UNIVERSIDAD NACIONAL DE MOQUEGUA

ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL

EVALUACIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS EN LA ELABORACIÓN DE VINO TINTO POR EFECTO DEL CONGELADO DE UVA (*Vitis vinífera*) NEGRA CRIOLLA

TESIS

PRESENTADO POR:

MILAGROS MARIBEL COAGUILA GONZA

Para optar el Título Profesional de:

INGENIERO AGROINDUSTRIAL

MOQUEGUA – PERÚ

2019

UNIVERSIDAD NACIONAL DE MOQUEGUA
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERIA AGROINDUSTRIAL

REGISTRO N°.....

ACTA DE SUSTENTACIÓN

Los miembros del Jurado que suscriben, reunidos para evaluar la sustentación de tesis presentada por: Milagros Maribel Coaguila Gonza
denominada: Evaluación de compuestos fenólicos en la elaboración de vino tinto por efecto del congelado de uva (vitis vinifera) negra criolla, para cumplir con uno de los requisitos para optar el título profesional de INGENIERO AGROINDUSTRIAL.

Teniendo en consideración los méritos del referido trabajo así como los conocimientos demostrados por el sustentante, se declara la tesis como:

APROBADO

Con la nota de : DOCE

Calificativo de :

En consecuencia de todos los actuados el Tesista queda APTO para poder recibir el título profesional de INGENIERO AGROINDUSTRIAL, de conformidad con lo establecido en el reglamento de grados y títulos de la Universidad Nacional de Moquegua.

Moquegua 29 de octubre del 2019

Elías Escobedo Pacheco
PRESIDENTE DE JURADO

YESICA LIZ VILCANQUI CHURA
PRIMER MIEMBRO DE JURADO

Jerónimo Martín Saico Bugos
SEGUNDO MIEMBRO DE JURADO

DEDICATORIA

Esta tesis está dedicada:

Principalmente a ***Dios***, por ser mi inspirador y darme fuerza para continuar en este proceso de obtener uno de los anhelos más deseados.

A mis padres ***Elisban*** y ***Antonia*** quienes con su amor, paciencia y esfuerzo me han permitido llegar a cumplir hoy un sueño más, gracias por inculcar en mí el ejemplo de esfuerzo y valentía, quienes siempre me han animado a luchar por mis sueños. Es un orgullo y el privilegio de ser su hija, son los mejores padres.

A mis ***docentes***, por su apoyo y sabiduría que me transmitieron en el desarrollo de mi formación profesional.

AGRADECIMIENTO

En primer lugar, doy infinitamente gracias a Dios por ser mi guía y acompañarme en el transcurso de mi vida, brindándome paciencia y sabiduría para culminar con éxito mis metas propuestas.

Agradezco también la confianza y el apoyo brindado a mis padres Elisban y Antonia, que sin duda alguna en el trayecto de mi vida me han demostrado su amor, corrigiendo mis faltas y celebrando mis triunfos.

Agradezco al Ing. Romualdo Vilca Curo, Ing. Mario Roger Cotacallapa Sucapuca y Olimpia Llalla asesores de tesis, que gracias a sus consejos y correcciones puede culminar este trabajo.

Al Doctor Luis Alberto Condezo Hoyos por todo su apoyo brindado, durante la ejecución de esta tesis.

De igual manera mis agradecimientos a los docentes quienes con la enseñanza de sus valiosos conocimientos hicieron que pueda crecer día a día como profesional, gracias a cada una de ellos por su paciencia, dedicación, apoyo incondicional y amistad.

RESÚMEN

Los compuestos fenólicos son los responsables de las características sensoriales del vino y se relacionan directamente con su calidad. La cantidad de polifenoles presentes en el vino se extraen del hollejo de la uva, y su concentración depende de la técnica empleada para su extracción, la técnica tradicional (uso de uva sin congelar) no permite extraer estos compuestos en mayor cantidad, sin embargo, existen tecnologías como el congelado de uva que permite mejorar su extracción. Por ello el objetivo de la investigación fue evaluar los compuestos fenólicos (fenólicos, flavonoides y antocianinas totales) y características fisicoquímicas (°Brix, pH y acidez), en la elaboración de vino tinto por efecto del congelado de uva, para ello se elaboraron vinos con uva congelada a temperaturas de -10, -18 y -26°C por tiempos de 12, 24 y 48 h. La materia prima presentó 22.08 °Brix, 3.81 de pH y 6.20 (mg ácido tartárico/L) de acidez total, sin embargo después del congelado el tratamiento más representativo fue la uva congelada a -26°C por un tiempo de 48h, donde el mosto presentó una menor acidez (4,23 mg de ácido tartárico/L), mayor pH (4.01) y ºBrix (25.31), mientras que en el hollejo fue menor los compuestos fenólicos (20.24 mg GAE/100g), flavonoides (38.65 mg QE/100g) y antocianinas (233.15 mg cianidida-3-glucósido/100g), asimismo en el vino se observó mayor cantidad de compuestos fenólicos (1293.18 mg GAE/L), flavonoides (147.14 mg QE/L) y antocianinas (185 mg cianidida-3-glucósido/L) en relación a los demás tratamientos y la muestra control. Estos resultados ponen en manifiesto que los compuestos fenólicos fueron transferidos del hollejo hacia el vino, según los datos obtenidos el congelado de uva es una alternativa a considerarse para mejorar la concentración de compuestos fenólicos en el vino.

Palabras claves: Hollejo, congelado, fenólico, flavonoides, antocianinas y vino.

ABSTRACT

Phenolic compounds are responsible for the sensory characteristics of wine and are directly related to its quality. The amount of polyphenols present in the wine is extracted from the grape skin, and its concentration depends on the technique used for its extraction, the traditional technique (use of grapes without freezing) does not allow these compounds to be extracted in greater quantity, however, there are technologies such as grape freezing that improves its extraction. Therefore, the objective of the research was to evaluate the phenolic compounds (phenolic, flavonoids and total anthocyanin) and physicochemical characteristics (°Brix, pH and acidity), in the elaboration of red wine due to grape freezing, for this purpose wines were made with frozen grapes at temperatures of -10, -18 and -26°C for times of 12, 24 and 48 h. The raw material presented 22.08 °Brix, 3.81 of pH and 6.20 (mg tartaric acid/L) of total acidity, however after the frozen the most representative treatment was the frozen grape at -26°C for a time of 48h, where the must showed lower acidity (4.23 mg of tartaric acid/L), higher pH (4.01) and ºBrix (25.31), while in the skin the phenolic compounds (20.24 mg GAE/100g), flavonoids (38.65 mg QE/100g) and anthocyanins (233.15 mg cyanidide-3-glucoside/100g), also in the wine a greater amount of phenolic compounds (1293.18 mg GAE/L), flavonoids (147.14 mg QE/L) and anthocyanins (185 mg) were observed cyanidide-3-glycoside/L) in relation to the other treatments and the control sample. These results show that the phenolic compounds were transferred from the skin to the wine, according to the data obtained, the frozen grape is an alternative to be considered to improve the concentration of phenolic compounds in the wine.

Keywords: Skin, frozen, phenolic, flavonoids, anthocyanins and wine.

CONTENIDO

Pág.

DEDICATORIA ii
AGRADECIMIENTO iii
RESÚMEN iv
ABSTRACT v
ÍNDICE DE TABLAS x
ÍNDICE DE FIGURAS xi
INTRODUCCIÓN 1
ABREVIATURAS 2
CAPÍTULO I 3
PROBLEMA DE LA INVESTIGACIÓN 3
1.1. DESCRIPCIÓN DE LA REALIDAD PROBLEMÁTICA 3
1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA 4
1.2.1. Interrogante General 4
1.2.2. Interrogantes Específicas 4
1.3. JUSTIFICACIÓN E IMPORTANCIA DE LA INVESTIGACIÓN 4
1.4. OBJETIVOS 5
1.4.1. Objetivo General 5
1.4.2. Objetivo Específico 5
1.5. HIPÓTESIS 5
1.5.1. Hipótesis General 5
1.5.2. Hipótesis Específica 5
CAPÍTULO II 6
MARCO TEÓRICO 6
2.1. ANTECEDENTES DEL ESTUDIO 6

2.2. BASES TEÓRICAS 8
2.2.1. Uva *(Vitis vinífera)* 8
2.2.1.1. Uva Negra Criolla 8
2.2.1.2. Composición nutricional de la uva (Vitis vinífera) 8
2.2.2. Estructura de la baya de uva (*Vitis vinífera*) 9
2.2.3. Estructura y composición de la pared celular del hollejo 11
2.2.3.1. Estructura 11
2.2.4. Propiedades fisicoquímicas de la uva 13
2.2.4.1 Azúcares 13
2.2.4.2 Acidez 13
2.2.4.3 Compuestos Fenólicos 14
2.2.5. El vino 17
2.2.5.1. Composición química del vino 17
2.2.5.2. Extracción de compuestos fenólicos durante la elaboración del vino 18
2.2.6. Técnicas enológicas de frío 18
2.2.6.1. Técnica de congelación de uva o crio-extracción 18
2.2.6.2. Maceración pre fermentativa en frío 19
2.2.7. Influencia sobre la acidez de mostos y vinos 19
2.2.8. Influencia sobre el contenido en polifenoles de mostos y vinos 20
2.2.9. Espectrofotometría UV – Visible 21
2.3. DEFINICIÓN DE TÉRMINOS 22
CAPÍTULO III 23
MARCO METODOLÓGICO 23
3.1. Lugar de ejecución 23

3.2. Tipo, Diseño y Nivel de Investigación 23
3.3. Operacionalización de variables 24
3.4. Materiales y equipos 25
3.4.1. Materia prima 25
3.4.2. Materiales 25
3.4.3. Equipos e Instrumentos 25
3.4.4. Reactivos 26
3.5. Muestra de estudio 26
3.6. Metodología Experimental 27
3.6.1. Métodos de Análisis para la determinación de compuestos fenólicos… 31
3.6.1.1. Acondicionamiento de las muestras……31
3.6.1.2. Determinación de fenoles totales……..31
3.6.1.3. Determinación de flavonoides totales……...32
3.6.1.4. Determinación de antocianinas totales…….32
3.6.1.5. Determinación de ^{o}Brix 33
3.6.1.6. Determinación de pH 33
3.6.1.7. Determinación de la acidez total…. 34
3.7. Análisis estadístico de los resultados 34
CAPÍTULO IV 36
RESULTADOS Y DISCUSIONES 36
4.1. Características fisicoquímicas de la materia prima, mosto de uva congelada y del vino 36
4.2. Fenoles, flavonoides y antocianinas totales en la materia prima, hollejo de uva congelada y el vino 39
4.2.1. Fenoles totales evaluados en la materia prima, mosto congelado y vino……39

4.2.2. Flavonoides totales evaluados en la materia prima, mosto después del congelado y del vino 44
4.2.3. Antocianinas totales evaluados en la materia prima, hollejo después del congelado y el vino 47
CONCLUSIONES 50
RECOMENDACIONES 51
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS 52
ANEXO 1. Fotografías del proceso de elaboración del vino 60
ANEXO 3. Curvas de calibrado para fenólicos y flavonoides totales 62
ANEXO 4. Registro de temperatura durante el proceso de congelación 64
ANEXO 5. Análisis estadístico de los resultados 69

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Composición nutricional de la uva por 100 g. 8

Tabla 2. Composición química del vino g/L 17

Tabla 3. Tipo, diseño y nivel de investigación 23

Tabla 4. Operacionalización de variables 24

Tabla 5. Estructura del diseño experimental para la evaluación de datos 35

Tabla 6. Características fisicoquímicas de la materia prima, mosto después del congelado 37

Tabla 7. Fenoles totales de la materia prima, hollejo y vino de uva Negra Criolla 40

Tabla 8. Concentración de Flavonoides en la materia prima, hollejo y vino 44

Tabla 9. Antocianinas totales en el hollejo después del congelado. 47

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Estructura de la baya madura. 10
Figura 2. Estructura del grano de uva 11
Figura 3. Estructura de la pared celular del hollejo 12
Figura 4. Clasificación de los compuestos fenólicos. 14
Figura 5. Diagrama general de elaboración del vino obtenido con uva congelada 30
Figura 6. Protocolo para la determinación de flavonoides totales 32
Figura 7. Protocolo para la determinación de antocianinas totales..... 33
Figura 8. Fenoles totales en el hollejo después del congelado 41
Figura 9. Fenoles totales (mg GAE/ L) en el vino..... 42
Figura 10. Flavonoides totales en el hollejo (mg QE/g) después del congelado..... 45
Figura 11. Flavonoides totales en el vino..... 46
Figura 12. Antocianinas totales en el hollejo después del congelado..... 48
Figura 13. Antocianinas totales en el vino..... 49

INTRODUCCIÓN

El vino es una bebida alcohólica de mayor producción y consumo en el mundo, alcanzando una producción total de 282 millones de hectolitros (Mill. hL) (OIV, 2018), su consumo está relacionado con los beneficios que tiene sobre la salud (Moreno, 2013), ya que muchos estudios científicos revelan que beber de 80 a 100 ml de vino diarios disminuye el riesgo cardiovascular (SENC, 2004), reduce la incidencia del cáncer, alzheimer, parkinson (Sun *et al*., 2008), además Ortiz (2016) señala que ayuda a quemar grasa y reduce el colesterol. Los principales responsables de estos beneficios son los compuestos fenólicos y estos están considerados como los principales compuestos bioactivos del vino (Pojer *et al*., 2013).

Los compuestos fenólicos están directamente relacionados con la calidad del vino, debido a que estos son responsables de sus características sensoriales como son el color, astringencia y aromas (Llaudy *et al*., 2008). Este compuesto procede en gran cantidad de la piel de la uva y en menor medida de las pepas (Pinelo *et al*., 2006). La cantidad de polifenoles en el vino se extrae del hollejo de la uva, y su concentración depende de la técnica empleada para su extracción (Sacchi *et al*., 2005), sin embargo la técnica tradicional de vinificación permite extraer los compuestos fenólicos de manera limitada (Moreno, 2013). Debido a la importancia que tiene la extracción de compuestos fenólicos en el proceso de elaboración del vino, se han propuestos distintas técnicas con el objetivo de incrementar la concentración de estos compuestos en el vino (Luengo *et al.,* 2012), como el uso de enzimas, la maceración en frío y el congelado de uva. Este último permite degradar los tejidos celulares del hollejo y así lograr la extracción de compuestos fenólicos (Roldán, 2008), esto se logra sometiendo la uva a temperaturas por debajo de -4 °C.

Sin embargo, en el Perú aún no existen estudios que reporten la aplicación de esta técnica y por tanto tampoco se conoce parámetros de temperatura y tiempo de congelación. Por todo lo referido, el objetivo del presente trabajo de investigación fue evaluar los compuestos fenólicos en la materia prima, después del congelado y el vino tinto, elaborados con uvas congeladas a diferentes temperaturas y tiempos de congelación.

ABREVIATURAS

QE	Quercetina.
GAE	Equivalente de ácido gálico.
HL	Hectolitros.
UI	Unidad Internacional.
MINAGRI	Ministerio de Agricultura y Riego.
AOAC	Asociación de Químicos Analíticos Oficiales o Asociación de Comunidades Analítica.
OIV	Organización Internacional de la Viña y el Vino.
µL	Micro litros.
µg	Microgramos.
RPM	Revoluciones por minuto.
nm	Nanómetros
2-APB	2- Aminoetil – difenilborinato.

CAPÍTULO I
PROBLEMA DE LA INVESTIGACIÓN

1.1. DESCRIPCIÓN DE LA REALIDAD PROBLEMÁTICA

En la región Moquegua la producción de vino tinto se realiza de forma tradicional, lo cual no permite diferenciarse del resto de vinos, ya sea por desconocimiento de técnicas o falta de parámetros que permitan obtener vinos tintos con mayor contenido en compuestos fenólicos. Durante el proceso de vinificación los compuestos fenólicos son extraídos del hollejo de la uva y en menor cantidad de las pepas incorporándose en el vino, sin embargo, la extracción de estos compuestos se da de manera incompleta ya que solo se logra extraer entre un 20% y 50% de la cantidad total presente en la uva (Moreno, 2013), debido a que el método tradicional no permite degradar la estructura y rigidez de la pared celular del hollejo. Sin embargo, Roldán (2008) y Moreno (2013) señalan que existen técnicas de vinificación que permiten extraer estos compuestos de forma óptima como es la maceración en frío, el uso de enzimas y la congelación de las uvas que permite romper la pared celular y facilitar la extracción de estos compuestos, tomando en consideración ciertos parámetros como tiempo y temperatura de congelación que son escasos en la referencia bibliográfica.

Es evidente que si se realiza la extracción mediante los métodos tradicionales no se aprovecha gran cantidad de compuestos bioactivos como los fenoles, flavonoides y antocianinas que se encuentran en el hollejo de uva variedad Negra Criolla. Es por ello se requiere utilizar nuevas técnicas que faciliten la extracción de los compuestos bioactivos presentes en el hollejo, como la técnica de extracción por congelación con uso adecuado de temperatura y tiempo (Chauvét y Sudraud, 1992).

Para el mejor aprovechamiento de los compuestos bioactivos presentes en el hollejo se propuso congelar la uva, considerando ciertos parámetros como la temperatura y tiempo, los mismos que facilitan la mejor extracción, y al final se obtuvo vinos con mayor concentración en compuestos bioactivos, que beneficiaran la salud del consumidor.

1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

1.2.1. Interrogante General

¿Cuál es el contenido de compuestos fenólicos durante la elaboración del vino por efecto del congelado?

1.2.2. Interrogantes específicas

¿Cómo son las características fisicoquímicas de °Brix, pH y acidez en la materia prima, mosto de uva congelada y en el vino tinto?

¿Cuáles son los fenoles, flavonoides y antocianinas totales en la materia prima, hollejo de uva congelada y el vino?

1.3. JUSTIFICACIÓN

Durante el proceso de congelado se forman grandes cristales de hielo en las membranas del hollejo lo que causa la rotura de los tejidos celulares y libera altas concentraciones de soluto como azúcares, ácidos, sales y compuestos fenólicos los que pasan al mosto (Chauvet y Sudraud, 1992) y estos se localizan en el interior de las vacuolas de las células (Pinelo *et al*., 2006), Moreno (2013) obtuvo vinos con alto contenido de compuestos fenólicos de uvas congeladas a -10ºC por 12 h. Así mismo en los últimos años la demanda de alimentos funcionales se ha incrementado, por su alto contenido en compuestos bioactivos, como es el caso del vino su consumo haciende a los 282 millones de hectolitros (OIV, 2018), debido a que estos compuestos son responsables de contrarrestar enfermedades cardiovasculares, alergias, inflamación, hipertensión, artritis y carcinógenos (Salazar *et al*., 2011), algunos tipo cáncer, obesidad, enfermedades degenerativas, osteoporosis (Fernandes *et al*., 2017). Además, la producción de uva es de 6796.60 toneladas (MINAGRI, 2017) en la región Moquegua, de los cuales un gran porcentaje está destinado a la producción de vinos y al usar esta tecnología mejoraría la calidad y producción de los vinos.

1.4. OBJETIVOS

1.4.1. Objetivo General

Evaluar los compuestos fenólicos en la elaboración de vino tinto por efecto del congelado de uva *(Vitis vinífera)* Negra Criolla.

1.4.2. Objetivo Específico

- Determinar las características fisicoquímicas en términos de °Brix, pH y acidez en la materia prima, mosto después del congelado y en el vino tinto.
- Evaluar los compuestos fenólicos medidos en fenoles totales, flavonoides totales y antocianinas totales en la materia prima, hollejo de uva congelada y el vino.

1.5. HIPÓTESIS

1.5.1. Hipótesis General

Los compuestos fenólicos en la elaboración de vino tinto por efecto del congelado de uva *(Vitis vinífera)* Negra Criolla, presentan variación en su concentración.

1.5.2. Hipótesis Específica

- Las características fisicoquímicas °Brix, pH y acidez en la materia prima, mosto de uva congelada y el vino son diferentes.
- Al evaluar la materia prima, hollejo después del congelado y el vino presentan diferentes valores en compuestos fenólicos, flavonoides y antocianinas totales.

CAPÍTULO II
MARCO TEÓRICO

2.1. ANTECEDENTES DEL ESTUDIO

Moreno (2013) señala que el congelado de uva conocida también como crio-extracción, es una técnica que consiste en congelar y descongelar la uva antes de someterla al proceso de vinificación. Chauvet y Sudraud (1992) refieren que durante el proceso del congelado se forman cristales de hielo y esto causa rotura de los tejidos del hollejo de uva, liberando así altas concentraciones de sustancias químicas (azúcares, ácidos, sales, fenoles y compuestos volátiles) en el mosto.

Chauvét *et al*. (1987) mencionan que el congelado de uva es una técnica que se utiliza para la elaboración del famoso “vino de hielo”, en ingles los “Icewine”, sometiendo la uva a una temperatura de congelación de -4°C, donde las uvas de mosto pobre en azúcares se congelan, mientras que las muy azucaradas liberan en el mosto compuestos de mayor interés en el vino.

Hidalgo (2011) reporta que dentro de la cámara frigorífica la vendimia debe permanecer de 12 a 24 horas, alcanzando temperaturas de congelación entre -3ºC a -6ºC, donde la congelación produce el efecto de concentración, contribuye a desorganizar el tejido celular y facilita la posterior extracción en el mosto, liberando otras sustancias de importancia que contiene la uva, tales como aromas varietales y compuestos fenólicos.

Riberéau *et al.* (2003) reporta que la congelación de uva favorece sobre todo la liberación de aromas y sus precursores, limitando la extracción de compuestos fenólicos. Sin embargo, Gómez (2008) señala que los daños producidos en el hollejo por la baja temperatura, aumenta la extracción de polifenoles, catequinas y proantocianidinas, pero la eficiencia de esta extracción depende de la temperatura durante el prensado y la variedad de la uva.

Para que se produzca una congelación adecuada, es necesario que la temperatura se mantenga entre -7 a -8ºC (sin bajar de los -13ºC) durante varios días (El mundo vino, 2002).

Morandé (2000) congeló uvas en un túnel de IQF (Individual Quick Frost) a temperaturas de -25 a -30°C por 30 minutos y a -18°C, y utilizó una prensa neumática para el presado, este proceso se realizó durante tres días. El mosto alcanzó los 29 °Brix y un pH de 3.37, por lo que se concluyó que la congelación de uva abre un espacio para la producción masiva de vinos de hielo, ya que no solo depende exclusivamente de las condiciones climatéricas naturales para su producción, sino que también existen otras alternativas como el congelado de uva en túneles de congelación, pero que solo influyen en el precio final (Muñoz, 2010).

Daniel *et al.* (2012) en su trabajo de investigación obtuvo vinos de hielo de forma natural y artificial, congelando la uva a -4 y -18 °C respectivamente, el vino obtenido con uva congelada artificialmente presentó mayor concentración en °Brix, concentración de azúcares, mayor índice de color y acidez total contribuyendo a la calidad gustativa del vino.

2.2. BASES TEÓRICAS

2.2.1. Uva *(Vitis vinífera)*

Es el fruto de la vid en estado de madurez (Togores, 2006), una fruta carnosa formada por granos redondos u ovalados y que nace en racimos, tienen un diámetro medio de 16 a 25 milímetros, esto depende de la variedad. Según la variedad el color de su piel suelen ser de tonos amarillentos o verdosos, púrpuras, rojizos, azulados o negros y su pulpa es dulce y jugosa (Callejas, 2003).

2.2.1.1. Uva Negra Criolla

Variedad de mayor producción del valle de Moquegua y Tacna, la más antigua traída por los españoles, el color de su piel es de violeta rojo al rojo azul, tienen una forma redonda y de tamaño mediano, sus racimos son de forma cónica y está catalogada como variedad no aromática (Lamula, 2013).

