

Improvement of the anthocyanic extraction for the elaboration of blueberry vinegar

Angie Gil-Calderón, Ing.^{1,*}; Maickol Cano-Otañe, Ing.¹; Ricardo Vejarano, Dr.²

¹ Ingeniería Agroindustrial. Universidad Privada del Norte (UPN), Trujillo, Perú. angiegilcal@gmail.com

² Dirección de Investigación, Innovación y Responsabilidad Social. Universidad Privada del Norte (UPN), Trujillo, Perú. ricardo.vejarano@upn.edu.pe

*Abstract– The consumption of foods with high contents of anthocyanins, such as blueberry (*Vaccinium corymbosum*), can help to prevent various diseases due to its antioxidant and anti-inflammatory capacity. Being a perishable product and with considerable non-exportable surpluses, an alternative of use and consumption would be through derivate products, for example, as vinegar. The aim of the research was to evaluate the effect of the application of sugar enrichment in the blueberry-must and application of microwave radiation on the extraction of anthocyanins in the base wine during alcoholic fermentation, as a previous stage for acetification of the vinegar. Among the main results, improvements in the alcoholic degree in the base wines were obtained through sugar enrichment, reaching increases of up to 100% respect to the control wine, while no significant effect of the application of microwave radiation in the extraction of anthocyanins was demonstrated. On the other hand, in the vinegars, reductions in the content of total monomeric anthocyanins (AMT) were obtained with respect to the base wine, up to 69%, which indicates the degradation of anthocyanins during the acetic fermentation. Based on the obtained results, the extraction of anthocyanins can be improved through sugary enrichment prior to alcoholic fermentation, allowing improvements in the anthocyanin content in the vinegar.*

Keywords- blueberry, blueberry vinegar, sugar enrichment, microwave radiation.

Digital Object Identifier: (only for full papers, inserted by LACCEI).
ISSN, ISBN: (to be inserted by LACCEI).
DO NOT REMOVE

Improvement of the anthocyanic extraction for the elaboration of blueberry vinegar

Mejora de la extracción antociánica para la elaboración de vinagre de arándano

Angie Gil-Calderón, Ing.^{1,*}; Maickol Cano-Otañe, Ing.¹; Ricardo Vejarano, Dr.²

¹ Ingeniería Agroindustrial. Universidad Privada del Norte (UPN), Trujillo, Perú. angiegilcal@gmail.com

² Dirección de Investigación, Innovación y Responsabilidad Social. Universidad Privada del Norte (UPN), Trujillo, Perú. ricardo.vejarano@upn.edu.pe

Abstract– *The consumption of foods with high contents of anthocyanins, such as blueberry (*Vaccinium corymbosum*), can help to prevent various diseases due to its antioxidant and anti-inflammatory capacity. Being a perishable product and with considerable non-exportable surpluses, an alternative of use and consumption would be through derivate products, for example, as vinegar. The aim of the research was to evaluate the effect of the application of sugar enrichment in the blueberry-must and application of microwave radiation on the extraction of anthocyanins in the base wine during alcoholic fermentation, as a previous stage for acetification of the vinegar. Among the main results, improvements in the alcoholic degree in the base wines were obtained through sugar enrichment, reaching increases of up to 100% respect to the control wine, while no significant effect of the application of microwave radiation in the extraction of anthocyanins was demonstrated. On the other hand, in the vinegars, reductions in the content of total monomeric anthocyanins (AMT) were obtained with respect to the base wine, up to 69%, which indicates the degradation of anthocyanins during the acetic fermentation. Based on the obtained results, the extraction of anthocyanins can be improved through sugary enrichment prior to alcoholic fermentation, allowing improvements in the anthocyanin content in the vinegar.*

Keywords- blueberry, blueberry vinegar, sugar enrichment, microwave radiation.

Resumen– *El consumo de alimentos ricos en antocianinas como el arándano (*Vaccinium corymbosum*), puede ayudar a prevenir diversas enfermedades debido a su capacidad antioxidante y antiinflamatoria. Al ser un producto perecedero y con considerables excedentes no exportables, una alternativa de uso sería a través de la producción de derivados como el vinagre. El objetivo de la investigación fue evaluar el efecto de la aplicación de enriquecimiento azucarado del mosto y de la aplicación de radiación microondas sobre la extracción de antocianinas en la etapa de fermentación alcohólica para elaborar el vino base, como etapa previa a la acetificación del vinagre. Entre los principales resultados, se obtuvieron mejoras en el grado alcohólico en los vinos base mediante el enriquecimiento azucarado, alcanzando incrementos de hasta el 100% respecto al vino control, mientras que no se observó*

un efecto significativo de la aplicación de radiación microondas en la extracción de antocianinas. Por su parte en los vinagres obtenidos se obtuvieron reducciones en el contenido de antocianinas monoméricas totales (AMT) respecto al vino base, de hasta el 69%, lo que indica la degradación de antocianinas durante la fermentación acética. En base a los resultados obtenidos, se puede mejorar la extracción de antocianinas mediante el enriquecimiento azucarado previo a la fermentación alcohólica, permitiendo mejoras en el contenido antociánico en el vinagre obtenido.

Palabras clave- arándano, vinagre de arándano, enriquecimiento azucarado, radiación microondas.

I. INTRODUCCIÓN

En los últimos años viene creciendo la demanda de alimentos que además de nutrir aporten otros beneficiosos para la salud. De especial interés son los alimentos ricos en antocianinas, que además de conferir el color característico, poseen una alta capacidad antioxidante y antiinflamatoria, ayudando a la protección frente a diversas enfermedades [1]–[4].

Entre las enfermedades con mayor prevalencia en Perú se encuentran el cáncer [5], con un diagnóstico anual de más de 66 mil nuevos casos, y cuyo incremento se atribuye a factores de riesgo como el consumo de tabaco, consumo de alcohol, sedentarismo, sobrepeso y obesidad, así como a una baja ingesta de alimentos con poder antioxidante, principalmente frutas y hortalizas. Otras enfermedades de alta incidencia en Perú son las enfermedades cardiovasculares (ECV) [5], con un 16% de la población peruana mayor de 20 años padeciéndolas y cerca de 2 mil personas falleciendo al año por alguna clase de insuficiencia cardíaca [6].

