

Obtención de vinagre tipo balsámico y crema balsámica a partir de vinos de arándanos

Davies, Cristina; Ferreyra, María M.; Gerard, Liliana; Schvab, María del C.; Soldá, Carina; Segovia, Sebastián; Cayetano Arteaga, Cristina; Stefani Leal, Andreína; Corrado, Belén.

Autor: Facultad de Ciencias de la Alimentación, Universidad Nacional de Entre Ríos, Monseñor Tavella 1450, E3202 BCJ, Entre Ríos. Autor ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-9687-0665>

Contacto: cristina.davies@uner.edu.ar

RESUMEN

Los arándanos aún no forman parte de los hábitos de consumo de los argentinos, por ello y con el objetivo de buscar otros mercados para el remanente no exportable, se planteó el desarrollo de una tecnología básica para la producción de vinagre tipo balsámico (VB) y un aliño similar a la reducción o crema balsámica (CBA), ambos a partir de arándanos. En el mercado local hay una amplia variedad de vinagres balsámicos, pero no existen referencias sobre productos a partir de estas bayas. El VB se obtuvo mediante la mezcla de vinagre y mosto concentrado de arándanos previamente obtenidos, con miel hasta 59,15 g ácido acético/L y 26,65°Bx. La CBA se preparó mezclando VB y mosto concentrado hasta 43,87 g ácido acético/L y 46,9°Bx. Si bien el proceso de obtención de vinagres balsámicos provocó una reducción de los principales compuestos antioxidantes, el agregado de mosto concentrado y la maduración en contacto con roble, permitió mejorar su calidad nutricional. Ambos productos presentaron una alta aceptabilidad, especialmente la crema balsámica de arándanos por lo que podrían ser considerados un importante condimento con características regionales que contribuiría a incrementar la ingesta de antioxidantes totales durante una comida.

Palabras clave: fermentaciones; vinagre tipo balsámico; arándanos

Objetivos propuestos y cumplidos

Para este proyecto se propusieron dos objetivos. En primer lugar, se planteó la producción de vinagre tipo balsámico a partir de arándanos por un doble proceso fermentativo: fermentación alcohólica con levaduras *Saccharomyces cerevisiae*, y posterior acetificación utilizando *Acetobacter pasteurianus* aisladas de arándanos de la región. Por otro lado, se propuso elaborar una reducción o crema de tipo balsámica a partir del vinagre balsámico previamente obtenido.

Marco teórico

El vinagre es una solución diluida de ácido acético cuyo proceso de elaboración involucra la fermentación alcohólica de una solución inocua de azúcares y/o sustancias amiláceas fermentables mediante levaduras del tipo *Saccharomyces cerevisiae*, y la posterior oxidación del etanol hasta ácido acético por la acción de bacterias de la familia *Acetobacteriaceae* (Jang et al., 2015).

De acuerdo al Código Alimentario Argentino (art. 1328), se entiende por Vinagre o Vinagre de vino el producto de la fermentación acética del vino. Los vinagres obtenidos por fermentación de materias primas distintas al vino (cerveza, sidra, frutas, cereales, alcohol, etc) deberán venderse con el nombre que especifique su origen. Para los vinagres de vino y de alcohol, la acidez total no deberá ser menor de 5 % p/v expresada como ácido acético mientras que, para vinagres de otros orígenes, aquella no será menor de 4 % p/v expresada como ácido acético.

El Vinagre Balsámico Tradicional de Módena y el Vinagre Balsámico Tradicional de Reggio Emilia (ambos abreviados VBTM) son dos tipos similares de vinagres con Denominación de Origen, con identidad local muy fuerte y propiedades fisicoquímicas y sensoriales características definidas por la legislación italiana y europea. El proceso de elaboración incluye un tratamiento térmico de concentración del jugo de uvas trituradas, seguidas por la fermentación alcohólica y acética y finalmente un envejecimiento prolongado por un periodo mínimo de 12 años en sucesivos barriles de diferentes maderas y tamaños. Sin embargo, debe diferenciarse del Vinagre Balsámico de Módena (BVM), otro producto italiano característico pero muy diferente al anterior debido a que las materias primas y las tecnologías de elaboración son diferentes. Este último es producido a partir de la mezcla de mosto cocido de uvas y vinagre de vino con agregado de caramelo, añejado durante un corto período (mínimo de 2 meses). A raíz de estas diferencias, el BVM carece de la complejidad del sabor y la elevada viscosidad del VBTM, y por ello, el precio de venta es inferior (Cirlini et al., 2009; Solieri et al., 2012; Bertelli et al., 2014; Giudici et al., 2015). En España, el producto similar más conocido es el vinagre de Jerez, cuya elaboración se realiza con el sistema de Soleras y Criaderas y añejado exclusivamente en madera de roble californiano (Gurisatti, 2012).

El vinagre balsámico ha adquirido un importante valor de mercado y actualmente es definido como un condimento dulce, ácido, con elevada viscosidad y coloración marrón oscuro. Los condimentos balsámicos incluyen cuatro productos: vinagres balsámicos genéricos, vinagres balsámicos con denominación de origen, cremas balsámicas y aderezos (Giudici et al., 2009). Los vinagres balsámicos se elaboran a partir de la mezcla de mosto cocido de uvas y vinagre de vino con agregado de caramelo. Si bien carecen de la complejidad del sabor y la elevada viscosidad del Aceto Balsámico Tradicional de Módena, se trata de versiones más económicas que en los últimos años han sido ampliamente aceptados como productos gourmet. Particularmente en Argentina, en 2012 representaban el 10% del mercado de vinagres, y se pronosticaba un ascenso para los próximos años (Gurisatti, 2012). Por su parte, también se ha incrementado el consumo de la denominada reducción o crema balsámica, producto obtenido de la mezcla de vinagre balsámico con mosto concentrado y más cantidad de caramelo. De esta manera se consigue aumentar la concentración de azúcares y el producto resulta más espeso que el vinagre balsámico, otorgando nuevas y diferenciadas posibilidades culinarias.

Los arándanos son reconocidos por sus potenciales efectos beneficiosos para la salud, como la prevención de enfermedades cardiovasculares, neuronales, cáncer y diabetes, entre otras (Castañeda-Ovando, et al., 2009; Moldovan et al., 2012). Su alta concentración en compuestos bioactivos tales como antocianinas, ácido fenólicos, taninos, flavonoides, carotenoides, vitaminas A, C y E, ácido fólico y minerales (Prior et al., 1998; Nunes, 2008; de Souza et al., 2014) evitan el estrés oxidativo neutralizando los radicales libres en el cuerpo humano. La importancia de estos compuestos fitoquímicos y la vitamina C presentes ha impulsado el arándano a un estatus de “súper fruta” a nivel mundial (Shivembe & Ojinnaka, 2018). El Departamento de Agricultura de USA (USDA) lo describió como el fruto con el mayor valor antioxidante entre más de 40 frutas y vegetales evaluados (Arándanos Argentinos, 2012).

La región ubicada sobre el margen del río Uruguay en la provincia de Entre Ríos (NEA), específicamente la ciudad de Concordia, ha tenido un notable desarrollo en el cultivo de arándanos, probablemente debido a las condiciones agroecológicas favorables de la región (Anderson et al., 2006) y, por la posibilidad de producir en contraestación, en la que se registran los mayores precios. En la última campaña, Entre Ríos dedicó 1.050 hectáreas al cultivo de arándanos, lo que representa un gran volumen y mano de obra. El 75 % de la producción se exportó, el 6 % se vendió en mercado interno y un 19 % se industrializó (La red del campo, 2019).

El consumo de arándanos es bajo aún en los países con hábitos de consumo más arraigado. Si bien en 2017 el mercado interno se incrementó 250 % como consecuencia de promociones y programas implementados por el Ministerio de Producción y Trabajo, el volumen total comercializado es reducido y por ello su precio es muy sensible (Secretaría de Agroindustria, 2018). El mercado interno poco desarrollado, el aumento de la productividad que provocó una disminución del precio de venta, la selectividad de la demanda, enfermedades, presencia de defectos y frutas con bajo calibre han incrementado la proporción de descarte. Estos factores provocaron, además del lógico impacto socioeconómico, un impacto ambiental adverso ya que algunos productores se deshicieron de las bayas no comercializadas en campos a cielo abierto, ocasionando una elevada contaminación ambiental (Zapata, 2014).

La tendencia al consumo de productos naturales abre una posibilidad interesante a los vinagres tipo balsámico. En la Argentina no hay estudios previos reportados respecto a la elaboración de vinagre tipo balsámico de arándanos, por lo cual se propone un producto nuevo, que incluye el uso de esta baya y miel, ambos productos regionales que poseen un origen concreto, único y con tipificación. De imponerse la idea de vinagre tipo balsámico y crema balsámica de arándanos, las perspectivas económicas industriales de la zona se verán incrementadas con un producto genérico que representaría a la región misma.

Marco metodológico

Para el cumplimiento de los objetivos propuestos se desarrollaron las siguientes etapas: obtención de sustrato alcohólico (vino) de arándanos, acetificación del sustrato alcohólico de arándanos, obtención de mosto concentrado de arándanos, obtención del vinagre tipo balsámico de arándanos y obtención de crema de vinagre tipo balsámico.

Caracterización de la materia prima

Se utilizaron arándanos *Vaccinium corymbosum* (Highbush o arándano alto) obtenidos en su período de cosecha (octubre-diciembre) provenientes de la zona de Concordia, Entre Ríos, almacenados en cámara de congelación a -18° C. Considerando su posterior uso en vinificación y acetificación, se realizaron las siguientes determinaciones fisicoquímicas:

- Sólidos solubles: método refractométrico, con refractómetro termocompensable HANNA INSTRUMENTS modelo HI 96801 (Rumania). Los resultados se expresaron en °Brix (corregidos por temperatura y acidez).