2.2.1.2. Composición nutricional de la uva (*Vitis vinífera*)

La uva (*Vitis vinífera*) está compuesta por un 80% de agua, así como carbohidratos, grasas y proteínas, cenizas y otros compuestos en pequeñas cantidades como son vitaminas, sales y compuestos aromáticos tal como se detalla en la Tabla 1.

Tabla 1. Composición nutricional de la uva por 100 g.

COMPUESTO	CANTIDAD
Agua	80,1 - 81,7g
Calorías	63 - 70 cal
Carbohidratos	15,5 - 18,1 g
Cenizas	0,5 g
Grasas	0,1 - 0,4 g
Proteínas	0,7 g
Calcio	4 – 18 mg
Hierro	0,3 - 0,5 mg
Magnesio	3 – 10 mg
Fósforo	13 – 22 mg
Potasio	185 – 320 mg
Sodio	2 mg
Cobre	0,1 - 0,26 mg

COMPUESTO	CANTIDAD
Manganeso	0,1 mg
Selenio	0,1 mg
Zinc	0,05 - 0,1 mg
Vitamina A	66 - 73 UI
Vitamina C	4 - 10,8 mg
Vitamina E	0,2 mg
Vitamina K	14,6 µg
Tiamina	0,1 mg
Riboflavina	0,1 mg
Niacina	0,2 - 0,3 mg
Vitamina B6	0,1 mg
Ácido Pantoténico	0,1 mg
Fructosa	7,7 g
Glucosa	7,3 g
Sacarosa	0,4 g
Pectina	280 mg

Fuente: Mataix (2003)

Su composición depende de la variedad y el tipo de uva, por ejemplo, las uvas negras, rojas y blancas presentan dos tipos de azúcares como la fructosa y glucosa, vitaminas como “A”, “C”, vitamina “B6” y ácido fólico. Los beneficios de consumir uva derivan de sus componentes nutricionales como de los compuestos fenólicos (Muñoz, 2009).

2.2.2. Estructura de la baya de uva

Hidalgo (2006) menciona que el racimo de uva (*Vitis vinífera*) está formada por dos partes: la parte leñosa o raspón y los granos o bayas, estos están unidos al racimo mediante el pedicelo, a través del cual se nutren mediante un sector vascular compuesto por el floema y xilema de la planta.

Las bayas están formadas por una película exterior llamada hollejo o piel, y otra que rellena interiormente la baya y de la que se extrae el mosto conocida como pulpa, en el centro de la pulpa se encuentran las semillas o pepas (Hidalgo, 2011). Suárez y Barrado (2004) señalan que desde el punto de vista enológico y vitícola la baya está formada por tres partes principales: pulpa, semillas y hollejo (Figura 1).

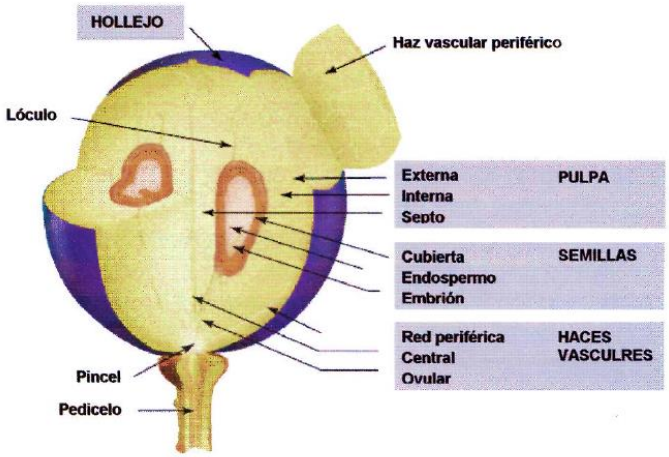


Figura 1. Estructura de la baya madura
Fuente: Suárez y Barrado (2004)

Según Hidalgo (2011) el hollejo está formado por 6 a 10 capas de células, sin un límite claro hacia su interior en una zona de transición hacia la pulpa, y respecto al grano de uva representa una fracción de 8 al 20 % (Lasanta, 2009).

En la Figura 2 se muestra la estructura de la baya, formada por una primera zona externa llamada cutícula, recubierta por una capa llamada pruina, que le da un aspecto mate o pulverulento. Tras la cutícula y hacia el interior del grano, el hollejo presenta otra zona denominada epidermis y está compuesta por dos capas de células alargadas en una posición tangencial, y una tercera zona o hipodermis formada por 6 a 8 capas de células de forma rectangular y de mayor tamaño (Hidalgo, 2011). En estas dos últimas capas de células, es donde se ubica la mayor cantidad de polifenoles y sustancias aromáticas que tiene la uva, y los tejidos de estas células son muy elásticas, debido a que en el medio de las células se encuentra la pectina y lignina, confiriéndole esta propiedad (Lasanta, 2009).

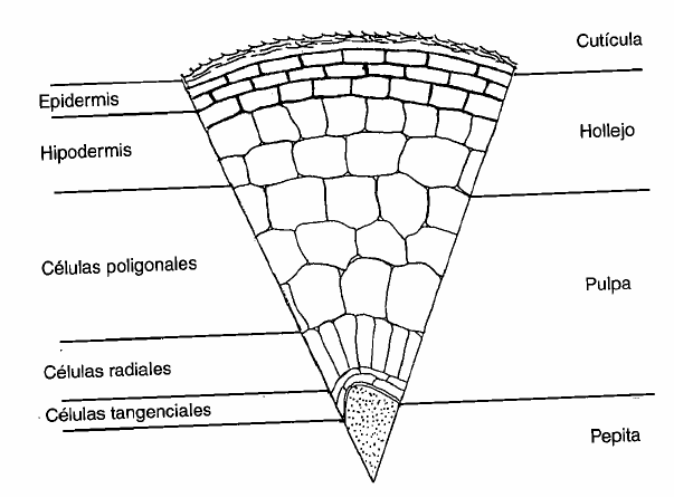


Figura 2. Estructura del grano de uva
Fuente: Lasanta (2009)

2.2.3. Estructura y composición de la pared celular del hollejo

La pared celular de la célula del hollejo forma una barrera para la extracción de los antocianos, taninos y otros polifenoles (Vidal *et al.*, 2001)**,** es por ello la importancia del estudio de la estructura y degradación de la pared celular de la piel de la uva, ya que constituye un papel fundamental para el control de las extracciones de los compuestos Lasanta (2009).

La función de la pared celular del hollejo es proporcionar fuerza mecánica, regular la porosidad, controlar la adherencia entre las células (Jarvis *et al.*, 2003) y sirve de protección contra la invasión de patógenos (McNeil *et al.,* 1984). También la pared celular esta compuesta por polisacáridos, glicoproteínas, polifenoles y actua como reserva de carbohidratos.

2.2.3.1. Estructura

La estructura de la pared celular es muy compleja y dinámica, compuesta por un 30% de polisacáridos, 20% de pectinas, alrededor de un 15% de proantocianidinas y menos de un 5% de proteínas estructurales (Pinelo *et al.*, 2006).

La pared celular del hollejo está compuesta por tres partes principales: una lámina media o sustancia intercelular, por una pared primaria y finalmente por una pared secundaria, aunque no siempre aparece (Lodish, 2005), tal como se observa en la figura 3.

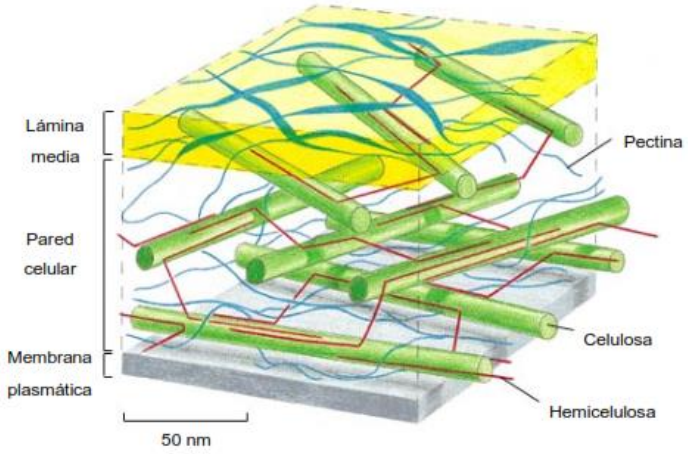


Figura 3. Estructura de la pared celular del hollejo
Fuente: Lau *et al*., 1985.

La lámina media: Está compuesta mayormente por pectina y se forma durante la división celular.

La pared celular primaria: Es más delgada que la lámina media, se forma después de la división celular, y al mismo tiempo está se divida en tres partes, las dos primeras partes están casi interactuando entre ellas, constituidas por un armazón de celulosa y xiloglucanos, en el que está unida una matriz de polisacáridos peptídicos, y la tercera está caracterizada por albergar proteínas estructurales (Carpita *et al.,* 1993).

La pared celular secundaria: Contiene celulosa (40-80%), hemicelulosa (10-40%) y lignina (5-25%), estando la celulosa y la hemicelulosa con una estructura más organizada en la pared secundaria (Jiménez, 2018). Incrementa el grosor de las paredes, proporcionándoles mayor resistencia mecánica. Los compuestos fenólicos son otro de los componentes de la pared celular primaria y también están presentes en la pared secundaria, en estas células se pueden encontrar otros compuestos como lignina, cutina, suberina, ceras o compuestos inorgánicos (Lau *et al.,* 1985).

2.2.4. Propiedades fisicoquímicas de la uva

2.2.4.1 Azúcares

Ramírez (2008) señala que las uvas antes de ser cosechadas deben estar entre los 18 a 19 °Brix, siendo en su mayoría fructosa, glucosa y sacarosa. Por otro lado, González (2003) afirma que la calidad óptima de un vino se obtiene con racimos donde el contenido de azúcares es adecuado al grado alcohólico que se requiere y no requiere corrección enológica, por tanto, Almanza *et al.* (2012) sugieren que el contenido de sólidos solubles totales en uvas para elaborar vinos, debe estar cercano a los 23 °Brix.

2.2.4.2 Acidez

La acidez de la uva en estado de madurez se da por la presencia del ácido tartárico, málico y cítrico. Los ácidos se localizan homogéneamente distribuidos dentro de la pulpa, aumentando la concentración hacia el centro del grano, por lo cual la acidez del mosto en el vino puede variar según el grado de prensado, es decir será más elevada la acidez a una mayor presión de prensado (Ramírez, 2008).

a) **Ácido tartárico:** Está constituido principalmente por tartratos y bitartratos, es el más importante de la uva y del vino, ya que es escaso en la naturaleza.

b) **Ácido cítrico:** Se encuentra en bayas de todas las cepas. El contenido de ácido cítrico en los vinos varia y muchos vinos tintos lo pierden, debido a que durante la fermentación maloláctica disminuye su contenido, porque muchas bacterias lácticas lo fermentan produciendo ácido acético (Ramírez, 2008).

c) **Ácido málico:** Disminuye durante la maduración de la uva debido a la respiración celular, y porque se trasforma el ácido málico en azúcar. Favorece también a definir la calidad del vino y en principalmente de los vinos jóvenes (Ramírez, 2008).

2.2.4.3. Compuestos Fenólicos

Los compuestos fenólicos del vino provienen de la piel y semilla de la uva, estos influyen sobre el sabor y olor, el contenido de este compuesto depende de la variedad de cepa, del clima y de la forma cómo se ha procesado la uva (Sabrosía, 2012).

Se clasifican principalmente en dos grandes grupos como compuestos flavonoides y no flavonoides, siendo estos últimos los que contienen un esqueleto de 15 átomos de carbono ($C6-C3-C6$). En la figura 4 se observa la clasificación más detallada de los compuestos fenólicos.

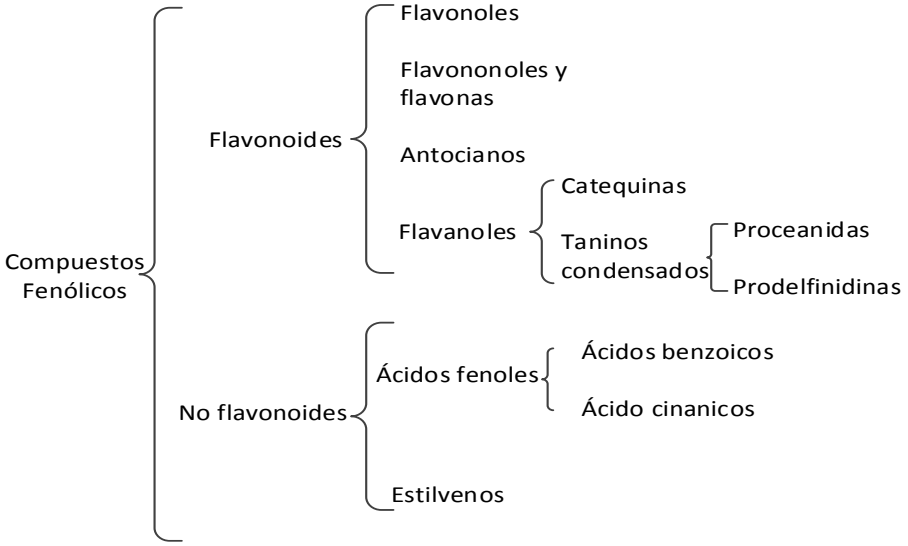


Figura 4. Clasificación de los compuestos fenólicos.
Fuente: Lasanta, (2009).

Los compuestos no flavonoides se caracterizan por presentar solo un anillo de 6 carbonos (C6), los más importantes corresponden a los ácidos benzoicos (C6-C1) y a los ácidos cinámicos (C6-C3), estos influyen y son importantes en el gusto amargo de los vinos. En el caso de los flavonoides se especializan por presentar dos anillos de 6 carbonos unidos por un heterociclo central de 3 carbonos (C6-C3-C6), están presentes en los hollejos, siendo importantes por participar en el color amarillo de los vinos blancos, en menor medida por su participación en el gusto amargo y por sus efectos antioxidantes benéficos para la salud (Peña, 2003).

Tipos de compuestos fenólicos

Estos se clasifican como no flavonoides y flavonoides (Romero, 2008):

a. Compuestos no flavonoides

Son los ácidos benzoicos y cinámicos (Hidalgo, 2011), aportan un sabor amargo en el vino y el principal compuesto es el ácido gálico, pero en forma de ésteres de flavanol y estos son muy abundantes en vinos tintos. Además posee propiedades antioxidantes, por lo que intervienen en la conservación del vino (Sabrosía, 2012).

Los ácidos cinámicos provocan oscurecimiento de los vinos, principalmente en los vinos blancos, pero influyendo sobre el sabor en menor medida, la forma en la que se presentan es como ácidos hidroxicinámicos esterificados con ácido tartárico, de esta forma son poco solubles. Dentro de los estilbenos, se encuentra el compuesto más importante llamado resveratrol, en la forma de derivado glicosilado (Sabrosía, 2012).

b. Flavonoides

Flavonoles: Se encuentran en el hollejo y tienen pigmentos de color amarillo de mayor o menor intensidad (Hidalgo, 2011), donde su molécula se caracteriza por estar formada por dos anillos bencénicos unidos por un heterociclo oxigenado, derivando un núcleo 2-fenil-cromona: flavonas y flavonoles, otro núcleo 2-fenilcromanona: Flavanonas y flavanonoles. Dentro de este grupo se encuentran en mayor cantidad los derivados del quercetol (quercetina), los derivados del miricetol (miricetina) y los glucósidos del isoramnetol. Tanto la quercetina como la miricetina se pueden encontrar libres o fusionados (unidos a un azúcar). Proporcionan un aumento del color por la formación de complejos con los antocianos favoreciendo que estos se disuelvan y sean retenidos por el vino.

Los más abundantes son los flavonoles, que se localizan en los hollejos de las variedades tintas y blancas, presentando una coloración amarilla, encontrándose en concentraciones muy variables desde 10 a 100 mg/kg de baya de uva (Hidalgo, 2011).

Antocianos

Son los pigmentos rojos de las uvas y se localizan exclusivamente en la piel de las uvas tintas, y en menor cantidad se encuentran en la pulpa de alguna variedad muy coloreada, como por ejemplo en la variedad Borgoña (Méndez, 2005). Se localizan en las tres o cuatro primeras capas celulares de la hipodermis, su estructura se caracteriza por un esqueleto básico de quince átomos de carbono (C6-C3-C6) (Sabrosía, 2012).

Los compuestos fenólicos tienen una gran influencia en las características sensoriales de los mostos y vinos, especialmente sobre el sabor y color; asumen un papel importante en las transformaciones durante el almacenamiento y marcan diferencias fundamentales entre zumos, vinos blancos y tintos. En su mayor parte proceden de las partes sólidas de la uva, especialmente del raspón, hollejo y pepitas (Georffino, 2016).

Los antocianos se encuentran localizados en la piel de las uvas tintas y se transfieren al mosto durante la maceración. La extracción de estos compuestos es conocido como el proceso de difusión, el cual se encuentra influenciado por la concentración y la localización de estos compuestos en la baya y por los métodos de elaboración del vino. La difusión puede verse afectada por la temperatura, el gradiente de concentración entre la piel de la uva y el vino, el equilibrio químico y las reacciones que se dan durante la vinificación (Romero, 2008).

Taninos

Presente en las bayas, fundamentalmente en las semillas y hollejo, siendo el contenido de taninos en semillas siempre superior al del hollejo. Se generan durante la primera etapa de crecimiento de la baya y su génesis finaliza después del envero. Pueden estar en forma de monómeros o de oligopolímeros y formar complejos con las proteínas y de ahí sus múltiples propiedades. Los monómeros contribuyen al sabor amargo mientras que los oligopolímeros son los responsables de la astringencia (Sabrosía, 2012).

2.2.5. El vino

El vino es el resultado final de la fermentación alcohólica total o parcial del zumo de la uva, es una bebida ácida por la presencia de grupos de ácidos orgánicos (Hidalgo, 2011), por otro lado Pérez (2018) señala que el vino tinto es una bebida de maceración, representa una extración fraccionada de la uva.

2.2.5.1. Composición química del vino

El vino está compuesto por más de mil sustancias, algunas de las cuales aún no han sido estudiadas a profundidad. La mayoría de estos componentes, como las vitaminas y los minerales proceden de las uvas, otros se forman durante el proceso de la vinificación como el etanol, como el azúcar o la vitamina C, se eliminan del todo o en parte durante dicho proceso como se muestra en la Tabla 2 (Valita, 2013).

Tabla 2. Composición química del vino g/L

Contenido en minerales	**Mosto (g/L)**	**Vino (g/L)**
Potasio	1.00 – 2.50	0.7 – 1.50
Calcio	0.0004 – 0.25	0.01 – 0.20
Magnesio	0.05 – 0.20	0.05 – 0.20
Sodio	0.002 – 0.25	0.002 – 0.25
Hierro	0.002 – 0	0.002 – 0.02
Fósforo	0.08 – 0.50	0.03 – 0.90
Manganeso	0 – 0.50	0 – 0.50
Contenido en vitaminas	**Mosto (mg/L)**	**Vino (mg/L)**
Ácido ascórbico	38.0 – 95.0	-
Tiamina (Vitamina C)	0.10 – 0.50	0.04 – 0.05
Riboflavina (Vitamina B1)	0.003 – 0.08	0.008 – 0.30
Ácido pantoténico (Vitamina B5)	0.5 – 1.0	0.4 – 1.20
Piridoxina (Vitamina B6)	0.3 – 0.50	0.2 – 0.50
Contenido en polifenoles	**Mosto (g/L)**	**Vino (g/L)**
Antocianas	0.004 – 0.9	0 – 0.50
Flavones	Restos	0 – 0.05
Taninos	0.1 – 1.50	0.1 – 5.0

Fuente: Dominé, Supp y Ulbricht (2004)

2.2.5.2. Extracción de compuestos fenólicos durante la elaboración del vino

Las características sensoriales como el color, astringencia y aromas del vino se deben principalmente a la presencia de compuestos fenólicos y durante el proceso de elaboración del vino, estos compuestos se extraen de la uva (Romero, 2008). El grado de extracción de los compuestos fenólicos depende de las condiciones del medio y de la técnica empleada para su extracción.

Los compuestos fenólicos se encuentran en diferentes partes de la uva, en gran cantidad en la piel, presentan distinta solubilidad y capacidad de difusión y su extracción depende de la degradación que sufran las paredes celulares del hollejo (Romero, 2008). Otro factor principal para mejorar la extracción es la técnica empleada durante la vinificación (Traverso *et al.,* 2015), existen distintas técnicas como el congelado de uva, meceración prefermentativa en frío, uso de enzimas entre otras técnicas (Ortega, 2012).

2.2.6. Técnicas enológicas de frío

2.2.6.1. Técnica de congelación de uva o crio extracción

La congelación de la uva, también conocida como crio extracción, es una técnica que consiste en congelar y descongelar la uva antes de someterla al proceso de vinificación (Hidalgo, 2011). Es una técnica utilizada para la elaboración de los “icewine” o “vinos de hielo”, esto consiste en prensar la vendimia parcialmente congelada de forma natural (Moreno, 2013).

Dentro de la cámara frigorífica la vendimia permanece de 12 a 24 horas, alcanzándose unas temperaturas entre -3ºC a -6ºC, que además de producir el efecto de concentración, contribuye a desorganizar los tejidos celulares, facilitando la posterior extracción del mosto y liberando otras sustancias de importancia que contiene la uva, tales como aromas varietales y polifenoles (Hidalgo, 2011).

2.2.6.2. Maceración pre fermentativa en frío

Es una técnica que consiste en que el mosto y los hollejos entren en contacto por un período 7 a 10 días a temperaturas bajas de 4ºC y 10ºC, con el fin de difundir de forma selectiva ciertos compuestos hidrosolubles de la uva (pigmentos, aromas, polisacáridos, polifenoles) en ausencia de alcohol (Moreno, 2013).

De forma general, con esta técnica, la composición de los mostos sufre modificaciones sobre: aromas, compuestos fenólicos, acidez, poliósidos y compuestos nitrogenados. Dichas modificaciones junto con las transformaciones que tienen lugar durante la fermentación van a tener gran repercusión sobre la composición y características del producto final (Roldán y María, 2008).

2.2.7. Influencia sobre la acidez de mostos y vinos

Uno de los principales efectos del congelado de uva es la disminución de la acidez de los mostos. Durante el proceso el potasio es liberado del hollejo (Orriols y Moreno, 1992), lo cual provoca la salificación parcial del ácido tartárico. Como consecuencia se produce una disminución de la acidez total (1-1,5 g ácido sulfúrico/L) y un aumento del pH de los mostos. Según Le Fur (1990), la extracción de potasio se produce tanto en la maceración como en el prensado, aumentando en este último con el tiempo de maceración. Para evitar una disminución excesiva de la acidez, Sapis (1995) recomienda realizar maceraciones cortas y prensados poco intensos.

Por otra parte, la variedad y el terreno influyen en el efecto del congelado sobre la acidez. Sin embargo, se ha comprobado que la influencia del tiempo de maceración es más importante, de manera que cuanto más intenso es el proceso, más baja es la acidez. Mientras que en la mayoría de las variedades estudiadas la disminución de la acidez es evidente, en el caso de la variedad Chardonnay, para cortos períodos de maceración (4 h) y bajas temperaturas (15°C) no se produce disminución de la acidez total y la disminución de ácido tartárico no es consistente con el contenido en potasio y el pH (Cheynier *et al.*, 1989).

