Titulación

En el Cuadro 1 se observan los valores de pH de cada uno de los jugos analizados bajo los dos ensayos durante los 5 meses que abarcó el estudio.

Cuadro 1. Valor de pH en los 4 tratamientos del ensayo a 15 °Brix y 4 tratamientos del ensayo a 19 °Brix.

Ensayo	Mes	N	TR	E	V
15° Brix	abr	2,84 ± 0,01	3,05 ± 0,00	3,05 ± 0,01	3,06 ± 0,01
	may	2,80 ± 0,00	3,02 ± 0,00	3,04 ± 0,00	3,07 ± 0,00
	jun	2,68 ± 0,00	2,91 ± 0,00	2,94 ± 0,00	2,98 ± 0,00
	jul	2,50 ± 0,00	3,00 ± 0,00	3,00 ± 0,00	3,00 ± 0,00
	ago	2,40 ± 0,00	2,68 ± 0,00	2,68 ± 0,00	2,75 ± 0,00
	General	2,64 ± 0,00	2,93 ± 0,13	2,94 ± 0,14	2,97 ± 0,12
19° Brix	abr	3,16 ± 0,01	3,12 ± 0,00	3,17 ± 0,00	3,32 ± 0,00
	may	3,17 ± 0,00	3,11 ± 0,00	3,17 ± 0,00	3,32 ± 0,00
	jun	3,07 ± 0,00	3,00 ± 0,00	3,09 ± 0,00	3,23 ± 0,00
	jul	3,10 ± 0,00	3,00 ± 0,00	3,00 ± 0,00	3,20 ± 0,00
	ago	2,83 ± 0,00	2,75 ± 0,00	2,81 ± 0,00	2,94 ± 0,00
	General	3,07 ± 0,12	3,00 ± 0,13	3,05 ± 0,13	3,20 ± 0,14

* Cada valor corresponde al promedio ± desviación estándar (n = 2).

Para ambos ensayos la tendencia del pH es a decrecer a lo largo del período de análisis. Con respecto al análisis del jugo de uva cosechada a 15 °Brix, la muestra sin la aplicación de taninos tuvo un pH promedio de 2,64 durante los 5 meses de análisis y los jugos tratados en promedio sufrieron una variación aumentando en un 11% en promedio su valor de pH.

Por otra parte el jugo de uva cosechada a 19 °Brix, presentó un comportamiento similar, para este caso el pH promedio de la muestra no tratada fue de 3,07 y los jugos tratados su valor pH promedio fue levemente superior de un 0,3% en promedio durante el período.

La tendencia a la disminución de este parámetro se debe a que durante el tiempo de análisis de las muestras, se liberaron protones al medio con la finalidad de alcanzar el equilibrio entre las distintas formas de los ácidos que se encuentran en la muestra, generando una acidificación del medio y por lo tanto reflejada en la disminución del pH (Cabanis, 2000). Sin embargo, esta disminución de pH genera un aumento de la estabilidad de antocianos y hace que el medio se mantenga microbiológicamente estable, ya que se torna menos beneficioso para el desarrollo de microorganismos que pueden causar un deterioro de propiedades químicas y sensoriales de los jugos (FAO, 2004; Rein, 2005; Palacios *et al.*, 2006).

La acidez de titulación o acidez total en los jugos analizados durante los 5 meses de estudio se muestran a continuación en el Cuadro 2. En el caso del tratamiento de 15 °Brix, la acidez tiende a comportarse relativamente estable durante el proceso al igual que el jugo de uva cosechada con 19 °Brix. En ambos casos se observó una baja notoria en el mes de mayo que luego aumentó en forma paulatina hasta el termino del estudio.

En la caso de la acidez promedio del jugo no tratado de 15 °Brix fue de de 7,42 g·L de jugo⁻¹ eq. H₂SO₄ y los promedios de los jugos tratados fue de 7,09 g·L de jugo⁻¹ eq. H₂SO₄ y para el caso del jugo de 19 °Brix el promedio de las muestras no tratadas fue de 8,33 g·L de jugo⁻¹ eq. H₂SO₄ *versus* el promedio de las muestras tratadas que alcanzo a 8,35 g·L de jugo⁻¹ eq. H₂SO₄ . En ambos casos se observó que el comportamiento de la acidez fue similar manteniéndose relativamente estable durante todo el período de análisis con una leve tendencia al aumento.

Cuadro 2. Acidez de Titulación (g·L de jugo⁻¹ eq. H₂SO₄) ensayo a 15 °Brix y ensayo a 19 °Brix.

Ensayo	Mes	N	TR	E	V
15° Brix	abr	7,74 ± 0,14	7,15 ± 0,14	8,53 ± 0,14	6,27 ± 0,28
	may	6,08 ± 0,00	5,88 ± 0,00	6,37 ± 0,14	5,10 ± 0,00
	jun	7,06 ± 0,00	7,06 ± 0,00	9,68 ± 0,17	6,25 ± 0,17
	jul	7,96 ± 0,17	7,35 ± 0,00	8,21 ± 0,17	6,37 ± 0,00
	ago	7,72 ± 0,17	7,11 ± 0,00	8,45 ± 0,17	6,00 ± 0,17
	General	7,42 ± 0,10	7,02 ± 0,03	8,25 ± 0,16	6,00 ± 0,12
19° Brix	abr	10,66 ± 0,12	10,78 ± 0,00	9,68 ± 0,12	11,39 ± 0,12
	may	6,47 ± 0,00	6,47 ± 0,00	6,08 ± 0,00	7,45 ± 0,00
	jun	7,84 ± 0,12	8,33 ± 0,12	7,11 ± 0,06	8,94 ± 0,00
	jul	8,58 ± 0,06	8,21 ± 0,00	7,35 ± 0,06	9,80 ± 0,00
	ago	8,09 ± 0,06	7,96 ± 0,06	7,11 ± 0,00	8,58 ± 0,00
	General	8,33 ± 0,19	8,35 ± 0,20	7,46 ± 0,28	9,23 ± 0,21

* Cada valor corresponde al promedio ± desviación estándar (n = 2).

Fenoles Totales

Los compuestos fenólicos en los alimentos están relacionados con parámetros sensoriales y nutricionales, que a su vez determinan la calidad de un alimento ya sea fresco o procesado. Durante el proceso de elaboración o almacenaje de estos alimentos algunos parámetros como el color pueden verse afectados generando importantes cambios que deterioran su calidad, por ejemplo las antocianinas participan en reacciones de condensación, hidrólisis y oxidación modificando la concentración final de estos compuestos (Monagas *et al.*, 2005a).

Como se muestra en el Cuadro 3 tanto para el ensayo a 15 °Brix y 19 °Brix las concentraciones iniciales de fenoles totales en las muestras son superiores en relación a la observada en la muestra sin tratamiento para ambos casos. La protección a la oxidación de los fenoles del medio por parte de los taninos aplicados podría explicar esa diferencia en la cantidad de fenoles medidos.

Los fenoles totales promedio medidos en jugo de 15 °Brix sin tratamientos fueron de 4138,84 mg·L de jugo⁻¹ EAG en comparación a los jugos tratados con TR, E y V (Cuadro 3) siendo mayores en un 5,02%, 5,84% y 7,69%, respectivamente.

Por otro lado, el ensayo de 19 °Brix contiene una concentración superior a la del ensayo anterior desde un comienzo del estudio. La muestra sin tratar de jugo concentrado presenta un contenido promedio de 5590,88 mg·L de jugo⁻¹ EAG y en relación a este, los jugos tratados con TR, E y V muestran respectivamente un 12,08%, 11,46% y 7,56% mas de compuestos fenólicos.

Cuadro 3. Concentración de fenoles totales (mg·L de jugo⁻¹ EAG) en los 4 tratamientos del ensayo a 15 °Brix y a 19 °Brix.

	Mes	N	TR	E	V
15° Brix	abr	4919,94 ± 19,62	5069,93 ± 9,40	5189,57 ± 4,50	5282,92 ± 26,16
	may	4066,23 ± 44,96	4231,54 ± 14,71	4264,20 ± 37,19	4311,01 ± 177,79
	jun	3979,82 ± 8,58	4103,80 ± 1,63	4065,07 ± 6,54	4215,64 ± 2,04
	jul	3842,60 ± 85,42	4154,95 ± 29,02	4258,70 ± 85,83	4316,79 ± 13,49
	ago	3885,61 ± 152,45	4173,45 ± 15,12	4126,05 ± 149,18	4158,42 ± 54,36
	General	4138,84 ± 62,21	4346,73 ± 13,98	4380,72 ± 56,65	4456,96 ± 54,77
19° Brix	abr	6652,20 ± 8,99	7448,69 ± 17,17	7615,73 ± 13,90	7466,03 ± 0,00
	may	5425,11 ± 347,40	6028,25 ± 197,41	6052,82 ± 136,51	5789,83 ± 49,86
	jun	5307,20 ± 0,00	5912,65 ± 7,77	5745,32 ± 0,00	5738,96 ± 0,00
	jul	5287,83 ± 1,23	6023,92 ± 40,87	5964,96 ± 137,73	5634,92 ± 67,85
	ago	5282,05 ± 2,86	5920,45 ± 30,24	5779,42 ± 17,57	5440,43 ± 136,10
	General	5590,88 ± 72,10	6266,79 ± 58,69	6231,65 ± 61,14	6014,03 ± 50,76

* Cada valor corresponde al promedio ± desviación estándar (n = 2).

Taninos Totales

En el Cuadro 4 se observan las concentraciones de taninos totales de los ensayos de taninos aplicados a las muestras de jugo concentrado de uva.

Cuadro 4. Concentración de taninos totales (mg·L de jugo⁻¹ EC) en el ensayo a 15 °Brix y a 19 °Brix.

