

**EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE VINOS
CON LOS MÉTODOS ORAC-PGR y ORAC-FL**

MARCELA JAQUELINE FAÚNDEZ VALDOVINOS

**TESIS PARA OPTAR AL GRADO DE MAGÍSTER EN CIENCIAS
MENCIÓN EN RADICALES LIBRES EN BIOMEDICINA**

DIRECTOR DE TESIS

Dr. EDUARDO LISSI GERVASIO

CODIRECTORA DE TESIS

Dra. MARÍA ELIANA HIDALGO LILLO

VALPARAÍSO –CHILE

2012

AGRADECIMIENTOS

Agradezco:

A Dios por brindarme oportunidad de enfrentar este desafío académico.

A mí amada hija por su apoyo y paciencia.

A compañero Eugenio por el amor y su apoyo permanente.

A mi Director de Tesis Dr. Eduardo Lissi por permitir empaparme de su trayectoria académica.

A Mi Co-directora de Tesis Sra. María Eliana Hidalgo por su apoyo académico permanente y su comprensión.

A mis tíos Betty y Paul por su cariño.

A todos mis colegas, amigos y familiares que siempre me han brindado una palabra de aliento.

A mis amigos del laboratorio por su apoyo y cariño: Cristóbal Valdes, Carlos Jara y Jaime.

ÍNDICE

RESUMEN	2
ABSTRACT	4
INTRODUCCIÓN	6
HIPÓTESIS	10
OBJETIVOS GENERALES	11
OBJETIVOS ESPECIFICOS	12
METODOLOGIA	13
MUESTRAS	14
INSTRUMENTOS	15
METODOS	16
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	19
CONCLUSIONES	21
ANEXOS	22
INDICE DE FIGURAS	22
ABREVIATURAS	25
INDICE DE TABLAS	26
INDICE DE GRAFICOS	27
CONCLUSIONES	48
BIBLIOGRAFÍA	49

• RESUMEN.

Estudios demuestran que el consumo moderado de vino es beneficioso para la salud en la prevención de enfermedades crónicas asociadas al estrés oxidativo. Los antioxidantes son importantes para el organismo por la capacidad que tienen de proteger las macromoléculas biológicas contra el daño oxidativo. El vino tinto posee polifenoles de reconocida capacidad antioxidante.

La capacidad antioxidante del vino está relacionada con el contenido de polifenoles y su concentración cambia según su variedad, área de producción, técnicas agrarias, proceso de vinificación, vendimia, clima. Por esto, en la presente tesis se consideraron varias cepas, de diversas regiones del país para establecer una comparación.

La cercanía entre las altas cumbres andinas y el Pacífico dan origen a una topografía determinante en el cultivo de la vid. Estas características generan un sinnúmero de microclimas, cada uno de los cuales ofrece condiciones distintas que le dan a las uvas características propias e inimitables con alta calidad.

Las zonas vinícolas más conocidas de Chile se ubican en el Valle Central que se extiende de Norte a Sur entre los ríos Maipo y Maule y que limita al Este con la cordillera de Los Andes y al Oeste con el Océano Pacífico.

Las muestras de vino fueron seleccionadas de acuerdo a varias regiones del país, del Norte la marca Santa Emilianita del valle de Limarí o Valle del Elqui, de la zona central Misiones de Rengo Ventisquero Clásico, Sunrise y Doña Dominga justo en el centro de Chile, entre el pie andino y la cordillera de la costa, se encuentran los valles de Cachapoal y Colchagua que juntos dan vida a Rapel: una de las zonas vitivinícolas más famosas del país.

Respecto a los vinos del sur de Chile se escogió la marca Canepa del Valle del Maule. Corresponde a la parte más austral del Valle Central y la que tiene la mayor extensión de viñedos de todo Chile.

El Valle del Maule, posee un gran potencial para producir vinos de alta calidad gracias a la calidad de sus suelos, el clima y la abundancia de agua. La interacción entre el clima y el suelo ejerce un efecto directo sobre la madurez de los taninos y el balance entre el alcohol y la acidez, dando como resultado vinos concentrados, maduros y frescos, y que además auguran un gran potencial de guarda.

Esta tesis tiene como objetivo evaluar la capacidad antioxidante de diversas marcas de vinos tintos chilenos. Para ello se estudia el contenido total de polifenoles de ocho vinos de la cepa Cabernet Sauvignon de diferentes años y zonas del país.

Para determinar el contenido de fenoles se utiliza el método Folin-Ciocalteu. La capacidad antioxidante es estudiada por la metodología ORAC usando Fluoresceína y Pirogalol rojo como moléculas blanco a fin de comparar la eficiencia de ambos métodos.