Como estrategia para reducir la incidencia de estas enfermedades se ha propuesto el consumo de alimentos con alto contenido de compuestos antioxidantes y antiinflamatorios, siendo uno de ellos el arándano [4]. Dentro de las sustancias con capacidad antioxidante que se puede encontrar en el arándano se encuentran el β -caroteno, vitamina C, compuesto fenólicos, ácido fólico, entre otros [7], [8], siendo mayoritarios los compuestos fenólicos, principalmente las antocianinas,

Digital Object Identifier: (only for full papers, inserted by LACCEI).
ISSN, ISBN: (to be inserted by LACCEI).
DO NOT REMOVE

confiriendo a esta fruta una alta demanda en el mercado internacional, siendo catalogado como superalimento [9], resaltando su bajo contenido calórico y alto contenido de fibra, potasio y vitaminas A y C. Respecto a su contenido de azúcares totales (glucosa y fructuosa principalmente), este oscila en un rango de 10-14%, de los cuales cerca de un 95% corresponde a azúcares reductores. El principal ácido presente es el ácido cítrico, seguido del málico. Además, posee un alto contenido de antocianinas, en torno a 2.35 g/kg peso fresco [10], responsables de brindar color al fruto, siendo el contenido fenólico total cercano al 4 g/kg.

Respecto a la disponibilidad de esta fruta, en el Perú, una de las regiones con mayor producción de arándano es La Libertad, donde se localiza un considerable número de empresas dedicadas a su producción y exportación. Otras regiones que producen esta baya son Lambayeque, Ica, Lima, Áncash y Cajamarca. Del total de la producción nacional, cerca del 80 al 85% es exportado como arándano fresco, mientras que entre un 10 y 12% se comercializa como arándano congelado, y un remanente que representa en muchos casos hasta un 10%, denominado “descarte”, es comercializado en los mercados locales a menores precios. Este descarte no se exporta debido a que no cumple con determinadas especificaciones para el mercado externo [11], [12].

Para muchas de las empresas exportadoras es más sencillo vender este descarte en el mercado local, donde son consumidos en forma fresca y en la preparación de postres y bebidas. No obstante, tanto el arándano fresco como sus productos procesados son perecederos. Otras alternativas que permitan aprovechar las propiedades del arándano incluyen la transformación en pasas de arándano, elaboración de jugos, mermeladas, bebidas alcohólicas y otros derivados.

I.A. El vinagre

Este producto tiene varias definiciones de acuerdo con diferentes entidades, sin embargo, todas coinciden en que es producto de la fermentación acética de una bebida alcohólica, es decir que se elabora a partir de un vino base, cuyo proceso de elaboración comprende dos tipos de fermentación: alcohólica y acética, ambas de manera secuencial.

El vinagre, de acuerdo con el Real Decreto Español 661/2012 debe tener como mínimo 50 g/L de acidez total. En su elaboración no está permitida la adición de ácido acético exógeno. Además, el vinagre debe provenir de materias primas de origen agrario, que previamente han sido sometidas a fermentaciones alcohólica y acética, es decir que primero debe obtenerse un vino base u otra bebida alcohólica, a la cual no se le debe adicionar etanol exógeno.

a. Fermentación alcohólica: Elaboración del vino base

En la fermentación alcohólica los azúcares se convierten en etanol en condiciones anaeróbicas, mientras que en la fermentación acética el etanol se oxida a ácido acético en

aerobiosis [13]. Los responsables de la fermentación alcohólica son las levaduras, siendo *Saccharomyces cerevisiae* la especie más usada. En este proceso se obtienen, además del etanol y CO₂, otros compuestos que contribuyen al sabor y aroma del vino base [14]–[16]. Esta es la etapa en la cual se puede lograr la mayor extracción de los compuestos de interés desde la fruta. En el caso de la fermentación del mosto de arándano, se logra la extracción de compuestos fenólicos, principalmente antocianinas, gracias a la acción lixivante del etanol [17].

b. Fermentación acética: Elaboración del vinagre

La conversión del etanol, obtenido en la etapa anterior, hasta ácido acético inicia con la oxidación del etanol en acetaldehído en presencia de la enzima alcohol deshidrogenasa [18]. Esta oxidación es llevada a cabo por bacterias acéticas, principalmente *Acetobacter* y *Gluconacetobacter* [13], [19], gracias a la presencia de la enzima acetaldehído deshidrogenasa, que cataliza la conversión del alcohol etílico en ácido acético.

c. Beneficios del vinagre sobre la salud: perfil bioactivo

En la Tabla 1 se resume algunos potenciales beneficios para el organismo reportados respecto al consumo de vinagre.

TABLA 1
BENEFICIOS DEL VINAGRE EN LA SALUD

| Beneficio | Fuente |
|---|------------|
| Efectos antidiabéticos y otras propiedades terapéuticas. | [13] |
| Prevención de la formación de peróxidos y su asimilación en el tracto digestivo. | [20] |
| Reducción de digestión completa de carbohidratos complejos, aumento de absorción de glucosa por los tejidos, y reducción de glucosa en sangre. | [21] |
| Mejora la función del sistema digestivo. Estimulación del apetito. Antioxidante. Recuperación del agotamiento. Regulación de la presión arterial. | [21], [22] |
| Prevención de la peroxidación de lípidos, hipertensión, hiperlipidemia, inflamación, daños del ADN y cáncer. | [23], [24] |
| Mejora de la sensibilidad a la insulina. | [25] |
| Prevención de enfermedades cardiovasculares. | [26] |
| Mejora de la homeostasis de lípidos y reducción del nivel de colesterol <i>in vivo</i> . | [27] |

I.B. Estrategias tecnológicas para mejorar el perfil bioactivo en vinagres

Entre las ventajas de las diferentes estrategias tecnológicas reportadas en la bibliografía, se incluyen la mayor extracción de antocianinas y otros compuestos fenólicos. De las estrategias aplicables, destacan la aplicación de correcciones químicas a nivel de mostos (jugo), o la aplicación de tratamientos físicos

que permitan una mayor extracción de determinados compuestos durante la elaboración del vino base.

El enriquecimiento azucarado del mosto o chaptalización consiste en suplementar el medio fermentativo con azúcares exógenos, previo a la fermentación alcohólica [28], con lo cual además de incrementar el grado alcohólico, se puede mejorar la extracción de antocianinas debido a su solubilidad en el etanol formado durante la fermentación alcohólica [17].

Por su parte, las microondas (MW) son parte del espectro electromagnético con un rango de frecuencias entre 0.3-300 GHz. Los sistemas comerciales de microondas utilizan frecuencias de 2.45 GHz. Esta radiación puede ser utilizada para la extracción de compuestos de diferentes matrices, proceso conocido como extracción asistida por microondas, el cual se basa en el paso de las microondas a través de un medio, el cual absorbe la radiación, convirtiendo la energía absorbida del microondas en energía térmica [29]. Las microondas calientan el líquido contenido dentro de las células aumentando la presión dentro de estas células, y, por consiguiente, producen la degradación de la pared celular y porosidad. Esta estrategia tecnológica ha demostrado ventajas en la extracción de compuestos fenólicos de diferentes matrices [30].

En tal sentido, el objetivo de la investigación fue evaluar el efecto de la aplicación de enriquecimiento azucarado del mosto y de la aplicación de radiación microondas sobre la extracción de antocianinas en la etapa de fermentación alcohólica para elaborar el vino base, como etapa previa para la elaboración del vinagre.