Ensayo	Mes	N	TR	E	V
15° Brix	abr	241,89 ± 43,10	335,57 ± 55,36	294,23 ± 59,07	596,64 ± 124,19
	may	293,74 ± 35,06	423,76 ± 79,37	326,05 ± 29,80	396,89 ± 102,34
	jun	360,12 ± 12,35	456,85 ± 15,63	349,92 ± 109,34	464,73 ± 111,24
	jul	305,28 ± 73,32	354,56 ± 11,05	445,13 ± 4,23	412,09 ± 67,02
	General	300,26 ± 40,96	392,68 ± 40,35	353,83 ± 50,61	467,59 ± 101,20
19° Brix	abr	718,41 ± 183,78	816,61 ± 97,42	627,30 ± 32,30	752,43 ± 8,20
	may	449,28 ± 34,98	572,64 ± 113,57	589,01 ± 62,79	474,14 ± 22,11
	jun	564,27 ± 114,69	700,58 ± 63,56	515,91 ± 0,35	603,91 ± 90,42
	jul	554,08 ± 67,28	623,88 ± 3,45	731,36 ± 52,16	614,29 ± 33,42
	General	571,51 ± 100,18	678,43 ± 69,50	615,90 ± 36,90	611,19 ± 38,54

* Cada valor corresponde al promedio ± desviación estándar (n = 2).

Para ambos casos, el comportamiento de las muestras fue muy variable a lo largo del período de análisis, sin embargo, las concentraciones de taninos iniciales en cada una de las muestras son menores con respecto a las medidas al final del período de estudio. En este caso los valores de las muestras analizadas durante el mes de agosto fueron eliminados, debido a un error en el procedimiento de análisis que generó valores muy alejados del promedio de las muestras obtenidas.

Analizando el ensayo a 15 °Brix la concentración promedio de taninos totales en la muestra sin tratamiento fue de 300,26 mg·L de jugo⁻¹ EC siendo los tratamientos con TR y V los que obtuvieron mayor concentración de taninos totales de 392,68 mg·L de jugo⁻¹ EC (+30,78%) y 467,59 mg·L de jugo⁻¹ EC (+55,73%), respectivamente, en comparación al jugo sin tratar.

Para el caso del ensayo a 19 °Brix sin tratar la concentración de taninos totales fue de 571,51 mg·L de jugo⁻¹ EC, sin embargo, las concentraciones promedio correspondientes al resto de los 3 tratamientos fueron de 635,17 mg·L de jugo⁻¹ EC siendo un 11,12% superior al ensayo no tratado, este aumento se puede explicar por la presencia de estos compuestos añadidos al medio.

Por su parte, los ensayos de TR y E fueron los que mostraron una mayor concentración en promedio de taninos totales en el medio con 678,43 mg·L de jugo⁻¹ EC y 615,9 mg·L de jugo⁻¹ EC respectivamente.

El comportamiento irregular de los taninos totales, de una u otra forma, se podría explicar a las diferentes reacciones que ocurren en el medio en la presencia de distintas moléculas, reaccionando entre sí en procesos de polimerización, condensación y/o copigmentación, provocando un aumento en la estabilidad del color (Terrier *et al.*, 009; Santos- Buelga y De Freitas, 2009).

Antocianos Totales

En el Cuadro 5 se muestran las concentraciones de antocianos totales de cada uno de los jugos analizados bajo los dos ensayos durante los 5 meses que abarcó el estudio.

Cuadro 5. Concentración de antocianos totales (mg·L de jugo⁻¹ EMv3GI) en los 4 tratamientos del ensayo a 15 °Brix y 4 tratamientos del ensayo a 19 °Brix.

Ensayo	Mes	N	TR	E	V
15° Brix	abr	6150,15 ± 24,47	6138,91 ± 67,28	5821,45 ± 110,10	5751,39 ± 979,86
	may	801,86 ± 1,22	811,37 ± 26,91	902,20 ± 3,67	646,16 ± 1,22
	jun	2033,62 ± 204,29	1893,49 ± 50,16	1870,13 ± 95,42	1713,57 ± 35,48
	jul	2090,71 ± 353,53	1883,11 ± 1,22	1896,95 ± 91,75	1695,40 ± 51,38
	ago	1813,91 ± 28,14	1888,30 ± 1,22	1834,67 ± 28,14	1829,48 ± 84,41
	General	2578,05 ± 122,33	2523,04 ± 29,36	2465,08 ± 65,82	2327,2 ± 230,47
19° Brix	abr	7721,86 ± 143,13	7708,88 ± 574,95	8262,48 ± 210,41	7499,55 ± 139,46
	may	865,00 ± 12,23	1057,90 ± 3,67	1060,49 ± 7,34	1219,65 ± 2,45
	jun	2277,55 ± 11,01	2460,93 ± 79,51	2499,85 ± 15,90	2422,87 ± 42,82
	jul	2357,13 ± 89,30	2436,71 ± 103,98	2416,81 ± 97,86	2396,92 ± 33,03
	ago	2357,13 ± 6,12	2503,31 ± 114,99	2487,74 ± 81,96	2486,88 ± 1,22
	General	3115,73 ± 52,36	3233,55 ± 175,42	3345,47 ± 82,69	3205,17 ± 43,80

* Cada valor corresponde al promedio ± desviación estándar (n = 2).

Para los antocianos totales, en el caso del ensayo de 15 °Brix, se observó una disminución en forma general durante el período de análisis para la concentración de los antocianos en solución. La disminución de los antocianos totales fue de un 2,13% para el caso del ensayo TR y de un 4,38% y 9,73% menos para E y V respectivamente en relación a la concentración promedio del jugo de uva sin tratar que fue de 2578,05 mg·L de jugo⁻¹ EMv3GI. Este comportamiento pudo ser producto de la condensación de antocianos y precipitación de macromoléculas inestables, de alto peso molecular o como también a una degradación debido a los cambios de pH y de la temperatura del medio (Bautista-Ortín *et al.*, 2006; Gracia, 2012). Para el caso del ensayo a 15 °Brix la

aplicación de taninos comerciales, tiene baja influencia como agentes estabilizadores de color y sobre la degradación de antocianos totales.

Con respecto al ensayo de jugo de uva a 19 °Brix ocurrió un pequeño aumento durante el período de análisis, la concentración promedio de antocianos totales del jugo sin tratar fue de 3115,73 mg·L de jugo⁻¹ EMv3GI siendo los ensayos TR y E los que mostraron un aumento en su valor promedio de un 3,78% y 7,37% respectivamente y la muestra tratada con tanino Vintage (V) solo 2,87%. Los resultados obtenidos sugieren que durante el período de análisis, los taninos añadidos dieron paso a la formación de complejos antociano-tanino, que a su vez aportaron a la estabilización del color, disminuyendo así los fenómenos de degradación de estos compuestos (Terrier *et al.*, 2009; Santos- Buelga y De Freitas, 2009).

Los resultados expuestos muestran en general una disminución de los antocianos durante el período de análisis de los jugos de uva. Esta puede deberse a múltiples factores como la metodología aplicada para la cuantificación de los antocianos la cual sólo mide los antocianos libres de la solución, por lo que esta disminución puede deberse a procesos de degradación y/o polimerización de dichos compuestos. Estas pérdidas también pueden relacionarse a las alzas de temperaturas o condiciones de almacenamiento que sufrieron los envases durante el período de análisis y ocasionar la hidrólisis del enlace glucosídico, lo que afecta a la estabilidad del antociano (Rein, 2005; Zamora, 2003a; Patras *et al.*, 2010).

Los procesos de degradación también pudieron ser provocados por la variación del pH de las muestras durante el período de análisis y por la presencia de oxígeno en los envases, que en un comienzo pudieron favorecer los procesos de polimerización para luego dar paso con el tiempo a su degradación (Krifi *et al.*, 2000; Rein, 2005; Cainelli, 2007; Patras *et al.*, 2010).

Copigmentación, Intensidad Colorante y Matiz

En el Cuadro 6 se observan los porcentajes de copigmentación, intensidad colorante y matiz de cada uno de los jugos analizados bajo los dos ensayos que abarcó el estudio.

El equilibrio con respecto a la asociación entre formas coloreadas de los antocianos con componentes ya sean de origen fenólico o no, se denomina copigmentación, este complejo forma estructuras de apilamiento del “tipo sándwich”, que son mantenidos por enlaces de baja energía denominados enlaces de Van der Waals, formándose entre las moléculas enlaces de puentes de hidrógeno los cuales impiden que la molécula de agua que se encuentra en el medio, actúe sobre el antociano, provocando su hidratación y por consiguiente su decoloración (Cacho, 1992).

Analizando los porcentajes con respecto a la copigmentación en el ensayo de 15 °Brix, los valores obtenidos son distintos para cada uno de los tratamientos. Los comportamientos fueron completamente diferentes según el producto aplicado, sin embargo, en todas las muestras aumentó el porcentaje de copigmentación. Para el caso de la muestra sin tratamiento el porcentaje de copigmentación al inicio del ensayo fue de 32,42%. Los tratamientos TR y E comenzaron al inicio del período de análisis con un 36,36% y 32,02%, respectivamente, para terminar luego de 5 meses con un aumento significativo en el valor con respecto a la muestra sin tratar y de su misma medición al inicio de los análisis. El valor obtenido al final del ensayo para TR fue de 92,02% y para el ensayo E, el valor obtenido fue de 96,06%.