- Azúcares reductores totales: técnica volumétrica de Lane-Eynon, previa hidrólisis ácida de la muestra (AOAC, 1995, 16th Ed., Official Method 923.09). Los resultados se expresaron como g por 100 mL de muestra.
- Acidez total: mediante titulación potenciométrica con solución de hidróxido de sodio (NaOH) (AOAC, 2005, 18th Ed., Official Method 930.35). Los resultados se expresaron como g ácido acético/L (se asume que toda la acidez del medio se debe a este ácido).
- pH: método potenciométrico, con peachímetro BOECO modelo BT-500 (Germany) (AOAC, 2005, 18th Ed., Official Method 960.19).
- Densidad: mediante densímetro digital Marca Mettler Toledo, Modelo Densito 30PX (Suiza), expresada en g/mL de vinagre.

Además, ya que los arándanos poseen una alta concentración en antioxidantes naturales se determinaron:

- Fenoles totales (FT): método basado en la reducción del reactivo de Folin-Ciocalteu (Saura-Calixto, 1998). Se utilizó ácido gálico como fenol de referencia, por lo que los resultados se expresaron como mg equivalente de ácido gálico (GAE)/100 mL de muestra.
- Antocianinas totales (AT): método diferencial de pH (Giusti & Wrolstad, 2001). La concentración de estos compuestos presentes en muestras líquidas se expresa como mg cianidina-3-glucosido/L de muestra. Cada una de las determinaciones analíticas se efectuó por triplicado.

Obtención de sustrato alcohólico (vino) de arándanos (1° etapa)

La fruta congelada se descongeló hasta alcanzar 5°C aproximadamente para evitar su deterioro microbiano, sensorial y nutricional. Una vez alcanzada esta temperatura y previa a la trituración de la fruta, se realizó un proceso de escaldado para favorecer la inactivación de enzimas, principalmente de la polifenoloxidasas, causantes de la destrucción de antocianinas y otros compuestos fenólicos de importancia para la calidad y valor nutricional del producto terminado (Figura 1). Por otra parte, este tratamiento incrementaría la permeabilidad de las células del pericarpio de la fruta con lo que ayudaría a la extracción de antocianinas y flavonoles. El escaldado se realizó a 95°C durante 2 min y posterior enfriamiento rápido hasta 38°C (Lee et al., 2002).

Luego del triturado de la fruta en procesadora a cuchillas se realizó la despectinización adicionando enzimas comerciales de marca Rohapect 10L, adecuadas para jugos de bajo pH, en principio para evitar la gelificación del mosto. Además, en enología se utilizan especialmente para conseguir un mayor rendimiento del mosto en el estrujado de la uva, facilitar su clarificación y para la extracción de los componentes que se encuentran dentro de las vacuolas (antocianinas, taninos, azúcares, ácidos) lo que repercute en la extracción de color en vinificaciones en tinto y de aromas, en blanco (Kelebec et al., 2007; Romero Cascales, 2008; Gómez-Plaza et al., 2010).

Una vez completada esta etapa se procedió a la extracción del jugo mediante prensado en filtros.

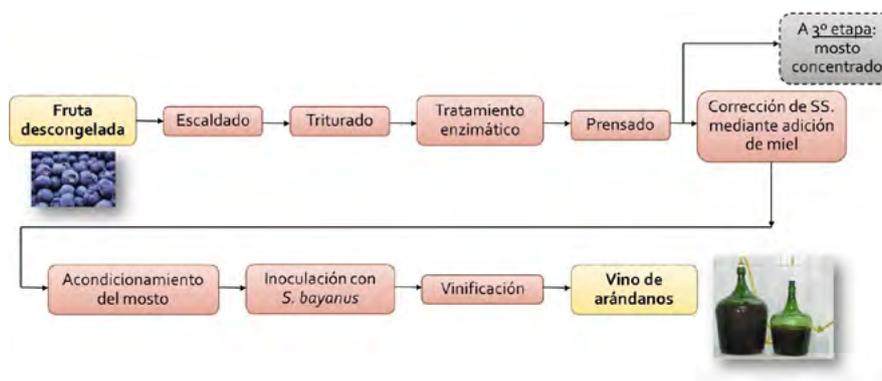


Figura 1. Esquema de obtención de sustrato alcohólico (vino) de arándanos.

Se prepararon tres mostos para la fermentación alcohólica, uno de ellos fue adicionado con miel de eucaliptus (MME), otro con miel de pradera (MMP) y otro con sacarosa comercial (MS) en cantidad necesaria para lograr una concentración de sólidos solubles de 24 ± 1 °Brix. Además, a cada uno de ellos se agregó 0,5 g/L de fosfato diamónico, $\text{PO}_4\text{H}(\text{NH}_4)_2$ como fuente de nitrógeno y fósforo necesarios para el crecimiento de las levaduras vínicas. Por otra parte, y para disminuir la flora microbiana contaminante que pudiera tener efectos nocivos sobre la calidad del producto, se adicionó 0,2 g/L de metabisulfito de potasio, KHSO_3 . En cada caso el sustrato se inoculó con 0,4 g/L de un cultivo comercial activo de *Saccharomyces bayanus*.

El desarrollo de la fermentación alcohólica se llevó a cabo en damajuanas de 10 L de capacidad efectiva en proceso discontinuo. La temperatura de fermentación se mantuvo entre los 25 y 28 ° C para favorecer una rápida producción de etanol y la mayor extracción polifenólica posible. El avance de la fermentación alcohólica de cada uno de los mostos se controló midiendo semanalmente la disminución de los sólidos solubles. Una vez que se observaron valores constantes de este parámetro se consideró finalizada la fermentación, momento en el cual se procedió al trasiago. Se determinó el contenido alcohólico mediante el kit enzimático de Boehringer Mannheim/R-Biopharm, Cat. N° 10176290035, expresado como % v/v.

A los efectos de definir el sustrato alcohólico para la elaboración de vinagre en función de las preferencias de los consumidores, se llevó a cabo una caracterización sensorial de los vinos de arándanos. Se trabajó con cuatro muestras de vinos de arándanos, las tres obtenidas a partir de los mostos MME, MMP y MS, y una cuarta resultante de la mezcla de vinos MMP y MME (Tabla 1). Éstas fueron evaluadas sensorialmente mediante ensayos de aceptabilidad global y CATA (check-all-that-apply).

Tabla 1. Diseño experimental para el ensayo CATA de los vinos de arándanos

Muestra	Vino
1	Mosto con agregado de sacarosa
2	Mosto con mezcla de mieles (eucaliptus+pradera)
3	Mosto con agregado de miel de eucaliptus
4	Mosto con agregado de miel de pradera

Para determinar la existencia de diferencias significativas en la aceptabilidad (overall liking) de los consumidores se realizó un análisis de la varianza (ANOVA) sobre las puntuaciones globales, considerando a los consumidores y las muestras como una fuente fija de variación. Se calcularon las medias y las diferencias significativas mediante el test LSD de Fisher ($\alpha=0,05$).

Para el estudio CATA en primer lugar se determinó el número de consumidores que eligió cada término para cada una de las muestras evaluadas. Para encontrar diferencias globales entre las muestras se utilizó el test Chi-cuadrado y para evaluar diferencias en cada uno de los términos, el test Q de Cochran (Manoukian, 1986).

Acetificación del sustrato alcohólico de arándanos (2° etapa)

Para el proceso de acetificación se utilizó como cultivo iniciador el aislado identificado como *Acetobacter pasteurianus* ya que se verificó un alto recuento celular y alta productividad de ácido acético. Se descongelaron criotubos liofilizados conteniendo estas bacterias acéticas (BAA), se inocularon en caldo GYC (10% glucosa, 0,5% extracto de levadura, 0,3% de peptona) para su revitalización y crecimiento y se incubaron durante 24-48 horas a 30 ± 1 °C en estufa para cultivo bacteriológico FAETA (Argentina).

La elaboración de vinagre de arándanos se llevó a cabo en sistema sumergido semicontinuo, específicamente en proceso fed-batch con sucesivas alimentaciones puesto que es considerado el más ventajoso para reducir el riesgo de inhibición por sustrato y represión catabólica. Esto contribuye a mejorar el rendimiento y la velocidad de acetificación respecto de los sistemas estáticos y permite la reutilización del cultivo en los subsiguientes ciclos de acetificación (de Ory et al.,1999; Gullo et al., 2014).

Para los ensayos de acetificación, el cultivo de *Acetobacter pasteurianus* previamente revitalizado se propagó mediante su inoculación al 20 % en 300 mL de una mezcla del vino de arándanos diluido al 4 % v/v etanol y c.s.p. 10 g de ácido acético/L solución, de un vinagre de arándanos obtenido en experiencias previas. El conjunto se incubó a $30\pm 1^\circ\text{C}$ en sistema estático aeróbico, hasta que se alcanzó una concentración bacteriana aproximada entre $3\text{-}5\times 10^8$ bacterias/mL.

El cultivo iniciador se utilizó como inóculo del sustrato destinado a acetificar, compuesto por el vino de arándanos diluido al 4 % v/v etanol con una solución de nutrientes compuesta por: 0,8 g/L de KH_2PO_4 ; 0,35 g/L de $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3 \text{H}_2\text{O}$; 1,5 g/L de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ y adición de vinagre de arándanos previamente obtenido, en volumen suficiente para alcanzar una acidez total de 10 g de ácido acético/L (Figura 2).



Figura 2. Esquema de obtención de vinagre de arándanos.