Los resultados indican que el índice Folín de los vinos más altos corresponde a los vinos Canepa, Casillero del Diablo, Misiones de Rengo, Cousiño Macul y Ventisquero clásico. Tales vinos presentan la mayor cantidad de polifenoles y una mayor calidad de sus flavonoides.

Al evaluar la capacidad antioxidante por el método ORAC-PGR y ORAC-FL los valores de ORAC-FL fueron dos veces mayores que los valores ORAC- que confirma la relación ORAC PGR/ ORAC FL que se han obtenido en trabajos realizados con estas técnicas en vinos chilenos.

Existe una correlación entre los valores de ORAC y los índices Folín y se aprecia una correlación entre ORAC-FL y ORAC-PGR.

El índice ORAC de las muestras de vino fue diferente, dependiendo de la molécula blanco utilizado. Esto demuestra que el método ORAC es muy dependiente de las condiciones empleadas.

ABSTRACT

Studies show that the moderate consumption of wine is useful for health, in the prevention of chronic diseases associated to the oxidizing stress. The antioxidants are important for the organism, due to the capacity they have to protect the biological macromolecules against the oxidizing lesion or injury. The red wine possesses polyphenols of recognized antioxidant capacity.

The antioxidant capacity of wine is related with the content of polyphenols and its concentration changes according to its variety, area of production, agricultural techniques, process of vinification, grape harvest, and climate. For that reason in the present thesis, it was considered several grapevine stocks from different regions of the country to establish a comparison.

The nearest between the high Andes mountains and the Pacific Ocean give origin to the determined topography in the cultivation of the grapevine. These characteristics generate a numerous microclimates, each one offers different conditions that give to the grape its own characteristics unimitated with high quality.

The most known grape grower zones are located in the Central Valley, which extends from the north to the south between the Maipo and Maule rivers, which limits to the east with the Andes mountain range and to the west with the Pacific Ocean.

The samples of wine were selected according to several regions of the country from the north, the “ Santa Emiliana “ mark, from Limarí Valley or Elqui Valley from the Central zone. “ Misiones de Rengo “, “ Ventisquero Clásico “, “ Sunrise “ and “ Doña Dominga “, just in the center of Chile, between the Andean foot and the Coast mountain range, you can find the Cachapoal Valleys and Colchagua which together give origin to Rapel, one of the grape growing zones more famous in the country.

Respect to the wines in the south of Chile, the “ Canepa “ mark from the Maule Valley was chosen. It corresponds to the most Austral part of the Central Valley and the part which has more extension of vine yard of all Chile country.

The Maule Valley possesses a great potential to produce wines of high quality, thanks to the quality of its soils, the climate and the abundance of water. The interaction between the climate and the soil produces a direct effect over the ripeness of the tannins and the balance between the alcohol and the sourness giving as a result, concentrated wines, ripe and fresh, which pronosticate a great guard potential.

This thesis has as its objective to evaluate the antioxidant capacity from diverse marks of Chilean red wines. To achieve this, the total content of polyphenols from eight wines of the grapevine stocks, “ Cabernet Sauvignon ” from different years and zones of the country were studied.

To determine the content of the phenols, the method Folin-Ciocalteu is used. The antioxidizing capacity is studied by the ORAC methodology using Fluorescein and red Pirogalol like white molecules in order to compare the efficiency of both methods.

The results indicate that the index Folin of the highest wines corresponds to the “ Canepa “ wines, “ Casillero del Diablo “, “ Misiones de Rengo “, “ Cousiño Macul “, and “ Ventisquero Clásico “. Those wines show the highest quantity of poliphenols and a great quality in its flavonoids.

When we evaluate the antioxidizing capacity by the method ORAC – PGR and ORAC – FL, the values of ORAC – FL, were twice bigger than the values ORAC, which confirm the relation $ORAC - PGR > ORAC - FL$, which have been obtained in those works made with these techniques in Chilean wines.

INTRODUCCIÓN

En los últimos años han surgido numerosos estudios que demuestran que el consumo moderado de vino es beneficioso para la salud, principalmente en la prevención de enfermedades crónicas asociadas al estrés oxidativo (ateroesclerosis, artritis, demencia, cáncer). (1)

Los antioxidantes son esencialmente importantes para el organismo por la capacidad que tienen de proteger a las macromoléculas biológicas contra el daño oxidativo. Entre los más conocidos figuran los tocoferoles, el ácido ascórbico, los flavonoides, antocianinas, carotinoides y ácidos fenólicos. (2)