II. MATERIALES Y MÉTODOS

Le metodología y resultados reportados en el presente artículo se basan en el trabajo de tesis titulado “Vinagre de arándano: mejora del perfil bioactivo mediante aplicación de estrategias tecnológicas previo a la etapa de fermentación alcohólica” de la Universidad Privada del Norte [31].

II.A. Elaboración del vino base

El arándano (*Vaccinium corymbosum*) cv. Ventura fue lavado y estrujado para obtener el jugo (mosto). Se midió el contenido de sólidos solubles (°Brix) en el mosto obtenido mediante un refractómetro digital Atago PAL-1 (Japón).

a. Efecto del enriquecimiento azucarado en el grado alcohólico

Se evaluó el efecto del enriquecimiento azucarado (chaptalización) del jugo de arándano mediante la adición de sacarosa comercial, aumentando el contenido de azúcares fermentables hasta 22.6 °Brix, y por tanto incrementar la producción de etanol durante la fermentación alcohólica, mejorando la extracción de antocianinas [32], respecto al vino control (elaborado de mosto de arándano sin chaptalizar o control: 12 °Brix). En esta etapa, ambos mostos (mosto control y mosto chaptalizado) fueron fermentados con dos cepas de la

levadura *Saccharomyces cerevisiae*: la cepa 7VA, proporcionada por el laboratorio de Tecnología de Alimentos de la Universidad Politécnica de Madrid (España) y caracterizada como una levadura de alto poder fermentativo [33], y la cepa comercial Safale US-05 (Fermentis, Francia). Ambas levaduras fueron inoculadas a razón del 10% del volumen de mosto, con una densidad celular en torno a 10^8 UFC/mL. Las fermentaciones se llevaron a cabo en recipientes de 3 litros, con volumen de operación del 70% de su capacidad a temperatura en torno a 20 °C.

Se siguió el progreso de las fermentaciones mediante densimetría hasta densidad constante, tras lo cual se procedió a eliminar las cáscaras del arándano y a refrigerar los vinos a 4 °C para facilitar la sedimentación de los sólidos e inhibir a las levaduras.

Se utilizó el diseño bifactorial mostrado en la Tabla 2, teniendo como variable de respuesta (dependiente) el grado alcohólico, determinado mediante destilación de 100 mL de muestra y posterior medición densimétrica del destilado de acuerdo con el Método Oficial MA-AS312-01A [34].

TABLA 2
DISEÑO BIFACTORIAL APLICADO

| Cepa de levadura | Contenido de azúcares | |
|------------------|-----------------------------|----------------------------------|
| | Mosto control 12.0 °Brix | Mosto chaptalizado 22.6 °Brix |
| 7VA | A ₁ | A-ch ₁ |
| | A ₂ | A-ch ₂ |
| Safale US-05 | B ₁ | B-ch ₁ |
| | B ₂ | B-ch ₂ |

b. Efecto de la radiación microondas en la extracción de antocianinas

Se aplicó radiación microondas sobre las bayas de arándano a fin de mejorar la extracción de antocianinas durante la fermentación alcohólica [29], [30], trabajando a una potencia de 70 Watts, previamente establecida como la dosis sin efectos perjudiciales sobre la baya (pérdida de color y ruptura), con tiempos de tratamiento de 30 y 60 segundos. Los jugos obtenidos del arándano control (sin irradiar) y del arándano irradiado, fueron posteriormente fermentados con la levadura cuyos mejores resultados se obtuvieron en la etapa anterior (cepa 7VA).

Se utilizó el diseño completamente al azar (DCA), mostrado en la Tabla 3, teniendo como variables de respuesta (dependientes) el contenido de AMT, fenoles totales, intensidad colorante y capacidad antioxidante. Las antocianinas monoméricas totales (AMT) fueron cuantificadas mediante el método del pH-diferencial [35], la intensidad colorante se determinó en base al método OIV MA-AS2-07B [34]. El contenido de fenoles totales se determinó de acuerdo con el

método descrito por Espinoza et al. [36], mientras que la capacidad antioxidante se determinó en base al método DPPH (ácido 1,1-difenil-2-picrilhidracilo), adaptando las metodologías desarrolladas por Brand-Williams et al. [37] para expresar la cantidad de compuestos antioxidantes como ácido ascórbico, y por Molyneux [38] para expresar como porcentaje de inhibición del radical DPPH.

TABLA 3
DISEÑO FACTORIAL APLICADO

| Repetición | Tiempo de irradiación sobre las bayas de arándano | | |
|------------|---|-----------------------|-----------------------|
| | No irradiado | 30 segundos | 60 segundos |
| 1 | A-ch ₁ | A-ch+30s ₁ | A-ch+60s ₁ |
| 2 | A-ch ₂ | A-ch+30s ₂ | A-ch+60s ₂ |

II.B Elaboración de vinagre

Una vez obtenidos los vinos base, se procedió a realizar la fermentación acética mediante la adición de 2 mL de un cultivo acético a base de *Acetobacter* sp. y *Gluconacetobacter* sp. (proveído desde el laboratorio de Tecnología de Alimentos de la Universidad Politécnica de Madrid, España) con una densidad celular en torno a 10⁶ UFC/mL. La fermentación se realizó empleando el método Orleans o en superficie (método lento) a temperaturas entre 24-26 °C, controlando el contenido de acidez total en el tiempo en base al método OENO 52/2000 [39].

III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

III.A. Efecto del enriquecimiento azucarado en el grado alcohólico

En la Tabla 4 se muestra el grado alcohólico de los vinos base elaborados a partir del mosto de 12 °Brix.

TABLA 4
GRADO ALCOHÓLICO EN LOS VINOS A PARTIR DE MOSTO DE 12 °BRIX (MEDIAS ± DESVIACIONES ESTÁNDAR)

| Vino | Grado alcohólico (% v/v) |
|----------------------------------|--------------------------|
| A (levadura 7VA) | 5.52 ± 0.38 a |
| B (levadura Safale US-05) | 5.34 ± 0.23 a |

Mismas letras en la columna indican que no existe diferencia significativa (LSD de Fisher).

En la Figura 1 se muestra la evolución de la acidez total obtenida para los vinagres elaborados a partir de los vinos A y B. Se aprecia que, durante la fermentación acética, los vinagres A (obtenidos a partir de los vinos producidos con la levadura 7VA), alcanzaron mayores niveles de acidez que los vinagres B

(producidos a partir del vino de la levadura Safale US-05), de aproximadamente 35 y 39 g/L de ácido acético a los 49 días

Ello sugiere que, en la etapa de fermentación acética, las bacterias acéticas han podido ser afectadas por metabolitos producidos durante la fermentación alcohólica con la levadura Safale US-05 (vino B), lo cual explicaría la menor producción de ácido acético en los vinagres B. Se conoce que algunas cepas de *S. cerevisiae* se caracterizan por la producción de determinadas toxinas, fenómeno conocido como factor *killer* [40]. Estas levaduras *killer* producen y excretan hacia el vino, glicoproteínas tóxicas (toxinas) que pueden inhibir a otros microorganismos sensibles [41] que tengan contacto posterior con el vino base. En el presente estudio, posiblemente las bacterias acéticas añadidas al vino B se hayan visto afectadas.