Las muestras del ensayo a 19 °Brix mostraron un comportamiento similar a las muestras del ensayo anterior, para la muestra sin aplicación de taninos el porcentaje de copigmentación fue de un 33,09% y para las muestras TR, E y V fueron de 36,36%, 32,01% y 30,23% al comienzo del período de análisis respectivamente. Como se menciona anteriormente los comportamientos también dependen del tipo de tanino aplicado a cada ensayo. Para los análisis de TR y E los valores observados al final del ensayo fueron de 93,25% y 96,85% respectivamente, siendo los dos análisis que

tuvieron un mayor porcentaje de copigmentación al final del estudio en comparación a la muestra no tratada que fue de un 83,16%.

En general el porcentaje promedio de los jugos no tratados para el ensayo de 15 °Brix fue de un 59,48%, siendo el tratamiento TR el que obtuvo resultados mayores en los porcentajes de copigmentación promedio durante los 5 meses de análisis, los valores obtenidos para esta muestra fue de 76,80%. Para el caso de la muestra sin tratamiento del ensayo 19 °Brix el valor promedio obtenido fue de 83,16% y para este caso el tanino que mostró mayor porcentaje de copigmentación fue E con un 93,64%.

Para los dos ensayos se observó un aumento en el porcentaje de copigmentación, por lo que la aplicación de los taninos enológicos como estabilizantes de color tuvieron una incidencia importante, al alza, en los valores obtenidos durante el período de análisis.

Los resultados para el ensayo de 15 °Brix muestran una pequeña variación en el comportamiento de la intensidad colorante, las variaciones durante el período de estudio para los ensayos con taninos fueron muy pequeñas en relación a la muestra sin tratar. Las muestras tratadas aumentaron en promedio entre 4,79% y 6,43% de sus valores de IC para el caso de E y V respectivamente. En general, se observa que los taninos aplicados en los ensayos intervienen de alguna manera en las reacciones de copigmentación, por lo que en general se observaron mayores intensidades colorantes en los ensayos con la aplicación de tratamientos.

Cuadro 6. % Copigmentación, Intensidad Colorante y Matiz para cada ensayo.

Ensayo	Mes	N			TR			E			V		
		%C	IC	Matiz	%C	IC	Matiz	%C	IC	Matiz	%C	IC	Matiz
15° Brix	abr	32,42	47,73	0,51	36,36	46,79	0,53	32,01	49,37	0,51	30,23	50,09	0,58
	may	33,91	37,68	0,54	30,89	37,53	0,55	24,98	38,83	0,55	24,08	39,46	0,60
	jun	93,47	38,39	0,54	94,62	36,97	0,55	74,95	39,82	0,55	92,71	41,39	0,61
	ago	78,11	37,30	0,52	96,31	39,76	0,52	72,16	40,82	0,52	84,85	40,54	0,57
	Prom	59,48	40,28	0,53	76,80	40,26	0,54	61,03	42,21	0,53	57,97	42,87	0,50
	DS	31,02	4,99	0,01	39,97	4,51	0,02	40,62	4,84	0,02	35,81	4,88	0,02
19° Brix	abr	33,098	70,37	0,54	40,31	78,45	0,55	40,28	77,83	0,53	36,81	78,00	0,54
	may	26,26	52,95	0,57	25,50	59,83	0,59	26,76	56,39	0,58	23,43	59,90	0,59
	jun	93,60	54,40	0,58	91,46	62,30	0,61	86,22	56,79	0,58	87,88	61,24	0,59
	ago	83,16	54,69	0,55	92,55	61,82	0,57	96,58	56,75	0,55	78,10	56,58	0,57
	Prom	59,03	58,10	0,56	65,21	65,60	0,58	75,46	61,94	0,56	56,56	63,93	0,57
	DS	34,27	8,21	0,02	38,10	8,63	0,02	49,53	10,59	0,02	31,27	9,58	0,02

*Cada valor corresponde a la media aritmética obtenida para cada tratamiento mes a mes

%C: %Copigmentación

IC: Intensidad Colorante

Media: Media aritmética o promedio obtenido durante los 5 meses de análisis para cada tratamiento.

Con respecto al parámetro de matiz el comportamiento descrito a lo largo del período de análisis fue prácticamente nulo, ya que los datos arrojaron variaciones muy pequeñas en el matiz. Los porcentajes de variación de los colores amarillo, rojo y azul no fueron superiores a un 1% en ninguno de los 3 colores analizados para cada tratamiento aplicado en ambos ensayos a 15 y 19 °Brix. Existen algunos autores que si constatan el efecto de la aplicación de taninos en el vino (Celotti *et al.*, 2000; Pardo, 2001), mientras que algunos autores abiertamente dudan sobre la utilidad de la aplicación de estos compuestos (Delteil, 2000). Junto con esto cabe destacar que el efecto sobre las componentes del color en las soluciones también puede variar según la composición fenólica de la matriz (Bautista-Ortín *et al.*, 2005).

Coordenadas del Espacio CIELab

Bajo el sistema de coordenadas del espacio CIELab el color es descrito fundamentalmente por las coordenadas polares L*: claridad, C*: Croma y h*: Tono. La coordenada L* representa la luminosidad, y va del blanco perfecto con un valor de 100, al negro con un valor de 0. La coordenada C* representa la cromaticidad y va de un menor a mayor nivel de saturación del color y la coordenada h* representa el ángulo de tonalidad de un color básico, en este caso un color rojo los valores h* alrededor de los 0°, uno amarillo es descrito por h* cercanos a 90° y uno verde próximos a los 180°, mientras que los azules valores alrededor de los 270° (Pérez- Magariño y González-San José, 2002).

En el Cuadro 7 se observa la evolución de las coordenadas L*, C* y h* de cada uno de los jugos analizados que abarcó el estudio.

Analizando la Luminosidad (L*) para el ensayo a 15 °Brix, esta se comportó relativamente estable entre los tratamientos, las diferencias entre cada aplicación en comparación al jugo no tratado no supera el 1% en todos los meses evaluados. El comportamiento en promedio durante los 5 meses fue estable, no generando una variación portante en este parámetro.

Con respecto a la Saturación o Croma (C^*), los valores se comportaron de manera diferente al caso de la luminosidad, ya que esta sí presentó una disminución durante el período de análisis, sin embargo, el valor promedio de C^* para la muestra sin tratar fue de 16,8 siendo TR y E los tratamientos que obtuvieron una diferencia superior de 1,78% y 5,9% respectivamente al final del período de análisis.

Por último, con respecto a la tonalidad (h^*), el parámetro no sufrió mayores diferencias a lo largo del análisis. La muestra sin tratar en promedio durante los 5 meses fue de 175, en comparación con TR de 176,4 ; para E de 176,9 y de 176,1 para V.

Los resultados del ensayo a 15 °Brix, grafican el color de la muestra de forma clara (L^*), poco saturado (C^*) y con matices rojos (h^*). Estas características sugieren que la presencia de taninos en la solución provocaron cambios en las propiedades cromáticas del ensayo, ya que los taninos en general aumentan la componente amarilla por lo que el tono podría sufrir una variación a lo largo del tiempo.

Para el ensayo de 19 °Brix el comportamiento en promedio de la Luminosidad (L^*) fue en descenso desde el inicio de los análisis hasta el último mes del ensayo para los tratamientos en comparación a la muestra sin tratar. En promedio la muestra sin tratar obtuvo valores de 82,90 en comparación a las muestras tratadas que obtuvieron diferencias negativas en no más de 2% en sus valores promedios.

Al analizar la Saturación o Croma (C^*), los valores arrojan también un comportamiento a la baja durante los 5 meses de análisis para cada tratamiento aplicado. En general los promedios de Saturación de todo el ensayo en las muestras con aplicación la aplicación de tratamientos mantuvieron valores superiores en comparación a la muestra no tratada que promedió 21,8 y para TR, E y V los valores fueron 22,7; 23,0 y 22,8 respectivamente.

Cuadro 7. Evolución en diferencias de las coordenadas L*, C* y h* a partir del jugo de uva no tratado para cada ensayo.

Ensayo	Mes	N			TR			E			V		
		L*	C*	h*	L*	C*	h*	L*	C*	h*	L*	C*	h*
15° Brix	abr	85,78	20,66	176,40	86,13	20,06	176,94	85,50	21,38	177,31	84,87	19,05	176,65
	may	88,50	16,02	176,43	88,57	15,96	176,48	88,22	16,05	176,82	87,75	14,81	176,27
	jun	88,27	16,33	176,37	88,74	15,53	176,70	88,03	16,49	177,60	87,26	14,93	176,63
	jul	87,60	14,76	171,02	87,69	16,83	176,38	87,27	17,75	176,95	86,92	15,90	176,08
	ago	88,41	16,30	175,03	87,76	17,28	175,53	87,53	17,52	175,88	87,25	15,57	175,10
	Promedio	87,71	16,81	175,05	87,78	17,13	176,41	87,31	17,84	176,91	86,81	16,05	176,15
	DS	1,13	2,25	2,33	1,03	1,78	0,54	1,08	2,10	0,65	1,12	1,73	0,63
19° Brix	abr	79,77	26,43	176,76	77,88	27,96	177,58	78,11	28,82	177,53	78,12	28,44	177,85
	may	84,23	20,33	176,90	82,55	21,59	177,91	83,42	21,28	177,17	82,68	21,65	178,65
	jun	83,87	20,18	177,23	81,90	21,15	177,84	83,31	20,93	177,57	82,26	21,40	178,33
	jul	83,30	20,78	177,03	82,08	20,84	178,06	82,81	21,87	177,12	82,28	21,73	178,15
	ago	83,56	21,04	176,10	81,79	22,20	176,83	82,79	22,01	176,32	83,22	20,91	176,98
	Promedio	82,95	21,75	176,80	81,24	22,75	177,65	82,09	22,98	177,14	81,71	22,83	177,99
	DS	1,81	2,64	0,43	1,90	2,96	0,49	2,24	3,29	0,50	2,05	3,16	0,64

*Cada valor corresponde al promedio (n = 2) obtenido de las mediciones para cada tratamiento mes a mes y su diferencia (+/-) a partir del jugo no tratado (N)

L*: Luminosidad de opaco (0) a transparente (100)

C*: Cromo o saturación valores cercanos o superiores a 50 indican colores vívidos

h*: Tonalidad 0 a 360°

También para el caso de la Tonalidad (h^*) se observó un descenso desde el primer mes de análisis hasta el final del ensayo en forma generalizada, es decir para todos los tratamientos involucrados. Aun así los promedios de las muestras tratadas se mantuvieron por sobre el promedio de la muestra sin tratar, los valores para TR, E y V fueron de 177,6; 177,1 y 178 respectivamente en comparación a la muestra sin tratar que fue de 176,6.