2.2.8. Influencia sobre el contenido en polifenoles de mostos y vinos

Durante la maceración se produce un enriquecimiento del mosto en compuestos fenólicos, reflejado en un aumento de la densidad óptica a 280 nm y del índice de polifenoles de los mostos (Darias *et al.*, 2000).

Según Ramey *et al.*, (1986), existe una correlación positiva significativa entre la temperatura de contacto con el hollejo y el contenido en polifenoles totales (flavonoides y no flavonoides) en mosto y los resultantes en vinos. Asimismo, afirman que tanto el color como la capacidad de pardeamiento incrementa con la temperatura por encima de los 15°C, debido a una extracción excesiva de polifenoles (Marais, 1998), y que se limita la extracción de flavonoides controlando la temperatura a 10°C o inferiores. Por otra parte, las maceraciones a bajas temperatura (5 y 10°C), pero durante tiempos prolongados (12, 18 y 24 horas) conduce a vinos con mayor pardeamiento e intensidad de color en los que el contenido en compuestos fenólicos también es mayor (Gómez *et al*., 2006).

Sapis (1995) señala que el aumento de polifenoles no siempre es tan sistemático, en muchas ocasiones los índices de polifenoles totales de vinos de maceración corta y extendida son similares, y los vinos procedentes de vendimia mecánica presentan un contenido en polifenoles superior al de los procedentes de vendimia manual. Esto se debe a que también juegan un papel decisivo en el contenido final de polifenoles, la intensidad del molturado y las condiciones de extracción (intensidad del prensado, tipo de prensa, etc.) y el desfangado (con una presencia más o menos importante de fangos durante la fermentación) después del proceso de maceración (Dubordieu *et al.,* 1986).

Además, no todas las variedades de uva tienen el mismo comportamiento de extracción durante la maceración. Mientras que para el mosto de la variedad Sauvignon, el índice de polifenoles aumenta rápidamente en las primeras horas de maceración, para las variedades Semillón y Moscatel el aumento se produce de forma continua en el transcurso de la misma (Doubourdieu y *et al*., 1986).

2.2.9. Espectrofotometría UV – Visible

Es una técnica experimental que se utilizada para la detección específica de moléculas y permite determinar la concentración de un compuesto disuelto en una solución. También se caracteriza por tener una precisión, sensibilidad y por su aplicación a moléculas de distinta naturaleza. El principio consiste en que las moléculas absorben las radiaciones electromagnéticas y a su vez que la cantidad de luz absorbida depende de forma lineal de la concentración. Para hacer este tipo de análisis se emplea un equipo llamado espectrofotómetro, en el que se puedes seleccionar la longitud de onda de la luz que pasa por una solución y medir la cantidad de luz absorbida por la misma (Abril *et al.*, 2009).

Espectrofotómetro:

Es un equipo que se usa para el análisis químico, mide en función de la longitud de onda, mide también la relación entre valores de una misma magnitud fotométrica relativos a dos haces de radiaciones y la concentración o reacciones químicas que se miden en una muestra. También es utilizado en los laboratorios de química para la cuantificación de sustancias y microorganismos (CWASPLUA, 2012).

2.3. DEFINICIÓN DE TÉRMINOS

Baya: Fruto de la vid, carnoso con semillas rodeadas de pulpa (Hidalgo, 2011).

El hollejo: Es la piel delgada que recubre la pulpa y el grano de la uva (Hidalgo, 2011).

Acidez: Exceso de iones de hidrógeno en una disolución acuosa, en relación con los que existen en agua pura, cantidad de ácido libre en los aceites, vinos, resinas, etc (RAE, 2019).

Crio extracción: Es una técnica que utiliza temperaturas bajas de congelación para la extracción de compuestos, en enología se usa para congelar la vendimia y obtener un mosto más rico en azúcares y polifenoles (Toole, 1992).

Compuestos fenólicos: El término «compuestos fenólicos» engloba a todas aquellas sustancias que poseen varias funciones fenol, nombres populares del hidroxibenceno, unidos a estructuras aromáticas o alifáticas. Únicamente, algunos compuestos fenólicos de la familia de los ácidos fenoles no son polifenoles, sino monofenoles (RAE, 2019).

Taninos: Son compuestos químicos presentes en las plantas, semillas, tallos, hojas y pieles de las frutas. En las uvas se encuentran en las semillas y en la piel de la uva (Rodriguez, 2016).

Grado alcohólico: Es la forma de expresar en grados del número de volúmenes de alcohol contenidos en cien volúmenes del producto, medidos a la temperatura de 20º C (Georffino, 2016).

CAPÍTULO III
MARCO METODOLÓGICO

3.1. Lugar de ejecución

El proyecto de investigación “Evaluación de compuestos fenólicos en la elaboración de vino tinto por efecto del congelado de uva (*Vitis vinífera*) Negra Criolla”, se llevó a cabo en el laboratorio de Ingeniería de Procesos de la Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial de la Universidad Nacional de Moquegua.

3.2. Tipo, Diseño y Nivel de Investigación

En la tabla 3 se muestra las características de la investigación.

Tabla 3. Tipo, diseño y Nivel de Investigación

Tipo, Diseño y Nivel de Investigación	
TIPO DE INVESTIGACIÓN	Aplicada, cuantitativa
DISEÑO	Experimental
NIVEL DE INVESTIGACIÓN	Explicativa, correlacional
MÉTODOS	Descriptivo, deductivo, inductivo, analítico y comparativo

3.3. Operacionalización de variables

Tabla 4. Operacionalización de variables

VARIABLES DE ESTUDIO	FACTOR A MEDIR	INDICADORES
Variable Independiente:		
Temperatura Tiempo	• -10, -18 y -26 °C. • 12, 24 y 48 h.	• Grados centígrados (ºC) • Horas (h)
Variable dependiente: Compuestos Fenólicos, °Brix, pH, Acidez total	En el hollejo y en el vino: • Fenoles Totales en mg/l. • Flavonoides Totales en mg/l. • Antocianinas Totales en mg/l. En el mosto y en el vino: • Concentración de azúcar. • Concentración de H^+. • Acidez total.	En el hollejo, y en el vino: • Hollejo (mg GAE/g) y vino (mg GAE/L). • Hollejo (mg cianidina/g) y vino (cianidina mg/L). • Hollejo (mg QE/g) y vino (mg QE/L). En el mosto y en el vino: • °Brix en grados. • pH • Acidez total en g/L de ácido tartárico.

3.4. Materiales y equipos

3.4.1. Materia prima

Para el desarrollo de la investigación se utilizaron uvas de la variedad Negra Criolla proveídas del valle de Moquegua de la campaña agrícola 2017, con las siguientes características: 22.89 °Brix, 6.94 g/L de ácido tartárico y con 3.81 de pH.

3.4.2. Materiales

- 06 Probetas graduadas de volúmenes de 25, 50 y 100 ml.
- 10 Vasos precipitados de volúmenes de 20, 50 y 100 ml.
- 08 Fiolas aforadas de 1, 5, 10 y 25 ml de capacidad.
- 200 Micro Cubetas UV/ VIS de plástico de 550 µl de la marca Brand.
- Puntas para micropipetas de 0.5 µl-10 µl.
- Puntas para micropipetas de 10 µl -100 µl.
- Puntas para micropipetas de 10 µl -1000 µl.
- Rack para puntas de micropipeta.
- 8 Frascos de vidrio de 50, 100 y 250 ml.
- 200 tubos crioviales graduados de 2 ml de plástico.
- Rack para tubos crioviales.

3.4.3. Equipos e Instrumentos

- Espectrofotómetro UV/Vis, modelo Lambda 650 (190 - 900 nm), marca Perkin Elmer.
- 01 congelador Horizontal de la marca Ilumi USA (5°C a - 28°C).
- 01 refractómetro ABBE de 0 a 95%.
- 01 micro Pipeta manual de volumen variable de 1-10 µL (marca Diamond Advance).
- 01 micro Pipeta manual de volumen variable de 10-100 µL (marca Diamond Advance).
- 01 micro Pipeta manual de volumen variable de 100-1000 µL (marca Diamond Advance).
- 01 centrifuga, marca Centurión Scientific, modelo Pro-Analyt C2004 (velocidad de 500 a 4000 rpm).

- 01 densímetro, escala de 0 a 30 °Baumé (marca Borosil Germany)
- 01 agitador de tubos, modelo Vortex de 0 – 3000 rpm (marca Wizard).
- 01 pH- metro de la marca SI Analytics (modelo Handylab 100).
- Termómetro digital de cuatro canales (-200 ° C a 1370 °C), modelo Center 374.
- Balanza analítica de 220g por 0.0001g (marca Sartorius)

3.4.4. Reactivos

- Folin ciocalteu.
- Ácido gálico al 99%.
- Quercetina al 98 %.
- 2- Aminoetil – difenilborinato 96.5 % (2-APB).
- Acetato de sodio al 99 %.
- Cloruro de potasio al 99.5 %.
- Hidróxido de sodio al 98%.
- Ácido clorhídrico al 37%.
- Metanol al 99%.
- Etanol al 96%.
- Acetona al 99 %.

3.5. Muestra

El estudio se realizó con 50 kg de uva provenientes de una parcela de cultivo, luego fueron distribuidas en forma aleatoria entre las distintas unidades experimentales. Las muestras utilizadas fueron de tipo submuestra, que consistió en tomar tres muestras de un sólo tratamiento, en vista de que probablemente las parcelas de cultivo del valle utilizan diferentes sustratos durante el cultivo que influyen en las características del producto final. Además, según Kuehl (2001), Koepsell y Ruiz (2015) y Segura (2000) señalan que es posible trabajar con este tipo de muestra, la misma que consiste en tomar de un tratamiento submuestras, las que representan los elementos de réplicas.

3.6. Metodología Experimental

El proceso experimental de cada tratamiento y la muestra control (elaborado por método tradicional, uva sin congelar) se utilizaron 5kg de uva, con el que se elaboró el vino. A continuación, se detalla el procedimiento:

a) Materia prima

Uva variedad Negra Criolla proveniente del valle de Moquegua campaña agrícola 2017.

b) Selección y pesado

La uva fue seleccionada de acuerdo a su madurez y se separaron las uvas deterioradas, hojas, tallos y otras partículas. Posteriormente se pesaron 5 kg de uva para cada tratamiento.

c) Congelado

Primero se acondicionó el congelador, el cual consistió en encender el equipo cuatro horas antes de someter la uva a congelación, con la finalidad de alcanzar una temperatura constante, posteriormente las uvas fueron distribuidas en las jabas de plástico en forma homogénea y colocadas dentro del congelador (Ilumi USA) a temperaturas promedio de -10, -18 y -26°C por tiempos de 12, 24 y 48 h. Para mantener una temperatura constante se selló herméticamente el congelador durante todo el proceso, así mismo se colocaron cuatro termocuplas para registrar la temperatura de congelación, tres de ellas fueron colocadas en el medio de granos de uvas distintas y la cuarta registró la temperatura del congelador.

El registro de la temperatura durante el proceso de congelación se muestra en el Anexo 4. Cada tratamiento presentó un tiempo de acondicionado, tiempo donde la uva alcanzó la temperatura deseada, para los tratamientos congelados a -10°C el tiempo de acondicionado fue de 2 horas, 4 horas y 20 minutos para -18°C y 5 horas para los tratamientos a -26°C. Luego de alcanzar la temperatura deseada se empezó a controlar los tiempos establecidos en el experimento (12, 24 y 48 h). Para el registro y monitoreo

de la temperatura de congelación se utilizó del software del termómetro digital, el cual fue programado para que registre cada 5 minutos.

d) Descongelado

Luego de terminar el proceso del congelado, la uva congelada fue puesta a temperatura de ambiente y descongelada hasta los 15°C. El tiempo necesario de descongelación fue de 1 hora en promedio.

e) Despalillado y estrujado

Los racimos de las uvas fueron despalillados, que consistió en separar las bayas del raspón y eliminar la parte leñosa, tallos y hojas. Luego fueron estrujadas y ambos procesos se realizaron de forma manual.

f) Sulfitado y encubado del mosto

Posteriormente al mosto se adicionó 50 mg/L de metabisulfito de potasio, luego se realizó el encubado en recipientes de plástico protegidos de la luz.

g) Fermentación

Para este proceso se usaron depósitos de plástico protegidas de la luz, la temperatura de fermentación fue a un promedio de 24°C, así mismo se realizó controles de la densidad del mosto, una vez al día hasta que el ºBaumé llegó a cero. La fermentación se dio con sus propias levaduras naturales de la uva, es decir no se adicionaron otras levaduras, durante este proceso se llevaron a cabo dos removidos diarios para favorecer la maceración y que el mosto entre en contacto con el hollejo, el tiempo de fermentación duro 10 días.

h) Descubado y prensado

Terminada la fermentación se realizó el descubado lo cual consistió en separar el mosto de los hollejos y pepitas, y para la parte solida se realizó un prensado manual con finalidad de recuperar el mosto que aún quedaba en los hollejos.

i) Fermentación maloláctica

Posterior al anterior proceso se siguió con la fermentación maloláctica, por un tiempo de 45 días, a temperatura ambiente y en oscuridad.

j) Trasiegos

Luego de terminar la fermentación maloláctica, se realizó el primer trasiego con la finalidad de separar las borras producidas en la fermentación, luego se dejó en reposo por 7 días para que se produzca una sedimentación natural y terminado este tiempo se realizó el segundo trasiego, lo mismo se hizo con el tercer trasiego.

k) Envasado

Finalmente, los vinos fueron embotellados en botellas de vidrio color ámbar de 750 ml de capacidad previamente desinfectados. Luego fueron almacenados por un mes a temperatura ambiente y en oscuridad, y en el producto final se evaluaron sus características fisicoquímicas como los ºBrix, pH, acidez total, fenoles totales, flavonoides totales y antocianinas totales.

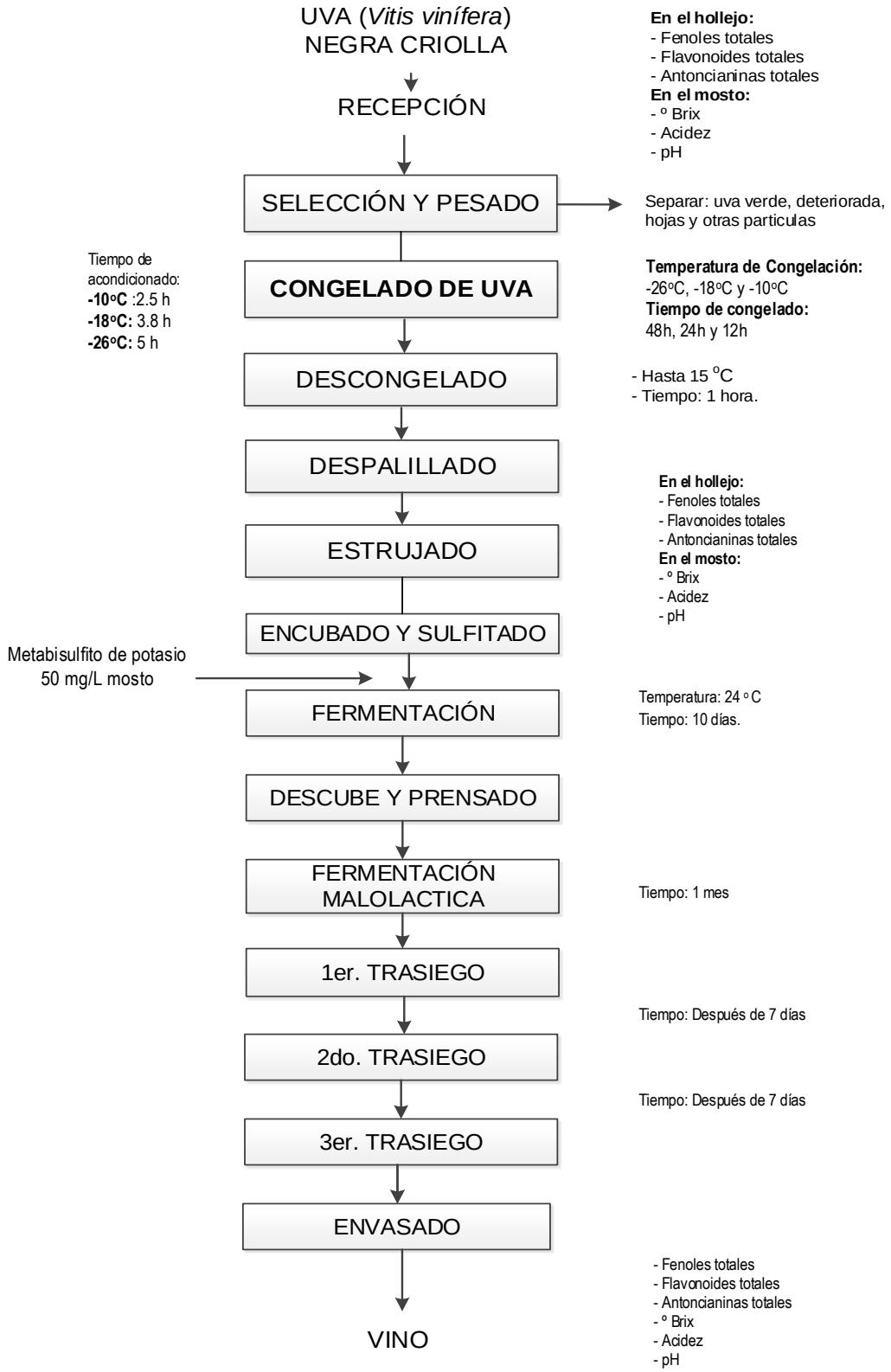


Figura 5. Diagrama general de elaboración del vino obtenido con uva congelada

3.6.1. Métodos de Análisis para la determinación de compuestos fenólicos

3.6.1.1. Acondicionamiento de las muestras

Antes de realizar los análisis de fenoles, flavonoides y antocianinas totales, primero que hizo una extracción de estos compuestos mediante el siguiente procedimiento:

Para el hollejo de la materia prima y el hollejo después del congelado en un tubo se agregó 0.4 g de hollejo de uva triturado y se añadió 2 ml de metanol: agua (50:50, v/v y pH:2) y para ajustar el pH se utilizó HCl al 37%. La mezcla fue puesta en agitación, mediante un agitador de tubos a una velocidad de 800 rpm, durante dos horas a temperatura ambiente, posteriormente se centrifugó a 3500 rpm durante 20 minutos y parte del sobrenadante fue separado. La parte solida fue sometida a una segunda extracción con 2 ml de acetona: agua (70:30, v/v), y la muestra fue puesta en agitación a 800 rpm por dos horas, luego se centrifugó a 3500 rpm. Los sobrenadantes fueron almacenados a -20°C hasta efectuar los análisis. Para el caso de vino se centrifugó 2 ml de muestra a una velocidad de 3500 rpm durante 20 min, luego se retiró el sobrenadante en un tubo protegido de la luz y fue almacenado a -20°C.

3.6.1.2. Determinación de fenoles totales

La cuantificación fue realizada por el método Folin-Ciocalteu descrito por Abderrahim *et al* (2011). Se realizaron curvas de calibración con ácido gálico a concentraciones entre 0 a 50 mg/L (Anexo 3). Las muestras fueron diluidas con metanol (1:1, CH_3OH: H_2O a pH: 2), 10 veces para la muestra del hollejo y 40 veces para el vino para obtener lecturas de absorbancia dentro de las curvas de calibración. Posteriormente en un microtubo se adicionó 140 µl de muestra diluida más 140 µl de Folin-Ciocalteu (1:20 v/v) se agitó y se dejó incubar a temperatura ambiente por 2 minutos, luego la reacción fue neutralizada con 280 µl de $NaOH$ al 0.3 M, se volvió a agitar y se dejó reposar por 15 minutos. Las absorbancias fueron medidas a 760 nm en un espectrofotómetro UV-VIS Lambda 650 (Perkin-Elmer, USA). Las muestras fueron analizadas por triplicado y los resultados fueron expresados en mg de ácido gálico/L de vino (mg GAE/L).

3.6.1.3. Determinación de flavonoides totales

Fueron determinados mediante el método propuesto por Abderrahim *et al.* (2011), para la cuantificación se elaboró una curva de calibrado de quercetina a concentraciones entre 0 a 0.5 mg QE/L. En un tubo criovial se adicionó 100 µl de muestra y 500 µl de 2-Aminoetil-difenilborinato al 0.125% w/v (2-APB/ CH_3OH), luego se agitó en un agitador de tubos, posteriormente se traspasó a una microcubeta de 1 cm. Las lecturas de absorbancia se realizaron en un espectrofotómetro UV-Vis a una longitud de onda de 405 nm y el contenido de flavonoides totales fue expresado como mg de quercetina por litro de vino (mg QE/L).

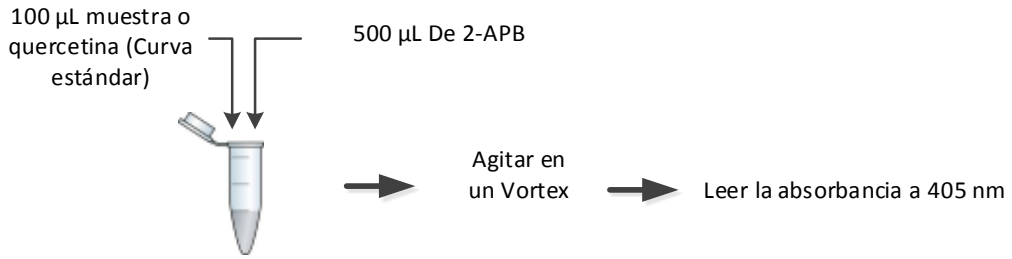


Figura 6. Protocolo para la determinación de flavonoides totales

3.6.1.4. Determinación de antocianinas totales

Los antonianos fueron medidos por el método pH diferencial propuesto por la AOAC (2005). Consistió en tomar 100 µL de vino y fue diluido con una solución de buffer de Cloruro de potasio a un pH=1 (0.025M ajustado con HCl) y buffer de acetato de sodio a un pH=4,5 (0.4M ajustado con HCl). Las lecturas de absorbancia se realizaron en un espectrofotómetro UV-Vis a una longitud de onda de 510 nm, para la cuantificación se utilizó un coeficiente de extinción molar de 24 825 para la cianidina 3-glucósido, donde el coeficiente de extinción molar es la que mide la capacidad que tiene una sustancia para absorber una determinada longitud de onda y el peso molecular de la cianidina 3-glucósido fue de 484,2 g/mol.

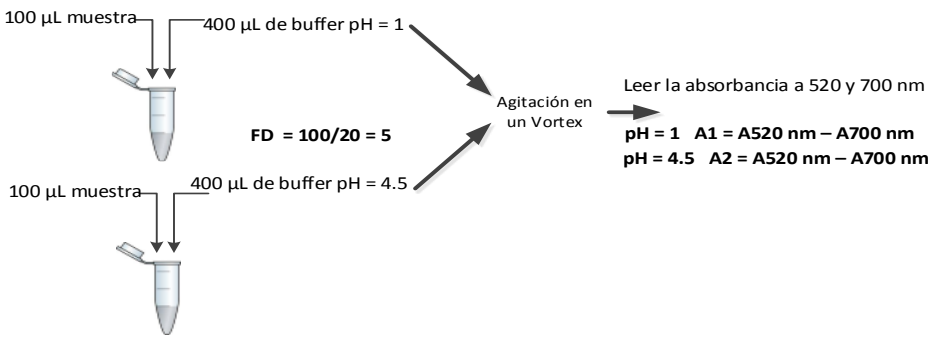


Figura 7. Protocolo para la determinación de antocianinas totales

Fórmula:

$$\text{Antocianinas Totales (mg de cianidina-3-glucosida)} = \frac{(A1\text{-}A2)\ X\ 449.2\ X\ FD\ X\ 1000}{26900}$$

Dónde: pH: 1, A1=A520 nm – A700 nm

pH: 4.5, A1=A520 nm – A700 nm

AT: Antocianinas totales

Δ**A:** Cambio en la absorbancia

PM: Masa molecular para cianidina-3-glucósido, 449.2 g/mol

FD: Factor de dilución

ε : Coeficiente de extinción molar para cianidina-3-glucósido es 26900

l : Logitud de paso de celda, 1 cm

1000: Factor de conversión de gramos a miligramos

3.6.1.5. Determinación del ºBrix

Para la determinación del °Brix se utilizó el método del compendio de la OIV (2012), se utilizó un refractómetro calibrado con agua destilada.