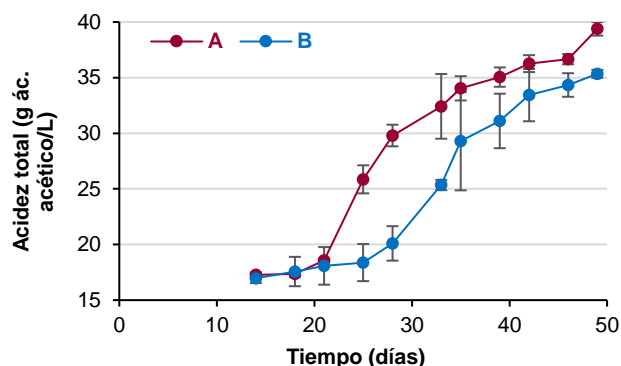


Fig. 1 Evolución de la acidez total en los vinagres A y B. Barras en vertical representan desviación estándar.

En la Tabla 5 se presenta el grado alcohólico de los vinos obtenidos a partir del enriquecimiento azucarado de los mostos A y B (12 °Brix), hasta alcanzar 22.6 °Brix (A-ch y B-ch).

Se observan diferencias entre los vinos obtenidos a partir de mosto chaptalizado respecto a los vinos control, mostrando grados alcohólicos mayores a 10.2 %v/v, y por tanto un mayor potencial para incrementar la extracción de antocianinas [32].

TABLA 5
GRADO ALCOHÓLICO EN LOS VINOS OBTENIDOS CON LAS LEVADURAS 7VA (A) Y SAFALE US-05 (B) (MEDIAS ± DESVIACIONES ESTÁNDAR)

| Vino | Grado alcohólico (% v/v) |
|--------------------------|--------------------------|
| A (12.0 °Brix) | 4.4 ± 0.40 a |
| A-ch (22.6 °Brix) | 10.2 ± 0.05 b |
| B (12.0 °Brix) | 3.8 ± 0.67 a |
| B-ch (22.6 °Brix) | 10.7 ± 0.62 b |

Diferentes letras en la columna indican diferencia significativa respecto al contenido de azúcares (LSD de Fisher).

En la Figura 2 se muestra la evolución de la acidez total obtenida para los respectivos vinagres A, A-ch, B y B-ch. Se observa que la acidez mayor se alcanza con los vinos obtenidos de los mostos chaptalizados (A-ch y B-ch), alcanzando más

rápidamente los 50 g/L de acidez total en el vinagre A-ch, elaborado a partir del vino chaptalizado fermentado con la levadura 7VA (57 días), de manera similar a lo observado en la Figura 1. Si bien en el vinagre B-ch se logra alcanzar el umbral de acidez total de 50 g/L (63 días), el análisis estadístico no muestra diferencia con el vinagre A-ch. De modo que más conveniente para elaborar los vinagres sería elaborar el vino base con la levadura 7VA.

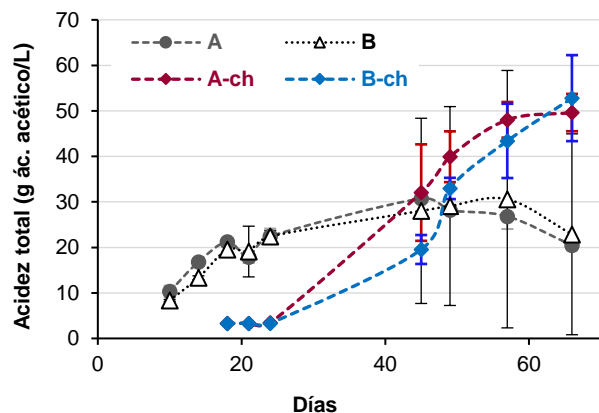


Fig. 2 Evolución de la acidez total en los vinagres A, A-ch, B y B-ch hasta alcanzar una acidez total de 50 g/L. Barras en vertical representan desviación estándar.

III.B. Efecto de la radiación microondas sobre la extracción de antocianinas

a. Elaboración de vinos

En la Tabla 6 se presenta la intensidad colorante y antocianinas monoméricas totales (AMT) obtenidos para los vinos elaborados mediante chaptalización (A-ch), y mediante tratamiento de las bayas con radiación microondas por 30 y 60 segundos y posterior chaptalización de los mostos a 22.6 ° Brix (A-ch+30s y A-ch+60s).

TABLA 6
INTENSIDAD COLORANTE (IC) Y ANTOCIANINAS MONOMÉRICAS TOTALES (AMT) EN LOS VINOS OBTENIDOS TRAS LA FERMENTACIÓN (MEDIAS ± DESVIACIONES ESTÁNDAR).

| Vino | IC | AMT (mg/l) |
|----------|----------------|-----------------|
| A | 0.96 ± 0.09 b | 61.23 ± 6.30 b |
| A-ch | 1.23 ± 0.10 a | 88.07 ± 17.71 a |
| A-ch+30s | 1.12 ± 0.01 a | 83.96 ± 11.81 a |
| A-ch+60s | 1.08 ± 0.09 ab | 93.51 ± 4.06 a |

Letras diferentes en la misma columna indican diferencia significativa (LSD de Fisher).

Estudios previos mencionan que la aplicación de tratamientos físicos como la radiación microondas permite una

mayor ruptura de las paredes celulares del hollejo [29], [30], [42], permitiendo que, tras el estrujado de la baya se incremente la migración de las antocianinas hacia el mosto/vino durante la fermentación alcohólica. No obstante, en base a los resultados obtenidos (Tabla 6), no se observa diferencias significativas en el contenido de AMT en los tratamientos de aplicación de radiación microondas (A-ch+30s y A-ch+60s), respecto al tratamiento sin irradiación de las bayas (A-ch).

Una posible explicación estaría en el hecho de que en los estudios reportados [30], [42] utilizaron radiación microondas sobre piel de uva estrujada en contacto con el medio lixivante (mosto), a diferencia del presente estudio donde la baya de arándano fue tratada sin estrujar (entera). Una posible mejora para estudios futuros sería irradiar las bayas de arándano ya estrujadas, a fin de facilitar la extracción de los compuestos fenólicos, considerando que, al pasar la radiación microondas por el medio líquido (mosto), se convierte en energía térmica, incrementando la temperatura del líquido, y por tanto la presión dentro de las células, produciendo una mayor ruptura y liberación de fenoles [29].