Los resultados del ensayo a 19 °Brix, muestran un color más bien claro (L^*), poco saturado (C^*) y de tonalidad o matiz rojo (h^*). Los cambios también sugieren la participación de los taninos en las variaciones de las tonalidades de la solución a lo largo del tiempo.

La diferencia que se puede apreciar entre las coordenadas para ambos ensayos no son identificables para un consumidor a través de un recipiente que contenga el producto final (Pérez-Magariño y González-Sanjosed, 2003).

Perfil de antocianinas determinadas por HPLC-DAD

En el Cuadro 8 se observan las concentraciones de antocianinas en total que fueron analizadas en los ensayos de 15 y 19 °Brix expresadas en $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de jugo EMv3GI determinadas por HPLC-DAD durante 3 meses.

Al comienzo del análisis la diferencia entre la concentración de antocianinas entre las muestras de 15 y 19 °Brix fue bastante amplia, siendo para el ensayo de 15 °Brix de $7553,70 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de jugo EMv3GI y para el segundo de $11977,46 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de jugo EMv3GI

Analizando en forma general los diferentes tratamientos se pudo observar una baja notoria en la concentración de antocianos a lo largo del periodo de análisis. Esto sugiere un efecto sobre la estabilidad de los antocianos en el tiempo en los ensayos con la aplicación de tratamientos, como también reacciones de polimerización y combinación de estos con otras moléculas del medio.

En relación a lo observado en el análisis de copigmentación, se pudo observar una relación directa entre esta disminución de antocianos y el aumento del porcentaje de copigmentación de los jugos concentrados durante el desarrollo de la investigación.

En los jugos del ensayo a 19 °Brix se observó una concentración total promedio de 11977,46 mg·L⁻¹ de jugo EMv3GI para el ensayo sin tratar en comparación al ensayo anterior. Este presenta un 58,56% más de antocianos que la muestra sin tratar del análisis de 15 °Brix. Un comportamiento similar se observó para todas las muestras tratadas con TR, E y V.

Finalmente, al igual que el ensayo anterior, se relacionan los resultados de copigmentación con el comportamiento a la baja de los antocianos, se observa una relación directa entre ambos, vale decir la disminución de antocianos en jugos tratados y no tratados con el aumento del porcentaje de copigmentación de las mismas muestras.

Por otra parte, se apreció una disminución de los contenidos de antocianos en las muestras durante el tiempo, esto sugiere que las pérdidas de antocianinas por reacciones de oxidación fueron mínimas durante el almacenamiento, debido a su atmósfera reductora por lo que la disminución de antocianinas observada se podría atribuir principalmente a reacciones de hidrólisis y condensación (Gómez- Cordovés *et al.*, 2003).

La facilidad de los antocianos frente a la hidrólisis según Dallas *et al.* (1995), guarda mucha relación con el porcentaje de antocianos acilados, y para el caso de la condensación esta dependerá de la concentración de antocianos en el medio junto a la cantidad de moléculas que actúan también como copigmento, estas además se ven afectadas por la madurez, el tiempo de cosecha y en este caso por el tipo de producto aplicado para el desarrollo de los análisis.

Para finalizar la concentración de las antocianinas de los jugos para el caso de jugos de la variedad tintorera, como también el momento de cosecha y madurez, tienen un rol

preponderante en la degradación de las mismas a través del almacenamiento (Dallas *et al.*, 1995; Gómez-Cordovés *et al.*, 2001).

Cuadro 8. Concentración de antocianinas totales ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de jugo EMv3GI) determinadas por HPLC-DAD de ambos casos durante 3 meses

Compuesto	Mes	Ensayo 15 °Brix	Ensayo 19 °Brix
N	abr	7553,70	11977,46
	jun	305,54	230,50
	ago	268,66	286,94
TR	abr	9955,75	12592,35
	jun	247,74	319,52
	ago	272,69	286,94
E	abr	7649,19	7969,48
	jun	208,21	293,87
	ago	249,79	280,79
V	abr	7650,76	11619,66
	jun	148,86	246,90
	ago	217,42	290,20

* Cada valor corresponde a la cuantificación total de los antocianos

Fenoles de bajo peso molecular por HPLC

Para conocer con mayor detalle el efecto del uso de agentes estabilizantes en la composición fenólica de los jugos de uva de la variedad tintorera, se realizó un análisis mediante cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC) de los fenoles de bajo peso molecular al inicio, durante y al final del período de análisis.

Se logró identificar 28 compuestos fenólicos los cuales fueron clasificados en ácidos fenoles, estilbenos, flavonoles y flavanoles. Para este análisis se describe el comportamiento en general de los compuestos mediante la cuantificación y análisis de las áreas que entrega el cromatograma.

En el Cuadro 9 se observa la evolución de los grupos de compuestos en 3 fechas durante el estudio para el ensayo a 15°Brix y el total de fenoles de bajo peso molecular para cada uno.

Cuadro 9. Compuestos fenoles del ensayo a 15°Brix y el total de fenoles de bajo peso molecular para cada evaluación.

Tratamiento	Mes	Ácidos Fenólicos	Estilbenos	Flavonoles	Flavanoles	Total
N	abr	41507,74	2688,32	17465,02	14881,58	35034,92
	jun	36641,67	4713,65	11698,79	11726,29	64780,4
	ago	12580,09	2584,89	7285	4784,38	27234,36
TR	abr	45990,76	4609,99	20135,58	17899,46	88635,79
	jun	54170,63	6462,21	15535,48	17234,4	93402,72
	ago	26786,7	3208,62	8432,37	8730,77	47158,46
E	abr	38114,66	4358,48	17181,55	19840,57	79495,26
	jun	41915,89	4613,73	13827,49	17964,57	78321,68
	ago	28732,09	3749,27	9813,6	10557,59	52852,55
V	abr	50012,3	5978,58	22391,34	21380,21	99762,43
	jun	48801,54	6235,9	15467,21	19695,58	90200,23
	ago	34216,91	3682,56	11450,77	11697,19	61047,43

* Cada valor corresponde al promedio de áreas bajo la curva del cromatograma

En términos generales se estimó una concentración promedio de FBPM de jugos no tratados a 15° Brix menor en comparación a los jugos tratados. A continuación se detalla el análisis por cada grupo según su clasificación

Se consideró el análisis de los ácidos fenólicos, por su directa relación con la estabilidad de aquellos compuestos responsables del color, al participar como copigmentos en el fenómeno de copigmentación (Ferrer, 2011).

Se observó que los ácidos fenólicos del ensayo a 15 °Brix en general tendieron al descenso durante el periodo de análisis, los jugos tratados con TR, E y V disminuyeron su porcentaje en 46,8%, 33,5% y 38,8% respectivamente en comparación a su misma medición al comienzo del ensayo. La disminución del porcentaje de estos compuestos en solución sugiere la ocurrencia de un pardeamiento generado durante el proceso de

elaboración del jugo de uva por la presencia de oxígeno. A partir de esto se generan *o*-quinonas altamente reactivas capaces de oxidar otros constituyentes del zumo de uva (Frankel *et al.*, 1995; Zoecklein *et al.*, 2001). Por otra parte la disminución de estos compuestos sugiere que posiblemente se generen reacciones del tipo tanino-antociano en el medio provocando su oxidación al encontrarse en el medio en su estado libre (Monagas *et al.*, 2005; Cainelli, 2007).

En cuanto al análisis de flavanoles en el tiempo, se observó un descenso paulatino y constante, para el tratamiento sin aplicación de taninos enológicos la diferencia entre el primer mes y el último fue de 67,85% menos de compuestos. Para el caso de TR, E y V las diferencias fueron de -51,2%; -46,8% y -45,2% respectivamente. Los descensos tienen relación a la polimerización de moléculas en función a su grado de polimerización y concentración, como también a su inestabilidad y a la condensación de taninos y antocianos, además frente a la presencia de oxígeno y temperaturas reducidas aumenta la actividad condensadora con antocianos a partir de la relación A/T del medio (Rodríguez, 2006).

Los resultados del estudio en jugos a 15° Brix para los compuestos flavonoles mostraron que el compuesto mayoritario fue la quercetina glucosilada. Se evaluó el grupo de compuestos por su incidencia en el color, en que el compuesto de mayor presencia en bayas, la quercetina-3-*O*-glucósido, y es uno de los copigmentos más fuertes siendo parte de la coloración amarilla (Hidalgo, 2003).

La evolución de los compuestos flavonoles, muestra una disminución en el tiempo para cada tratamiento en forma separada, sin embargo, los valores promedios para el final del análisis muestran que las concentraciones de flavonoles fueron mayores en comparación a la muestra sin tratar, siendo mayores en un 21%, 11,99% y 35,28% para TR, E y V respectivamente.

En el Cuadro 10 se muestra la evolución de los grupos de compuestos fenoles en 3 fechas durante el estudio del ensayo a 19°Brix y el total de fenoles de bajo peso molecular para cada tratamiento mes a mes.