El proceso biooxidativo se realizó en el biorreactor marca NEW BRUNSWICK CIENTIFIC Co., modelo Bioflo 2000 (New Jersey, USA) provisto de un vaso de vidrio borosilicato de 2 L de volumen útil. El mismo dispone de un electrodo de control de pH METTLER TOLEDO (Switzerland) y una termocupla con sensor de platino RTD, entradas para inóculo y antiespumante y un orificio para la toma de muestras. La temperatura es corregida por una manta de calefacción situada debajo del vaso, mientras que para refrigerar utiliza una serpentina por la que circula agua de red, previo pasaje por un filtro para agua. Para impedir el paso de microorganismos y esporos, y de esta forma asegurar la esterilidad del aire que ingresa al biorreactor, el equipo posee un filtro absoluto de PTFE cuyo diámetro de poro es de $0,2 \mu\text{m}$. La agitación se realiza mecánicamente mediante un eje provisto de dos turbinas accionado por un motor. El aire se inyecta por la parte inferior del vaso y es distribuido por un tubo en forma de L que posee tres pequeños orificios. El chorro de aire que sale de cada orificio choca con las paletas de las turbinas generándose de este modo miles de pequeñas burbujas, desde las cuales difunde hacia el seno del líquido. El sistema de agitación se completa con cuatro placas deflectoras que tienen por finalidad cortar o romper el movimiento circular que imprimen las turbinas al líquido, generando mayor turbulencia y mejor mezclado.

Puesto que el equipo no cuenta con el accesorio necesario para realizar la recarga de sustrato alcohólico durante el proceso, se adaptó un dosificador que se conecta al mismo mediante una manguera de silicona, ambos estériles (Figura 3). El flujo de alimentación se regula mediante una válvula de goteo o dosificador de flujo regulable.



Figura 3. Equipo de acetificación con alimentación de sustrato.

Las condiciones iniciales del sustrato fueron: volumen del sustrato = 0,7 L, pH = 3,0 – 3,3, acidez total (expresada como ácido acético) = 9,0-10,0 g/L y concentración de etanol = 4 % v/v. La temperatura se mantuvo constante en 30 ± 1 °C durante todo el proceso. Las variables operativas se fijaron en: 677 rpm (velocidad de agitación) y 0,38 vvm (caudal de aire) (Davies, 2015).

El ensayo consistió en el desarrollo de cuatro ciclos de acetificación. El primero de ellos se dio por finalizado cuando la acidez total alcanzó valores entre 40-50 g/L para evitar la inhibición del crecimiento bacteriano (Nanba et al., 1984). El segundo ciclo se inició mediante la alimentación de 500 mL de sustrato fresco, en forma lenta y progresiva (Tsfaye et al., 2000; 2003) para evitar repentinas modificaciones de las condiciones ambientales para la biomasa que generarían una nueva fase lag y por consiguiente un período no productivo (de Ory et al., 2004). Durante las sucesivas alimentaciones se adicionó sustrato alcohólico al 12 % v/v con el fin de aumentar gradualmente la concentración alcohólica y con ello la de ácido acético producido. Además, de esta manera se evita una excesiva dilución del medio con la consiguiente pérdida de características sensoriales del producto final. El proceso de acetificación se continuó hasta que se observó el inicio de una fase estacionaria en la producción de ácido.

Obtención de mosto concentrado de arándanos (3° etapa)

Una parte del jugo de arándanos obtenido durante la primera etapa del proceso (Figura 1) se reservó en congelación (-18°C) para su posterior concentración.

Los métodos tradicionales de concentración de productos líquidos resultan en grandes pérdidas de los parámetros de calidad por degradación de los compuestos fenólicos (Yousefi et al., 2012). En efecto, las antocianinas son altamente sensibles a la degradación durante la concentración de jugos de frutas (Barba et al., 2012). Por este motivo, a efectos de preservar los compuestos antioxidantes, el jugo de arándanos se concentró mediante evaporador rotatorio (rotavapor) a vacío marca YAMATO modelo RE-46 (Japón), con baño de agua a $60\pm 2^{\circ}\text{C}$, hasta $47\pm 2^{\circ}\text{Bx}$.

Obtención de vinagre tipo balsámico de arándanos (4° etapa)

Si bien los vinagres balsámicos no están reglamentados en el Código Alimentario Argentino, en el artículo 1336 se especifica que “los vinagres no contemplados específicamente por el presente Código... deberán contener una acidez mínima de 4,0%”. A efectos de contar con mayores valores de referencia se consultaron otras fuentes como el Código Alimentario Español. En esta legislación se estipula que estos productos deben contener un contenido mínimo de azúcar total de 150 g/L y especifican una acidez total mínima de 50 g/L y alcohol residual máximo de 0,5 % v/v para vinagres diferentes al de vino.

Teniendo en cuenta estos valores de referencia, el vinagre tipo balsámico de arándanos se obtuvo mediante la mezcla de vinagre de arándanos con mosto concentrado de arándanos y miel de eucalipto (Figura 4). A efectos de obtener un producto con una acidez total de aproximadamente 60 g/L y una concentración de azúcares de 240-250 g/L, se realizó un balance de materia con la composición de cada componente.

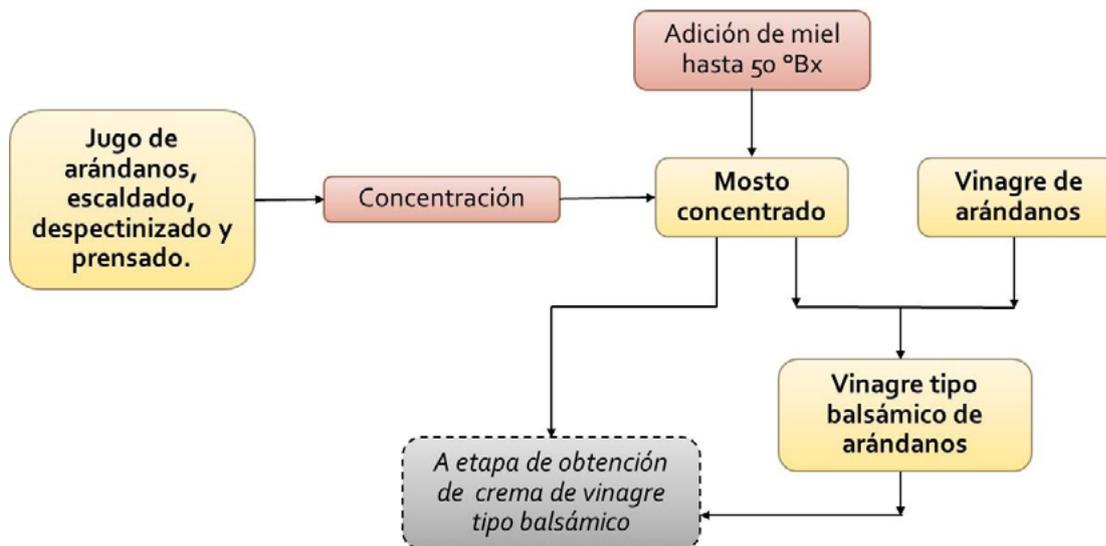


Figura 4. Esquema de obtención de vinagre balsámico de arándanos.

Como ya se ha mencionado, los vinagres balsámicos (VB) se maduran durante 2 meses a más de 3 años, por lo que para los vinagres balsámicos de arándanos se planificó una etapa de maduración o envejecimiento de 180 días en barrica de roble francés, a temperatura y humedad ambiente.

Mientras que el sistema tradicional de envejecimiento se realizaba en una serie de barriles que no se llenaban por completo y en los que el orificio existente en la parte superior sólo se cubría con un lienzo, Giudici y sus colaboradores (2015) no recomiendan esta práctica debido a que el orificio superior permite la liberación de moléculas sensorialmente activas de baja presión de vapor y grandes cantidades de compuestos volátiles además de agua, lo que disminuye el rendimiento del producto. Además, estos orificios son una potencial vía de entrada de insectos al vinagre. Por este motivo, el barril se mantuvo cerrado con tapón de madera durante todo el periodo.

Evaluación de la calidad fisicoquímica y sensorial

A efectos de caracterizar este nuevo producto “vinagre balsámico de arándanos”, se determinaron las propiedades fisicoquímicas exigidas para vinagres en el Código Alimentario Argentino. De esta manera, se realizaron las siguientes determinaciones analíticas:

- Acidez total: método definido previamente.
- Acidez fija: se basa en la evaporación a sequedad, repetidas veces, de una muestra de vinagre previamente filtrado, AOAC, 2005, 18th Ed., Official Method 930.35).
- Acidez volátil: se define convencionalmente como la diferencia entre los valores de acidez total y fija de vinagre, AOAC, 2005, 18th Ed., Official Method 930.35).
- Sólidos solubles: método definido previamente.
- pH: método definido previamente.
- Densidad: método definido previamente.

- Extracto seco: el método oficial se basa en la evaporación de la muestra de vinagre en baño de agua en ebullición y posterior desecación en estufa a 100-105°C durante 2 a 5 horas. El resultado se expresó como % (p/v) de vinagre (AOAC, 2005, 18th Ed., Official Method 930.35).
- Cenizas totales: la técnica incluye sucesivas evaporaciones, incineración a 500 - 550 °C y redisoluciones repetidas durante tres veces del residuo de evaporación proveniente de un volumen de vinagre. El resultado se expresó en % (p/v) de vinagre (AOAC, 2005, 18th Ed., Official Method 930.35).
- Concentración de etanol: método definido previamente.
- Fenoles totales (FT): método definido previamente.
- Antocianinas totales (AT): método definido previamente.

El análisis estadístico de los resultados se realizó mediante análisis de varianza y, cuando fue necesario ($p < 0,05$), se aplicó el procedimiento de diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher. En todos los casos se utilizó un nivel de confianza del 95 %. Se utilizó el programa Statgraphics Centurión XV Corporate.

La caracterización sensorial de los vinagres balsámicos madurados en los diferentes sistemas se realizó mediante los ensayos CATA (check-all-that-apply) y de aceptabilidad global. Los datos fueron analizados con el programa estadístico FactoMineR (Lê & Husson 2008; Lê et al., 2008) y SPSS Statistics 17.0. Para determinar si existen diferencias significativas en la aceptabilidad de los consumidores, se realizó un análisis de la varianza (ANOVA) sobre las puntuaciones globales, considerando a los consumidores y las muestras como una fuente fija de variación. Se calcularon las medias y las diferencias significativas mediante el test LSD de Fisher ($\alpha = 0,05$).