El fenómeno también es evidente en la Figura 3, donde el contenido de fenoles totales de las bayas con radiación microondas por 30 y 60 segundos y posterior chaptalización de los mostos a 22.6 ° Brix (A-ch+30s y A-ch+60s) no muestran diferencia significativa con el vino elaborado mediante chaptalización y sin irradiación de las bayas (A-ch).

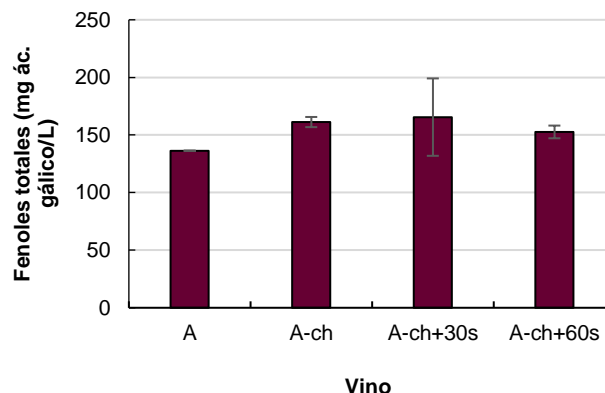


Fig. 3 Fenoles totales de los vinos A, A-ch, A-ch+30s y A-ch+60s (mg ácido gálico/L).

En la Figura 4, se presenta la capacidad antioxidante de los vinos A, A-ch, A-ch+30s y A-ch+60s, expresados como porcentaje de inhibición del radical DPPH (Figura 4a) y como equivalentes de ácido ascórbico mg/L (Figura 4b).

Se observa una disminución de la capacidad antioxidante en los vinos obtenidos de bayas de arándano irradiadas por 60 segundos (A-ch+60s), lo que indicaría un efecto degradante de los compuestos fenólicos con el mayor tiempo de exposición de las bayas a la radiación.

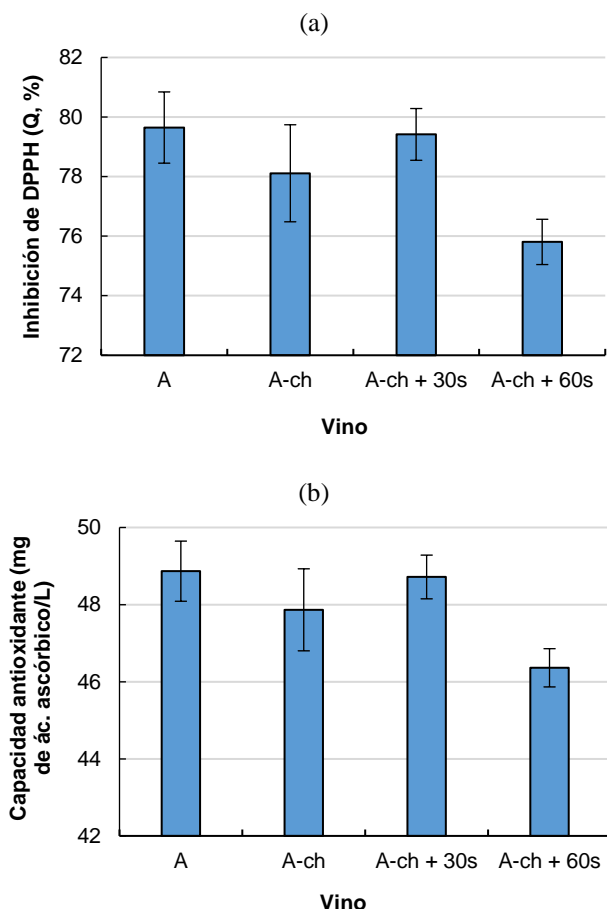


Fig. 4 Capacidad antioxidante de los vinos A, A-ch, A-ch+30s y A-ch+60s. (a) porcentaje de inhibición del radical DPPH, y (b) equivalentes de ácido ascórbico mg/L.

b. Elaboración de vinagres

En la Figura 5 se muestra la acidez total alcanzada en los vinagres elaborados A-ch, A-ch+30s y A-ch+60s.

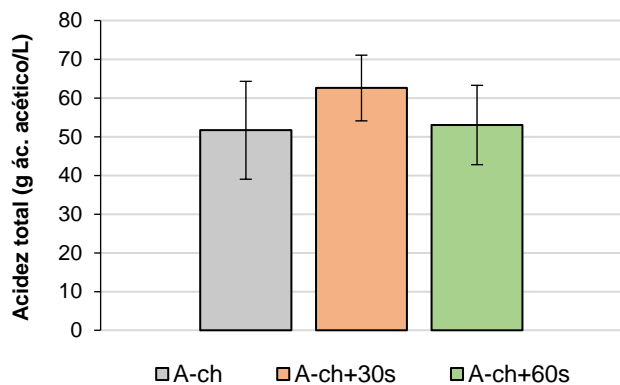


Fig. 5 Acidez total (g/L de ácido acético) alcanzada en los vinagres A-ch, A-ch+30s y A-ch+60s, tras 50 días de fermentación acética.

En la Tabla 7 se presenta la intensidad colorante y antocianinas monoméricas totales (AMT) obtenidos para los vinagres A-ch, A-ch+30s y A-ch+60s, observando que el paso de vino (Tabla 6) a vinagre (Tabla 7) reduce el contenido de AMT entre un 54-69%.

En concordancia con los resultados obtenidos, diversos estudios de elaboración de vinagre de frutas reportan que el proceso de acetificación disminuye la concentración de compuestos fenólicos [43]–[45]. Entre las posibles explicaciones a este fenómeno estaría la actividad antocianasa (antocianina- β -glucosidasa) observada en algunas bacterias, por ejemplo en *Oenococcus oeni* [46], degradando las antocianinas [47]. Otra posible explicación sería la polimerización de las antocianinas de bajo peso molecular, especialmente cuando su concentración alcanza valores altos [48], generando una disminución de la concentración de las formas monoméricas [49].

TABLA 7
INTENSIDAD COLORANTE (IC) Y ANTOCIANINAS MONOMÉRICAS TOTALES (AMT) EN LOS VINAGRES OBTENIDOS (MEDIAS \pm DESVIACIONES ESTÁNDAR).

| Vinagre | IC | AMT (mg/l) |
|----------|-------------------|---------------------|
| A-ch | 1.21 \pm 0.32 a | 26.91 \pm 13.3 a |
| A-ch+30s | 1.26 \pm 0.00 a | 38.62 \pm 4.78 a |
| A-ch+60s | 1.33 \pm 0.15 a | 34.69 \pm 20.85 a |

Letras diferentes en la misma columna indican diferencia significativa (LSD de Fisher).

En la Figura 6 se presenta el contenido total de fenoles obtenidos en los vinagres A-ch, A-ch+30s y A-ch+60s.