En términos generales se observó una concentración de FBPM promedio en jugos no tratados a 19° Brix fue en disminución a medida que transcurría el ensayo para todos los tratamientos aplicados. Esta disminución puede deberse a pardeamiento enzimático (Frankel *et al.*, 1995; Zoecklein *et al.*, 2001)

Al analizar los ácidos fenoles del ensayo a 19 °Brix durante los meses se observó descenso y en comparación al jugo no tratado, las cantidades de ácidos fenólicos fueron mayores, hasta un 17,67% más de dichos compuestos, este aumento de contenido sugiere un desarrollo de reacciones de condensación entre los taninos y los antocianos presentes en el medio.

Cuadro 10. Compuestos fenoles del ensayo a 19°Brix y el total de fenoles de bajo peso molecular para cada evaluación.

Tratamiento	Mes	Ácidos Fenólicos	Estilbenos	Flavonoles	Flavanoles	TOTAL
N	abr	43329,45	3103,55	23750,97	22495	92678,97
	jun	33209,97	2239,48	12543,38	14387,28	62380,11
	ago	35764,36	1935,98	14682,36	43003,32	95386,02
TR	abr	49279,89	4881,15	28938,86	25718,15	108818,05
	jun	49217,56	3769,64	26350,29	24792,48	104129,97
	ago	33653,2	2279,03	13805,79	14764,57	64502,59
E	abr	38791,84	5385,91	22492,84	18841,42	85512,01
	jun	37298,35	5264,71	16264,36	19846,82	78674,24
	ago	31029,26	4225,67	13438,54	14993,51	63686,98
V	abr	45022,23	5371,02	27677,92	22584,56	100655,73
	jun	42254,84	3819,3	17373,85	20605,75	84053,74
	ago	33580,13	3734,6	13941,32	16408,19	67664,24

* Cada valor corresponde al promedio de áreas bajo la curva del cromatograma

Del contenido de flavanoles del ensayo a 19°Brix, se pudo observar un descenso con respecto a la muestra sin tratar, encontrándose una diferencia en sus promedios para TR de -18,2%, E de -32,8% y V de 25,4% con respecto al promedio del jugo sin tratar.

Este descenso tiene relación con las variaciones que dejan inestables a lo largo del tiempo a estos compuestos, además las diferencias entre los valores obtenidos entre los tratamientos se originana a partir de la relación de antocianos y taninos y las reacciones asociadas a este factor como también el pH del medio (Rodriguez, 2006).

Al analizar los compuestos flavonoles del ensayo a 19°Brix, el comportamiento fue distinto para cada tipo de tratamiento utilizado. Por lo que se sugiere que los taninos del tipo condensados como E y V compiten por la uniones con otros fenoles y durante el proceso son oxidados (Torskangerpoll y Andersen, 2005; Castañeda-Ovando *et al.*, 2009).

Capacidad antioxidante mediante ORAC

Para la medición de la capacidad antioxidante de algún compuesto existen varios métodos, estos se basan en la reacción química involucrada, debido a esto se pueden agrupar en dos grandes categorías: los métodos basados en la transferencia del átomo de hidrógeno y los métodos que se basan en la transferencia de electrones. Para el caso de este análisis la metodología ORAC utiliza la cuantificación del átomo de hidrógeno. La metodología ORAC mide la capacidad de retrasar o prevenir la oxidación, entre los mas reconocidos tenemos los taninos, cateoides, quercetina, los derivados del ácido gálico, catequinas, entre otros (Halliwell y Gutteridge, 1999; Halliwell, 2002).

A cotinuación en el Cuadro 11 se presentan valores obtenidos de ORAC para los ensayos de 15 y 19 °Brix, en donde se aprecian los datos de cada uno de los tratamientos aplicados en los meses de abril y agosto.

Para el ensayo a 15° Brix en abril, todos los tratamientos aplicados tuvieron un efecto positivo en la capacidad antioxidante en las muestras analizadas, los 3 tratamientos tuvieron un alza de 20%, 5,9% y 18,36% para TR, E y V respectivamente en comparación a la muestra no tratada (9839,26 $\mu\text{moles TE}\cdot 100\text{ g de jugo}^{-1}$). Luego para

el mes de agosto los valores en general tendieron a disminuir, sin embargo, los valores siguieron siendo más elevados en comparación a la muestra sin tratar. Con los resultados obtenidos los ensayos TR y V fueron los que mostraron una mayor incidencia en la capacidad antioxidante de las muestras analizadas durante el período de estudio.

Con respecto al ensayo de 19 °Brix se aprecia que las capacidades antioxidantes de las muestras analizadas son bastante mas elevadas en comparación a las obtenidas en el tratamiento de 15 °Brix. Podemos apreciar diferencias con respecto al tratamiento sin aplicación de taninos ($6963 \mu\text{moles TE}\cdot 100 \text{ g de jugo}^{-1}$) en el orden de un 193,13%, 178,35% y 3,57% superior para jugos tratados con TR, E y V respectivamente para el mes de abril. Luego hacia el final del período de análisis, en el mes de agosto, los valores siguen un comportamiento similar al anterior tendiendo a la baja, sin embargo, manteniendo valores superiores con respecto al ensayo sin tratar.

De manera general el comportamiento de la capacidad antioxidante frente a la aplicación de taninos enológicos comerciales es positiva, debido a que los valores aumentan en comparación al ensayo no tratado, como también influye de manera importante el estado de madurez en el cual fueron cosechadas las uvas con las que se elaboro el jugo concetrado de uva, lo que generó junto a la aplicación de taninos valores mas elevados que el ensayo con menos madurez.

Cuadro 11. Valor ORAC ($\mu\text{moles TE}\cdot 100 \text{ g de jugo}^{-1}$) ensayo 15° y 19° Brix correspondiente a los tratamientos aplicados

Tratamiento	Mes	15 °Brix	19 °Brix
N	abr	9839,26	6963,56
	ago	839,68	2659,57
TR	abr	12596,26	20412,64
	ago	8725,11	13247,73
E	abr	10427,68	19383,36
	ago	12091,66	8235,10
V	abr	11645,89	7211,99
	ago	8855,13	12921,88

Los valores que se pueden obtener de la capacidad antioxidante son determinados por varios factores que pueden incidir tanto positiva como negativamente, siendo los procesos de elaboración, la variedad del producto a analizar, el tiempo de cosecha, la zona de producción, los tratamientos aplicados y el almacenaje los factores que pueden alterar en menor o mayor grado la expresión de este parametro (Wang y Lin, 2000; Moyer *et al.*, 2002; Mullen *et al.*, 2002; Kevers *et al.*, 2007; USDA, 2010).

CONCLUSIONES

Con respecto a los datos obtenidos de este análisis, se puede concluir para ambos ensayos:

- El pH y la acidez total en ambos ensayos cosechados a 15 y 19 °Brix disminuyeron, determinando de manera importante las condiciones del medio para expresión de factores como el color.
- Para los ensayos tratados con taninos las concentraciones de fenoles totales y taninos totales aumentaron a lo largo del período de estudio.
- Jugos tratados presentaron una leve disminución en sus antocianos totales y a su vez presentaron mayores % de copigmentación e intensidad colorante durante el período, sin embargo el matiz de las muestras se mantuvo relativamente estable sin variaciones importantes.
- Jugos tratados presentaron valores ORAC mayores en comparación a los jugos no tratados durante todo el ensayo.
- Jugos tratados presentaron perfiles más bien claros (L^*), poco saturados (C^*) y con matiz rojo (h^*) para ambos casos
- Jugos tratados, de manera general tienen una tendencia a la baja de los compuestos fenólicos de bajo peso molecular durante todo el período de análisis, sin embargo, las concentraciones de cada tratamiento son más elevadas en comparación al jugo sin tratar, el mismo comportamiento tuvieron las muestras de antocianos HPLC, tendiendo a la baja en sus concentraciones.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABELLÁN, C. 2009. Estudio de la complejación del resveratrol por diferentes tipos de ciclodextrinas. Tesis doctoral. Departamento de Tecnología de la Alimentación y Nutrición, UCAM. Murcia, España. 159p.

ADAMSON, G.; LAZARUS, S.; MITCHEL, A.; PRIOR, R.; CAO, G.; JACOBS, P.; KREMERS, B.; HAMMERSTONE, J.; RUCKER, R.; RITTER, K.; SCHMITZ, H. 1999. HPLC method for the quantification of Procyanidins in Cocoa and Chocolate samples and correlation to total antioxidant capacity. *J. Agric. Food Chem.* 47: 4184-4188.

ANDRÉS-LACUEVA, C.; MEDINA-REMON, A.; LLORACH, R.; URPI-SARDA, M.; KHAN, N.; CHIVA-BLANCH, G.; ZAMORA-ROS, R.; ROTCHES-RIBALTA, M. and LAMUELA-RAVENTÓS, R.S. 2010. Phenolic Compounds: Chemistry and Occurrence in Fruits and Vegetables. In: De la Rosa, L.A. (Ed.); Alvarez-Parrilla, E. (Ed.) and González-Aguilar, G.A. (Ed.). *Fruit and vegetable phytochemicals: chemistry, nutritional value and stability.* Wiley-Blackwell. Iowa, USA. 367p.

ARNOUS, A.; MAKRIS, D.; FEKALAS, P. 2001. Effect of principal polyphenolics components in relation to antioxidant Characteristics of aged red wines. *J. Agric. Food Chem.* 49: 5736-5742.

BAKKER, J.; TIMBERLAKE, C. 1997. Isolation, identification and characterization of new color-stable anthocyanins occurring in some red wines. *J. Agric. Food Chem.* 45: 35-43.