Para el estudio CATA, en primer lugar, se determinó el número de consumidores que eligieron cada término para cada una de las muestras evaluadas. Para encontrar diferencias globales entre las muestras se utilizó el test Chi-cuadrado y para evaluar diferencias en cada uno de los términos, el test Q de Cochran (Manoukian, 1986). El mapa sensorial de las muestras y las relaciones entre términos se determinó utilizando un Análisis Múltiple de Correspondencia (MCA) (Meyners et al., 2013).

Obtención de crema de vinagre tipo balsámica de arándanos (5° etapa)

La crema de vinagre tipo balsámico (CBA) se obtuvo de la mezcla de vinagre tipo balsámico con mosto concentrado de arándanos, este último responsable de la textura del producto (Figura 5). Tal como se realizó para la preparación del vinagre balsámico, también se empleó un balance de materia. Puesto que el mosto concentrado presentaba una acidez total de 32,42 g/L, se decidió preparar la CBA con 40 g/L de acidez total.

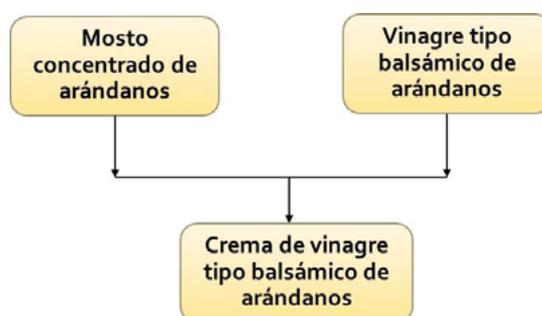


Figura 5. Esquema de obtención de crema balsámica de arándanos.

En forma conjunta con los vinagres balsámicos, se realizó la caracterización sensorial de la crema balsámica de arándanos.

Síntesis de resultados

Obtención de sustrato alcohólico (vino) de arándanos

Los parámetros fisicoquímicos determinados en los arándanos utilizados como materia prima se detallan en la tabla 2. En función de estos resultados, puesto que el jugo de arándanos no posee la concentración adecuada de azúcares para lograr la graduación alcohólica deseada (12% v/v), se debió adicionar una fuente externa de azúcares teniendo en cuenta la siguiente relación:

$$\text{Grado alcohólico probable} = (\text{Azúcares}-1) / 17$$

La relación anterior surge de considerar que, en promedio, las levaduras necesitan 17 g de azúcar para producir 1° de alcohol. Como no todos los azúcares son fermentables, al contenido de azúcares totales se le resta 1 que corresponde a los infermentables (Aleixandre, 1999).

Tabla 2. Valores medios y desviación estándar de los parámetros fisicoquímicos de arándanos

Sólidos Solubles (°Brix)	11,1±0,2
Azúcares reductores (% p/v)	10,20±0,64
pH	2,84±0,04
Acidez total (% p/v)	0,86±0,11
Densidad (g/L)	1,0529±0,0034
Antocianinas totales (mg cianidina-3-glucósido/1000 g)	1419,39±1,49
Fenoles totales (mg equivalentes de ácido gálico/100 g)	381,73±0,03

A partir del jugo de arándanos se elaboraron tres mostos con el agregado de miel de eucalipto (MME), miel de pradera (MMP) y sacarosa comercial (MS) respectivamente hasta alcanzar 24±1°Brix. Posteriormente se caracterizó cada uno según los siguientes parámetros: sólidos solubles, azúcares reductores totales, pH, acidez total, materia seca y cenizas (Tabla 3).

Tabla 3. Parámetros fisicoquímicos de los diferentes mostos.

	MMP	MME	MS
Sólidos solubles (°Brix)	23,7±0,1	23,8±0,1	23,8±0,1
Azúcares reductores totales (% p/v)	24,09±0,5	26,50±0,4	21,01±0,5
pH	3,49±0,02	3,57±0,02	3,44±0,01
Acidez total (% p/v)	0,90±0,08	0,90±0,06	1,03±0,02
Materia Seca (%)	3,89±0,21	3,94±0,23	1,83±0,16
Cenizas (%)	0,22±0,04	0,28±0,03	0,21±0,02

MME: mosto de arándanos con miel de eucalipto, MMP: mosto de arándanos con miel de pradera y MS: mosto de arándanos con sacarosa comercial.

El avance de la fermentación se controló durante 23 días, luego de que se observó que los sólidos solubles permanecieron estables durante 7 días. En esta instancia, la concentración de etanol para el producto obtenido a partir de mosto preparado con miel de pradera (MMP) fue de 11,97 % v/v, para el

preparado con miel de eucalipto (MME), 13,19 % v/v y finalmente para el preparado con azúcar comercial (MS), 15,56 % v/v. Por lo tanto, de acuerdo a este parámetro se puede concluir que cualquiera de estos productos puede ser usado para la acetificación.

A efectos de seleccionar el sustrato alcohólico destinado a acetificar en función de las preferencias de los consumidores, se desarrolló una evaluación sensorial de los vinos elaborados. Setenta y siete consumidores (43 de género masculino y 34 de género femenino) de edades comprendidas entre 21 y 63 años, fueron convocados para la evaluación de las muestras. Indicaron la aceptación global del producto utilizando una escala hedónica no estructurada de 9 puntos y además, expresaron los términos que mejor caracterizaban al producto de una lista compuesta de 34 atributos sensoriales.

El análisis de la varianza (test LSD de Fisher) indicó que existen diferencias estadísticamente significativas ($\alpha=0,05$), p -valor=0,0485, entre las cuatro muestras (Tabla 4).

Tabla 4. Valores promedios y desviación estándar para la aceptabilidad global en cuatro muestras de vinos de arándanos.

Muestra	Valores medios de la aceptabilidad
1	5,41±2,12 ^a
2	5,65±2,08 ^a
3	6,27±1,61 ^{ab}
4	5,73±1,96 ^b

Letras diferentes indican que existen diferencias estadísticamente significativas ($p<0,05$).

Si bien todos los vinos superaron el punto de indiferencia (5) en la escala hedónica (No me gusta, ni me disgusta), sólo el vino obtenido a partir de mosto con miel de eucalipto (muestra 3) presentó una aceptabilidad superior a 6. Del análisis, además se pudo observar que los vinos de mayor aceptabilidad fueron los obtenidos a partir de mostos adicionados de miel.

Como se observa en la Tabla 5, las dos primeras dimensiones explican el 91,92 % de la variabilidad de los datos considerándose las mismas para el análisis.

Tabla 5. Autovalores y porcentaje de varianza de los tres primeros ejes.

	Valores propios	% varianza	% acumulado
Dim. 1	10,17	76,60	76,60
Dim. 2	20,03	15,32	91,92
Dim. 3	30,01	8,07	100,00

Para comprender mejor la conformación de cada una de las dimensiones se analizó el peso que cada variable tiene sobre cada uno de los ejes (Figura 6). Así por ejemplo, en la primera dimensión los términos de mayor peso fueron: Dulce (20,3 %), Amarronado (16,6 %), Miel (8,5 %) y Amargo (7,9 %); en la segunda dimensión los términos que mejor caracterizaron a los vinos son: Miel (13,5 %), Suave (11,3 %), Amarronado (12,0 %) y Amargo (7,3 %).

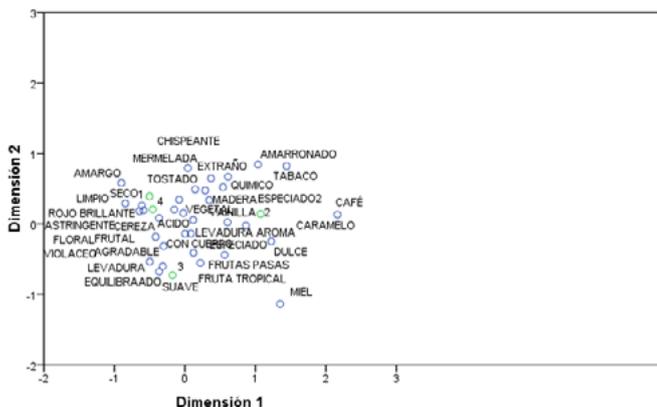


Figura 6. Mapa sensorial de las muestras y las relaciones entre términos.

La ubicación de cada uno de los vinos y los atributos que mejor los caracterizan se pueden analizar observando el gráfico obtenido como resultado del análisis de correspondencia. Se puede observar que el vino 2 (mosto con mezcla de mieles de eucaliptus + pradera) queda representado en la primera dimensión por los atributos café, dulce, caramelo, amarronado, tabaco. El vino (3) (mosto con miel de eucaliptus) está mejor representado en la segunda dimensión por los términos suave, equilibrado, miel, frutas pasa y tropical. Los vinos (1) (mosto con agregado de sacarosa) y (4) (mosto con miel de pradera) fueron percibidos como rojo brillante, limpios y secos.

En función de este análisis, se utilizó el sustrato alcohólico adicionado con miel de eucaliptus para la elaboración de vinagre.

Acetificación del sustrato alcohólico de arándanos

Los resultados experimentales obtenidos en los ensayos de acetificación con alimentación de sustrato se observan en la Figura 7. Las flechas indican los puntos finales de cada alimentación descargada.