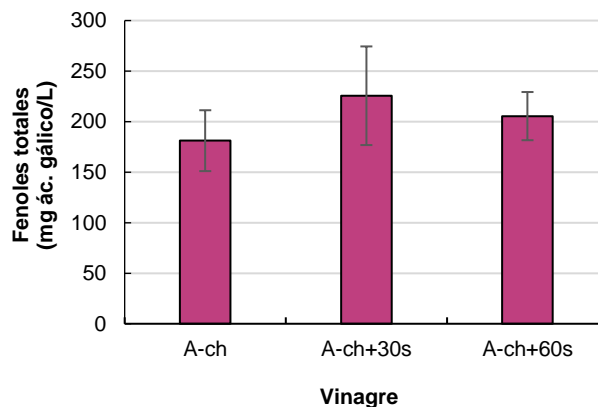


Fig. 6 Contenido de fenoles totales en los vinagres A-ch, A-ch+30s y A-ch+60s.

En la Figura 7, se presenta la capacidad antioxidante de los vinagres A-ch, A-ch+30s y A-ch+60s, expresados como porcentaje de inhibición del radical DPPH (Figura 7a) y como equivalentes de ácido ascórbico mg/L (Figura 7b).

De acuerdo con los resultados mostrados en la Tabla 7, aparentemente la aplicación de microondas sobre las bayas de arándano no tuvo efecto sobre el contenido de AMT en los vinagres A-ch+30s y A-ch+60s respecto al vinagre elaborado a partir de arándano no irradiado (A-ch). Sin embargo, en la Figura 7 se observa una disminución en la capacidad antioxidante en el vinagre elaborado a partir de arándano irradiado, fenómeno que estaría relacionado con el efecto sobre la estabilidad de las antocianinas frente a la radiación [50], [51], de modo que la dosis y el tiempo de irradiación son dos parámetros importantes durante la aplicación de microondas para mejorar la extracción de compuestos fenólicos.

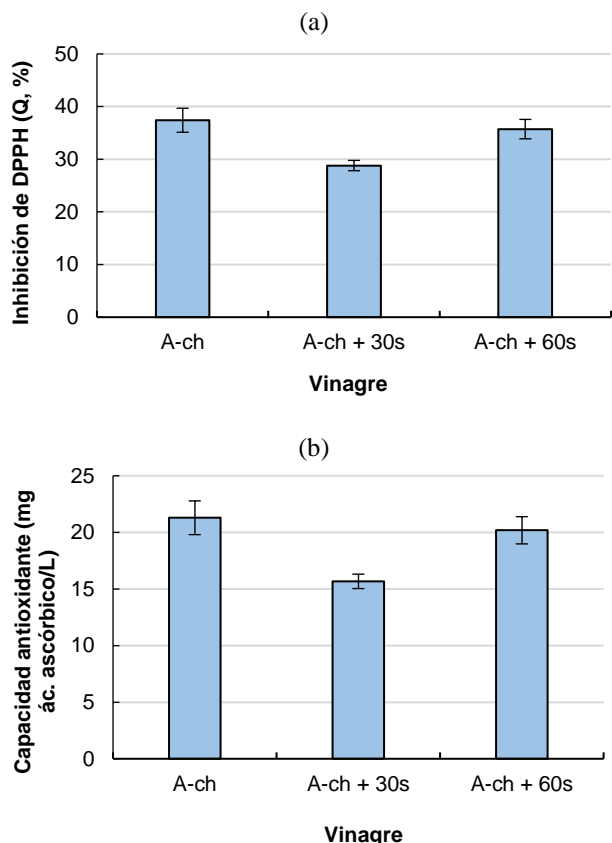


Fig. 7 Capacidad antioxidante de los vinagres A-ch, A-ch+30s y A-ch+60s. (a) porcentaje de inhibición del radical DPPH, y (b) equivalentes de ácido ascórbico mg/L.

IV. CONCLUSIONES

En base a los resultados obtenidos, en la etapa de elaboración de vino base, la adición de azúcares exógenos al mosto de arándano (chaptalización), hasta los 22.6 °Brix, permitió incrementar el grado alcohólico y por tanto mejorar el potencial de extracción de antocianinas, mientras que la aplicación de radiación microondas durante 30 y 60 segundos, a las bayas de arándano no mejoró la extracción de antocianinas durante la fermentación alcohólica. Por otro lado, el paso de vino a vinagre puede reducir el contenido de compuestos fenólicos entre un 54 y 69%, principalmente de antocianinas.

De modo que, la aplicación de estrategias tecnológicas como la chaptalización, previo a la fermentación alcohólica puede ser importante para lograr una mayor extracción fenólica hacia el vino, de modo que, al finalizar la siguiente etapa de fermentación acética, el contenido de compuestos fenólicos no se vea afectado considerablemente.

AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo forma parte del proyecto “Procesos fermentativos no convencionales para la elaboración de bebidas” de la Universidad Privada del Norte. Los autores agradecen al Laboratorio de Tecnología de Alimentos de la Universidad Politécnica de Madrid (España) por facilitar los cultivos de *Saccharomyces cerevisiae* 7VA y el cultivo acético a base de *Acetobacter* sp. y *Gluconacetobacter* sp. Así mismo, agradecen al Ing. Alonzo Viera Moreno del Laboratorio de Producción de la Universidad Privada del Norte, campus San Isidro, Trujillo, por su asistencia técnica en la ejecución de las pruebas experimentales.

REFERENCIAS

- [1] R. Vejarano and M. Luján-Corro, “Red wine and health: Approaches to improve the phenolic content during winemaking,” *Front. Nutr.*, vol. 9, p. 890066, 2022, doi: 10.3389/fnut.2022.890066.
- [2] H. L. Jiang, J. L. Yang, and Y. P. Shi, “Optimization of ultrasonic cell grinder extraction of anthocyanins from blueberry using response surface methodology,” *Ultrason. Sonochem.*, vol. 34, pp. 325–331, 2017, doi: 10.1016/j.ultsonch.2016.06.003.
- [3] M. Pervin *et al.*, “Preventive and therapeutic effects of blueberry (*Vaccinium corymbosum*) extract against DSS-induced ulcerative colitis by regulation of antioxidant and inflammatory mediators,” *J. Nutr. Biochem.*, vol. 28, pp. 103–113, 2016, doi: 10.1016/j.jnutbio.2015.10.006.
- [4] S. Skrovankova, D. Sumczynski, J. Mlcek, T. Jurikova, and J. Sochor, “Bioactive compounds and antioxidant activity in different types of berries. Review,” *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 16, no. 10, pp. 24673–24706, 2015, doi: 10.3390/ijms161024673.
- [5] Ministerio de Salud, “Boletín epidemiológico del Perú,” 2019. <https://www.dge.gob.pe/portal/docs/vigilancia/boletines/2019/05.pdf>.
- [6] E. Huerta, “Las enfermedades al corazón son la primera causa de muerte en adultos del Perú,” 2019. <https://vital.rpp.pe/salud/las-enfermedades-al-corazon-son-la-primera-causa-de-muerte-en-adultos-del-peru-segun-estudio-noticia-1185333>.
- [7] S. Sellappan, C. C. Akoh, and G. Krewer, “Phenolic compounds and antioxidant capacity of Georgia-grown blueberries and blackberries,” *J. Agric. Food Chem.*, vol. 50, no. 8, pp. 2432–2438, 2002, doi: 10.1021/jf011097r.
- [8] G. Sapers, A. Burgher, J. Phillips, S. Jones, and E. Stone, “Color and composition of highbush blueberry cultivars,” *J. Am. Soc. Hortic. Sci.*, vol. 109, no. 1, pp. 105–111, 1987, doi: <https://doi.org/10.21273/JASHS.109.1.105>.
- [9] A. Gutierrez, F. Gribenow, S. Rolando, and W. Zuñiga, “Exportación de arándano azul orgánico a Estados Unidos,” Universidad Peruana de Ciencias Aplicadas (UPC), 2017.