BARANAC, J.; PETRANOVIC, N.; DIMITRIC-MARKOVIC, J. 1996. Spectroscopic study of anthocyanin copigmentation reactions. *J. Agric. Food. Chem.* 44: 1333-1336.

BAUTISTA-ORTÍN, A. 2005. Técnicas enológicas para la obtención de vinos de Monastrell de alto contenido polifenólico. Tesis doctoral. Universidad de Murcia.

BAUTISTA-ORTÍN, A.; FERNÁNDEZ-FERNÁNDEZ, J.; ORTEGA-REGULES, A.; LÓPEZ-ROCA, J.; GÓMEZ-PLAZA, E. 2006. Aplicación de diferentes técnicas enológicas para mejorar el color de los vinos de Monastrell. *Enólogos*. 41: 41-45.

BORDEU, E.; SCARPA, J. 1998. Análisis químico del vino. Ediciones PUC. Santiago, Chile. 203p.

BOULTON, R. 2001. The copigmentation of anthocyanins and its role in the color of red wine: a critical review. *American Journal of Enology and Viticulture*. 52: 67-87.

BROUILLARD, R.; DANGLES, O. 1994. Anthocyanin molecular interactions : the first step in the formation of new pigments during wine aging. *Food Chemistry*. 51: 365–371.

CABANIS, J.C. 2000. Ácidos orgánicos, sustancias minerales, vitaminas y lípidos. In: Flanzy, C. (Ed.). *Enología: fundamentos científicos y tecnológicos*. A. Madrid Vidente Ediciones y Ediciones Mundi Prensa. Madrid, España. 43-65.

CACHO, J.; FERNANDEZ, P.; FERREIRA, V.; CASTELLS, J. 1992. Evolution of 5 Anthocyanidin-3-Glucosides in the Skin of the Tempranillo, Moristel, and Garnacha Grape Varieties and Influence of Climatological Variables. *American Journal of Enology and Viticulture*, 43(3): 244-249.

CAILLET, S.; SALMIERI, S.; LACROIX, M. 2006. Evaluation of free radical- scavenging properties of commercial grape phenol extracts by fast colorimetric method. *Food Chemistry*. 95: 1-8.

CAINELLI, J. 2007. Goma arábica un protector natural. *Enología. Brasil*. 6(NOV-DIC): 1-4.

CASTAÑEDA-OVANDO, A; PACHECO-HERNÁNDEZ, M.; PÁEZ-HERNÁNDEZ, M.; RODRÍGUEZ, J.; GALÁN-VIDAL, C. 2009. Chemical studies of anthocyanins: A review. *Food Chemistry*. 113: 859–871.

CASTELLARI, M.; MATRICARDI, L.; ARFELLI, G.; CARPI, G.; GALASSI, S. 2000. Effects of high hydrostatic pressure processing and of glucose oxidase-catalase addition on the color stability and sensorial score of grape juice. *Food Science and Technology International*. 6: 17.

CELOTTI, E., BATTISTUTTI, A., F., COMUZZO, P., SCOTTI, B., POINSAUT, P. Y ZIRONI, R. 2000. Emploi des tannins oenologiques: experience sur Cabernet Sauvignon. *Revue des Oenologues*. 27: 14-18.

CHASSAING, S.; LEFEUVRE, D.; JACQUET, R.; JOURDES, M.; DUCASSE, L.; GALLAND, S.; GRELARD, A.; SAUCIER, C.; TEISSEDE, P.; DANGLES, L.; QUIDEAU, S. 2010. Physicochemical studies of new anthocyan- ellagitannin hybrid pigments: About the origin of the influence of oak C-glycosidic ellagitannins on wine color. *Eur. J. Org. Chem*. 1: 55-63.

CLIFFORD, M. 1992. Sensory and dietary properties of phenols. En *Proceedings of the 16th International Conference of Grape Polyphenol*. 16(2): 18-23.

DALLAS, C.; RICARDO-DASILVA, J.; LAUREANO, O. 1995. Degradation of Oligomeric procyanidins and anthocyanins in a Tinta Roriz red wine during maturation. *Vitis*. 34: 51–56.

DARÍAS-MARTÍN, J.; CARRILLO, M.; DÍAZ, E.; BOULTON, R. 2001. Enhancement of red wine colour by pre-fermentation addition of copigments. *Food Chemistry*. 73: 217-220.

DELTEIL, D. 2000. Utilisation de tannins oenologiques sur les raisins et les vins rouges mediterraneens et rhodanines. Rev. Franc. Oenol. 181: 20-22.

FANZONE- SÁNCHEZ, M.L. 2012. Caracterización de la composición fenólica de uvas y vinos de la variedad Malbec (*Vitis vinifera L.*): su relación con el origen geográfico, factores vitivinícolas y valor comercial. Tesis doctoral. Departament de Bioquímica i Biotecnologia de la Facultat d'Enologia de la Universitat Rovira i Virgili. Tarragona, España. 727p.

FAO (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS). 2004. Conservación de frutas y hortalizas mediante tecnologías combinadas. Manual de capacitación. Disponible en: <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/008/y5771s/y5771s00.pdf>. Leído el 25 de mayo de 2012.

FERRER, R. 2011. Estudio analítico y de la funcionalidad de la fracción fenólica de *Vitis vinifera L. cv. Graciano* y su importancia en el color y la composición del vino. Tesis Doctoral. Universidad DSALAMANCA. 275p.

FLANZY, C. 2003. Enología: fundamentos científicos y tecnológicos. 2da ed. AMV Ediciones Mundi Prensa. Madrid, España. 797p.

FRANKEL, E.; WATERHOUSE, A.; TEISSEDRE, P. 1995. Principal Phenolic Phytochemicals in Selected California Wines and Their Antioxidant Activity in Inhibiting Oxidation of Human Low-Density Lipoproteins. J. Agric. Food Chem. 43: 890-894.

GARCÍA-BARCELÓ, J. 1990. Técnicas analíticas para vinos. Ediciones PUC. Santiago, Chile. 253p.

GARCÍA RAMÍREZ, B. 2005. Absorción in vivo de oligómeros de epicatequina. Tesis doctoral. Departament de Bioquímica i Biotecnologia de la Facultat d'Enologia de la Universitat Rovira i Virgili. Tarragona, España. 251p.

GARRIDO, A. 2006. Efecto sobre la copigmentación en mezclas de vinos de las variedades Carménère con Pinot Noir y Syrah con Sauvignon Blanc. Memoria Ingeniero Agrónomo. Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Agronómicas. Santiago, Chile. 57p.

GIMENEZ, J.; KAJDA, P.; MARGOMENOU, L.; PIGGOTT, J.; ZABETAKIS, I. 2001. A study on the colour and sensory attributes of high-hydrostatic-pressure jams as compared with traditional jams. *J. Sci. Food Agric.* 81: 1228-1234.

GLORIES, Y. 1978. Recherches sur la matière colorante des vins rouges. Thèse doctorat d'état, Université de Bordeaux II. 364 p.

GÓMEZ-CORDOVÉS, C.; MONAGAS, M.; NÚÑEZ, V.; BARTOLOMÉ, B. 2001. Importancia del perfil antociánico en diferentes variedades de *Vitis vinifera* L. In *Abstracts: VIII Congreso Latinoamericano de Viticultura y Enología*. (Eds): OIV e INAVI. Montevideo, Uruguay. 1-11.

GRACIA, O. 2012. La goma arábica: una maravilla natural que nos beneficia a todos. *Industria alimentaria*. Disponible en: http://depa.pquim.unam.mx/amyd/archivero/GomaArabiga_1838.pdf. Leído el 21 de noviembre de 2012.

HALLIWELL, B. 2002. Food-Derived Antioxidants: How to Evaluate Their Importance in Food and In Vivo. In: Cadenas, E. (Ed) and Packer, L. (Ed). *Handbook of Antioxidants*. Marcel Dekker, Inc. New York, USA. 704p.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. 1999. *Free Radicals in Biology and Medicine*. 3rd ed. Oxford University Press, Inc. New York, USA. 1-35.

EIRO, M.J.; HEINONEN, M. 2002. Anthocyanin color behavior and stability during storage: Effect of intermolecular copigmentation. *J. Agric. Food Chem.* 50: 7461-7466.

HIDALGO, J. 2003. *Tratado de Enología. Volumen 1.* Mundi-Prensa Libros. Madrid, España. 1423 p.

HUANG, D.; OU, B.; HAMPSCH-WOODILL, M.; FLANAGAN, J.; PRIOR, R. 2002. High-throughput assay of oxygen radical absorbance capacity (ORAC) using a multichannel liquid handling system coupled with a microplate fluorescence reader in 96-well format. *J. Agric. Food Chem.* 50: 4437- 4444.

HUOPALAHTI, R.; JARVENPAA, E.; KATINA, K. 2000. A novel solid-phase extraction-HPLC method for the analysis of anthocyanin and organic acid composition of Finnish cranberry. *J. Liq. Chromatogr. Rel. Technol.* 23: 2695-2701.

INIESTA, J.; RAMÍREZ, E. 2005. La goma arábica en el vino. *Viticultura/Enología* 100(OCT-DIC): 58.

JACOBSON, J.L. 2006. *Introduction to Wine Laboratory Practices and Procedures.* Springer Science, Business Media, Inc. New York, USA. 375p.

KENNEDY, J.; SAUCIER, C.; GLORIES, Y. 2006b. Grape and wine phenolics: history and perspective. *Am. J. Enol. Vitic.* 57: 239-248.

KEVERS, C.; FALKOWSKI, M.; TABART, J.; DEFRAIGNE, J.; DOMMES, J.; PINCEMAIL, J. 2007. Evolution of Antioxidant Capacity during Storage of Selected Fruits and Vegetables. *J. Agric. Food Chem.* 55(21): 8596–8603.