3.6.1.6. Determinación del pH

El valor de pH se evaluó mediante el método del Compendio de la OIV (2012), que consistió de una medida directa sobre la muestra, se utilizó un pH-metro digital. Para la calibración del equipo se utilizó dos buffers de pH=4 y pH=7.

3.6.1.7. Determinación de la acidez total

La determinación de la acidez se realizó por volumetría utilizando el método propuesto por García (1990). En un vaso precipitado se agregó 25 ml de muestra y con la ayuda de una bureta se añadió gota a gota la solución de $NaOH$ a 0,1N hasta un pH 7,00. Se usó fenolftaleína como indicador y los resultados fueron expresados en g/L de ácido tartárico, se usó la siguiente fórmula:

$$\text{Acidez total (g / L)} = \frac{N_B * V_B * M_{EQ}}{V_V}$$

Donde:

N_B : Es la normalidad del NaOH

V_B : Es el volumen gastado de NaOH

M_{EQ} : Es la masa equivalente del ácido tartárico (75 g/eq).

V_V : Es el volumen de muestra utilizada

3.7. Análisis estadístico de los resultados

Para evaluar y determinar la implicancia de los factores en estudio, los datos fueron distribuidos bajo un diseño factorial de dos factores con tres submuestras (n), las muestras investigadas se compararon mediante la metodología de Tukey con el apoyo del software GraphPad Prisma 6 y para el análisis factorial de dos factores se usó el software estadístico IBM SPSS Statistics 23.

Variables Independientes:

- Temperatura de congelación:

  Temperatura 1 = -10 ºC
  Temperatura 2 = -18 ºC
  Temperatura 3 = - 26 ºC

- Tiempo de congelación:

  Tiempo 1 = 12 h
  Tiempo 2 = 24 h
  Tiempo 3 = 48 h

Variables Dependientes:

- Fenoles totales
- Flavonoides totales
- Antocianinas totales
- ° Brix
- Acidez total
- pH

Tabla 5. Estructura del diseño experimental para la evaluación de datos

Variedad	Variable Independiente		Variable Dependiente
	Temperatura (°C)	**Tiempo (Horas)**	**Parámetros a evaluar**
Negra Criolla	-26°C	48 h 24 h 12 h	- Fenoles totales - Flavonoides totales - Antocianinas totales - Propiedades fisicoquímicas: pH, ° Brix y acidez.
	-18°C	48 h 24 h 12 h	
	-10°C	48 h 24 h 12 h	

Como se trata de un diseño factorial, el número de tratamientos fue 9 más una muestra control, y se utilizaron tres sub-muestras en vez de réplicas.

CAPÍTULO IV
RESULTADOS Y DISCUSIONES

4.1. Características fisicoquímicas de la materia prima, mosto de uva congelada y del vino

La tabla 6 muestra las características fisicoquímicas de la materia prima, del hollejo después del congelado y de los vinos obtenidos con uvas congeladas. Se observa que los ºBrix de la materia prima son similares a los reportados por Chaparro (2015), Mamani (2013) y Ristic (2005) quienes reportaron valores entre 20.75, 22 y 24 de °Brix en uva Negra Criolla, por otro lado, Baudrit *et al* (2015) menciona que el contenido de azúcar óptimo para la elaboración de vinos se encuentra entre 21 a 23 °Brix.

Mientras tanto el mosto después del congelado presentó un incremento significativo en los °Brix, donde los tratamientos congelados a - 26ºC por 24 y 48 horas (T8 y T9) presentaron mayor concentración de ºBrix (25.31), seguido de los tratamientos T6 y T7, por otro lado, esta diferencia no se observó en el resto de tratamientos. Los resultados se ajustan a lo señalado por Rosáenz (2012) y Chauvét *et al.,* (1986), quienes refieren que el congelado conduce al incremento y concentración del azúcar. Mientras que los °Brix en el vino se mantuvieron entre 7 y 7.52 para todos los tratamientos, a diferencia de la muestra control que presentó 8 °Brix.

El pH de la materia prima fue de 3.81 como se muestra en la tabla 6, similar a lo reportado por Georffino (2016) y Mamani (2013) quienes obtuvieron un pH de 3,65 y 3.7 en uva de la misma variedad. Valor recomendado para obtener vinos de calidad de acuerdo con Rizzon y Miéle (2002). Plane *et al.*, (1980), menciona que el pH de la uva, para la elaboración del vino, debe situarse entre 3.1 y 3.7, ya que los valores superiores o inferiores afectan sobre el color y la calidad de los vinos. Georffino (2016) señala que la diferencia en el contenido de las características fisicoquímicas en una misma variedad que se cultiva cada año difieren por el clima, fertilización, índice de madurez, poda y otros factores.

Tabla 6. Características fisicoquímicas de la materia prima, mosto después del congelado

Tratamientos	ºBrix			pH			Acidez (g/L de ácido tartárico)		
	Materia Prima	Mosto*	Vino	Materia prima	Mosto*	Vino	Materia prima	Mosto*	Vino
T1 (-10ºC,12h)	22.08 ± 0.18	22.25 ± 0.14^{d}	7.52 ± 0.03^{b}	3.81 ± 0.27	3.64 ± 0.10^{c}	3.53 ± 0.30^{e}	6.937 ± 0.14	6.20 ± 0.65^{a}	5.90 ± 0.16^{b}
T2 (-10ºC,24h)	22.08 ± 0.18	22.33 ± 0.13^{d}	7.10 ± 0.13^{d}	3.81 ± 0.27	3.76 ± 0.51^{b}	3.76 ± 0.12^{b}	6.937 ± 0.14	5.73 ± 0.53^{ab}	6.09 ± 0.45^{a}
T3 (-10ºC,48h)	22.08 ± 0.18	22.43 ± 0.06^{d}	7.33 ± 0.13^{c}	3.81 ± 0.27	3.78 ±0.10^{b}	3.71 ± 0.15^{c}	6.937 ± 0.14	5.38 ± 0.53^{b}	6.40 ± 0.53^{a}
T4 (-18ºC,12h)	22.08 ± 0.18	22.35 ± 0.05^{d}	7.17 ± 0.13^{d}	3.81 ± 0.27	4.01 ± 0.13^{a}	3.69 ± 0.28^{cd}	6.937 ± 0.14	4.28 ± 0.22^{cd}	5.88 ± 0.34^{b}
T5 (-18ºC,24h)	22.08 ± 0.18	22.46 ± 0.05^{d}	7.48 ± 0.11^{b}	3.81 ± 0.27	3.87 ± 0.06^{b}	3.86 ± 0.19^{a}	6.937 ± 0.14	4.68 ± 0.16^{c}	4.91 ± 0.17^{d}
T6 (-18ºC,48h)	22.08 ± 0.18	24.23 ± 0.03$_{c}$	7.01 ± 0.13^{d}	3.81 ± 0.27	3.98 ± 0.60^{a}	3.71 ± 0.23^{c}	6.937 ± 0.14	4.68 ± 0.19^{c}	6.39 ± 0.34^{a}
T7 (-26ºC,12h)	22.08 ± 0.18	23.81 ± 0.10^{b}	7.45 ± 0.08^{b}	3.81 ± 0.27	3.78 ± 0.10^{b}	3.75 ± 0.13^{b}	6.937 ± 0.14	4.30 ± 0.22^{cd}	5.44 ± 0.84^{c}
T8 (-26ºC,24h)	22.08 ± 0.18	25.03 ± 0.03^{a}	7.16 ± 0.09^{d}	3.81 ± 0.27	3.99 ± 0.10^{a}	3.66 ± 0.14^{d}	6.937 ± 0.14	4.95± 0.27^{c}	5.48 ± 0.11^{c}
T9 (-26ºC,48h)	22.08 ± 0.18	25.31 ± 0.23^{a}	7.42 ± 0.13^{b}	3.81 ± 0.27	4.01 ± 0.50^{a}	3.79 ± 0.51^{ab}	6.937 ± 0.14	4.23 ± 0.16^{d}	5.01 ± 0.39^{d}
Control	22.38 ± 0.15	22.38 ± 0.05^{d}**	8.01 ± 0.23^{a}	3.92 ± 0.01	3.86 ± 0.01^{b}**	3.83 ± 0.01^{a}	6.825 ± 0.12	6.825 ± 0.12^{a}**	6.19 ± 0.10^{a}

* Mosto después del congelado

** Mosto sin Congelar

$^{a,b,\cdots}$ Letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas según test Tukey ($p<0.05$).

Con respecto a la acidez y pH, la congelación condujo a una disminución de la acidez y un incremento del pH para los tratamientos congelados a -18 y -26ºC, estos resultados fueron similares a los reportados por Rosáenz (2012) quien obtuvo pH más elevados, sin embargo Hatta (2010) recomienda un pH 3,3 a 3,5, por otro lado, Hidalgo (2011) refiere que en mostos con pH entre 3 y 3,8 la fermentación alcohólica se realiza con normalidad, mientras tanto Peinado y Moreno (2010) señalan que el pH de los mostos deben estar entre 3 y 3,9. Según otros autores (Joseph, 1992; Delteil *et al*, 2000) este comportamiento se debe a la solubilización del potasio liberado del hollejo, lo que provocó la disminución de acidez, esto indica que la congelación no solo extrae compuestos fenólicos sino que también otros compuestos como el potasio, para evitar una disminución excesiva de la acidez, según Sapis (1995) recomienda realizar congelaciones cortas. Mientras tanto el pH en los vinos fue ligeramente menor para todos los tratamientos, y el que presentó mayor pH fue la muestra control (pH 3.83).

Por tanto, la acidez de la uva fue de 6.94 expresado en g/L de ácido tartárico, mayor a los resultados de Mamani (2013), quien obtuvo una acidez de 4.7 (g de ácido tartárico/L), sin embargo, Lázaro (1995) menciona que la acidez de la uva suele estar entre 3 a 7.5 g/L expresado en ácido tartárico, pero Hatta (2010) recomienda una acidez entre 5 a 8 g/L de ácido tartárico. Sin embargo, después del congelado la acidez disminuyó hasta 4.3 g/L de ácido tartárico, se observa que mientras más tiempo es la congelación, más baja es la acidez.

En cuanto a la acidez total de los vinos, mostrados en la tabla 6 se encuentran entre 4.91 y 6.39 g/L (ácido tartárico), los cuales estuvieron dentro de lo requerido por la Norma Técnica Peruana del Vino, la cual indica que la acidez total del vino debe estar entre 3,0 y 7,0 g/L (ácido tartárico) (INDECOPI, 2011), y fueron similares a los reportados por Rosáenz (2012) quien obtuvo 5.49 g ácido tartárico/L, en vinos obtenidos con uvas congeladas. Los tratamientos T5, T7, T8 y T9 fueron significativamente menor con respecto a los demás tratamientos. Según Rosáenz (2012) una acidez baja influye en la calidad gustativa del vino, el cual le aporta un carácter fresco y equilibra el dulzor.

La tabla A1 de comparación de Tukey demostró para los tratamientos T6, T7, T8 y T9 que los °Brix del mosto después del congelado fueron significativamente mayor al resto de tratamientos. Al hacer la comparación (Tabla A10) entre la muestra control y los tratamientos todos presentaron diferencias significativas en los °Brix del vino. Por otro lado, la comparación (Tabla A9) de la acidez del mosto de los tratamientos T1, T2, T3, y la muestra control mostraron mayor acidez, superando significativamente a la mayoría de los demás tratamientos, mientras que la acidez en el vino T2, T3, T6 y la muestra control presentaron mayor acidez con respecto a los demás tratamientos. En cuanto al pH del mosto T4, T6, T8, T9 y en el vino T9, T5 y en el control fueron mayores, que el resto de tratamientos.

En cuanto al análisis de varianza (Tabla A13), encontramos que existe diferencia estadística (*p≤0.05*), para los efectos principales temperatura (-10±0.2, -18±0.2 y -26±0.54ºC) y tiempo (12, 24 y 48h). Se demuestra que, a una temperatura más baja por un tiempo más prolongado, hay una mayor concentración de azúcar, mientras que el pH tiende a incrementar y la acidez a disminuir.

.

4.2. Fenoles, flavonoides y antocianinas totales en la materia prima, hollejo de uva congelada y el vino.

4.2.1. Fenoles totales evaluados en la materia prima, mosto congelado y vino

La materia prima presentó 46.13 mg GAE/100g de polifenoles totales como se muestra en la tabla 7, los resultados se encuentran dentro de lo señalado por Hidalgo (2011), quien refiere que el contenido de fenoles totales en uvas se encuentra entre 45 y 300 mg/100g de uva y esto depende de la condición climatológica del cultivo. Mientras que los hollejos de la muestra control mantuvieron su concentración como se observa en la tabla 7, tal como lo señalan Roldán (2008) y Amati (1992) el método tradicional limita la extracción de compuestos fenólicos. Roldán (2007) señala que la pared celular del hollejo está compuesta por polisacáridos, compuestos fenólicos, proteínas y están fuertemente ligados mediante enlaces iónicos y covalentes, por otra parte, Moreno (2013) indica que, si las paredes del hollejo no son degradadas, la extracción de

los compuestos fenólicos se dará de manera incompleta, es por eso que la muestra control conserva su concentración.

Tabla 7. Fenoles totales de la materia prima, hollejo y vino de uva Negra Criolla

Tratamientos	Fenoles totales		
	Materia Prima (mg GAE/ 100g)	Hollejo* (mg GAE/ 100g)	Vino (mg GAE/ L)
T1 (-10ºC,12h)	46.13 ± 0.37	33.380 ± 0.56^{b}	998.70±1.10^{d}
T2 (-10ºC,24h)	46.13 ± 0.37	30.217±0.35^{cb}	1162.90±1.61^{cd}
T3 (-10ºC,48h)	46.13 ± 0.37	24.947±0.64^{d}	1206.47±2.18^{c}
T4 (-18ºC,12h)	46.13 ± 0.37	30.497±0.34^{cb}	1054.91±0.45^{cd}
T5 (-18ºC,24h)	46.13 ± 0.37	26.626±0.17^{c}	1158.39±1.55^{cd}
T6 (-18ºC,48h)	46.13 ± 0.37	21.930±0.16^{cd}	1229.28±0.58^{ab}
T7 (-26ºC,12h)	46.13 ± 0.37	24.477±0.37^{cd}	1206.91±1.77^{b}
T8 (-26ºC,24h)	46.13 ± 0.37	22.666±0.21^{cd}	1245.76±2.78^{ab}
T9 (-26ºC,48h)	46.13 ± 0.37	20.243±0.28^{d}	1293.18±1.77^{a}
Control	46.65 ± 0.024	**46.65±0.24^{a}	737.77±1.73^{d}

* Hollejo después del congelado
** Sin congelar
$^{a,b,...}$ Letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas según test Tukey ($p<0.05$).

La figura 8 y la tabla 7 muestran los fenoles totales evaluados en los hollejos después del congelado, se observa una disminución significativa en todos los tratamientos. El hollejo del tratamiento T9 presentó menor concentración en polifenoles (20.24 mg GAE/g) con respecto a los demás tratamientos y el control. Por tanto, los resultados indican que los hollejos después del congelado sufrieron cambios, así como se observa en la tabla 7 los tratamientos congelados a temperaturas más bajas por más tiempos, presentaron una mayor extracción, porque los hollejos disminuyeron su concentración en compuestos fenólicos, lo que indica que estos fueron extraídos hacia el mosto. Hidalgo (2011) señala que el congelado de uva además de producir el efecto de concentración, contribuye a desorganizar los tejidos celulares, facilitando la posterior extracción del mosto y liberando otras sustancias de importancia que contiene la uva, tales como aromas varietales y compuestos fenólicos. Tal como sucedió en este trabajo de investigación la congelación condujo a la mayor extracción de estos compuestos.

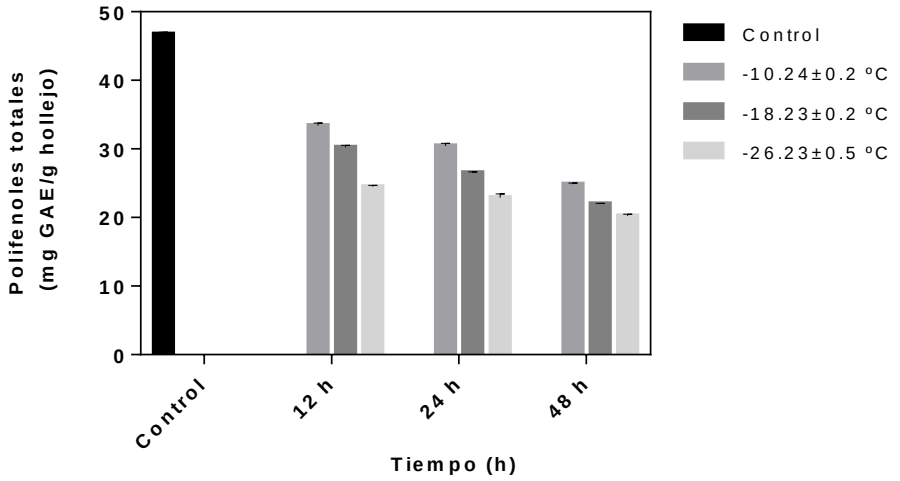


Figura 8. Fenoles totales en el hollejo después del congelado

La figura 8 muestra la variación de los fenoles totales en el hollejo después del congelado, resultado similar a lo reportado por Rosáenz (2012) quien congeló uvas a -18ºC, así mismo señala que la congelación conlleva a cambios importantes en la estructura de la membrana celular, produciendo daños, lesiones y provocando desgarros, cortes en la piel de la uva. Amrani y Glories (1995) señalan que el hollejo está compuesto por hemicelulosa, pectinas, proteínas y unida con la matriz de celulosa de la pared celular, la extracción de compuestos fenólicos requiere que la lámina media del hollejo rica en pectinas, sea degradada para liberar las células y que las paredes celulares se rompan para permitir que los compuestos se difundan en el vino.

Mientras tanto Moreno (2013) también indica que la extracción no depende únicamente de la concentración de compuestos fenólicos que tiene la uva, sino que también dependerá de la degradación de las paredes celulares del hollejo. Es por eso que el congelado conduce a la extracción, tal como lo demuestran Rondán (2007) en una investigación donde estudió los cambios microestructurales producidos en el hollejo durante la congelación de la uva, donde reportó que efectivamente los hollejos sufren desgarros y cortes en sus tejidos.

Al comparar los resultados de fenoles totales de la tabla 7 y la figura 8, se puede mencionar que todos los tratamientos resultaron altamente significativos, y al hacer la comparación con la muestra control, este resultó con mayor valor. En cuanto al análisis de varianza (Tabla A19), se encontró que existe diferencias altamente significativas (*p≤0.05*), para los efectos principales de temperatura (-10.24±0.2, -18.23±0.2 y -26.23±0.54ºC) y el tiempo (12, 24 y 48h), se demuestra que a temperaturas de congelación más bajas por tiempos más prolongados se da una mayor extracción de fenoles totales.

Los resultados de fenoles totales en el vino se muestran en la tabla 7, los cuales están expresados en mg de ácido gálico/L. Estos datos se hallan dentro de los rangos habituales de vinos peruanos, los cuales se encuentran entre 627 a 3321 mg GAE/L de polifenoles (Muñoz *et al*, 2007).

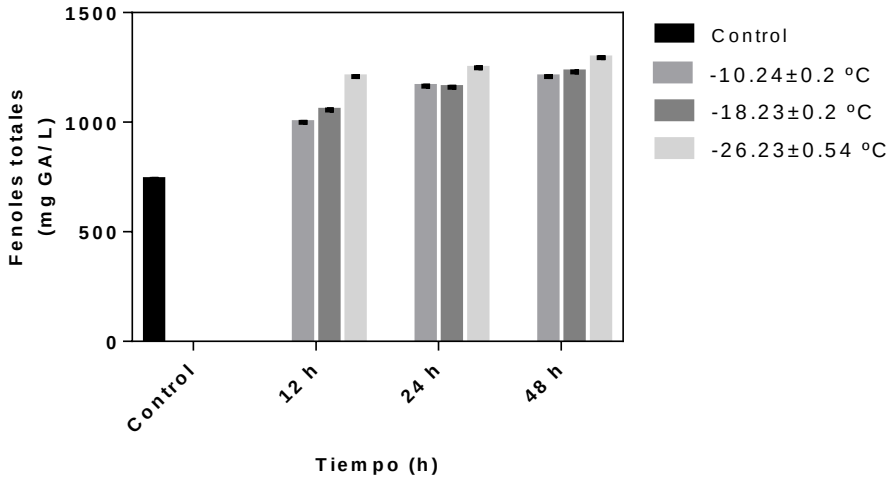


Figura 9. Fenoles totales (mg GAE/ L) en el vino.

En la figura 9 se observa que el tratamiento congelado a -26ºC por 48 horas (T9), presentó mayor concentración en fenoles totales, esto pone en manifiesto que el congelado influyó significativamente sobre la extracción de los fenoles totales del hollejo hacia el vino, tal como lo señalan Ramey *et al*., (1986), mientras tanto Rosáenz (2012) indica que existe una correlación positiva entre la temperatura de contacto con el hollejo y el contenido de fenoles en el vino.

Mientras tanto los resultados son similares a los reportados por Moreno (2013) quien congeló uva a una temperatura de -10ºC por 12 horas, y obtuvo vinos con mayor concentración en fenoles, así mismo Rosáenz *et al.*, (2012) y Roldán (2008) reportaron vinos con mayor concentración de este compuesto, elaborado con uva congelada a -18ºC, sin embargo Gutiérrez (1990) manifiesta que si la extracción se da de manera excesiva, puede tener efectos negativos sobre la calidad del vino, aumentando su coloración, amargor y astringencia, mientras tanto Frankel (1995) indica que la mayoría de estos compuestos pueden tener efectos positivos en el aroma y efectos beneficiosos sobre la salud. Por otra parte, Gómez (2008) en un trabajo de investigación concluyó que la congelación es una buena alternativa para extraer los compuestos fenólicos y aromáticos. Por otro lado, la congelación a temperaturas más bajas (-18 y -26ºC) y durante tiempos más prolongados (12, 24 y 28h) condujeron a vinos con mayor contenido de compuestos fenólicos (Gómez, 2006).

Sin embargo, la muestra control presentó menores concentraciones en fenoles (737.77 mg GAE/L), con respecto a los demás tratamientos. Busse *et al*., 2011 señala que este comportamiento está relacionado con las características fisiológicas de la uva, ya que, al poseer una estructura celular más rígida, el método tradicional no logra degradar con facilidad los tejidos del hollejo, mientras que la técnica del congelado provoca un mayor shock térmico y eso favorece en mayor medida la ruptura celular, facilitando la extracción de los compuestos fenólicos.

Al aplicar la prueba de comparación tukey (Tabla A28), se observó que todos los tratamientos resultaron altamente significativos. La menor concentración de fenoles totales se presentó en la muestra control y el mejor tratamiento fue T9 el que presentó mayor valor en fenoles, en comparación al resto. En cuanto al análisis de varianza (Tabla A29), se encontró que existe diferencias altamente significativas ($p \leq 0.05$), para los efectos principales de temperatura (-10, -18 y -26ºC) y tiempo (12, 24 y 48h), lo que demuestra que a temperatura de congelación más bajas y tiempos más prolongados se obtienen vinos con mayor concentración de fenoles totales.