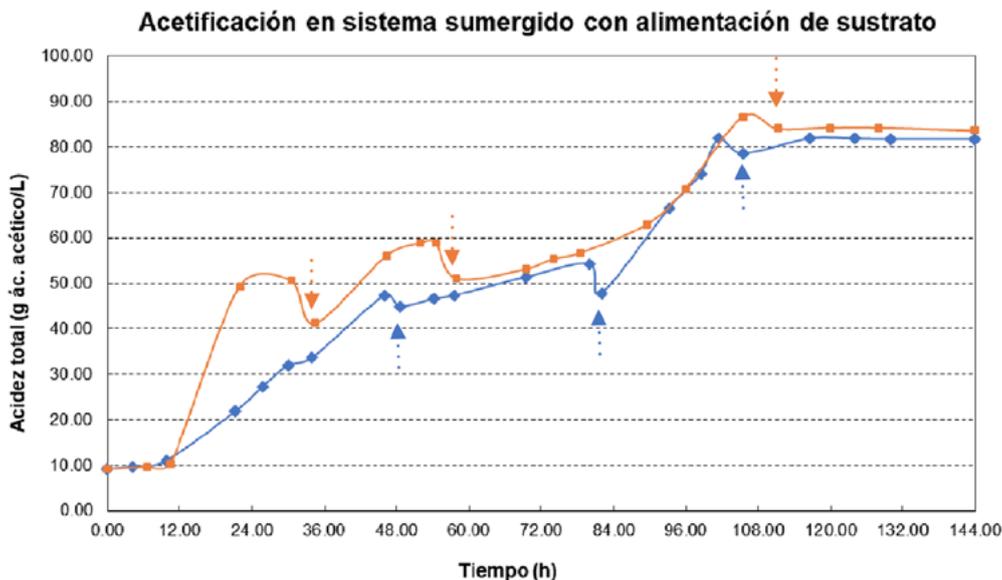


Figura 7. Acetificación de sustrato alcohólico de arándanos en sistema sumergido con alimentación programada.

La acidez máxima alcanzada resultó de 81,81 y 86,63 g ácido acético/L y en ambos casos se alcanzó antes del último agregado de sustrato. A partir de este momento, la acidez total disminuyó por efecto de la dilución, sin embargo, el posterior aumento esperado por la oxidación del sustrato fue prácticamente imperceptible en un caso y nulo en el otro. Este comportamiento se verificó durante las siguientes 33-39 horas y luego se decidió detener el proceso. La determinación del etanol remanente arrojó los siguientes valores: 0,6011 y 0,2142 % v/v, respectivamente, lo que indica la presencia de etanol aún sin metabolizar. Considerando la acidez inicial del sustrato alcohólico (0,94 % p/v) y su concentración media de etanol (9,2 % v/v), se determinó el rendimiento GK (R_{GK}) en cada sistema: 83,6 y 84,3 % v/v respectivamente. En ambos ensayos se observó inhibición del crecimiento microbiano puesto que como se ha mencionado, aún hay sustrato oxidable en el medio.

A pesar de que las bacterias acéticas (BAA) toleran concentraciones de ácido acético que son perjudiciales para la mayoría de los microorganismos, se encuentran variaciones significativas entre algunos géneros. *Komagataeibacter* spp. ha mostrado una mayor resistencia que *Acetobacter* spp. debido a que tienen diferentes mecanismos de adaptación frente al ácido acético (Andrés-Barrao & Barja, 2017). Aunque *A. pasteurianus* evaluada en varios estudios fue aislada de vinagres industriales con acidez mayor a 6 % p/v, su tolerancia al ácido fue menor. Numerosos estudios refieren a *A. pasteurianus* en vinagres de baja acidez y no hay evidencia de formar parte de la microflora habitual de vinagres de elevada acidez (Wu et al., 2010; Gullo et al., 2014; Giudici et al., 2017).

Como ya se ha mencionado, una forma de expresar los límites de la resistencia al etanol y ácido acético de las BAA es utilizando el término “concentración total”, expresada en % p/v. Gullo et al. (2014), autores que compilaron numerosa información acerca de los máximos valores de concentración total que toleran varias especies de BAA en vinagres producidos en diferentes sistemas (estáticos y sumergidos). De acuerdo con esta información *A. pasteurianus* presentó una resistencia de 8 % lo que coincide con los resultados obtenidos en este trabajo: para los sistemas estáticos, 8,73 % y 8,51 % y para los sistemas sumergidos, 8,81 % y 8,88%. Por este motivo y considerando además que la bacteria utilizada fue aislada a partir de arándanos de la región, los vinagres producidos en estas experiencias alcanzarán valores de acidez total apenas superiores a 80 g ácido acético/L.

Obtención de vinagre tipo balsámico de arándanos

Considerando que se disponía de 4,15 L de vinagre y 2 L de mosto concentrado, a partir de un balance de materia se calculó la cantidad necesaria de miel para obtener un VB con 60 g/L de acidez total (A_v) y con una concentración de sólidos solubles (SS_v) de aproximadamente 25°Bx (aprox. 250 g/L):

Vinagre de arándanos:

Acidez total (A_v): 81,50 g ácido acético/L.

Sólidos solubles (SS_v): 8,7°Bx.

Volumen (V_v): 4,15 L.

Mosto concentrado de arándanos:

Acidez total (A_c): 32,42 g ácido acético/L.

Sólidos solubles (SS_c): 47,2°Bx.

Volumen (V_c): 2 L.

Miel:

Acidez total (A_m): 2,25 g ácido acético/L.

Sólidos solubles (SS_m): 80,5°Bx.

Balance de materia para obtener vinagre balsámico con acidez total = 60 g/L.

$$Vv * Av + Vc * Ac + Vm * Am = Vf * Af$$

$$\Rightarrow Vm = (Vf * Af - Vv * Av - Vc * Ac) / Am$$

$$\Rightarrow Vm = 0,59 L$$

De acuerdo con este cálculo se agregaron 0,59 L de miel para llegar a una acidez final de 60 g/L en el vinagre balsámico. Puesto que la miel también aporta sólidos solubles, a continuación, se calculó cómo se modifica este valor en el producto final:

Balance de materia para obtener vinagre balsámico con concentración de sólidos solubles = 25 °Bx.

$$Vv * Ssv + Vc * Ssc + Vm * Ssm = Vf * Ssf$$

$$\Rightarrow Ssf = (Vv * Ssv + Vc * Ssc + Vm * Ssm) / Vf$$

$$\Rightarrow Ssf = 26,41 \text{ } ^\circ\text{Bx}$$

Puesto que esta concentración de sólidos solubles es similar a la que se pretendía llegar, el vinagre balsámico se obtuvo mediante la mezcla de 4,15 L de vinagre de arándanos + 2,0 L mosto concentrado + 0,59 L de miel de eucaliptus. Luego de la mezcla se verificaron experimentalmente los parámetros de acidez total y sólidos solubles: **59,15 g ácido acético/L y 26,65 °Bx respectivamente.**

Evaluación de la calidad fisicoquímica del vinagre balsámico de arándanos

En función de los parámetros utilizados como referencia, se observa que los VB se encuadran dentro de la reglamentación argentina y española mencionados en el marco metodológico. Esto se cumple tanto al inicio como al final del periodo de maduración de 180 días (tabla 6).

Tabla 6. Parámetros fisicoquímicos de vinagres tipo balsámico de arándanos sin maduración y madurados 180 días.

	VB sin maduración	VB madurado en barril de roble (B)
Acidez total (g/L)	59,15±0,05 ^a	67,55±0,05 ^b
Acidez fija (g/L)	11,35±0,10 ^a	15,61±0,13 ^b
Acidez volátil (g/L)	47,80±0,10 ^a	51,94±0,10 ^b
pH	2,74±0,02 ^a	2,62±0,01 ^b
Extracto seco (% p/v)	19,90±0,02 ^a	30,94 ± 0,34 ^b
Cenizas totales (% p/v)	0,47±0,01 ^a	0,91 ± 0,17 ^b
Densidad (a 15 °C, g/mL)	1,0947±0,0021 ^a	1,1320±0,0019 ^b
Sólidos solubles (°Bx)	26,63±0,21 ^a	32,77±0,06 ^b
Etanol residual (% v/v)	0,3011±0,0023 ^a	0,4957±0,0259 ^b
Antocianinas totales (mg cianidina-3-glucósido/L)	284,25±19,12 ^a	6,13±0,27 ^b
Fenoles totales (mg GAE/100 mL)	288,72±3,79 ^a	404,37±2,24 ^b

Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) entre las medias de cada parámetro en una misma fila.

Los valores medios de acidez total, acidez fija, acidez volátil y concentración de etanol residual aumentaron al finalizar la maduración. También se registró un incremento de 23 % en los sólidos solubles ($32,77^{\circ}\text{Bx}$). Esta situación puede relacionarse con el hecho de que la madera actúa como un filtro molecular en el que las moléculas pequeñas como la del agua pasan selectivamente a través de los poros, mientras que las más grandes, como en este caso alcoholes y ácido acético, son retenidas. Esto da como resultado un aumento en la concentración de los solutos (Giudici et al., 2009; Solieri et al., 2012; Giudici et al., 2015). Por otro lado, la elevada concentración de azúcar en el medio resultaría inhibitoria para que las bacterias acéticas presentes pudieran formar ácido acético por oxidación del etanol remanente (Verzelloni et al., 2010).

El pH final del VB madurado fue de $2,62 \pm 0,01$. Este valor resultó menor a 3,8, propuesto como límite a partir del cual se considera como indicador de inferior calidad para los Vinagres Balsámicos Tradicional de Módena (Falcone et al., 2011).

La concentración de antocianinas totales (AT) disminuyó 97,8 % al cabo de 180 días, registrándose un valor final de $6,13 \pm 0,27$ mg cianidina-3-glucósido/L. Este comportamiento se atribuyó al incremento de la cinética de degradación de estos compuestos con la temperatura y el tiempo de almacenamiento (Hernández-Herrero & Frutos, 2011; Syamaladevi et al., 2012; Zapata, 2014; Davies et al., 2016), como así también a reacciones de polimerización (Cerezo et al., 2010). Además, se debe resaltar que se produjo una reducción del 20 % del volumen inicial en el barril, como resultado de la evaporación y absorción de producto en la madera de roble. De esta manera, el valor final de AT es el resultado del proceso de concentración por evaporación de agua como así también de la oxidación provocada por la difusión de aire a través de los poros de la madera.

Los fenoles totales (FT) presentaron un incremento de 40,06 % en el vinagre madurado. Entre las causas que lo justifican se pueden mencionar la concentración del vinagre debida a la evaporación, la extracción de compuestos de la madera y la formación de nuevos compuestos poliméricos. Particularmente en este último caso, reacciones de condensación que involucran flavonoides y taninos, como así también entre flavonoides y aldehídos se ven favorecidas tanto por el pH ácido como por la reducción del contenido de agua (Verzelloni et al., 2010; Durán Guerrero et al., 2011; Solieri et al., 2012).