KRIFI, B.; CHOUTEAU, F.; BOUDRANT, J.; METCHE, M. 2000. Degradation of anthocyanins from blood orange juices. *Int J Food Sci Techn* 35: 275-283.

LEMPEREUR, V.; BLAYTEYRON, L.; LABARBE, B.; SAUCIER, C.; KLEBEK, H.; GLORIES, Y. 2002. Groupe National de travail sur les tanins oenologiques. premiers résultats. *Revue Francaise d'oenologie*. 196: 23-29.

LEVENGGOOD, J.; BOULTON, R. 2004. The variation in the color due to copigmentation in young Cabernet Sauvignon wines. In: *Red wine color. Revealing the mysteries*. Waterhouse, A.; Kennedy, J. (Eds), American Chemical Society. Washington DC. 35-52.

MERCURIO, M.; DAMBERGS, R.; HERDERICH, M.; SMITH, P. 2007. High Throughput Analysis of Red Wine and Grape Phenolics – Adaptation and Validation of Methyl Cellulose Precipitable Tannin Assay and Modified Somers Color Assay to a Rapid 96 Well Plate Format. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 55: 4651 – 4657.

MONAGAS, M.; BARTOLOMÉ, B.; GÓMEZ-CORDOVÉS, C. 2005a. Updated knowledge about the presence of phenolic compounds in wine. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 45: 85-118.

MONAGAS, M.; BARTOLOMÉ, B.; GÓMEZ-CORDOVÉS, C. 2005a.. Updated knowledge about the presence of phenolic compounds in wine. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 45: 85-118.

MOYER, R.; HUMMER, K.; FINN, C.; FREI, B.; WROLSTAD, R. 2002. Anthocyanins, phenolics and antioxidant capacity in diverse small fruits: *Vaccinium*, *Rubus* and *Ribes*. *J. Agric. Food Chem.* 50: 519-525.

MULLEN, W.; STEWART, A.; LEAN, M.; GARDNER, P.; DUTHIE, G.; CROZIER, A. 2002. Effect of freezing and storage on the phenolics, ellagitannins, flavonoids, and antioxidant capacity of red raspberries. *J. Agric. Food Chem.* 50(18): 5197-5201.

OBREQUE, E. 2003. Efecto de la microoxigenación sobre las características de un vino Cabernet sauvignon. Memoria Ingeniero Agrónomo. Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Agronómicas. Santiago, Chile. 84p.

ODEPA (OFICINA DE ESTUDIOS Y POLÍTICAS AGRARIAS). 2015. Panorama de la agricultura chilena. Recuperado en: http://www.odepa.cl/wp-content/files_mf/1468525798panorama2015Web.pdf. Leído el 05 de septiembre de 2016

ODEPA (Oficina de Estudios y Políticas Agrarias). 2013. Panorama nacional e internacional de jugo de frutas y hortalizas. Recuperado en: http://www.chilealimentos.com/2013/phocadownload/AProcesados_jugos_bebidas_vino/panorama%20nacional%20e%20internacional%20de%20jugo%20de%20frutas%20y%20hortalizas.pdf Consultado el: 05 de septiembre de 2016.

OIV (ORGANIZACIÓN INTERNACIONAL DE LA VIÑA Y EL VINO). 2009. Compendium of International Methods of Wine and Must Analysis (Vol. II). Ed. 2009. OIV. Paris, France. 419 p.

PALACIOS, A.; SUÀREZ, C.; HERAS, J. 2006. Manejo de la acidez del vino base cava desde el punto de vista organoléptico. *Acenología Revista de enología científica y profesional* 66 (Febrero). Disponible en: http://www.acenologia.com/ciencia74_3.htm. Leído el 29 de septiembre de 2011.

PARDO, F. 2001. Incidencia de la adición de distintos taninos enológicos en el color de los vinos tintos de Monastrell. *Alimentación, equipos y tecnología*. 20: 87-92.

PATRAS, A.; BRUNTON, N.; O'DONNELL, C.; TIWARI, B. 2010. Effect of thermal processing on anthocyanin stability in foods; mechanisms and kinetics of degradation. *Trends in Food Science & Technology*. 21: 3-11.

PEÑA-NEIRA, A.; CÁCERES, A.; PASTENES, C. 2007. Low molecular weight phenolic and anthocyanin composition of grape skins from cv. Syrah (*Vitis vinifera* L.) in the Maipo Valley (Chile): effect of clusters thinning and vineyard yield. *Food Science and Technology International*. 13: 153–158.

PÉREZ-MAGARIÑO, S.; GONZÁLEZ-SAN JOSÉ, M. 2002. Prediction of red and rose wine CIELab parameters from absorbance measurements. *Journal of Science of food and Agriculture*. 82(11): 1319-1324.

PÉREZ-MAGARIÑO, S.; GONZÁLEZ-SAN JOSÉ, M. 2003. Application of absorbance values used in wineries for estimating CIELAB parameters in red wines. *Food Chemistry*. 81: 301–306.

REED, J.D.; KRUEGER, C.G. and VESTLING, M.M. 2005. MALDI-TOF mass spectrometry of oligomeric food polyphenols. *Phytochemistry*. 66: 2248-2263.

REIN, M. J. 2005. Copigmentation reactions and color stability of berry anthocyanins (dissertation). EKT series 1331. University of Helsinki, Department of Applied Chemistry and Microbiology. Helsinki, Finlandia. 88 pp.

REIN, M.; HEINONEN, M. 2004. Stability and Enhancement of Berry Juice Color. *J. Agric. Food Chem*. 52(10): 3106-3114.

RODRÍGUEZ, P. 2006. Utilización de taninos enológicos y virutas de roble para mejorar y estabilizar el color de los vinos tintos. Tesis de grado. Departamento de Tecnología de alimentos, nutrición y bromatología. Universidad de Murcia.

SANTOS-BUELGA, C.; DE FREITAS, V. 2009. Influence of phenolics on wine organoleptic properties. En *Wine Chemistry and Biochemistry*; M.V. Moreno-Arribas, & M. C. Polo (Eds.), Springer. New York, USA. 529-560.

SANZ, M.; MARTÍNEZ-CASTRO, I.; MORENO-ARRIBAS, M. 2008. Identification of the origin of commercial enological tannins by the analysis of monosaccharides and polyalcohols. *Food Chem.* 111: 778-783.

SHAHIDI, F.; NACZK, M. 1995. *Food phenolics. Sources, Chemistry, Effects, Application.* Tecnmomic, Publishing CO., INC eds. Lancaster, Pennsylvania, USA.

SKEREDE, G.; WROLSTAD, R.; DURST, R. 2000. Changes in anthocyanins and polyphenolics during juice processing of highbush blueberries (*Vaccinium corymbosum* L.). *J. Food Sci.* 65: 357-364.

SOMERS, T.; POCOCK, K. 1990. . Evolution of Red Wines: III. Promotion of the Maturation Phase. *Vitis.* 29: 109-121.

TERRIER, N.; PONCET-LEGRAND, C.; CHEYNIER, V. 2009. Phenolic Compounds. Flavanols, Flavonols and Dihydroflavonols. In M. V. Moreno-Arribas, & M. C. Polo (Eds.), *Wine Chemistry and Biochemistry.* New York: Springer. 463-496.

TORSKANGERPOLL, K.; ANDERSEN, M. 2005. Colour stability of anthocyanins in aqueous solutions at various pH values. *Food Chemistry.* 89: 427–440.

USDA (United State Department of Agriculture), Agricultural Research Service. 2010. Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC) of Selected Foods, Release 2. Disponible en: <http://www.ars.usda.gov/nutrientdata/orac>. Leído el 21 de noviembre de 2011.

VIVAS, N. 1997. Composition et propriétés des préparation commerciales de tanins à usage. *Enologique Revue des Oenologues.* 23:15-21.

WANG, S.; LIN, H. 2000. Antioxidant Activity in Fruits and Leaves of Blackberry, Raspberry, and Strawberry Varies with Cultivar and Developmental Stage. *J. Agric. Food Chem.* 48(2): 140-146.

ZAMORA, F. 2003a. Elaboración y crianza del vino tintos: aspectos científicos y prácticos Madrid Vicente A. (Ed.), AMV Ediciones y Ediciones Mundi-Prensa Madrid, España. 225 p.

ZAMORA, F. 2003b. La copigmentación: un factor determinante del color del vino tinto. *Enólogos.* 26: 24-28.

ZOECKLEIN, B.; FUGELSANG, K.; GUMP, B.; NURY, F. 2001. Análisis y Producción de Vino; Acribia, Ed. Zaragoza, España. 634 p.