4.2.2. Flavonoides totales evaluados en la materia prima, mosto después del congelado y del vino

En la tabla 8 se presenta los resultados obtenidos de flavonoides totales en la materia prima, hollejos después del congelado y en el vino, como se observa los tratamientos T8 y T9 presentaron menor concentración con respecto a los demás tratamientos, y en los tratamientos T3, T5 y T6 no existió diferencia significativa, mientras que la muestra control fue significativamente superiores al resto de los tratamientos, lo que indica que se dio un desprendimiento de este compuesto del hollejo hacia el mosto.

Tabla 8. Concentración de Flavonoides en la materia prima, hollejo y vino

Tratamientos	Flavonoides (mg QE/L)		
	Materia Prima (mg GAE/ 100g)	Hollejo* (mg GAE/ 100g)	Vino (mg GAE/ L)
T1 (-10ºC,12h)	104.34 ± 1.73	83.72±0.78^{b}	83.713 ±0.54^{e}
T2 (-10ºC,24h)	104.34 ± 1.73	72.21±0.34^{c}	107.738±0.89^{de}
T3 (-10ºC,48h)	104.34 ± 1.73	61.53±0.84^{d}	109.629±0.59^{de}
T4 (-18ºC,12h)	104.34 ± 1.73	76.93±0.63^{bc}	104.761±0.55^{de}
T5 (-18ºC,24h)	104.34 ± 1.73	62.25±1.62^{d}	119.038±0.43^{c}
T6 (-18ºC,48h)	104.34 ± 1.73	62.34±1.72^{d}	128.085±1.10^{b}
T7 (-26ºC,12h)	104.34 ± 1.73	75.20±1.18^{bc}	110.656±0.75^{d}
T8 (-26ºC,24h)	104.34 ± 1.73	50.94±0.99^{e}	121.478±0.94^{bc}
T9 (-26ºC,48h)	104.34 ± 1.73	38.62±0.56^{e}	147.137±0.51^{a}
Control	104.34 ± 1.73**	98.15±0.63**^{a}	68.899±0.21^{f}

* Hollejo después del congelado
** Sin congelar
$^{ab...}$Letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas según test Tukey ($p<0.05$).

Según Ordoñez (1998) esto se debe a que el proceso de congelación provocó una serie de cambios en los tejidos, que se manifiesta tras la descongelación, uno de esos cambios es el aumento del volumen de la baya lo que provocó desgarros en los tejidos, debido a que la formación de hielo provoca un aumento en la presión interna, facilitando la separación de las paredes celulopectídicas (Mallet, 1994), y por tanto, se dio una mayor extracción de flavonoides y otros compuestos (Gómez, 2008), es por ello que el tratamiento con temperatura más baja (-26ºC) por tiempo más prolongado (48h) presentó mayor diferencia significativa.

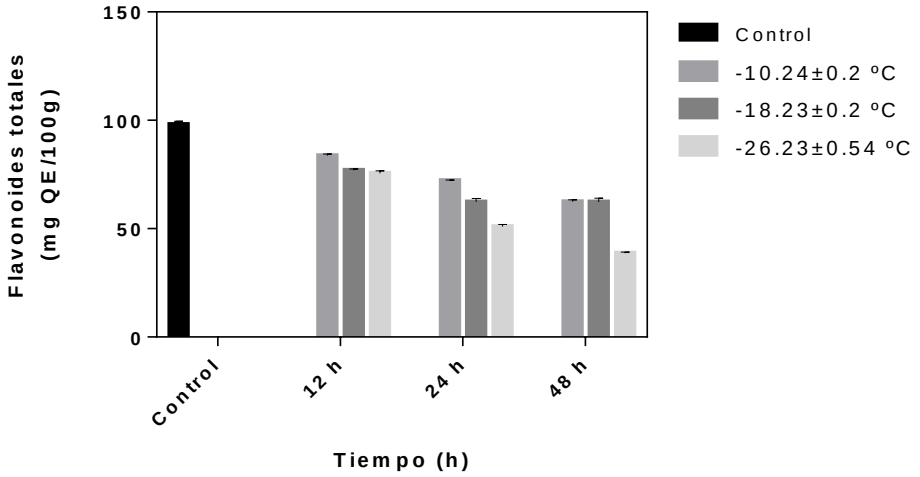


Figura 10. Flavonoides totales en el hollejo (mg QE/g) después del congelado

De la figura 10 se reportó que mientras más dure el tiempo (48h) de congelado a una temperatura más baja (-26ºC), los hollejos presentan menor concentración de flavonoides. Rodríguez (2002) señala que este comportamiento se debió a que los cristales de hielo son de mayor tamaño a temperaturas más bajas, y tienen la forma puntiaguda y esto provocó la degradación interna de las células. Por otro lado, Roldán y María (2008) señalan que la congelación conduce a un aumento de la presión interna de la uva, por la formación de cristales de hielo, que permitió degradar la pared celular que envuelve la baya.

En cuanto a los resultados obtenidos de flavonoides en los vinos como se observa en la tabla 8, la muestra que fue congelada a -26±0.54ºC por 48h (T9: 147.13 mg QE/L) fue significativamente mayor al resto de los tratamientos, así mismo T5, T6 y T8 presentaron una concentración bastante alta. Mientras tanto la muestra control fue la que presentó significativamente menor concentración de flavonoides (68.89 mg QE/L), lo que significa que los tratamientos aumentaron su concentración en flavonoides. Estos datos obtenidos concuerdan con los datos obtenidos por Moreno (2013) quien encontró mayor concentración de flavonoides en vinos (72, 96 mg/L) que su muestra control (61,83 mg/L), elaborada con uva congelada de la variedad Cabernet Sauvignon, por otro lado, Gómez (2008) señala que la congelación conduce a una mayor extracción de estos compuestos.

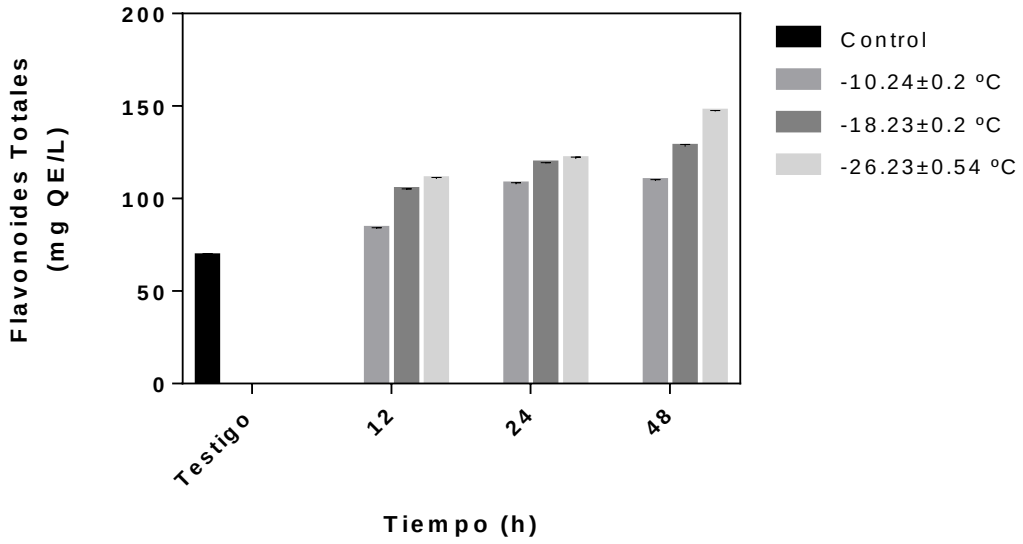


Figura 11. Flavonoides totales en el vino

La congelación de uva en la vinificación, es una alternativa para obtener vinos con mayor concentración en flavonoides, debido a que las bajas temperaturas favorecen la extracción de este compuesto del hollejo hacia el vino. Según señalan Rondán y María el proceso de congelación conduce a una serie de cambios en los tejidos, uno de ellos es el daño por congelación que se da tras la descongelación del tejido, también se presenta la formación de cristales de hielo lo que provoca el aumento del volumen de la uva, consecuencia de esto los tejidos sufren daños y lesiones que no sólo conduce a la deshidratación de las células, sino que también provocan desgarros y cortes.

En cuanto al análisis de varianza (Tabla A32), encontramos que existe diferencia altamente significativa ($p \leq 0.05$), para los efectos principales de temperatura (-10, -18 y -26ºC) y tiempo (12, 24 y 48h), se demuestra que a mayor temperatura de congelación y a una temperatura más baja los hollejos sufren daños en su estructura celular, lo que provoca una liberación de flavonoides del hollejo hacia el vino.

4.2.3. Antocianinas totales evaluados en la materia prima, hollejo después del congelado y el vino

La tabla 9 muestra la concentración de antocianinas de la materia prima que fue de 393,28 mg de cianidina-3-glucósido/100g de hollejo, similares a los obtenidos por Georffino (2016) quien obtuvo 389,5 mg de malvidina/ 100g de hollejo de uva Negra Criolla, sin embargo García *et al.* (2002) refiere que la concentración de antocianinas, fenoles y flavonoides en la uva dependerá de la variedad y la madurez de la uva, mientras tanto Kennedy *et al.*, (2002) refieren que las prácticas vitícolas, las condiciones ambientales y del área de producción influyen sobre estos compuestos.

En cuanto a la concentración de antocianinas del hollejo después del congelado, el comportamiento fue similar a los otros compuestos tal como se muestra en la tabla 9, donde los hollejos congelados a -26ºC por 48 horas presentaron mayores diferencias, estos datos concuerdan con Moreno (2013) quien al congelar uvas a -10ºC por 12 h, obtuvo vinos con mayor concentración de compuestos fenólicos, mientras tanto Rosáenz *et al*. (2012) y Roldán (2008) reportaron vinos con mayores concentraciones de este compuesto obtenidas con uvas congeladas a -18 ºC.

Tabla 9. Antocianinas totales en el hollejo después del congelado.

Tratamientos	Antocianinas (mg de cianidina-3-glucósido)		
	Materia Prima (mg/100g)	Hollejo* (mg/100g)	Vino (mg/L)
T1 (-10ºC,12h)	393.28 ± 6.83	376.13 ± 1.11^{a}	126.59 ± 0.62^{d}
T2 (-10ºC,24h)	393.28 ± 6.83	313.74 ± 1.90^{b}	150.22 ± 1.29^{c}
T3 (-10ºC,48h)	393.28 ± 6.83	248.30 ± 1.75^{de}	168.38 ± 0.31^{b}
T4 (-18ºC,12h)	393.28 ± 6.83	298.84 ± 1.17^{bc}	138.73 ± 0.22^{cd}
T5 (-18ºC,24h)	393.28 ± 6.83	260.96 ± 2.69^{c}	156.14 ± 0.46^{c}
T6 (-18ºC,48h)	393.28 ± 6.83	240.66 ± 1.44^{de}	184.32 ± 1.14^{a}
T7 (-26ºC,12h)	393.28 ± 6.83	289.11 ± 2.09^{bc}	146.77 ± 0.69^{cd}
T8 (-26ºC,24h)	393.28 ± 6.83	250.11 ± 0.76^{d}	167.01 ± 0.64^{b}
T9 (-26ºC,48h)	393.28 ± 6.83	233.15 ± 0.97^{e}	185.09 ± 0.24^{a}
Control	395.35 ± 6.83**	395.35 ± 6.83**^{a}	116.17 ± 0.10^{e}

* Hollejo después del congelado
** Sin congelar
$^{ab...}$Letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas según test Tukey ($p<0.05$).

Por otro lado, la muestra control fue significativamente mayor que el resto de tratamientos, con 393.27mg cianidina-3-glucósido/100g de hollejo, también los tratamientos T1 y T2 presentaron mayor concentración de antocianinas.

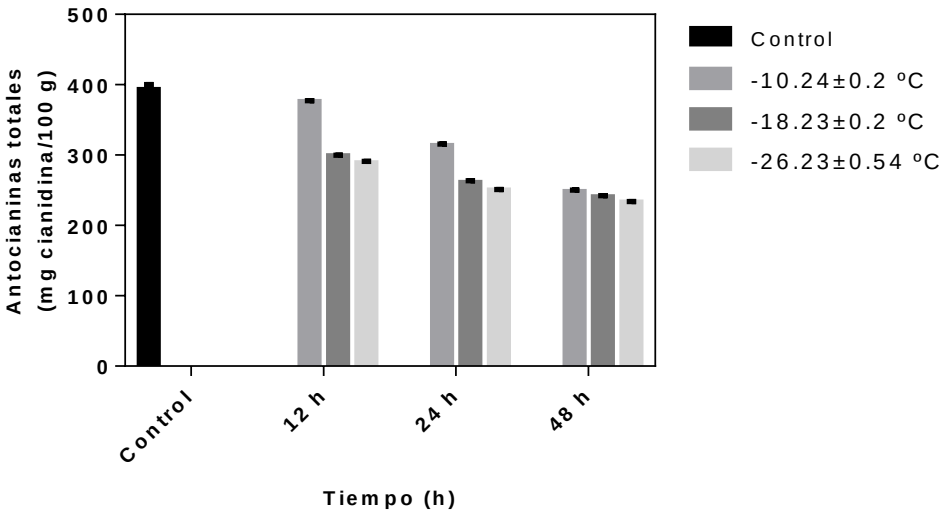


Figura 12. Antocianinas totales en el hollejo después del congelado

La figura 12 muestra una disminución significativa de las antocianinas conforme la temperatura era más baja, y los tratamientos por 48 horas de congelación presentaron menor concentración de antocianinas. Estos resultados evidencian que la técnica del congelado conlleva a cambios importantes en la estructura de la membrana celular de los tejidos, así como lo señalan Cheuvet y Sudraud (1992) que durante la congelación se forman cristales de hielo y esto causó la rotura de los tejidos de la uva liberando altas concentraciones de antocianinas del hollejo hacia el vino.

Respecto a la concentración de antocianinas totales en los vinos (Tabla 9), el tratamiento que fue congelado a -26ºC por 48 horas fue la que influyó sobre el contenido de antocianinas en los vinos, dando lugar un vino con un contenido total de antocianinas de 185.09 mg cianidina-3-glucósido, y significativamente mayor que el vino control (116.17 mg/L). Las concentraciones determinadas en las muestras se hallaron dentro de los rangos habituales de las antocianinas totales encontrados en vinos peruanos que son de 5 a 291,51 mg cianidina -3-glucósido (Muñoz *et al.,* 2007).

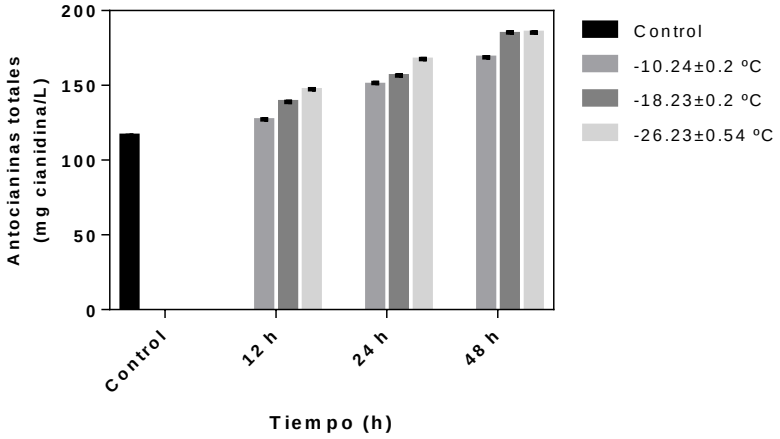


Figura 13. Antocianinas totales en el vino

La figura 13 muestras el incremento significativo de las antocianinas, lo contrario a lo ocurrido en el hollejo, T9 fue el que presentó mayor concentración de antocianinas con respecto a los demás tratamientos. El tratamiento T3 y T6 también tuvieron un contenido de antocianinas bastante alto. Estos resultados ponen en manifiesto que la técnica del congelado de uva es una alternativa para mejorar la concentración de estos compuestos en el vino. Así mismo Heredia *et al*., (2009) comparó el efecto de dos técnicas de frío, la maceración prefermentativa en frío y el congelado de uva, sobre el contenido de antocianinas en vinos de Syrah, donde demostró un mayor contenido de antocianinas en vinos elaborados con uva congelada.

En cuanto al análisis de varianza (Tabla A35), encontramos diferencias altamente significativas ($p \leq 0.05$), para los efectos principales temperatura (-10±0.2, -18±0.2 y -26±0.54ºC) y tiempo (12, 24 y 48h). Se demuestra que a temperaturas más bajas y a tiempos más prolongados los vinos presentan mayor concentración de antocianinas.

CONCLUSIONES

Las características fisicoquímicas evaluadas en la materia prima se encontraron dentro de los rangos establecidos por la norma técnica del vino, presentando 22.08±0.05 de °Brix, pH 3.81±0.05 y acidez total de 6.20±0.26 (mg ácido tartárico/L). Mientras que el mosto después del congelado presentó una disminución significativa de la acidez y un aumento del pH, el tratamiento más representativo fue T9 quien presentó una menor acidez de 4,23 mg de ácido tartárico/L, y un mayor contenido de pH (4.01) y de ºBrix (25.31), esto pone en manifiesto que la congelación condujo una concentración del potasio y disminución de la acidez y un aumento del pH. El vino presentó ºBrix 7.42, pH 3.79 y acidez de 5.01 ácido tartárico/ L.

El hollejo de uva antes del congelado presentó 416.32 mg GAE/100g, flavonoides 104.34 mg QE/100g y antocianinas totales 393.27 mg de cianidida-3-glucósido/100g. La técnica del congelado de uva influyó significativamente en la extracción de compuestos fenólicos, debido a que los hollejos después del congelado a -26±ºC por 48 horas resultaron con menor contenido en compuestos fenólicos (20.243 mg GAE/100g, 38.65 mg QE/100g y 233.15 mg cianidida-3-glucósido/100g), lo que indica que estos compuestos fueron extraídos del hollejo hacia el mosto. El vino T9 (-26ºC y 48 horas) resultó con mayor valor en compuestos fenólicos (1293.18mg GAE/L, 147.14mg QE/L y 185mg cianidida-3-glucósido/L), estos resultados ponen en manifiesto que el congelado de uva es una alternativa a considerarse en la elaboración de vino para mejorar la concentración de polifenoles.

RECOMENDACIONES

- Se recomienda trabajar con uvas de otras variedades de la región Moquegua, ya que cada variedad presenta diferente estructura celular en el hollejo.
- Se recomienda evaluar el comportamiento de los compuestos fenólicos durante la fermentación alcohólica.
- Se recomienda evaluar el comportamiento de los compuestos fenólicos durante la evolución de los vinos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abderrahim F, Estrella S, Susín C, Arribas SM, González MC, Condezo-Hoyos L. J Med Food. 2011 May; 14 (5):517-27.

Abril, N., Bárcena, A., & Fernández, E. (2009). Espectrofometria:Espectros de absorción y cuantificación colorimétrica de bimoléculas . 1.

Acropecuario, A. E. (2013). Capítulo III, Estadística Agraria . Moquegua , Moquegua , Perú.

Alonzo, J. (2000). La uva. Retrieved Octubre 12, 2017, from http://webs.uolsinectis.com.ar/fitomedicina/RevMonografiaSolotxt.html

Amati, A., Pallota, U., Potentini, G., & Zironi, R. (1992). La maceración en frío para la mejora de los vinos blancos. Vitivinicultura, 46.

Amrani Joutei, K., & Glories, Y. (1995). Tanins et anthocyanes: localisation dans la baia de raisin et mode d'extractio. Rev. Fr. Oenol, 153.

Aporlacopa. (2013, Enero). El vino de hielo: La crioextracción natural o la crioconcentración. Retrieved Abril 18, 2015, from http://aporlacopa.blogspot.com

Baudrit , C., Perrot, N., Brousset, J., Abbla, P., Guillemin, H., & Perret, B. (2015). A probabilistic graphical model for describing the grape berry maturity. Computer and Electronics in Agriculture , 118,124-135.

Busse-Valverde, N., Gómez Plaza, E., López Roca, J., Gil Muñoz , R., Fernández Fernández , J., & Bautista Ortín , A. (2010). Effect of different enological practices on skin and seed proanthocyanidins in three varietal wines . J. Agric. Food Chem., 58.

Callejas, R. (2003). Desarrollo Generativo de la Vid. En curso Diplomado fundamentos fisiológicos de la vid en la producción de Uva de Mesa. Universidad de Chile, 12 p.

Carpita, N. C. (1993). ructural models of primary cell walls in flowering plants: consistency of molecular structure with the physical properties of the walls during growth. The Plant Journal, 3.

Chaparro Montoya, E. (2015). Piscos de uvas Italia y Negra Criolla. Arequipa, Perú.

Chauvet, S., & Sudraud, P. (1992). Selective cryoextraction (cold pressing). Revue di, 31-33.

Chauvét, S., Sudraud, P., & Jouan, J. (1987). Nouveau procédé d'extraction des moûts. Rev. OEnol, 46: 7-111.

Cheynier, V., Rigaud, J., Souquet, J., Brarillère, J., & Moutounet, M. (1989). Effect of pomace contact and hyperoxidation on the phenolic composition and quality of Grenache and Chardonnay wines. Am. J. Enol. Vitic., 40.

CWASPLUA. (2012). Entradas y salidas de los procesos. Publicacón CWASPLUA.

Darias, J., Rodríquez, O., Díaz, E., & Lamuela-Raventós, R. (2000). Effect of skin contact on the antioxidant phenolics in white wine. Food Chem.71.

Delteil, D., Feuillat, M., Guilloux-Benatier, M., & Sapis, J. (2000). Los vinos blancos secos. En Flanzy, C. Enología: Fundamentos científicos y tecnológicos. AMV Ediciones y Ediciones Mundi-Prensa, 443-453.

Diccionario del vino. (2016). Crioetracción. Diccionario del Vino, 1.

Dominé, A. Supp, Ulbricht. (2004). Introducción al Vino. El vino. Ed. Koneman. S. L. Barcelona , 14-15.

Dubourdieu, D., Olliver, C., & Boidron, J. (1986). Incidence des operations prefermentaires sur la composition chimique et les qualités organolpetiques des vins blancs secs. Conn. igne, 20.

El mundo vino. (2002, Febrero 20). De la fria Franconia a la pura Tecnología. Retrieved Abril 18, 2015, from http://elmundovino.elmundo.es

Fandiño, P. (2012, Marzo). Uso del frío para la elaboración de vino dulce con la variedad Albariño. (Dialnet, Editor) Retrieved Abril 18, 2015, from http://dialnet.unirioja.es.

Fernandes, I., Pérez Gregorio, R., Soares, S., Mateus, N., & de Freitas, V. (2017). Wine Flavonids in Health and Disease Prevention . Juornal Molecules - MDPI, 1.

Frankel, E., Waterhouse, A., & Teissedre, P. (1995). Principal phenolic phytochemicals in elected California wines and their antioxidant activity in inhibiting oxidation of human low-density lipoproteins. J. Agric. Food Chem, 72.

García Martínez, E., Fernández Sergovia , I., & Fuente López, A. (2016). Determinación de polifenoles totales por el método de Folin - Ciocalteu. Universidad Politénica de Valencia , 3.

Garcia, Beneytez , E., Revilla, E., & Cabello, F. (2002). Anthocyanin pattern of several red grape cultivars and wines made from them. Eu.Food Res. Technol., 225.