Los valores de extracto seco aumentaron 55,5 % durante la etapa de maduración. Además de las reacciones de condensación, también deben considerarse la evaporación de agua a través de los poros del barril y la extracción de componentes de la madera (Tesfaye et al., 2002). Las determinaciones de densidad resultaron análogas en su comportamiento respecto de la materia seca.

Las cenizas también experimentaron un importante incremento (92,14 %). Se han informado incrementos de hasta 10 veces en el contenido de hierro en Vinagre Balsámico de Módena, por lo que se infirió que resulta muy probable que metales de transición como cobre y hierro jueguen un rol fundamental como catalizadores redox durante la etapa de envejecimiento (Cocchi et al., 2004; Massino et al., 2008).

Obtención de crema de vinagre tipo balsámica de arándanos

Se realizó un balance de materia para determinar el volumen de vinagre balsámico necesario para lograr una crema balsámica con 40 g/L de acidez total, considerando que se disponía de 2 L de mosto concentrado. La composición de cada componente se detalla a continuación:

Vinagre balsámico de arándanos:

Acidez total (A_{vb}): 59,15 g ácido acético/L.

Sólidos solubles (SS_{vb}): 26,65 $^{\circ}\text{Bx}$.

Mosto concentrado de arándanos:

Acidez total (A_c): 34,21 g ácido acético/L.

Sólidos solubles (SS_c): 50,0 $^{\circ}\text{Bx}$.

Volumen (V): 2 L.

Crema balsámica:

Acidez total (Acr): 40 g ácido acético/L.

Balance de materia para obtener crema balsámica con acidez total = 40 g/L.

$$V_{vb} * A_{vb} + V_c * A_c = V_{cr} * A_{cr} \quad y \quad V_{cr} = V_{vb} + V_c$$

$$\Rightarrow V_{vb} = \frac{V_c * (A_{cr} - A_c)}{(A_{vb} - A_{cr})}$$

$$\Rightarrow V_{vb} = 0,60 \text{ L}$$

De acuerdo con este cálculo 0,60 L de vinagre balsámico se mezclaron con 2 L de mosto concentrado para llegar a una acidez final de 40 g/L. En función de este resultado, a continuación, se calculó cómo se modificarían los sólidos solubles en el producto final:

Balance de materia para sólidos solubles en la crema balsámica:

$$V_{vb} * S_{Svb} + V_c * S_{Sc} = V_{cr} * S_{Scr}$$

$$\Rightarrow S_{Scr} = (V_{vb} * S_{Svb} + V_c * S_{Sc}) / V_{cr}$$

$$\Rightarrow S_{Sf} = 44,58 \text{ } ^\circ\text{Bx}$$

De esta manera, se mezclaron 2,0 L mosto concentrado + 0,60 L de vinagre balsámico y luego se determinaron experimentalmente los parámetros de acidez total y sólidos solubles: **43,87 g ácido acético/L y 46,9 °Bx respectivamente.**

Caracterización sensorial del vinagre tipo balsámico y crema balsámica de arándanos

Noventa y siete (97) consumidores, 51 de género femenino y 46 de género masculino, de edades comprendidas entre 18 y 72 años, fueron convocados para la evaluación de las muestras. Primeramente, debieron marcar la aceptación global del producto utilizando una escala hedónica no estructurada de 9 puntos y luego, indicar los términos que mejor caracterizaban al producto de una lista compuesta de 24 atributos sensoriales. Los atributos sensoriales utilizados fueron seleccionados a criterio e interés del equipo de trabajo.

El análisis de varianza para el ensayo de aceptabilidad global indicó que existen diferencias estadísticamente significativas ($\alpha=0,05$) entre el vinagre balsámico y la crema balsámica de arándanos (Tabla 7). Si bien el vinagre balsámico superó el punto de indiferencia (5) en la escala hedónica, la crema balsámica resultó de mayor aceptabilidad por parte de los consumidores, con un valor superior a 7.

Tabla 7. Valores medios y desviación estándar para la aceptabilidad global en muestras de vinagre balsámico (VB) y crema balsámica de arándanos (CBA).

Muestra	Valores medios de la aceptabilidad
VB	5,95±1,99 ^a
CBA	7,48±2,04 ^b

Letras diferentes indican que existen diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$).

En función del ensayo CATA se pudo determinar que el vinagre balsámico madurado en barrica de roble está representado por los términos amarronado, viscoso, ácido, madera, alcohólico y con aroma agrio. Por otro lado, la crema balsámica de arándanos se asoció a los siguientes descriptores: arándanos, dulce, caramelo, rojo brillante. Además, el 90,4 % de los panelistas afirmó que comprarían la crema balsámica y 68,3 %, el vinagre balsámico madurado en barrica de roble.

Conclusiones

Si bien el proceso de obtención de vinagres balsámicos provoca una reducción en las concentraciones de los principales compuestos antioxidantes, el agregado de mosto concentrado y la maduración en contacto con roble, permitió mejorar su calidad nutricional. La aplicación de metodologías basadas en la percepción del consumidor permitió lograr una primera caracterización sensorial del vinagre balsámico de arándanos y de la crema balsámica de arándanos. Los productos evaluados presentaron una alta aceptabilidad, por lo que, en este contexto podrían ser considerados un importante condimento con características regionales que contribuiría a incrementar la ingesta de antioxidantes totales durante una comida.

Referencias bibliográficas

- ALEIXANDRE BENAVENT, J.L. (1999). *Vinos y Bebidas Alcohólicas*. Servicio de publicaciones. Universidad Politécnica de Valencia.
- ANDERSON, C., Kulczycki, C., Vergara, A. & Tejedor, M. C. (2006). Cosecha de arándanos. Buenas Prácticas Agrícolas.
- Andrés-Barrao, C. & Barja, F. (2017). Acetic Acid Bacteria Strategies Contributing to Acetic Acid Resistance During Oxidative Fermentation. En: I.Y. Sengun (Ed.), *Acetic Acid Bacteria. Fundamentals and Food Applications*, CRC Press, 92-119.
- ARÁNDANOS ARGENTINOS. (2012). Arándanos Argentinos. [Consulta: 9 agosto 2010]. Disponible en: http://www.arandanosargentinos.com.ar/index.php?option=com_content&task=view&id=939&Itemid=85.
- BARBA, F.J.; Jäger, H.; Meneses, N.; Esteve, M.J.; Frígola, A. & Knorr, D. (2012). Evaluation of quality changes of blueberry juice during refrigerated storage after high-pressure and pulsed electric fields processing. *Innovative Food Science and Emergency Technology*, 14:18–24.
- BERTELLI, D.; Maietti, A.; Papotti, G.; Tedeschi, P.; Bonetti, G.; Graziosi, R.; Brandolini, V. & Plessi, M. (2014). Antioxidant Activity, Phenolic Compounds, and NMR Characterization of Balsamic and Traditional Balsamic Vinegar of Modena. *Food Analytical Methods*, 8 (29), 371-379.
- CASTAÑEDA-OVANDO, A., Pacheco-Hernández, M. de L., Páez-Hernández, M. E., Rodríguez, J. A., & Galán-Vidal, C. A. (2009). Chemical studies of anthocyanins: A review. *Food Chemistry*, 113(4), 859–871.

- CEREZO, A.; Tesfaye, W.; Soria-Díaz, M.E.; Torija, M.; Mateo, E.; García-Parrilla, M.C. & Troncoso, A.M. (2010). Effect of wood on the phenolic profile and sensory properties of wine vinegars during ageing. *Journal of Food Composition and Analysis*, 23 (2), 175-184.
- CEREZO, A.; Álvarez-Fernández, M.; Hornedo-Ortega, R.; Troncoso, A. & García-Parrilla, C. (2014). Phenolic composition of vinegars over an accelerated aging process using different wood species (acacia, cherry, chestnut, and oak): effect of wood toasting. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62, 4369-4376.
- CIRLINI, M., Caligiani, A. & Palla, G. (2009). Formation of glucose and fructose acetates during maturation and ageing of balsamic vinegars. *Food Chemistry*, 112 (1), 51-56.
- COCCHI, M.; Franchini, G.; Manzini, D.; Manfredini, M.; Marchetti, A. & Ulrici, A. (2004) A chemometric approach to the comparison of different sample treatments for metals determination by atomic absorption spectroscopy in Aceto Balsamico Tradizionale di Modena. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 4047-4056.
- DAVIES, C. V. (2015). *Estudio de los procesos biotecnológicos de acetificación para la producción de vinagre de naranja y vinagre de arándanos*. Universidad Politécnica de Valencia, España.
- DAVIES, C.; Soldá, C.; Zapata, M.; Gerard, L. & Ferreyra, M. (2016). Cambios en los componentes antioxidantes durante el proceso de obtención de vinagre de arándanos. En: J. A. Gerard y P. Fito Maupoey (Eds.), *International Conference on Food Innovation (FoodInnova® 2014)*, Universidad Nacional de Entre Ríos, Argentina, 138-148.
- DE ORY, I., Romero, L. E. & Cantero, D. (2004). Operation in semi-continuous with a closed pilot plant scale acetifier for vinegar production. *Journal of Food Engineering*, 63 (1), 39-45.
- DE ORY, I., Romero, L. E., & Cantero, D. (1999). Maximum yield acetic acid fermenter. Comparative fed-batch and continuous operation studies at pilot plant scales. *Bioprocess Engineering*, 21 (2), 187-190.
- DE SOUZA, V. R., Pereira, P. A. P., Da Silva, T. L. T., de Oliveira Lima, L. C., Pio, R. & Queiroz, F. (2014). Determination of the bioactive compounds, antioxidant activity and chemical composition of Brazilian blackberry, red raspberry, strawberry, blueberry and sweet cherry fruits. *Food Chemistry*, 156, 362-368.
- DURÁN GUERRERO, E.; Castro Mejías, R.; Natera Martín, R.; Ruiz Bejarano, M.; Rodríguez Dodero, M. & García Barroso, C. (2011). Accelerated aging of a Sherry wine vinegar on an industrial scale employing microoxygenation and oak chips. *European Food Research and Technology*, 232, 241-254.
- FALCONE, P.; Boselli, E. & Frega, N. G. (2011). Structure-composition relationships of the Traditional Balsamic Vinegar close to jamming transition. *Food Research International*, 44 (6), 1613-1619.
- GIUDICI, P.; Gullo, M. & Solieri, L. (2009). Traditional Balsamic Vinegar. En: Solieri Lisa & Giudici Paolo (Eds.), *Vinegars of the World*, Milan, Italia: Springer-Verlag, 157-178.
- GIUDICI, P.; Lemmetti, F. & Mazza, S. (2015). Traditional Balsamic Vinegar as Coded by Us. En: *Balsamic Vinegars. Tradition, Technology, Trade*. Springer International Publishing, 85-109.
- GIUDICI, P.; De Vero, L.; Gullo, M. (2017). Vinegars. En: I. Y. Sengun (Ed.), *Acetic Acid Bacteria. Fundamentals and Food Applications*, CRC Press, 261-287.
- GIUSTI, M. M. & Wrolstad, R. E. (2001). Characterization and measurement of anthocyanins by UV-Visible spectroscopy. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*, Unit F1.2, 1-13.
- GÓMEZ-PLAZA, E.; Romero-Cascales, I. & Bautista-Ortín, A.B. (2010). Use of Enzymes for Wine Production. En: *Enzymes in fruits and vegetables processing. Chemistry and engineering applications*. A. Bayindirli (Eds.). CRC Press, Taylor & Francis Group, 215-244.
- GULLO, M., Verzelloni, E., & Canonico, M. (2014). Aerobic submerged fermentation by acetic acid bacteria for vinegar production: Process and biotechnological aspects. *Process Biochemistry*, 49 (10), 1571-1579.
- GURISATTI, V. (2012). Vinagres & Acetos: el costado más ácido del vino. *Conexión Brando*. [Consulta: 12 septiembre 2014]. Disponible en: <http://www.conexionbrando.com/1487089-vinagres-amp-acetos-el-costado-mas-acido-del-vino>