ANEXOS

Anexo I: Clasificación de compuestos fenólicos y algunos compuestos de ejemplo

NO FLAVONOIDES	Ácidos fenoles	ácidos y aldehídos benzoicos	ácido gálico ácido <i>p</i> -hidroxibenzoico ácido siríngico
		ácidos y aldehídos cinámicos	ácido cafeico ácido <i>p</i> -cumárico ácido ferúlico
	Estilbenos	resveratrol piceidos astringina	
FLAVONOIDES	Antocianos	cianidina peonidina delfinidina petunidina malvidina pelargonina	
	Flavan-3-oles	(+)-catequina (+)-galocatequina (-)-catequina (-)-galocatequina (+)-epicatequina (+)-epigalocatequina (-)-epicatequina (-)-epigalocatequina	
	Flavonoles	kaempferol quercetina miricetina isoramnetina	
	Flavanonoles	astilbina engeletina	
	Flavonas	apigenol luteolina	

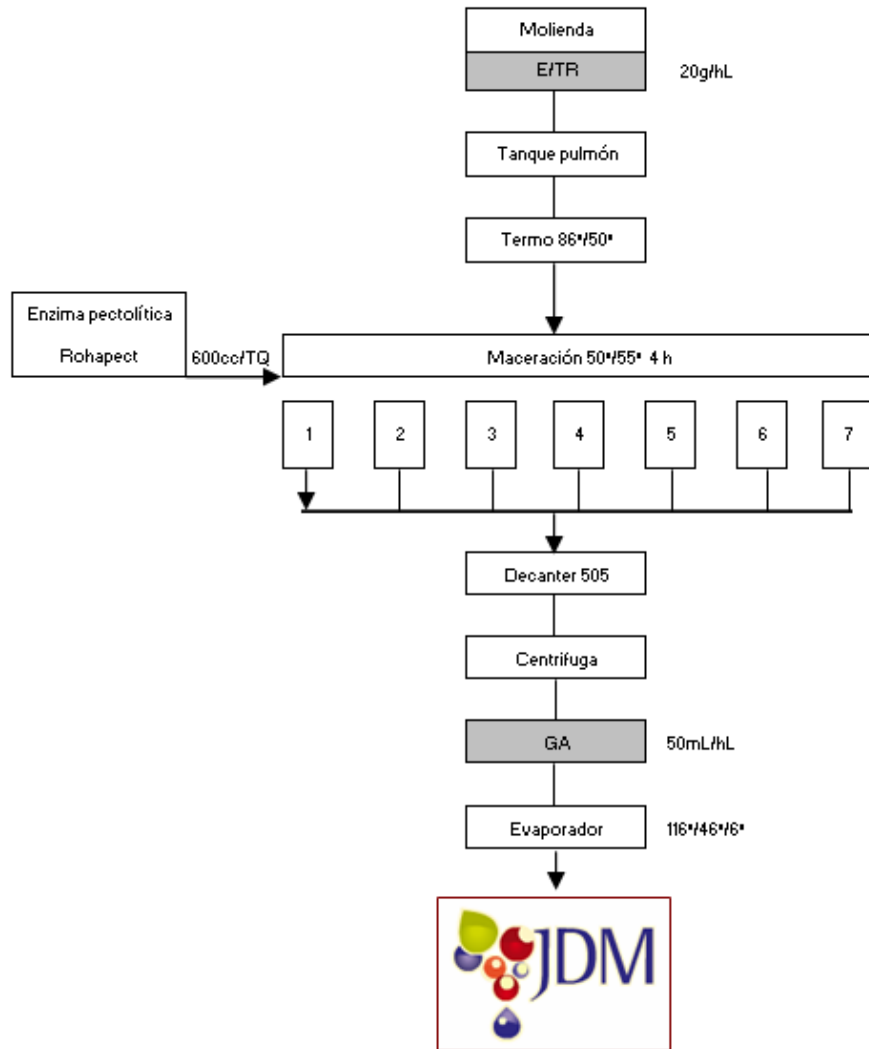
Fuente: Fleuriet y Macheix, 2003; Peña-Neira, 2003; Zamora 2003.

Anexo II: Resultados análisis inicial del jugo de uva antes de su concentración.

Ensayo	Mes	N	TR	E	V	PROM
15° Brix	Brix	13,40	16,30	14,40	16,80	15,23
	AT	18,32	12,60	12,21	13,00	14,03
	pH	3,11	3,25	3,27	3,26	3,22
	420nm	2,55	3,07	3,00	3,02	2,91
	520nm	7,03	8,05	8,31	8,09	7,87
	620nm	0,55	0,71	0,69	0,65	0,65
	IPT	3127	4464	4093	4595	4070
	A0,6	2833	4307	3582	4080	3701
	A3,5	498	906	952	929	821,25
	Taninos	21,25	49,10	68,50	88,00	56,71
19° Brix	Brix	17,10	18,30	18,30	18,40	18,50
	AT	11,78	12,46	11,86	12,54	12,10
	pH	3,27	3,25	3,27	3,24	3,26
	420nm	3,00	2,99	3,00	3,10	3,02
	520nm	8,35	8,09	8,35	8,42	8,24
	620nm	0,77	0,73	0,77	0,76	0,76
	IPT	4582	4465	4582	4555	4680
	A0,6	4511	4522	4511	4321	4600
	A3,5	1021	863	1021	998	1006
	Taninos	99,70	83,10	99,70	87,10	101,10

* AT: Acidez de titulación; IPT: Índice de polifenoles totales; A: Antocianos

Anexo III: Diagrama de flujo de la elaboración de los jugos concentrado de uva producidos por la empresa agroindustrial Jugos del Maipo



Anexo IV: Equipamiento y operaciones unitarias utilizadas en la producción y envasado de jugos concentrados de uva.

Equipamiento

- Despalilladora - moledora (Buccolini, mod. 50 TN, Argentina).
- Termo-macerador (Buccolini, mod. 18 TN, Argentina).
- Decanter (Westfalia, mod. CA 505-010, Alemania).
- Evaporador (Unipektin, mod. FDVS1155SU, Suiza).
- Prensa continua (Buccolini, mod. 600, Argentina).
- Filtro de presión (Dellatoffola, mod. NF20 y NF15, Italia).
- Evaporador (Buccolini, mod. EDP/2000, Argentina).

Operaciones Unitarias

- Recepción de la fruta: llegada de la fruta a la planta y aceptación para su posterior molienda.

- Despalillado y molienda: durante esta etapa la cosecha de uva es separada de su escobajo y su grano es roto. En el transcurso de esta etapa se realiza la aplicación de taninos en el caso que corresponda. Luego la molienda es reunida en un tanque pulmón el cual dosifica la molienda para la siguiente etapa de termo- maceración.

- Termo-maceración: en esta etapa la molienda pasa a través de un termo, donde el producto es sometido a un “shock” térmico, en el cual se alcanza una temperatura de 87°C por 11 segundos, para posteriormente ser enfriado por 20 segundos hasta una temperatura de 50/55°C. Luego el producto termo-macerado continua su proceso hacia la etapa de maceración, realizado en tanques de 15.000L por 4 horas, a una temperatura entre 50 y 55°C, durante las cuales se realizan agitaciones de 3 a 5

minutos cada una hora. Además durante este proceso se realiza la aplicación de enzimas pectolíticas Rohapect en dosis de 200 cm³/ tanque/hora ó 1,5 cm³ / hL/ hora.

- Decantación y centrifugación: el producto ya macerado pasa por un decantador, separándose así, el orujo del jugo. Jugo que presenta una eficiencia aproximada de un 62% y un nivel de sólidos menor al 8%. Posteriormente, el jugo de uva, es centrifugado para obtener un producto con un nivel de sólidos menor a 2%. Luego del proceso de centrifugación, aplica la goma arábica en el caso que corresponda, siguiendo con las especificaciones de uso recomendadas por los elaboradores.

- Filtración y pre concentración: durante este proceso se realiza una limpieza total de producto utilizando un filtro de presión, para luego ingresar éste al evaporador, sin embargo este proceso no se llevo a cabo para evitar el retiro de los productos aplicados. El evaporador funciona con vapor y frío y consigue una evaporación parcial del agua retenida en el jugo, pre-concentrando inicialmente el producto a 40°Brix aproximadamente a una temperatura de 45°C para luego ser enfriada, este funciona a una temperatura de 100 a 120 °C, con un recorrido total del circuito de entre 7 a 10 minutos. En el estudio no se realizó una pre-concentración por tiempos industriales.

- Concentración: en esta fase se evapora gran parte del agua contenida en el producto natural siendo sometido a una evaporación mediante un evaporador, en que el producto sale del equipo con 68/69 °Brix, obteniéndose el jugo concentrado de uva. Luego pasa por un equipo intercambiador de placas y un equipo de frío para bajar su temperatura hasta 7°C.

APÉNDICES

Apéndice I: Absorbancia a 420, 520 y 620 nm

Apéndice I. Absorbancia a 420, 520 y 620 nm.

Tratamiento	Mes	15 °Brix			19 °Brix		
		420	520	620	420	520	620
N	abr	0,073	0,143	0,022	0,110	0,205	0,038
	may	0,060	0,110	0,019	0,085	0,150	0,029
	jun	0,060	0,112	0,019	0,088	0,153	0,031
	jul	0,060	0,115	0,020	0,090	0,158	0,033
	ago	0,057	0,110	0,019	0,086	0,157	0,031
	Promedio	0,062	0,118	0,020	0,092	0,164	0,032
TR	abr	0,073	0,139	0,022	0,124	0,225	0,043
	may	0,060	0,109	0,019	0,098	0,166	0,034
	jun	0,059	0,107	0,019	0,103	0,170	0,039
	jul	0,064	0,118	0,021	0,102	0,166	0,038
	ago	0,061	0,118	0,020	0,099	0,173	0,037
	Promedio	0,063	0,118	0,020	0,105	0,180	0,038
E	abr	0,076	0,149	0,022	0,121	0,228	0,040
	may	0,062	0,112	0,020	0,092	0,159	0,031
	jun	0,063	0,115	0,020	0,093	0,159	0,032
	jul	0,066	0,124	0,025	0,094	0,165	0,032
	ago	0,063	0,121	0,021	0,092	0,165	0,027
	Promedio	0,066	0,124	0,022	0,098	0,175	0,033
V	abr	0,082	0,141	0,028	0,122	0,227	0,041
	may	0,065	0,108	0,024	0,098	0,167	0,034
	jun	0,068	0,112	0,026	0,100	0,169	0,037
	jul	0,069	0,117	0,025	0,099	0,170	0,036
	ago	0,065	0,113	0,025	0,091	0,159	0,033
	Promedio	0,070	0,118	0,026	0,102	0,178	0,036

* Cada valor corresponde al promedio \pm desviación estándar (n = 2).