Georffino, V. (2016). Evaluación del tiempo de maceración para la extracción de antocianos en orujos de mosto de uva Negra Criolla (Vitis vinifera) durante la fermentación en pocollay. Universidad Nacional de Tacna .

Gómez Míguez, M., González Miret, M., Hernanz, D., Fernández , M., & Vicario, I. (2006). Effects of prefermentative skin contact conditions on olour and phenolic content of white wines. J. Food Eng., 78.

Gutiérrez, A., Santamaria, M., López, T., & Comi, A. (1990). La maceración de la uva. Efectos sobre el contenido en compuestos terpénicos del mosto y sobre la elaboración de vinos blancos. Vitivinicultura, 87.

Hatta, B. (2010). Manual Técnico: Elaboración de Vinos y Piscos. Lima, Perú: Facultad de Industrias Alimentarias, Universidad Nacional Agraria la Molina.

Heredia, F., Escudero Gilete, M., Hernanz, D., Gorillo, B., Meléndez Martinez , A., Vicario, I., & González Miret, M. (2009). Influence of the refrigeration technique on the colour and phenolic composition of Syrah red wines obtained by prefermentative cold maceration. Food Chem, 118.

Hidalgo Togores, J. (2011). Tratado de Enología. Volumen I y II. Mundi-Prensa Libros, 72 p.

Hidalgo, J. (2011). Tratado de enología I. Madrid: Ed. Mundi- presa.

hielo, V. d. (2013, Abril 12). Blog cortesía de Amantia, vino de hielo español a partir de tempranillo. Retrieved Marzo 5, 2015, from http://vinodehielo.blogspot.com.es/2013/04/vino-de-hielo-espanol.html

Higgins, L. M., & Llanos, E. (2015). A healthy indulgence? Wine consumers and the health benefits of wine. Rev. Elsevier-ScienceDirect, 1.

Jarvis, M. C., Briggs, P. H., & Knox, J. P. (2003). Intercellular adhesion and cell separation in plants. Plant, Cell and Environment, 26.

Jiménez Matínez, M. D. (2018). Posibilidades Tecnológicas de las Paredes Celulares de los Orujos de Uva como Agentes Afinantes durante la Vinificación. Universidad de Murcia.

Josep, P. (1992). The aromatic potential of Chardonnay. Revue des Oenologues et des Techniques Vitivinicoles et Oenologiques, 42-46.

Kennedy, J., Hayasaka, Y., Vildal, S., Waters, E., & Jones, G. (2001). Composition of grape skin proanthocyanidins at different stages of berry development. J. Agric. Food Chem, 49.

Koepsell, D. R., & Ruiz Chávez, M. H. (2015). Ética de la Investigación, Integridad Científica (Editarte Ed., Vol. 1a Edición). Mexico.

Kuehl, R. O. (2001). Diseño de experimentos: Principios estadísticos de diseño y análisis de investigación (Vol. 2a Edición). The University of Arizona, Thomson Learning.

Lamula. (2013, Agosto 1). Conociendo nuestro pisco: Les presentamos la uva Negra Criolla. Retrieved from https://lamula.pe

Lasanta, M. C. (2009). Estudio y aplicación de nuevos procesos para la mejora de la elaboración de vinos tintos en zonas de clima cálido. Universidad de Cádiz, 35.

Lau, J. M., McNeil, M., Darvill, A. G., & Albersheim, P. (1985). Structure of the ackbone of rhamnogalacturonano I, a pectic polysaccharide in the rimary cell walls of plants. Carbohydrate Research, 137.

Lazaro, E. A. (1995). Variaciones de la composición química de las bayas del CV. de vid Tempranillo durante la maduración, producidas por el sistema de conducción y regimen hídrico. Universidad de Cuplutnse de Madrid .

Le Fur, Y. (1990). Typicité et maceration pelliculaire. Application au cépage Chardonnay en Bourgogne. Rev. Ienol. Technol. Vitiv. 24.

Llaudy , M., Canals , R., Canals, M., & Zamora , F. (2008). Influence of ripening stage and maceration length on the contribution of grape skins, seeds, and stems to phenolic composition and astringency in wine-simulated macerations. European Food Research and echnology, 226.

Lodish, H. B.-Z. (2005). Biología celular y molecular. En: Tejidos vegetales, Médica Panamericana, Buenos Aires.

Luengo, E., Gayán , E., Franco , E., Ballesteros , F., Álvarez, I., & Raso , J. (2012). Extracción de polifenoles durante la maceración en frío de uva garnacha tratada por pulsos eléctricos de alto voltaje: ensayo en bodega. Centro de Transferencia Agroalimentaria , 2.

Mallet, C. (1994). Tecnología de los alimentos congelados. AMV Ediciones., Madrid.

Mamani Mamani, R. (2013). Influencia de técnicas enológicas en la elaboración y caracterización fisicoquímica y sensorial de vino tinto de uva Negra Criolla (Vitis vinífera L) de Tacna. Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann.

Marais, J. (1998). Effect of grape temperature, oxidation and skin contact on Sauvignon blanc juice and wine composition. S. Afr. J. for Enol. Vitic., 19.

Mataix . (2003). Guia Prática de Frutas . Retrieved from Eroski consumer : http://frutas.consumer.es/uva/propiedades.

McNeil, M., Darvill, A. G., Fry, S. C., & Albersheim, P. (1984). Structure and function of the primary cell walls of plants. Annual Review of Biochemistry,53.

Médez, S. J. (2005). Estudio de la Maduración Fenólica y Antociánica en Uvas Tintas de Bobal para diferentes condiciones agrológicas. Universidad Politécnica de Valencia, 32.

MINAGRI. (2017). Informe de registro de productores de uva en las regiones de Ica, Arequipa, Moquegua, Tacna y Lima provincias. Lima: Ministerio de Agricultura.

Moreno, A. (2013, Mayo 25). Técnicas Enologicas de frío y Enzimaticas Aplicadas a la Extractabilidad de Syrah, Cabernet Sauvignon y Monastrell. Murcia: Universidad de Murcia.

Muños, A., Fernández, A., Ramos, F., & Carlos, O. (2017). Evaluación de la actividad antioxidante y contenido de compuestos fenólicos en vinos producidos en Perú. Revista de la Sociedad Química del Perú , 1.

Muñoz de la Cruz, F. (2009). Caracterización fisicoquimica, nutraceutica y sensorial del extracto acuoso de bagazo de uva roja (vitis vinífera). Universidad Autónoma de Querétaro, p 30.

Muñoz Jáuregui, A. M., Fernández Giusti, A., Ramos Escudero, F., & Ortiz Ureta, C. (2007). Evaluación de la actividad antioxidante y contenido de compuestos fenólicos en vinos producidos en Perú. Sociedad Química del Perú, 1.

Muñoz, C. (2010). Potencial de mercado de Ice wine alaborado en Chile: Un estudio exploratorio en el mercado del Reyno Unido. Santiago, Chile: Universidad de chile.

Noguera, P. (1972). Viticultura Práctica. Editorial Dilagro, 1ra edición, p 6-7.

OIV, O. I. (2012). Modificación del método del contenido en azúcares de los mostos, de los mostos concentrados y del azúcar de uva mediante refractometría.

OIV, O. I. (2018, Octubre 26). Los datos de la coyuntura vitivinícola mundial. Retrieved Marzo 1, 2018, from http://www.oiv.int/es/

OMS, O. M. (2017, Mayo 17). Enfermedades cardiovasculares. Retrieved from https://www.who.int/es.

Ordoñez , J. (1998). Tecnología de alimentos Vol. I Componentes de los alimentos y procesos. Ed. Síntesis S.A. Madrid.

Orriols, I., & Moreno, F. (1992). Elaboración de vino Albariño. Incidencia de la maceración pelicular. Experiencias de 1989 y 1990. Vitivinicultura, 1: 41-45.

Ortega-Heras M., S. P.-M., & Gonzalez-Sanjosé. (2012). Comparative study of the use of maceration enzymes and cold pre-fermentative maceration on phenolic and anthocyanic composition and colour of a Mencía red wine. LWT - Food Science and Technology, 48.

Ortiz, A. (2016, Abril 14). Dos copas de vino al día ayudan a quemar grasa. Retrieved Octubre 5, 2017, from http://www.lavanguardia.com

Pacohigon. (2012, Setiembre 27). Los vinos de hielo de canada. Retrieved Enero 14, 2015, from https://pacohigon.wordpress.com

Peña, N. A. (2003). Composición fenólica de uvas y vinos. Universidad de Chile, 1.

Pinelo , M., Arnous , A., & Meyer , A. (2006). Upgrading of grape skins: significance of plant cell-wall structural components and extraction techniques for phenol release. Trends in Food Science and Technology, 17.

Plane, A. R. (1980). An acidity index for taste of wines. Amer. J. Enol. Vitc. 31.

Pojer, E., Mattivi, F., Johnson, D., & Stockley, C. (2013). The case for anthocyanin consumption to promote human health: a review. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety 12: 483-508.

Preisler Eynaudi, P. A. (2007). Efecto de la eliminación parcial de semilla sobre las características físicas, químicas y sensoriales de vinos tintos. Universidad de Chile Facultad Ciencias Agronómicas , 8.

Ramey , D., Bertrand, A., Ough, C., Singleton, V., & Sanders, E. (1986). ffects of skin contact temperature on Chardonnay must and wine composition. Am. J. Enol. Vitic., 37.

Ramírez, L. G. (2008). Elaboración y control de vinos y licores. Universidad de Antioquia, 8.

Real Academia Española (RAE). (2019, Diciembre 20). Definición de acidez. Retrieved from https://dle.rae.es/adicez?m=form

Riberéau, Gayón (2003). Tratado de enología (Tomo I). Microbiología del vino. Vinificaciones. Ed. Hemisferio Sur y Mundi-Prensa.

Rizzon, L. A., & A., M. (2002). Cabernet Sauvignon para elaboração de vinho tinto. Ciênc.Tecnol. Aliment. 22(2), 192-198.

Rodríguez , F. (2002). Ingeniería de la industria Alimentaria. Vol. III. Operaciones de conservación de alimentos. Ed. Sístesis S.A., Madrid. .

Rodriguez, M. (2016). Qué son los taninos? . About en español.

Roldán, G., & María, A. (2008). Estudio y aplicación de nuevas alternativas tecnologicas para la mejora de la producción y calidad de los vinos. Universidad de Cádiz, 63.

Romero Cascales, I. (2008). Extracción de los compuestos fenólicos de la uva al vino. Papel de enzimas de maceración.Tesis Doctoral, Universidad de Murcia. .

Rosáenz, D., Martínez, R., & Fernández, L. (2012). Elaboración de vinos de hielo en la Rioja: impacto de la congelación natural y artificial. Revista de ciencia ZUBÍA, 199-223.

Sabrosía. (2012, Octubre 29). Los compuesto fenolicos del vino . Retrieved from https://www.sabrosia.com

Sacchi K.L., B. L. (2005). A review of the effect of winemaking techniques on phenolic extraction in red wines, American Journal of Enology and Viticulture, 56.

Salazar, R., Giovana , E., Candy , R., Fernández , M., & Rojas , R. (2011). Compuestos fenólicos, actividad antioxidante, contenido de resveratrol y componentes del aroma de 8 vinos peruanos. Rev. Soc Quím Perú , 1.

Sapis, J. (1995). La macération pelliculaire préfermentaire en vinification en blanc. Incidence sur les caratéristiques analytiques et organoleptiques des vins. Rev. Franc.Oenol, Julio/Agosto, 153.

Segura Corre, J. C. (2000). Notas de diseños experimentales . Universidad Autónoma de Yucatán .

SENC, S. E. (2004). Guía de la alimentación saludable. 18 .

Suárez, L. J., & Barrado, M. (2004). Influencia de la maduración antociánica de la uva y de la biotecnología fermentativa en color, aroma, y estructura de vino titos. Universidad Politcnica de Madrid, 4.

Sun, A. Y. (2008). Botanical phenolics and brain health. Neuromolecular Medicine, 10(4), 259–274.

Togores, J. (2006). "Calidad del vino desde el Viñedo". Editorial Mundi Prensa.

Toole, Marie.,(1992). Diccionario Enciclopédico de enfermería. Buenos Aires. 5ª Edición, Medica Panamericana.

Traverso, S., Baldi, C., Hernández, N., Favre, G., & González Neves, G. (2015). Efecto de distintas alternativas de elaboración de vinos de la variedad Tannat sobre la extracción de compuestos fenólicos de la uva . Montevideo-Uruguay : Universidad de la República.

Urbinavinos. (2012, Febrero 5). Técnica de Extracción de los Aromas del Vinos Blanco. Retrieved Abril 18, 2015, from http://urbinavinos.blogspot.com.

Valita, A. (2013). Producción y control de la calidad del vino. Universidad Nacional José Faustino Sánchez Carrión.

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.

ANEXO 1. Fotografías del proceso de elaboración del vino



Fig. 1. Congelado de uva



Fig. 2. Proceso de fermentación



Fig. 3. Determinación de grados Baumé



Fig. 4. Determinación de pH



Fig. 5. Control de temperatura



Fig. 6. Vino envasado

ANEXO 2. Fotografías de la determinación de los compuestos fenólicos



Fig. 1. Acondicionamiento de los hollejos de uva



Fig. 2. Preparación de los reactivos

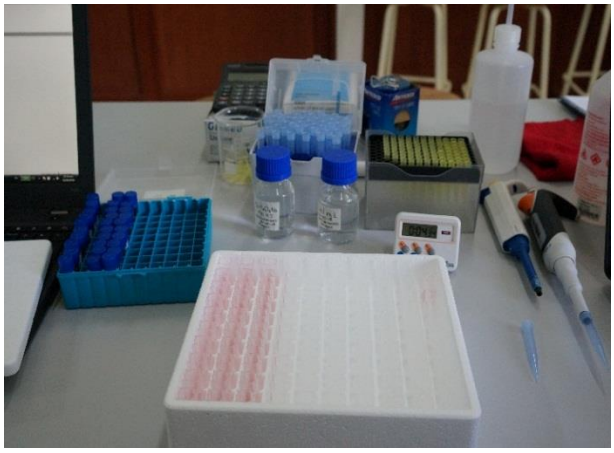


Fig. 3. Muestras para determinación de antocianinas

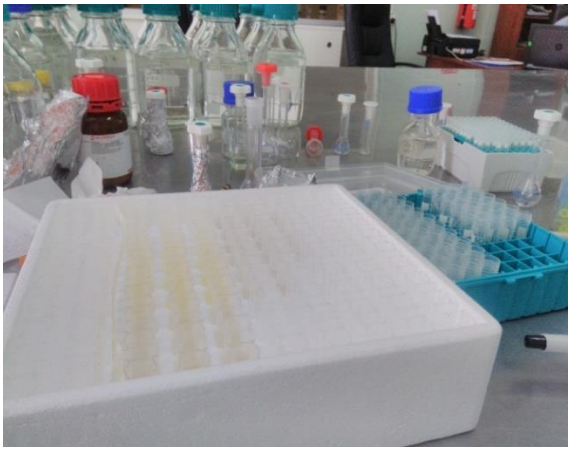


Fig. 4. Muestras para la determinación de flavonoides



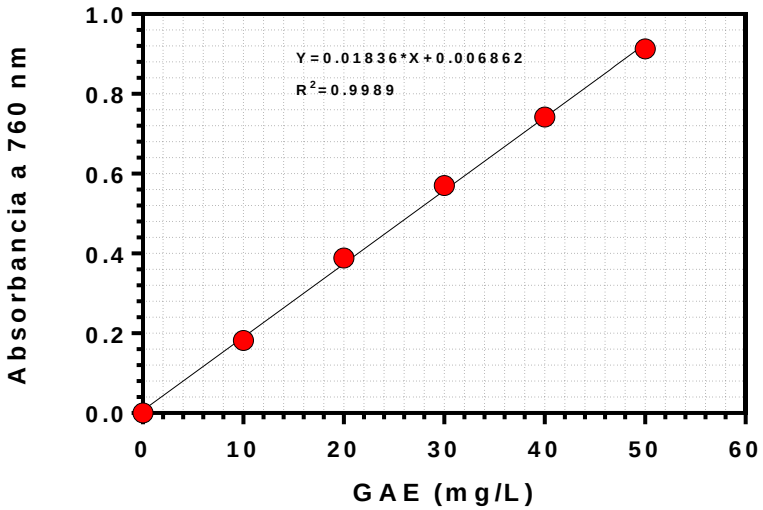
Fig. 5. Muestra para la terminación de fenólicos



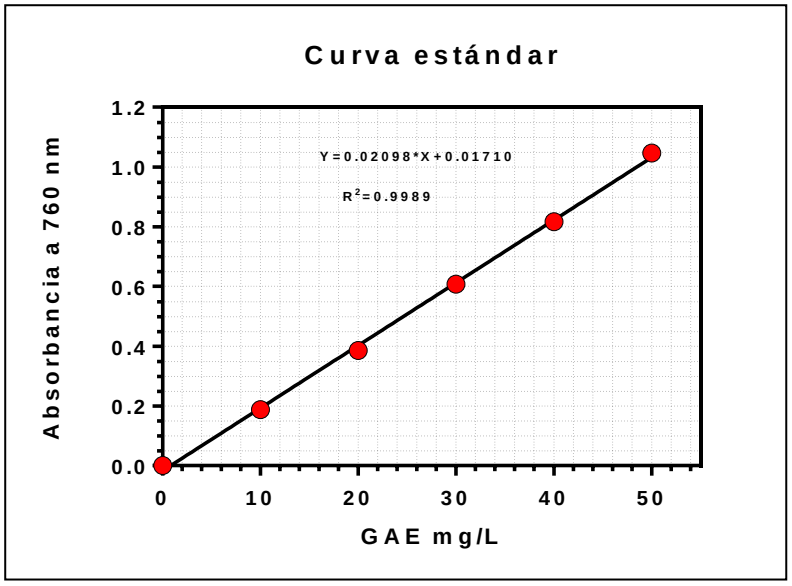
Fig. 5. Lecturas en el espectro

ANEXO 3. Curvas de calibrado para fenólicos y flavonoides totales

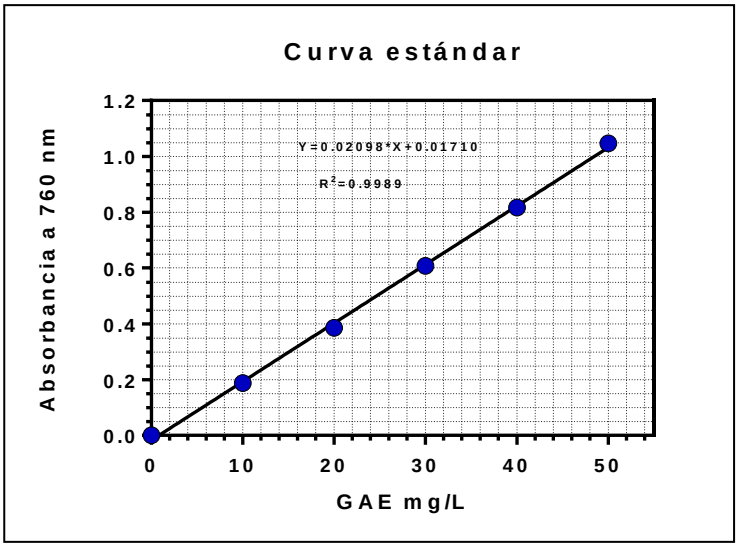
a) Curva de calibrado de ácido gálico a concentraciones de 0 a 50 mg/L para fenoles del hollejo



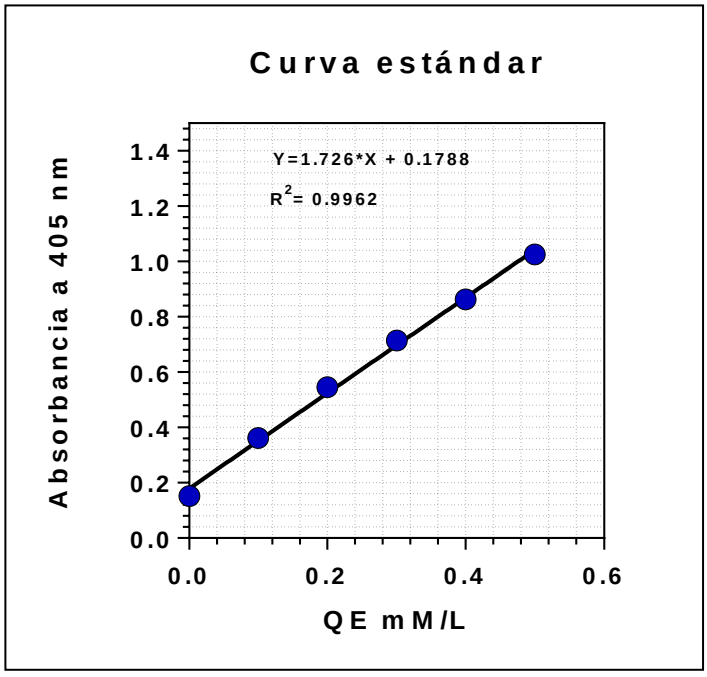
b) Curva de calibrado de ácido gálico a concentraciones de 0 a 50 mg/L para fenoles del vino



c) Curva de calibrado de quercetina a concentraciones de 0 a 0.1 mg/L para flavonoides en el hollejo

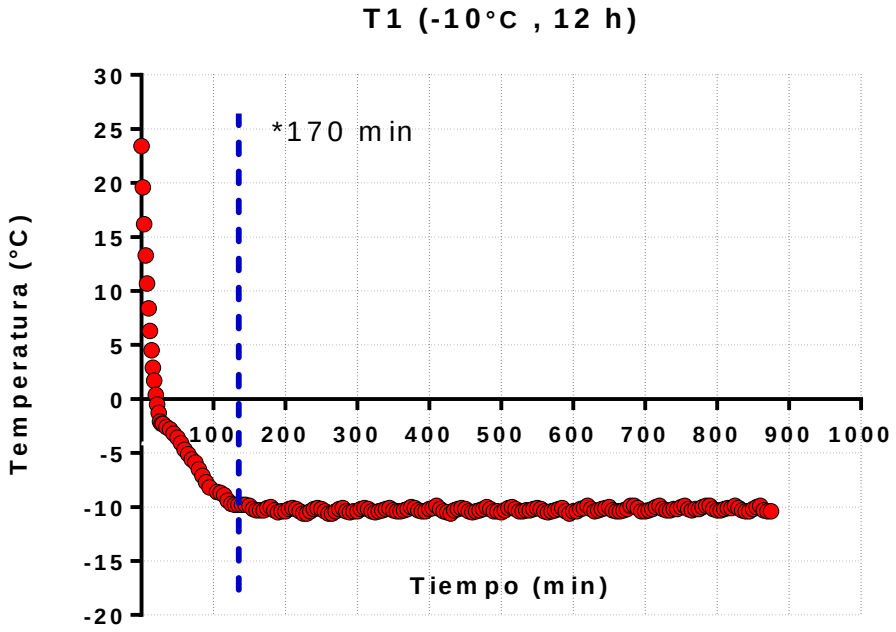


d) Curva de calibrado de quercetina a concentraciones de 0 a 0.1 mg/L para flavonoide del vino