- [10] R. L. Prior *et al.*, “Antioxidant capacity as influenced by total phenolic and anthocyanin content, maturity, and variety of *Vaccinium* species,” *J. Agric. Food Chem.*, vol. 46, no. 7, pp. 2686–2693, 1998, doi: 10.1021/jf980145d.
- [11] M. Medina and M. Sánchez, “Producción y exportación de arándanos para Estados Unidos,” Universidad Peruana de Ciencias Aplicadas (UPC), 2014.
- [12] M. Munitz, “Arándanos : micoflora contaminante, micotoxinas, residuos de fungicidas y cinéticas de degradación,” Universidad de Buenos Aires, 2012.
- [13] N. H. Budak, E. Aykin, A. C. Seydim, A. K. Greene, and Z. B. Guzel-Seydim, “Functional properties of vinegar,” *J. Food Sci.*, vol. 79, no. 5, pp. R757–R764, 2014, doi: 10.1111/1750-3841.12434.
- [14] R. Vejarano, A. Morata, I. Loira, M. C. González, and J. A. Suárez-Lepe, “Theoretical considerations about usage of metabolic inhibitors as possible alternative to reduce alcohol content of wines from hot areas,” *Eur. Food Res. Technol.*, vol. 237, no. 3, pp. 281–290, 2013, doi: 10.1007/s00217-013-1992-z.
- [15] R. Vejarano, A. Gil-Calderón, and A. Morata, “Bioconversion and effect of metabolic inhibitors on secondary metabolites production during alcoholic fermentation,” in *Proceedings of the LACCEI international Multi-conference for Engineering, Education and Technology*, 2019, p. 168, doi: 10.18687/LACCEI2019.1.1.168.
- [16] R. Vejarano, A. Gil-Calderón, and A. Morata, “Effect of metabolic inhibitors on the alcoholic fermentation: Tolerant yeasts,” in *Proceedings of the LACCEI international Multi-conference for Engineering, Education and Technology*, 2018, p. 171, doi: 10.18687/LACCEI2018.1.1.171.
- [17] M. T. Fernández-Ponce, B. R. Parjikolaei, H. N. Lari, L. Casas, C. Mantell, and E. J. Martínez de la Ossa, “Pilot-plant scale extraction of phenolic compounds from mango leaves using different green techniques: Kinetic and scale up study,” *Chem. Eng. J.*, vol. 299, pp. 420–430, 2016, doi: 10.1016/j.cej.2016.04.046.
- [18] P. Raspor and D. Goranovic, “Biotechnological applications of acetic acid bacteria,” *Crit. Rev. Biotechnol.*, vol. 28, no. 2, pp. 101–124, 2008, doi: <https://doi.org/10.1080/07388550802046749>.
- [19] N. Saichana, K. Matsushita, O. Adachi, I. Frébert, and J. Frebortova, “Acetic acid bacteria: A group of bacteria with versatile biotechnological applications,” *Biotechnol. Adv.*, vol. 33, no. 6, pp. 1260–1271, 2015, doi: 10.1016/j.biotechadv.2014.12.001.
- [20] E. Verzelloni, D. Tagliacucchi, and A. Conte, “Relationship between the antioxidant properties and the phenolic and flavonoid content in traditional balsamic vinegar,” *Food Chem.*, vol. 105, no. 2, pp. 564–571, 2007, doi: 10.1016/j.foodchem.2007.04.014.
- [21] T. Fushimi *et al.*, “Acetic acid feeding enhances glycogen repletion in liver and skeletal muscle of rats,” *J. Nutr.*, vol. 131, no. 7, pp. 1973–1977, 2001, doi: 10.1093/jn/131.7.1973.
- [22] J. Qiu, C. Ren, J. Fan, and Z. Li, “Antioxidant activities of aged oat vinegar in vitro and in mouse serum and liver,” *J. Sci. Food Agric.*, vol. 90, no. 11, pp. 1951–1958, 2010, doi: 10.1002/jsfa.4040.
- [23] K. Osada *et al.*, “Dose-dependent hypocholesterolemic actions of dietary apple polyphenol in rats fed cholesterol,” *Lipids*, vol. 41, no. 2, pp. 133–139, 2006, doi: 10.1007/s11745-006-5081-y.
- [24] C. H. Chou, C. W. Liu, D. J. Yang, Y. H. Samuel Wu, and Y. C. Chen, “Amino acid, mineral, and polyphenolic profiles of black vinegar, and its lipid lowering and antioxidant effects in vivo,” *Food Chem.*, vol. 168, no. 1, pp. 63–69, 2015, doi: 10.1016/j.foodchem.2014.07.035.
- [25] A. D. Salbe, C. S. Johnston, M. A. Buyukbese, P. D. Tsitouras, and S. Mitchell Harman, “Vinegar lacks antiglycemic action on enteral carbohydrate absorption in human subjects,” *Nutr. Res.*, vol. 29, no. 12, pp. 846–849, 2009, doi: 10.1016/j.nutres.2009.10.021.
- [26] J. A. N. Laranjinha, L. M. Almeida, and V. M. C. Madeira, “Reactivity of dietary phenolic acids with peroxy radicals: Antioxidant activity upon low density lipoprotein peroxidation,” *Biochem. Pharmacol.*, vol. 48, no. 3, pp. 487–494, 1994, doi: 10.1016/0006-2952(94)90278-X.
- [27] H. Fukami, H. Tachimoto, M. Kishi, T. Kaga, and Y. Tanaka, “Acetic acid bacterial lipids improve cognitive function in dementia model rats,” *J. Agric. Food Chem.*, vol. 58, no. 7, pp. 4084–4089, 2010, doi: 10.1021/jf9045842.
- [28] G. J. Martin, “The chemistry of chaptalization,” *Endeavour*, vol. 14, no. 3, pp. 137–143, 1990, doi: 10.1016/0160-9327(90)90007-E.
- [29] I. Tomaz *et al.*, “Extraction methods of polyphenol from grapes: Extractions of grape polyphenols,” in *Polyphenols in Plants. Isolation, Purification and Extract Preparation*, Second Ed., Ronald Ross Watson, Ed. Academic Press, 2019, pp. 151–167.
- [30] A. Liazid, R. F. Guerrero, E. Cantos, M. Palma, and C. G. Barroso, “Microwave assisted extraction of anthocyanins from grape skins,” *Food Chem.*, vol. 124, no. 3, pp. 1238–1243, 2011, doi: 10.1016/j.foodchem.2010.07.053.
- [31] A. Gil-Calderón and M. Cano-Otañe, “Vinagre de arándano: mejora del perfil bioactivo mediante aplicación de estrategias tecnológicas previo a la etapa de fermentación alcohólica,” Universidad Privada del Norte, 2019.
- [32] A. Gil-Calderón, A. González-Velásquez, V. Diaz-Silva, W. Pereda-Calderón, and R. Vejarano, “Improved of the colorimetric parameters in cranberry (*Vaccinium corymbosum*) wine by chaptalization,” *Agroindustrial Sci.*, vol. 6, no. 1, pp. 117–120, 2016, doi: <http://dx.doi.org/10.17268/agroind.science.2016.01.13>.
- [33] A. Morata, “Influencia de la maduración antociánica de la uva y de la biotecnología fermentativa en color, aroma y estructura de vinos tintos,” Universidad Politécnica de Madrid, 2004.
- [34] OIV, “Compendium of International Methods of Wine and Must Analysis. Volume I.” International Organization of Vine and Wine (OIV), Geneva (Switzerland), 2018, [Online]. Available: <https://www.oiv.int/public/medias/7372/oiv-compendium-volume-1-2020.pdf>.
- [35] M. M. Giusti and R. E. Wrolstad, “Characterization and measurement of anthocyanins by UV-visible spectroscopy,” *Curr. Protoc. Food Anal. Chem.*, vol. Unit F1.2, pp. 1–13, 2001, doi: 10.1002/0471142913.faf0102s00.
- [36] M. Espinoza, E. Gómez, S. Quispe, Jesús A. Sánchez-González, and J. León-Vargas, “Physicochemical and nutraceutical characterization of sirimbache fruit (*Gaultheria glomerata* (Cav.) Sleumer),” *Sci. Agropecu.*, vol. 8, no. 4, pp. 411–417, 2017, doi: 10.17268/sci.agropecu.2017.04.12.