- HERNÁNDEZ-HERRERO, J. A. & Frutos, M. J. (2011). Degradation kinetics of pigment, colour and stability of the antioxidant capacity in juice model systems from six anthocyanin sources. *International Journal of Food Science and Technology*, 46(12), 2550–2557.
- JANG, Y. K., Lee, M. Y., Kim, H. Y., Lee, S., Yeo, S. H., Baek, S. Y. & Lee, C. H. (2015). Comparison of traditional and commercial vinegars based on metabolite profiling and antioxidant activity. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 25(2), 217–226.
- KELEBEK, H.; Canbas, A.; Cabaroglu, T. & Selli, S. (2007). Improvement of anthocyanin content in the cv. Öküzgözü wines by using pectolytic enzymes. *Food Chemistry*, 105, 334–339.
- LABBÉ PINO, M. (2008). *Tratamientos postfermentativos de vinagre: conservación en botella, envejecimiento acelerado y eliminación de plomo*. Universitat Rovira i Virgili.
- LA RED DEL CAMPO. Chacra (2019). Entre Ríos es la principal productora de arándanos del país [Consulta: 2 julio 2019] Disponible en: <http://www.revistachacra.com.ar/nota/24346-entre-rios-es-la-principal-productora-de-arandanos-del-pais/>.
- LÊ, S. & HUSSON, F. (2008). SensoMineR: A package for sensory data analysis. *Journal of Sensory Studies*, 23(1), 14-25.
- Lê, S.; Josse, J. & Husson, F. (2008). FactoMineR: an R package for multivariate analysis. *Journal of Statistical Software*, 25(1), 1-18.
- LEE, J.; Durst, R. W. & Wrolstad, R. E. (2002). Impact of juice processing on blueberry anthocyanins and polyphenolics: comparison of two pretreatments. *Journal of Food Science*, 67: 1660-1667.
- MANOUKIAN, E. B. (1986). *Mathematical nonparametric statistics* (Gordon & B). N.Y. USA.
- MASINO, F.; Chinnici, F.; Bendini, A.; Montevecchi, G. & Antonelli, A. (2008). A study on relationships among chemical, physical, and qualitative assessment in traditional balsamic vinegar. *Food Chemistry*, 106, 90–95.
- MOLDOVAN, B., David, L., Chisbora, C., & Cimpoiu, C. (2012). Degradation kinetics of anthocyanins from european cranberrybush (*viburnum opulus* L.) fruit extracts. Effects of temperature, pH and storage solvent. *Molecules*, 17(10), 11655–11666.
- MEYNERS, M., Castura, J. C., & Carr, B. T. (2013). Existing and new approaches for the analysis of CATA data. *Food Quality and Preference*, 30(2), 309–319.
- NANBA, A., Tamura, A. & Nagai, S. (1984). Synergistic effects of acetic acid and ethanol on the growth of *Acetobacter* sp. *Journal of Fermentation Technology*, 62, 501–505.
- NUNES, M. C. N. (2008). *Color atlas of postharvest quality of fruits and vegetables*. (M. C. N. Nunes, Ed.). Iowa, USA.: Wiley-Blackwell Publishing.
- PRIOR, R. L., Cao, G., Martin, A., Sofic, E., McEwen, J., O'Brien, C., ... Mainland, C. M. (1998). Antioxidant Capacity As Influenced by Total Phenolic and Anthocyanin Content, Maturity, and Variety of *Vaccinium* Species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46 (7), 2686–2693.
- ROMERO-CASCALES, I. (2008). *Extracción de compuestos fenólicos de la uva al vino. Papel de los enzimas de maceración*. Universidad de Murcia, España.
- SAURA-CALIXTO, F. (1998). Antioxidant dietary fiber product: a new concept and a potential food ingredient. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46, 4303–4306.
- SECRETARÍA DE AGROINDUSTRIA, Ministerio de Producción y Trabajo (2018). Consejo Federal Agropecuario. II Reunión Comisión Regional NOA, octubre 2018. Arándanos. [Consulta: 2 julio 2019] Disponible en: https://www.agroindustria.gob.ar > 000000_NOA > 000000_PPT Arándanos.
- SHIVEMBE, A. & Ojinnaka, D. (2017). Determination of vitamin C and total phenolic in fresh and freeze-dried blueberries and the antioxidant capacity of their extracts. *Integrative Food, Nutrition and Metabolism*, 4(6), 1,5.
- SOLIERI, L., Gullo, M., & Giudici, P. (2012). Traditional Balsamic Vinegar: A microbiological overview. *Handbook of Plant-Based Fermented Food and Beverage Technology, Second Edition*, 609–630.

- SYAMALADEVI, R. M., Andrews, P. K., Davies, N. M., Walters, T. & Sablani, S. S. (2012). Storage effects on anthocyanins, phenolics and antioxidant activity of thermally processed conventional and organic blueberries. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 92 (4), 916–924.
- TESFAYE, W., García-Parrilla, M. C. & Troncoso, A. M. (2000). Set up and optimization of a laboratory scale fermentor for the production of wine vinegar. *Journal of the Institute of Brewing*, 106 (4), 215–219.
- TESFAYE, W.; Morales, M. L.; García-Parrilla, M. C. & Troncoso, A. M. (2002). Evolution of phenolic compounds during an experimental aging in wood of sherry vinegar. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 7053-7061.
- TESFAYE, W., Morales, M. L., García-Parrilla, M. del C., & Troncoso, A. M. (2003). Optimising wine vinegar production: fermentation and ageing. *Applied Biotechnology, Food Science and Policy*, 1 (2), 1–6.
- TESFAYE, W.; Morales, M.; Benitez, B.; Garcia-Parrilla, M. & Troncoso, A. (2004). Evolution of wine vinegar composition during accelerated aging with oak chips. *Analytica Chimica Acta*, 513 (1), 239-245.
- VERZELLONI, E.; Tagliazucchi, D. & Conte, A. (2010). Changes in major antioxidant compounds during aging of Traditional Balsamic Vinegar. *Journal of Food Biochemistry*, 34, 152-171.
- WU, J.J.; Gullo, M.; Chen, F.S. & Giudici, P. (2010). Diversity of *Acetobacter pasteurianus* strains isolated from solid-state fermentation of cereal vinegars. *Current Microbiology*, 60, 280-286.
- YOUSEFI, S.; Emam-Djomeh, Z.; Mousavi, S.M.A. & Askari, G.R. (2012) Comparing the effects of microwave and conventional heating methods on the evaporation rate and quality attributes of pomegranate (*Punica granatum L.*) juice concentrate. *Food Bioprocess Technology*, 5 (4):1328–1339.
- ZAPATA, L. M. (2014). *Obtención de extracto de antocianinas a partir de arándanos para ser utilizado como antioxidante y colorante en la industria alimentaria*. Universitat Politècnica de València.

Indicadores de producción

PUBLICACIONES CON REFERATO

- “Blueberry balsamic vinegar: bioactive compounds and antioxidant activity during processing and assessment of diverse evaporation techniques for juice”**. Autores: Davies, C.V., Gerard, L.M., Soldá, C.A., Corrado, M.B., & Cayetano Arteaga, M.C. (2021). *Brazilian Journal of Food Technology*, 24, e2020190. 1981-6723 (eISSN). <https://doi.org/10.1590/1981-6723.19020>
- “Application of Molecular Methods for the Identification of Acetic Acid Bacteria Isolated from Blueberries and Citrus Fruits”**. Autores: Liliana Mabel Gerard, Cristina Verónica Davies, Carina Alejandra Soldá, María Belén Corrado, and María Verónica Fernández. (2020). *Microbiology and Biotechnology Letters*, vol. 48, n° 2, pp. 193-204. Epub: Jun 2020, 1598-642X (pISSN), 2234-7305 (eISSN). <http://dx.doi.org/10.4014/mbl.1912.12006>

PREMIOS Y DISTINCIONES

- Menção honrosa: “Análisis de vinagres balsámicos de arándanos durante la maduración en diferentes sistemas”**, clasificado en 2o lugar en el 8o Simpósio de Ciências e Tecnologia de Alimentos do Mercosul (8° COSIMP), realizado del 9 al 12 de noviembre de 2020, en Brasil (edición virtual). Autores: Cristina V. Davies, Liliana M. Gerard, Carina A. Soldá, Sebastián A. Segovia, M. Belén Corrado, M. Verónica Fernández Martínez.
- Distinción a Sebastián Segovia por la presentación de su trabajo “Evaluación del efecto de diferentes métodos de concentración sobre los compuestos bioactivos de jugo de arándanos”**. XXVI Jornadas de Jóvenes Investigadores AUGM. 17 al 19 de octubre de 2018. Mendoza, Argentina. Autores: Segovia, Sebastián; Mongelat, Sandra; Davies, Cristina (orientadora).