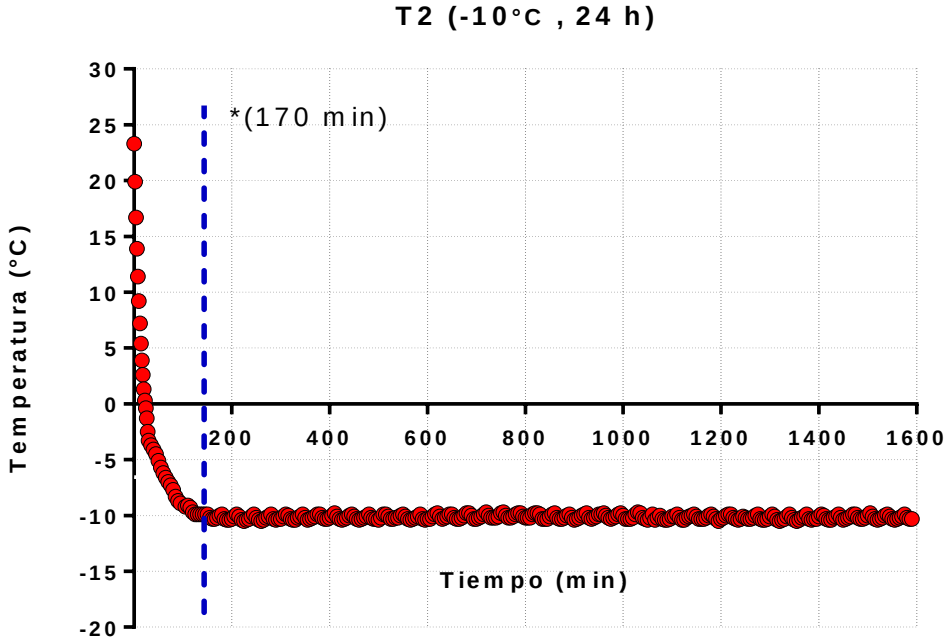
ANEXO 4. Registro de temperatura durante el proceso de congelación

a) Registro de temperatura durante el proceso de congelado (T1)



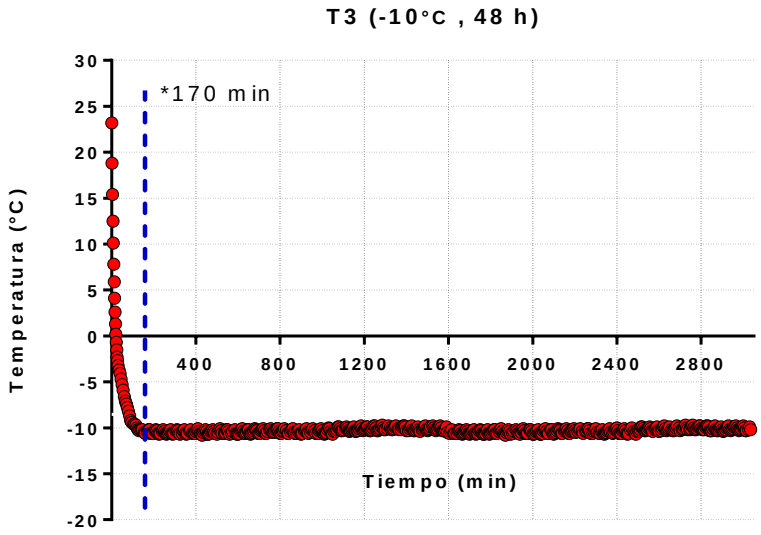
* El tiempo que la uva llegó a -10 °C fue de 170 minutos.

b) Registro de temperatura durante el proceso de congelado (T2)



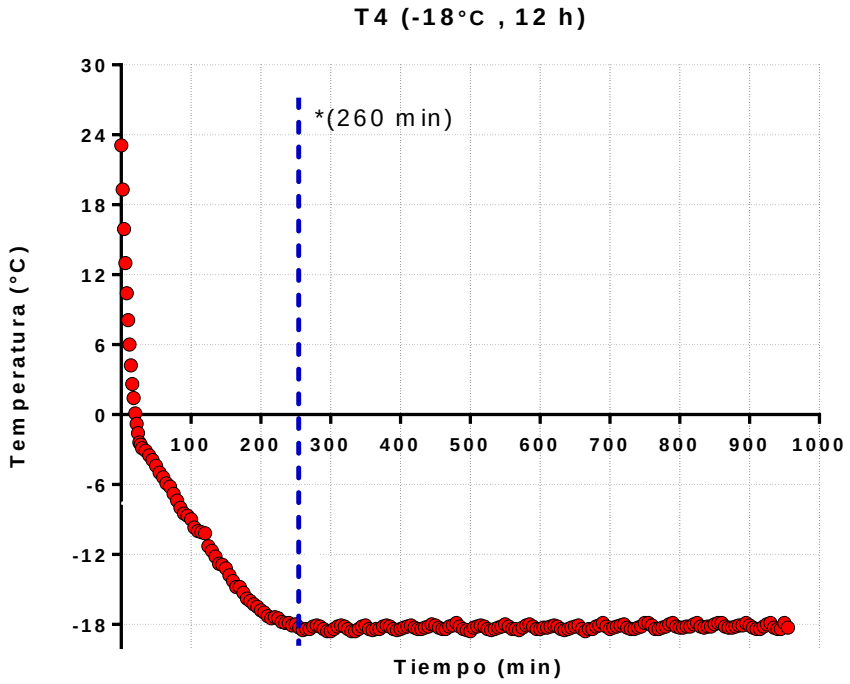
* El tiempo que la uva llegó a -10 °C fue de 170 minutos.

c) Registro de temperatura durante el proceso de congelado (T3)



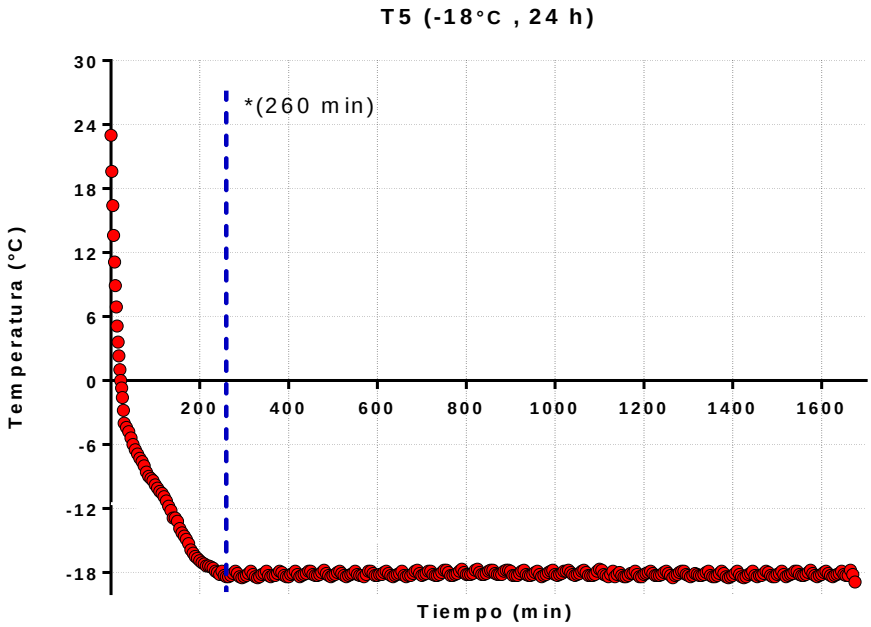
* El tiempo que la uva llegó a -10 °C fue de 170 minutos.

d) Registro de temperatura durante el proceso de congelado (T4)



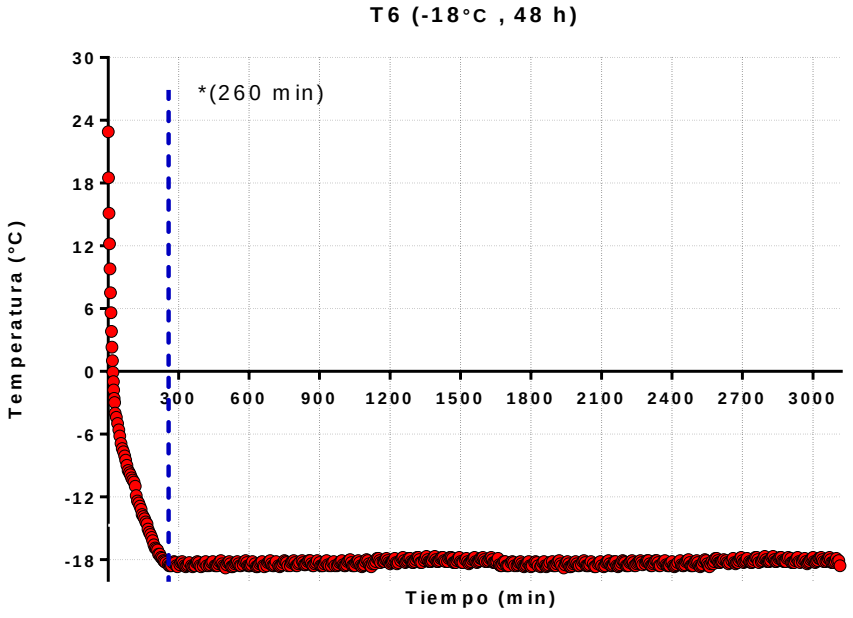
* El tiempo que la uva llegó a -18 °C fue de 260 minutos.

e) Registro de temperatura durante el proceso de congelado (T5)



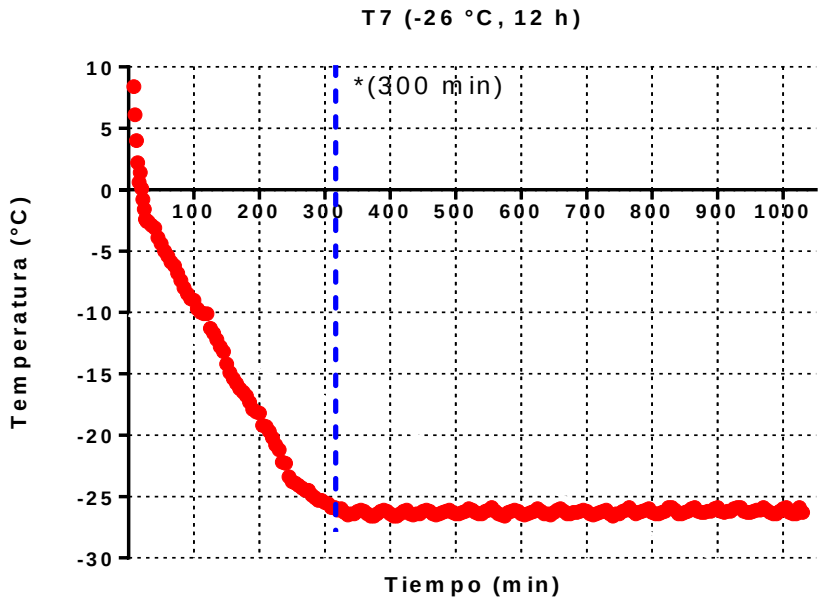
* El tiempo que la uva llegó a -18 °C fue de 260 minutos.

f) Registro de temperatura durante el proceso de congelado (T6)



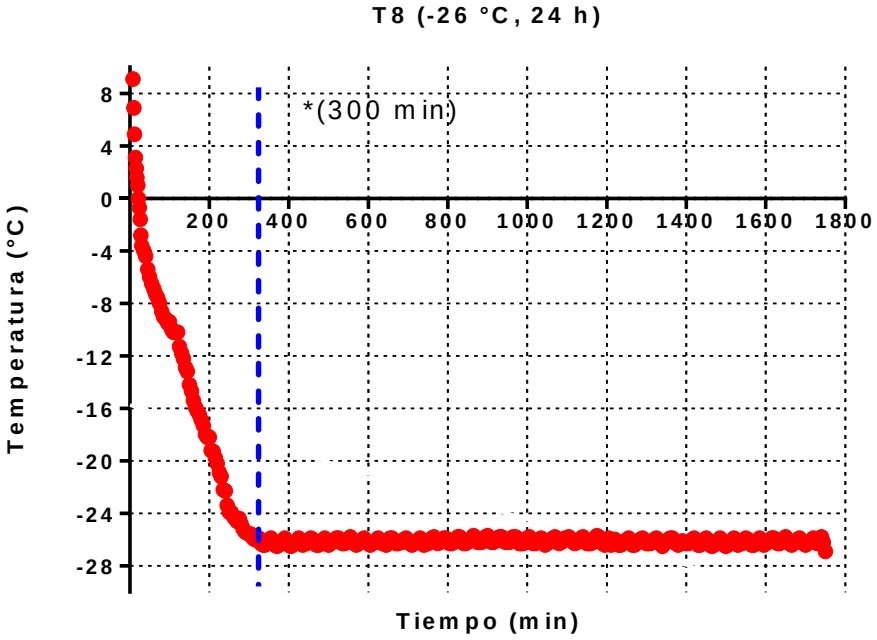
* El tiempo que la uva llegó a -18 °C fue de 260 minutos.

g) Registro de temperatura durante el proceso de congelado (T7)



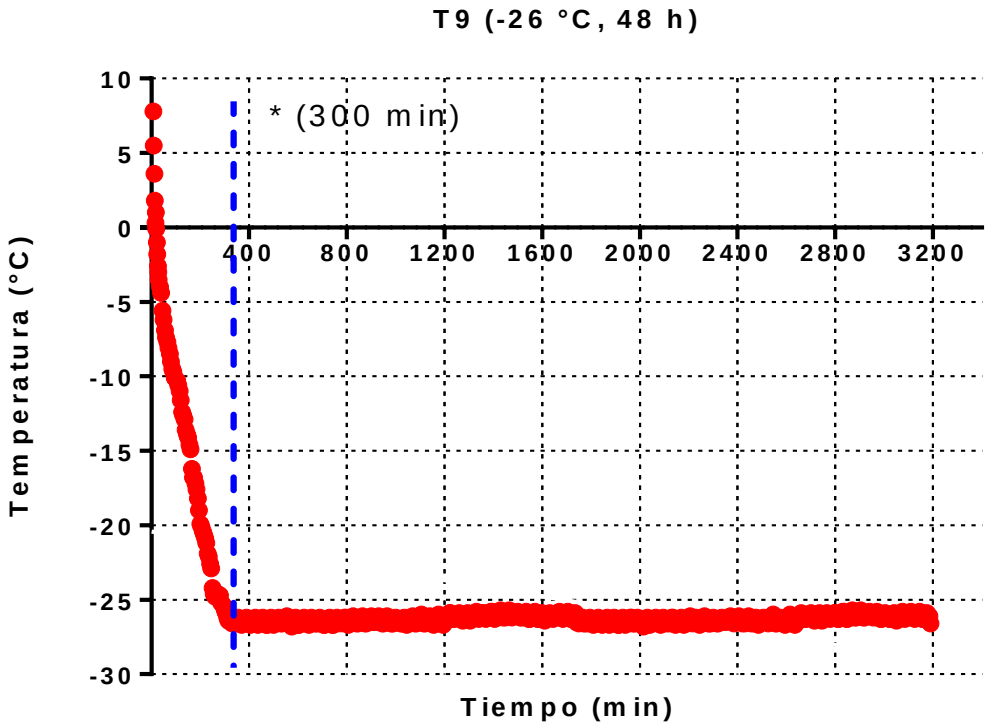
* El tiempo que la uva llegó a -26 °C fue de 300 minutos.

h) Registro de temperatura durante el proceso de congelado (T8)



* El tiempo que la uva llegó a -26 °C fue de 300 minutos.

i) Registro de temperatura durante el proceso de congelado (T99)



* El tiempo que la uva llegó a -26 °C fue de 300 minutos.

ANEXO 5. Análisis estadístico de los resultados

1. Análisis estadístico de los resultados obtenidos de ºBrix, pH y acidez en el mosto después del congelado

Tabla A1. Datos de grados ºBrix del mosto después del congelado

Tratamientos	Subm. 1	Subm. 2	Subm. 3	PROMEDIO	SD
T1 (-10±0.2 ºC,12h)	22.50	22.00	22.25	22.25	0.14
T2 (-10±0.2 ºC,24h)	22.25	22.25	22.50	22.33	0.13
T3 (-10±0.2 ºC,48h)	22.25	22.50	22.55	22.43	0.06
T4 (-18±0.2 ºC,12h)	22.35	22.30	22.40	22.35	0.05
T5 (-18±0.2 ºC,24h)	22.50	22.50	22.40	22.47	0.05
T6 (-18±0.2 ºC,48h)	24.25	24.20	24.25	24.23	0.03
T7 (-26±0.54 ºC,12h)	23.75	23.75	23.95	23.82	0.10
T8 (-26±0.54 ºC,24h)	25.05	25.00	25.05	25.03	0.03
T9 (-26±0.54 ºC,48h)	25.50	25.45	25.00	25.32	0.23

Tabla A2. Análisis de varianza del contenido de °Brix en el mosto obtenido después del congelado

Origen	Suma de Cuadrados	GL	Media Cuadrática	F	$F_{(0.5)}$	$F_{(0.1)}$	Sig.
Temperatura	27,146	2	13,573	593,470	3.55	6.01	**
Tiempo	6,450	2	3,225	141,016	3.55	6.01	**
Temperatura*Tiempo	4,093	4	1,023	44,737	3.55	6.01	**
Error	0,412	18	,023				
Total corregida	38,100	26					

CV: 0.24%

Tabla A3. Prueba de comparación Tukey para el contenido de ºBrix en el mosto después del congelado

Comparación Múltiple	n	MEDIA 1	MEDIA 2	SIG. **
Control vs. T1	3	22.09	22.25	Ns
Control vs. T4	3	22.09	22.35	Ns
Control vs. T7	3	22.09	23.82	**
Control vs. T2	3	22.09	22.33	Ns
Control vs. T5	3	22.09	22.47	*
Control vs. T8	3	22.09	25.03	**
Control vs. T3	3	22.09	22.43	*
Control vs. T6	3	22.09	24.23	**
Control vs. T9	3	22.09	25.32	**
T1 vs. T4	3	22.25	22.35	Ns
T1 vs. T7	3	22.25	23.82	**
T4 vs. T7	3	22.35	23.82	**
T2 vs. T5	3	22.33	22.47	Ns
T2 vs. T8	3	22.33	25.03	**
T5 vs. T8	3	22.47	25.03	**
T3 vs. T6	3	22.43	24.23	**
T3 vs. T9	3	22.43	25.32	**
T6 vs. T9	3	24.23	25.32	**

Tabla A4. Datos de pH del mosto después del congelado

Tratamientos	Subm. 1	Subm. 2	Subm. 3	PROMEDIO	SD
T1 (-10±0.2 ºC,12h)	3.64	3.63	3.65	3.64	0.10
T2 (-10±0.2 ºC,24h)	3.79	3.80	3.70	3.76	0.51
T3 (-10±0.2 ºC,48h)	3.78	3.79	3.77	3.78	0.10
T4 (-18±0.2 ºC,12h)	4.05	3.99	3.98	4.01	0.13
T5 (-18±0.2 ºC,24h)	3.88	3.87	3.86	3.87	0.06
T6 (-18±0.2 ºC,48h)	3.99	3.97	3.98	3.98	0.60
T7 (-26±0.54 ºC,12h)	3.78	3.77	3.79	3.78	0.10
T8 (-26±0.54 ºC,24h)	3.99	4.00	3.98	3.99	0.10
T9 (-26±0.54 ºC,48h)	4.01	4.01	4.02	4.01	0.5

Tabla A5. Análisis de varianza del contenido de pH en el mosto obtenido después del congelado

Origen	Suma de Cuadrados	GL	Media Cuadrática	F	$F_{(0.5)}$	$F_{(0.1)}$	Sig.
Temperatura	0,273	2	0,136	240,810	3.55	6.01	**
Tiempo	0,060	2	0,030	53,340	3.55	6.01	**
Temperatura*Tiempo	0,105	4	0,026	46,418	3.55	6.01	**
Error	0,010	18	0,001				
Total corregida	0,449	26					

CV: 1.45%

Tabla A6. Prueba de comparación Tukey para del contenido de pH en el mosto después del congelado

Comparación Múltiple	n	MEDIA 1	MEDIA 2	SIG. **
Control vs. T1	3	3.82	3.64	**
Control vs. T4	3	3.82	4.01	**
Control vs. T7	3	3.82	3.78	Ns
Control vs. T2	3	3.82	3.76	*
Control vs. T5	3	3.82	3.87	Ns
Control vs. T8	3	3.82	3.99	**
Control vs. T3	3	3.82	3.78	Ns
Control vs. T6	3	3.82	3.98	**
Control vs. T9	3	3.82	4.01	**
T1 vs. T4	3	3.64	4.01	**
T1 vs. T7	3	3.64	3.78	**
T4 vs. T7	3	4.01	3.78	**
T2 vs. T5	3	3.76	3.87	**
T2 vs. T8	3	3.76	3.99	**
T5 vs. T8	3	3.87	3.99	**
T3 vs. T6	3	3.78	3.98	**
T3 vs. T9	3	3.78	4.01	**
T6 vs. T9	3	3.98	4.01	Ns

Tabla A7. Datos de acidez total del mosto después del congelado

Tratamientos	Subm. 1	Subm. 2	Subm. 3	PROMEDIO	SD
T1 (-10±0.2 ºC,12h)	6.225	6.000	6.375	6.200	0.65
T2 (-10±0.2 ºC,24h)	5.850	5.625	5.700	5.725	0.53
T3 (-10±0.2 ºC,48h)	5.250	5.400	5.475	5.375	0.53
T4 (-18±0.2 ºC,12h)	4.275	4.125	4.425	4.275	0.22
T5 (-18±0.2 ºC,24h)	4.575	4.800	4.650	4.675	0.16
T6 (-18±0.2 ºC,48h)	4.650	4.800	4.575	4.675	0.19
T7 (-26±0.54 ºC,12h)	4.350	4.125	4.425	4.300	0.22
T8 (-26±0.54 ºC,24h)	4.988	4.913	4.950	4.950	0.27
T9 (-26±0.54 ºC,48h)	4.125	4.350	4.200	4.225	0.16

Tabla A8. Análisis de varianza del contenido de acidez del mosto

Origen	Suma de Cuadrados	GL	Media Cuadrática	F	$F_{(0.5)}$	$F_{(0.1)}$	Sig.
Temperatura	9,381	2	4,690	283,242	3.55	6.01	**
Tiempo	,577	2	0,289	17,433	3.55	6.01	**
Temperatura*Tiempo	1,723	4	0,431	26,017	3.55	6.01	**
Error	0,298	18	0,017				
Total corregida	11,980	26					

CV: 1.36%

Tabla A9. Prueba de comparación de Tukey para del contenido de acidez en el mosto después del congelado

Comparación Múltiple	n	MEDIA 1	MEDIA 2	SIG. **
Control vs. T1	3	6.938	6.200	**
Control vs. T4	3	6.938	4.275	**
Control vs. T7	3	6.938	4.300	**
Control vs. T2	3	6.938	5.725	**
Control vs. T5	3	6.938	4.675	**
Control vs. T8	3	6.938	4.950	**
Control vs. T3	3	6.938	5.375	**
Control vs. T6	3	6.938	4.675	**
Control vs. T9	3	6.938	4.225	**
T1 vs. T4	3	6.200	4.275	**
T1 vs. T7	3	6.200	4.300	**
T4 vs. T7	3	4.275	4.300	Ns
T2 vs. T5	3	5.725	4.675	**
T2 vs. T8	3	5.725	4.950	**
T5 vs. T8	3	4.675	4.950	Ns
T3 vs. T5	3	5.375	4.675	**
T3 vs. T9	3	5.375	4.225	**
T5 vs. T9	3	4.675	4.225	*