- [37] W. Brand-Williams, M. E. Cuvelier, and C. Berset, "Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity," *LWT - Food Sci. Technol.*, vol. 28, no. 1, pp. 25–30, 1995, doi: [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5).
- [38] P. Molyneux, "The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity," *Songklanakarin J. Sci. Technol.*, vol. 26, no. 2, pp. 211–219, 2004, doi: 10.1287/isre.6.2.144.
- [39] OENO 52, "Determinación del contenido de acidez total." Organización Internacional de la Viña y el Vino (OIV), Paris, 2000, [Online]. Available: <https://www.oiv.int/public/medias/2804/oeno-52-2000-1.pdf>.
- [40] R. Vejarano, "Non-Saccharomyces in winemaking: Source of mannoproteins, nitrogen, enzymes, and antimicrobial compounds," *Fermentation*, vol. 6, no. 3, p. 76, 2020, doi: 10.3390/FERMENTATION6030076.
- [41] C. A. Lopes and M. P. Sangorrín, "Optimization of killer assays for yeast selection protocols," *Rev. Argent. Microbiol.*, vol. 42, no. 4, pp. 298–306, 2010, doi: 10.1590/S0325-75412010000400011.
- [42] M. Brahim, F. Gambier, and N. Brosse, "Optimization of polyphenols extraction from grape residues in water medium," *Ind. Crops Prod.*, vol. 52, pp. 18–22, 2014, doi: 10.1016/j.indcrop.2013.10.030.
- [43] C. Ubeda, R. M. Callejón, C. Hidalgo, M. J. Torija, A. M. Troncoso, and M. L. Morales, "Employment of different processes for the production of strawberry vinegars: Effects on antioxidant activity, total phenols and monomeric anthocyanins," *LWT - Food Sci. Technol.*, vol. 52, no. 2, pp. 139–145, 2013, doi: 10.1016/j.lwt.2012.04.021.
- [44] A. B. Cerezo, W. Tesfaye, M. J. Torija, E. Mateo, M. C. García-Parrilla, and A. M. Troncoso, "The phenolic composition of red wine vinegar produced in barrels made from different woods," *Food Chem.*, vol. 109, no. 3, pp. 606–615, 2008, doi: 10.1016/j.foodchem.2008.01.013.
- [45] W. Andlauer, C. Stumpf, and P. Fürst, "Influence of the acetification process on phenolic compounds," *J. Agric. Food Chem.*, vol. 48, no. 8, pp. 3533–3536, 2000, doi: 10.1021/jf000010j.
- [46] R. N. Barbagallo, G. Spagna, R. Palmeri, and S. Torriani, "Assessment of β -glucosidase activity in selected wild strains of *Oenococcus oeni* for malolactic fermentation," *Enzyme Microb. Technol.*, vol. 34, no. 3–4, pp. 292–296, 2004, doi: 10.1016/j.enzmictec.2003.11.013.
- [47] R. N. Barbagallo, R. Palmeri, S. Fabiano, P. Rapisarda, and G. Spagna, "Characteristic of β -glucosidase from Sicilian blood oranges in relation to anthocyanin degradation," *Enzyme Microb. Technol.*, vol. 41, no. 5, pp. 570–575, 2007, doi: 10.1016/j.enzmictec.2007.05.006.
- [48] T. Hoshino, U. Matsumoto, and T. Goto, "Self-association of some anthocyanins in neutral aqueous solution," *Phytochemistry*, vol. 20, no. 8, pp. 1971–1976, 1981, doi: 10.1016/0031-9422(81)84047-2.
- [49] A. B. Cerezo, E. Cuevas, P. Winterhalter, M. C. Garcia-Parrilla, and A. M. Troncoso, "Anthocyanin composition in Cabernet Sauvignon red wine vinegar obtained by submerged acetification," *Food Res. Int.*, vol. 43, no. 6, pp. 1577–1584, 2010, doi: 10.1016/j.foodres.2010.03.006.
- [50] C. Escott *et al.*, "Pulsed light effect in red grape quality and fermentation," *Food Bioprocess Technol.*, vol. 10, pp. 1540–1547, 2017, doi: 10.1007/s11947-017-1921-4.
- [51] A. Morata *et al.*, "Grape processing by high hydrostatic pressure: Effect on microbial populations, phenol extraction and wine quality," *Food Bioprocess Technol.*, vol. 8, no. 2, pp. 277–286, 2015, doi: 10.1007/s11947-014-1405-8.