PRESENTACIONES A CONGRESOS NACIONALES

- XV Congreso Argentino de Microbiología (CAM 2019), V Congreso Argentino de Microbiología de Alimentos (V CAMA), V Congreso Latinoamericano de Microbiología de Medicamentos y Cosméticos (CLAMME 2019). **“Vinagre balsámico de arándanos obtenido con Acetobacter pasteurianus autóctonos”**. Autores: Davies C., Gerard L., Soldá C., Corrado M. B., Segovia S., Mongelat S. Modalidad: póster y publicación en Libro de Resúmenes del XV Congreso Argentino de Microbiología. CABA, Argentina, septiembre 2019.
- XV Congreso Argentino de Microbiología (CAM 2019), V Congreso Argentino de Microbiología de Alimentos (V CAMA), V Congreso Latinoamericano de Microbiología de Medicamentos y Cosméticos (CLAMME 2019). **“Conservación de bacterias del ácido acético mediante liofilización y congelación”**. Autores: Gerard L., Davies C., Corrado M. B., Soldá C. Modalidad: póster y publicación en Libro de Resúmenes del XV Congreso Argentino de Microbiología. CABA, Argentina, septiembre 2019.
- Trabajos prácticos de innovación: estrategia para el aprendizaje de los estudiantes. Gerard Liliana Mabel, Corrado María Belén, Zampedri Patricia.** Trabajo aceptado para su presentación en el XV Congreso Argentino de Microbiología 25 al 27 de septiembre 2019. Asociación Argentina de Microbiología. Buenos Aires, Argentina.
- Evolución de la población de levaduras en mostos de uvas de las variedades Tannat y Marselan.** Corrado María Belén, Gerard Liliana Mabel, Davies Cristina Verónica, Soldá Carina, Mongelat Sandra. Trabajo aceptado para su presentación en el XV Congreso Argentino de Microbiología 25 al 27 de septiembre 2019. Asociación Argentina de Microbiología. Buenos Aires, Argentina
- IV Simposio Argentino de Procesos Biotecnológicos. **“Evaluación de parámetros cinéticos durante la optimización de las condiciones de proceso para la obtención de vinagre de arándanos a escala laboratorio”**. Autores: Davies C., Gerard L., Soldá C., Ferreyra M, Schvab M. Modalidad: póster y publicación en Libro de Resúmenes Buenos Aires, Argentina, diciembre de 2016.
- XVI Congreso Argentino de Ciencia y Tecnología de Alimentos (CYTAL 2017). **“Obtención de vinagre de arándanos mediante acetificación en sistema semicontinuo a escala laboratorio”**. Autores: Davies C., Gerard L., Soldá C., Ferreyra M, Schvab M. Modalidad: presentación de póster. Mar del Plata, Argentina, septiembre de 2017.

SERVICIOS ESPECIALIZADOS Y ASISTENCIA TÉCNICA A TERCEROS

Como parte de las actividades extras del proyecto, en el laboratorio de Microbiología y Biotecnología, se realizan regularmente análisis microbiológicos de arándanos, además de los controles de agua potable para riego y consumo humano de las empresas relacionadas al sector. Por otra parte se monitorean los efluentes líquidos industriales y se realizan controles microbiológicos de empresas arándaneras. Se participó de un ensayo de aptitud interlaboratorio en COFILAC obteniendo un resultado satisfactorio.

PRESENTACIONES A CONGRESOS INTERNACIONALES

8o COSIMP - Congresso de Ciências Farmacêuticas do Mercosul - 8o Simpósio em Ciência e Tecnologia de Alimentos do Mercosul - XII CISDEM - Fórum da Catedra Iberoamericana-Suiza de Desarrollo de Medicamentos - IV EPPGCF - Encontro de Pesquisa e Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas (versión online). **“Análisis de vinagres balsámicos de arándanos durante la maduración en diferentes sistemas”**. Autores: Cristina Davies; Liliana Gerard; Carina Soldá; Sebastián Segovia; M. Belén Corrado; M. Verónica Fernández Martínez. Modalidad: exposición oral, póster y publicación de trabajo completo en Anais do 8º COSIMP (ISSN: 1983-3466). Cascavel, Brasil, 9 al 12 de noviembre de 2020. Disponible en: www.even3.com.br/Anais/8COSIMP/283371-ANALISIS-DE-VINAGRES-BALSAMICOS-DE-ARANDANOS-DURANTE-LA-MADURACION-EN-DIFERENTES-SISTEMAS.

XXI Congreso Latinoamericano y del Caribe de Ciencia y Tecnología de Alimentos. XVII Congreso Argentino de Ciencia y Tecnología de Alimentos (CyTAL®-ALACCTA 2019). “Evolución de la composición de un vinagre balsámico de arándanos durante la maduración en diferentes sistemas”. Autores: Cristina Davies; Liliana Gerard; Carina Soldá; M. Belén Corrado; Sandra Mongelat; Rolando Candia. Modalidad: póster y publicación en Libro de Resúmenes del CyTAL®-ALACCTA 2019. CABA, Argentina, noviembre 2019.

CURSOS REALIZADOS

“Levaduras Cerveceras y su Manejo en Fábrica”. 31 de agosto de 2018. Facultad de Ciencias Económicas. UNER. Participantes: Cristina Davies y Carina Soldá.

“Reutilización de Levaduras”. 31 de agosto de 2018. Facultad de Ciencias Económicas. UNER. Participantes: Cristina Davies y Carina Soldá.

“Microscopía Cervecera: control de calidad de levaduras en fábrica”. 31 de agosto de 2018. Facultad de Ciencias Económicas. UNER. Participantes: Cristina Davies y Carina Soldá.

CURSOS DICTADOS COMO CONSECUENCIA DE LA INVESTIGACIÓN REALIZADA

“Curso de Ingeniería en Industrias de Cítricos y Berries”. Disertante: Gerard, Liliana y Corrado, Belén. Facultad de Ciencias de la Alimentación (UNER), Concordia (E. Ríos), 2021.

VII Jornadas de Ingeniería en Alimentos y III Jornadas de Doctorandos. “Obtención de vinagre tipo balsámico y crema balsámica a partir de vinos de arándanos”. Disertante: Cristina Davies. Facultad de Ciencias de la Alimentación (UNER), Concordia (E. Ríos), junio de 2017.

ORGANIZADOR DE EVENTOS

V JORNADA DE MICROBIOLOGÍA SOBRE TEMÁTICAS ESPECÍFICAS. Participante: Gerard Liliana.

CURSOS DE POSGRADO REALIZADOS

Nombre del Curso
Aplicaciones de Bacterias Lácticas: desde lo tradicional a lo moderno. Alimentos fermentados, nutraceúticos y seguridad alimentaria. Facultad de Bioquímica, Química y Farmacia de la Universidad Nacional de Tucumán. 40 horas. Aprobado. 1 al 5 de abril de 2019. Participantes: María Belén Corrado, Carina Alejandra Soldá. Certificado de aprobación en trámite.
Microorganismos indicadores en el análisis de aguas, alimentos, superficies y ambientes de trabajo. Facultad Regional de Buenos Aires, Universidad Tecnológica Nacional, virtual. 30 horas. Abril a mayo 2019. Aprobado. Participante: María Belén Corrado.
“Tecnología de las Bebidas Alcohólicas”. Facultad de Agronomía de la Universidad de Buenos Aires. Aprobado. 17 y 18 de mayo de 2018. Participantes: Davies Cristina Verónica, Soldá Carina Alejandra. Aprobado.
Principios en Biología Molecular y análisis informático para la identificación de organismos y sus aplicaciones biotecnológicas, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Jujuy. 5 al 9 de agosto de 2019. Aprobado. Participante: María Belén Corrado. Certificado de aprobación en trámite.

PID 8088

Denominación del Proyecto

Obtención de vinagre tipo balsámico y crema balsámica a partir de vino de arándanos

Directora

Ferreya, María Mercedes (hasta 30/07/2018) – Davies, Cristina Verónica (a partir de 31/07/2018)

Unidad de Ejecución

Universidad Nacional de Entre Ríos

Dependencia

Facultad de Ciencias de la Alimentación

Área o disciplina científica

Biología, Microbiología General, Aseguramiento y Control de Calidad de los Alimentos, Física II.

Contacto

daviesc@fcal.uner.edu.ar | cristina.davies@uner.edu.ar

Integrantes del proyecto

Ferreya, María Mercedes (hasta 30/07/2018); Davies, Cristina Verónica; Schwab, María del Carmen (hasta 30/06/2019); Gerard, Liliana Mabel; Cayetano Arteaga, María Cristina; Stefani Leal, Andreína; Soldá, Carina Alejandra; Corrado, María Belén (a partir de 01/03/2018).

Becarios

Segovia, Sebastián (hasta 31/12/2018); Candia, Rolando (desde 01/03/19 a 16/08/19); Mongelat, Sandra (Beca CIN).

Fechas de iniciación y de finalización efectivas

17/08/2016 y 16/08/2019.

Aprobación del Informe Final por CS N° 473/2020 (16/12/2020)