2. Análisis estadístico de los resultados obtenidos de °Brix, pH y acidez en el vino

Tabla A10. Datos de grados ºBrix en los vinos

Tratamiento	Subm. 1	Subm. 2	Subm. 3	PROMEDIO	SD
T1 (-10±0.2 ºC,12h)	7.50	7.50	7.55	7.52	0.03
T2 (-10±0.2 ºC,24h)	7.00	7.15	7.15	7.10	0.13
T3 (-10±0.2 ºC,48h)	7.25	7.50	7.25	7.33	0.13
T4 (-18±0.2 ºC,12h)	7.25	7.00	7.25	7.17	0.13
T5 (-18±0.2 ºC,24h)	7.50	7.50	7.50	7.50	0.11
T6 (-18±0.2 ºC,48h)	7.00	7.00	7.00	7.00	0.13
T7 (-26±0.54 ºC,12h)	7.50	7.35	7.50	7.45	0.08
T8 (-26±0.54 ºC,24h)	7.00	7.00	7.00	7.00	0.09
T9 (-26±0.54 ºC,48h)	7.50	7.25	7.50	7.42	0.14

Tabla A11. Análisis de varianza del contenido de ºBrix del vino

Origen	Suma de Cuadrados	GL	Media Cuadrática	F	$F_{(0.5)}$	$F_{(0.1)}$	Sig.
Temperatura	0,042	2	0,021	2,436	3.55	6.01	**
Tiempo	0,151	2	0,076	8,691	3.55	6.01	**
Temperatura*Tiempo	0,876	4	0,219	25,176	3.55	6.01	**
Error	0,157	18	0,009				
Total corregida	1,227	26					

CV: 0.77%

Tabla A12. Prueba de comparación Tukey para del contenido de ºBrix en el vino después del congelado

Comparación Múltiple	N	MEDIA 1	MEDIA 2	SIG. **
Control vs. T1	3	8.00	7.52	**
Control vs. T4	3	8.00	7.17	**
Control vs. T7	3	8.00	7.45	**
Control vs. T2	3	8.00	7.10	**
Control vs. T5	3	8.00	7.50	**
Control vs. T8	3	8.00	7.00	**
Control vs. T3	3	8.00	7.33	**
Control vs. T6	3	8.00	7.00	**
Control vs. T9	3	8.00	7.42	**
T1 vs. T4	3	7.52	7.17	**
T1 vs. T7	3	7.52	7.45	Ns
T4 vs. T7	3	7.17	7.45	*
T2 vs. T5	3	7.10	7.50	**
T2 vs. T8	3	7.10	7.00	Ns
T5 vs. T8	3	7.50	7.00	**
T3 vs. T6	3	7.33	7.00	**
T3 vs. T9	3	7.33	7.42	Ns
T6 vs. T9	3	7.00	7.42	**

Tabla A13. Datos de pH del vino obtenidos con uvas congeladas

Tratamientos	Subm. 1	Subm. 2	Subm. 3	PROMEDIO	SD
T1 (-10±0.2 ºC,12h)	3.55	3.55	3.5	3.53	0.30
T2 (-10±0.2 ºC,24h)	3.79	3.76	3.74	3.76	0.12
T3 (-10±0.2 ºC,48h)	3.71	3.72	3.71	3.71	0.15
T4 (-18±0.2 ºC,12h)	3.68	3.69	3.69	3.69	0.28
T5 (-18±0.2 ºC,24h)	3.85	3.86	3.86	3.86	0.19
T6 (-18±0.2 ºC,48h)	3.71	3.7	3.73	3.71	0.23
T7 (-26±0.54 ºC,12h)	3.75	3.74	3.76	3.75	0.13
T8 (-26±0.54 ºC,24h)	3.66	3.65	3.66	3.66	0.14
T9 (-26±0.54 ºC,48h)	3.79	3.78	3.79	3.79	0.51

Tabla A14. Análisis de varianza del contenido de pH del vnio

Origen	Suma de Cuadrados	GL	Media Cuadrática	F	$F_{(0.5)}$	$F_{(0.1)}$	Sig.
Temperatura	2,916	2	1,458	224,227	3.55	6.01	**
Tiempo	0,954	2	0,477	73,326	3.55	6.01	**
Temperatura*Tiempo	3,206	4	0,802	123,276	3.55	6.01	**
Error	0,117	18	0,007				
Total corregida	7,193	26					

CV: 1.51%

Tabla A15. Prueba de comparación Tukey para del contenido de pH en el vino después del congelado

Comparación Múltiple	n	MEDIA 1	MEDIA 2	SIG. **
Control vs. T1	3	3.82	3.53	**
Control vs. T4	3	3.82	3.69	**
Control vs. T7	3	3.82	3.75	**
Control vs. T2	3	3.82	3.76	*
Control vs. T5	3	3.82	3.86	*
Control vs. T8	3	3.82	3.66	**
Control vs. T3	3	3.82	3.71	**
Control vs. T6	3	3.82	3.71	**
Control vs. T9	3	3.82	3.79	Ns
T1 vs. T4	3	3.53	3.69	**
T1 vs. T7	3	3.53	3.75	**
T4 vs. T7	3	3.69	3.75	*
T2 vs. T5	3	3.76	3.86	**
T2 vs. T8	3	3.76	3.66	**
T5 vs. T8	3	3.86	3.66	**
T3 vs. T6	3	3.71	3.71	Ns
T3 vs. T9	3	3.71	3.79	**
T6 vs. T9	3	3.71	3.79	**

Tabla A16. Datos de acidez de vinos obtenidos con uvas congeladas

Tratamientos	Subm. 1	Subm. 2	Subm. 3	PROMEDIO	SD
T1 (-10±0.2 ºC,12h)	5.925	6.000	5.775	5.9000	0.16
T2 (-10±0.2 ºC,24h)	6.038	6.000	6.075	6.0375	0.45
T3 (-10±0.2 ºC,48h)	6.375	6.375	6.450	6.4000	0.53
T4 (-18±0.2 ºC,12h)	5.888	5.850	5.888	5.8750	0.34
T5 (-18±0.2 ºC,24h)	4.913	4.905	4.920	4.9125	0.17
T6 (-18±0.2 ºC,48h)	6.383	6.413	6.375	6.3900	0.34
T7 (-26±0.54 ºC,12h)	5.325	5.430	5.550	5.4350	0.84
T8 (-26±0.54 ºC,24h)	5.325	5.475	5.625	5.4750	0.11
T9 (-26±0.54 ºC,48h)	5.100	4.988	4.950	5.0125	0.39

Tabla A17. Análisis de varianza del contenido de acidez del vino

Origen	Suma de Cuadrados	GL	Media Cuadrática	F	$F_{(0.5)}$	$F_{(0.1)}$	Sig.
Temperatura	2,916	2	1,458	224,227	3.55	6.01	**
Tiempo	0,954	2	0,477	73,326	3.55	6.01	**
Temperatura*Tiempo	3,206	4	0,802	123,276	3.55	6.01	**
Error	0,117	18	0,007				
Total corregida	7,193	26					

CV: 0.98%

Tabla A18. Prueba de comparación Tukey para del contenido de Acidez en el vino después del congelado

Comparación Múltiple	N	MEDIA 1	MEDIA 2	SIG. **
Control vs. T1	3	6.192	5.900	*
Control vs. T4	3	6.192	5.875	*
Control vs. T7	3	6.192	5.435	**
Control vs. T2	3	6.192	6.038	Ns
Control vs. T5	3	6.192	4.913	**
Control vs. T8	3	6.192	5.475	**
Control vs. T3	3	6.192	6.400	Ns
Control vs. T6	3	6.192	6.390	Ns
Control vs. T9	3	6.192	5.013	**
T1 vs. T4	3	5.900	5.875	Ns
T1 vs. T7	3	5.900	5.435	**
T4 vs. T7	3	5.875	5.435	**
T2 vs. T5	3	6.038	4.913	**
T2 vs. T8	3	6.038	5.475	**
T5 vs. T8	3	4.913	5.475	**
T3 vs. T6	3	6.400	6.390	Ns
T3 vs. T9	3	6.400	5.013	**
T6 vs. T9	3	6.390	5.013	**

3. Análisis estadístico de los resultados obtenidos de compuestos fenólicos

Tabla A19. Datos de fenoles totales (mg GAE/g) del hollejo después del congelado

TRATAMIETOS	Subm. 1	Subm. 2	Subm. 3	PROMEDIO	SD
T1 (-10±0.2 ºC,12h)	33.42	33.32	33.39	33.38	0.56
T2 (-10±0.2 ºC,24h)	30.25	30.18	30.21	30.22	0.35
T3 (-10±0.2 ºC,48h)	24.95	24.88	25.00	24.95	0.64
T4 (-18±0.2 ºC,12h)	30.52	30.46	30.52	30.49	0.34
T5 (-18±0.2 ºC,24h)	26.64	26.63	26.61	26.63	0.17
T6 (-18±0.2 ºC,48h)	21.91	21.94	21.94	21.93	0.16
T7 (-26±0.54 ºC,12h)	24.46	24.52	24.46	24.48	0.37
T8 (-26±0.54 ºC,24h)	22.67	22.64	22.69	22.67	0.21
T9 (-26±0.54 ºC,48h)	20.21	20.26	20.26	20.24	0.28

Tabla A20. Análisis de varianza para el contenido de fenoles totales del mosto

Origen	Suma de Cuadrados	GL	Media Cuadrática	F	$F_{(0.5)}$	$F_{(0.1)}$	Sig.
Temperatura	224,621	2	112,311	79131,481	3,55	6,01	**
Tiempo	227,556	2	113,778	80165,522	3,55	6,01	**
Temperatura*Tiempo	18,867	4	4,717	3323,320	3,55	6,01	**
Error	0,026	18	0,001				
Total corregida	471,070	26					

CV: 0.22%

Tabla A21. Prueba de comparación Tukey para del contenido de fenoles totales en el hollejo

Comparación Múltiple	n	MEDIA 1	MEDIA 2	SIG. **
Control vs. T1	3	46.13	33.38	**
Control vs. T4	3	46.13	30.50	**
Control vs. T7	3	46.13	24.48	**
Control vs. T2	3	46.13	30.22	**
Control vs. T5	3	46.13	26.63	**
Control vs. T8	3	46.13	22.67	**
Control vs. T3	3	46.13	24.95	**
Control vs. T6	3	46.13	21.93	**
Control vs. T9	3	46.13	20.24	**
T1 vs. T4	3	33.38	30.50	**
T1 vs. T7	3	33.38	24.48	**
T4 vs. T7	3	30.50	24.48	**
T2 vs. T5	3	30.22	26.63	**
T2 vs. T8	3	30.22	22.67	**
T5 vs. T8	3	26.63	22.67	**
T3 vs. T6	3	24.95	21.93	**
T3 vs. T9	3	24.95	20.24	**
T6 vs. T9	3	21.93	20.24	**

Tabla A22. Datos de flavonoides totales (mg QE/ 100g) del hollejo de uva

TRATAMIETOS	Subm. 1	Subm. 2	Subm. 3	PROMEDIO	SD
T1 (-10±0.2 ºC,12h)	82.99	83.63	84.54	83.72	0.78
T2 (-10±0.2 ºC,24h)	72.19	71.89	72.56	72.21	0.34
T3 (-10±0.2 ºC,48h)	60.83	62.46	61.30	61.53	0.84
T4 (-18±0.2 ºC,12h)	76.43	77.64	76.72	76.93	0.63
T5 (-18±0.2 ºC,24h)	63.99	61.97	60.77	62.25	1.62
T6 (-18±0.2 ºC,48h)	60.41	62.88	63.72	62.34	1.72
T7 (-26±0.54 ºC,12h)	76.42	75.11	74.07	75.20	1.18
T8 (-26±0.54 ºC,24h)	52.08	50.43	50.32	50.94	0.99
T9 (-26±0.54 ºC,48h)	37.98	38.96	38.92	38.62	0.56

Tabla A23. Análisis de varianza del contenido de flavonoides totales del hollejo

Origen	Suma de Cuadrados	GL	Media Cuadrática	F	$F_{(0.5)}$	$F_{(0.1)}$	Sig.
Temperatura	,100	2	,050	727,604	3,55	6,01	**
Tiempo	,177	2	,088	1289,365	3,55	6,01	**
Temperatura*Tiempo	,027	4	,007	99,237	3,55	6,01	**
Error	,001	18	6,863E-5				
Total corregida	0.305	26					

CV: 0.087%

Tabla A24. Prueba de comparación Tukey para del contenido flavonoides en los hollejos

Comparación Múltiple	n	MEDIA 1	MEDIA 2	SIG. **
Control vs. T1	3	98.14	83.72	**
Control vs. T4	3	98.14	76.93	**
Control vs. T7	3	98.14	75.20	**
Control vs. T2	3	98.14	72.21	**
Control vs. T5	3	98.14	62.25	**
Control vs. T8	3	98.14	50.94	**
Control vs. T3	3	98.14	61.53	**
Control vs. T6	3	98.14	62.34	**
Control vs. T9	3	98.14	38.62	**
T1 vs. T4	3	83.72	76.93	**
T1 vs. T7	3	83.72	75.20	**
T4 vs. T7	3	76.93	75.20	Ns
T2 vs. T5	3	72.21	62.25	**
T2 vs. T8	3	72.21	50.94	**
T5 vs. T8	3	62.25	50.94	**
T3 vs. T6	3	61.53	62.34	Ns
T3 vs. T9	3	61.53	38.62	**
T6 vs. T9	3	62.34	38.62	**

Tabla A25. Datos de antocianinas totales (mg cianidina/ 100g) del hollejo

MUESTRAS	Subm. 1	Subm. 2	Subm. 3	PROMEDIO	SD
T1 (-10±0.2 ºC,12h)	375.18	375.85	377.35	376.13	1.106
T2 (-10±0.2 ºC,24h)	312.48	312.81	315.92	313.74	1.902
T3 (-10±0.2 ºC,48h)	248.36	250.03	246.52	248.30	1.750
T4 (-18±0.2 ºC,12h)	298.60	297.77	300.08	298.82	1.173
T5 (-18±0.2 ºC,24h)	261.89	263.05	257.92	260.95	2.688
T6 (-18±0.2 ºC,48h)	239.83	242.32	239.83	240.66	1.435
T7 (-26±0.54 ºC,12h)	287.44	291.46	288.44	289.11	2.091
T8 (-26±0.54 ºC,24h)	249.45	249.94	250.94	250.11	0.760
T9 (-26±0.54 ºC,48h)	232.04	233.54	233.87	233.15	0.971

Tabla A26. Análisis de varianza del contenido de antocianinas en el hollejo

Origen	Suma de Cuadrados	GL	Media Cuadrática	F	$F_{(0.5)}$	$F_{(0.1)}$	Sig.
Temperatura	15748,643	2	7874,321	2897,648	3,55	6,01	**
Tiempo	29490,208	2	14745,104	5426,007	3,55	6,01	**
Temperatura*Tiempo	5190,152	4	1297,538	477,477	3,55	6,01	**
Error	48,915	18	,067				
Total corregida	50477,918	26					

CV: 0.036%

Tabla A27. Prueba de comparación Tukey para del contenido de antocianinas en los hollejos después del congelado.

Comparación Múltiple	n	MEDIA 1	MEDIA 2	SIG. **
Control vs. T1	3	393.3	376.1	**
Control vs. T4	3	393.3	298.8	**
Control vs. T7	3	393.3	289.1	**
Control vs. T2	3	393.3	313.7	**
Control vs. T5	3	393.3	261.0	**
Control vs. T8	3	393.3	250.1	**
Control vs. T3	3	393.3	248.3	**
Control vs. T6	3	393.3	240.7	**
Control vs. T9	3	393.3	233.1	**
T1 vs. T4	3	376.1	298.8	**
T1 vs. T7	3	376.1	289.1	**
T4 vs. T7	3	298.8	289.1	**
T2 vs. T5	3	313.7	261.0	**
T2 vs. T8	3	313.7	250.1	**
T5 vs. T8	3	261.0	250.1	**
T3 vs. T6	3	248.3	240.7	**
T3 vs. T9	3	248.3	233.1	**
T6 vs. T9	3	240.7	233.1	**

Tabla A28. Datos de fenoles totales (mg GAE/ L) del vino

Tratamiento	Subm. 1	Subm. 2	Subm. 3	PROMEDIO	SD
T1 (-10±0.2 ºC,12h)	999.865	998.558	997.686	998.7030	1.10
T2 (-10±0.2 ºC,24h)	1163.481	1161.085	1164.135	1162.9005	1.61
T3 (-10±0.2 ºC,48h)	1206.619	1208.580	1204.222	1206.4735	2.18
T4 (-18±0.2 ºC,12h)	1054.549	1055.420	1054.767	1054.9121	0.45
T5 (-18±0.2 ºC,24h)	1156.728	1158.688	1159.778	1158.3980	1.55
T6 (-18±0.2 ºC,48h)	1229.495	1228.623	1229.712	1229.2767	0.58
T7 (-26±0.54 ºC,12h)	1207.708	1208.144	1204.876	1206.9092	1.77
T8 (-26±0.54 ºC,24h)	1247.577	1242.566	1247.142	1245.7618	2.78
T9 (-26±0.54 ºC,48h)	1291.150	1293.983	1294.418	1293.1837	1.77

Tabla A29. Análisis de varianza del contenido de fenoles totales del vino

Origen	Suma de Cuadrados	GL	Media Cuadrática	F	$F_{(0.5)}$	$F_{(0.1)}$	Sig.
Temperatura	65017,544	2	32508,772	14072,414	3,55	6,01	**
Tiempo	118311,009	2	59155,504	25607,265	3,55	6,01	**
Temperatura*Tiempo	176978,606	4	44244,652	19152,647	3,55	6,01	**
Error	41,582	18	2,310				
Total corregida	360348,740	26					

CV: 0.0047%

Tabla A30. Prueba de comparación Tukey para del contenido de fenoles en el vino

Comparación Múltiple	n	MEDIA 1	MEDIA 2	SIG. **
Control vs. T1	3	737.8	998.7	**
Control vs. T4	3	737.8	1055	**
Control vs. T7	3	737.8	1207	**
Control vs. T2	3	737.8	1163	**
Control vs. T5	3	737.8	1158	**
Control vs. T8	3	737.8	1246	**
Control vs. T3	3	737.8	1206	**
Control vs. T6	3	737.8	1229	**
Control vs. T9	3	737.8	1293	**
T1 vs. T4	3	998.7	1055	**
T1 vs. T7	3	998.7	1207	**
T4 vs. T7	3	1055	1207	**
T2 vs. T5	3	1163	1158	*
T2 vs. T8	3	1163	1246	**
T5 vs. T8	3	1158	1246	**
T3 vs. T6	3	1206	1229	**
T3 vs. T9	3	1206	1293	**
T6 vs. T9	3	1229	1293	**

Tabla A31. Datos de flavonoides totales (mg QE/L) en el vino

Tratamientos	Subm. 1	Subm. 2	Subm. 3	PROMEDIO	SD
T1 (-10±0.2 ºC,12h)	84.16	83.11	83.88	83.72	0.54
T2 (-10±0.2 ºC,24h)	107.04	107.46	108.75	107.75	0.89
T3 (-10±0.2 ºC,48h)	110.01	108.96	109.94	109.64	0.59
T4 (-18±0.2 ºC,12h)	104.27	104.69	105.35	104.77	0.55
T5 (-18±0.2 ºC,24h)	119.22	118.56	119.36	119.05	0.43
T6 (-18±0.2 ºC,48h)	127.17	129.31	127.80	128.10	1.10
T7 (-26±0.54 ºC,12h)	111.41	109.91	110.68	110.67	0.75
T8 (-26±0.54 ºC,24h)	120.41	121.89	122.17	121.49	0.94
T9 (-26±0.54 ºC,48h)	146.65	147.66	147.14	147.15	0.51

Tabla A32. Análisis de varianza del contenido de flavonoides totales del vino

Origen	Suma de Cuadrados	GL	Media Cuadrática	F	$F_{(0.5)}$	$F_{(0.1)}$	Sig.
Temperatura	0,127	2	0,064	2862,325	3,55	6,01	**
Tiempo	0,322	2	0,161	7229,985	3,55	6,01	**
Temperatura*Tiempo	0,106	4	0,026	1190,651	3,55	6,01	**
Error	0,000	18	2,224E-5				
Total corregida	0,555	26					

CV: 1.48%

Tabla A33. Prueba de comparación Tukey para del contenido de flavonoides en el vino

Comparación Múltiple	n	MEDIA 1	MEDIA 2	SIG. **
Control vs. T1	3	68.90	83.71	**
Control vs. T4	3	68.90	104.8	**
Control vs. T7	3	68.90	110.7	**
Control vs. T2	3	68.90	107.7	**
Control vs. T5	3	68.90	119.0	**
Control vs. T8	3	68.90	121.5	**
Control vs. T3	3	68.90	109.6	**
Control vs. T6	3	68.90	128.1	**
Control vs. T9	3	68.90	147.1	**
T1 vs. T4	3	83.71	104.8	**
T1 vs. T7	3	83.71	110.7	**
T4 vs. T7	3	104.8	110.7	**
T2 vs. T5	3	107.7	119.0	**
T2 vs. T8	3	107.7	121.5	**
T5 vs. T8	3	119.0	121.5	**
T3 vs. T6	3	109.6	128.1	**
T3 vs. T9	3	109.6	147.1	**
T6 vs. T9	3	128.1	147.1	**

Tabla A34. Datos de antocianinas totales (mg cianidina/ 100g) del vino

MUESTRAS	Subm. 1	Subm. 2	Subm. 3	PROMEDIO	SD
T1 (-10±0.2 ºC,12h)	127.045	126.845	125.893	126.594	0.616
T2 (-10±0.2 ºC,24h)	150.591	151.292	148.787	150.223	1.292
T3 (-10±0.2 ºC,48h)	168.625	168.024	168.475	168.375	0.313
T4 (-18±0.2 ºC,12h)	138.968	138.567	138.668	138.734	0.209
T5 (-18±0.2 ºC,24h)	155.951	155.801	156.652	156.135	0.455
T6 (-18±0.2 ºC,48h)	185.007	184.957	183.003	184.322	1.143
T7 (-26±0.54 ºC,12h)	147.284	145.982	147.034	146.766	0.691
T8 (-26±0.54 ºC,24h)	167.273	166.271	167.473	167.006	0.644
T9 (-26±0.54 ºC,48h)	185.358	184.907	185.007	185.090	0.237

Tabla A35. Análisis de varianza del contenido de antocianinas del vino

Origen	Suma de Cuadrados	GL	Media Cuadrática	F	$F_{(0.5)}$	$F_{(0.1)}$	Sig.
Temperatura	69,156	2	34,578	765,740	3,55	6,01	**
Tiempo	425,567	2	212,783	4712,151	3,55	6,01	**
Temperatura*Tiempo	253,655	4	63,414	1404,314	3,55	6,01	**
Error	0,813	18	0,045				
Total corregida	749,190	26					

CV: 0.036%

Tabla A36. Prueba de comparación Tukey para del contenido de antocianinas del vino

Comparación Múltiple	n	MEDIA 1	MEDIA 2	SIG. **
Control vs. T1	3	116.2	126.6	**
Control vs. T4	3	116.2	138.7	**
Control vs. T7	3	116.2	146.8	**
Control vs. T2	3	116.2	150.2	**
Control vs. T5	3	116.2	156.1	**
Control vs. T8	3	116.2	167.0	**
Control vs. T3	3	116.2	168.4	**
Control vs. T6	3	116.2	184.3	**
Control vs. T9	3	116.2	185.1	**
T1 vs. T4	3	126.6	138.7	**
T1 vs. T7	3	126.6	146.8	**
T4 vs. T7	3	138.7	146.8	**
T2 vs. T5	3	150.2	156.1	**
T2 vs. T8	3	150.2	167.0	**
T5 vs. T8	3	156.1	167.0	**
T3 vs. T6	3	168.4	184.3	**
T3 vs. T9	3	168.4	185.1	**
T6 vs. T9	3	184.3	185.1	Ns