El daño oxidativo se relaciona con el origen y desarrollo de ciertas enfermedades multifactoriales de carácter crónico, como la oxidación de las LDL y la enfermedad cardiovascular, el daño oxidativo al ADN, el cáncer, la oxidación de las proteínas de las lentes oculares del cristalino y la alteración de la visión. La ingesta de alimentos ricos en sustancias antioxidantes como vitaminas C y E, carotenoides o compuestos fenólicos, previene o disminuye el desarrollo de estas enfermedades. (3) La dieta rica en antioxidantes aumenta las defensas del organismo evitando el daño oxidativo. (4)

Los compuestos fenólicos son sustancias orgánicas ampliamente distribuidas en el reino vegetal, se sintetizan como metabolitos secundarios con funciones de defensa, y son en gran medida responsables del color, la astringencia y el flavor (sabor y aroma) de los vegetales. Se encuentran en plantas, verduras y frutas, y en productos derivados como el vino o el té. (5) Todos tienen en su estructura uno o más anillos aromáticos con al menos un sustituyente hidroxilo. Su estructura química es propicia para secuestrar radicales libres, debido a la facilidad con la que el átomo de hidrógeno desde el grupo hidroxilo aromático puede ser donado a la especie radicalaria y a la estabilidad de la estructura quinona resultante.

La actividad antioxidante de los polifenoles depende del número y la localización de los grupos hidroxilo que contiene en su estructura. Asimismo, grupos dadores de electrones, como los metoxi en posición orto o para, aumentan la reactividad del grupo fenólico.

Además de su actividad antioxidante, se han atribuido otras propiedades biológicas a los compuestos fenólicos: inhiben la agregación plaquetaria y ejercen una función como agentes vaso relajantes, antiinflamatorios y anticancerígenos (6)

Uvas y vinos presentan una gran variedad de compuestos fenólicos de muy diversas estructuras químicas y pesos moleculares (7) cuya cantidad total y la proporción en que aparecen dependen de una serie de factores, como la variedad de la uva, el área de producción, el año, la climatología, las técnicas agrícolas, los métodos de vinificación, el

procedimiento de prensado de la uva y el tiempo de fermentación del mosto con la piel y las semilla.

Los compuestos fenólicos de la uva se localizan principalmente en las partes sólidas: piel, semilla y tejido vascular. En la pulpa destaca la presencia de ácidos fenólicos y sus derivados. Los flavonoles y antocianos se encuentran localizados en las células del hollejo de la uva, siendo estos últimos responsables del color rojo de los vinos tintos. (8)

Las procianidinas y flavan3-oles se localizan en las semillas de las uvas (9) En los vinos blancos los fenoles mayoritarios son aquellos procedentes de la pulpa, mientras que en los tintos, la maceración alcohólica de los hollejos y las semillas permite la liberación y solubilización de los flavonoides. Esto explica la mayor capacidad antioxidante medida en vinos tintos. (10)

Respecto a los vinos de producción nacional se cuenta con información relativamente escasa acerca del contenido de fenoles totales y su actividad antioxidante. A pesar de lo anterior existen estudios de mercado que colocan a Chile a la cabeza de muchos países productores de vino (11). Se encontró que los vinos chilenos eran más ricos en polifenoles antioxidantes (flavonoides) que vinos franceses, australianos, españoles, italianos, norteamericanos y de otros países líderes en esta industria.

Otros estudios han ratificado estas observaciones que se han explicado por las características de nuestro clima, los suelos y las técnicas productivas, posicionando a Chile como un referente. (12)

La ventaja es la ubicación de Chile es el clima del Valle Central que es donde se encuentran plantadas la mayor cantidad de hectáreas de viñedos.

En efecto, este clima está fuertemente influenciado por el Océano Pacífico y la Cordillera de los Andes. Cuando por las brisas marinas llevadas por la corriente fría de Humboldt que sube por la costa, se forman nubes bajas y brumas que penetran hacia el Valle. Durante la noche el valle central recibe el aire frío que viene de las Altas Cumbres Nevadas de los Andes. En los viñedos la alternancia entre la frescura nocturna y el calor del día durante el período de crecimiento favorece el desarrollo de la acidez, la concentración de azúcar, el color y los aromas de la uva.

El verano seco también es la causa de que el viñedo chileno sea uno de los más sanos del mundo, evitando plagas comunes de otros lugares como, por ejemplo, el Mildiu, inexistente en nuestro país, por lo que la uva llega normalmente al proceso de vinificación en excelente estado sanitario, lo que producirá vinos de la más alta calidad.

En este trabajo se evaluó la capacidad antioxidante de tipos de vinos chilenos de la cepa cabernet sauvignon, que da origen a vinos de calidad, de mucho carácter y taninos

robustos, con aromas de frutos rojos y negros bien maduros y con un gran potencial de guarda. Se producen a lo largo de todo Chile por ello fueron considerados de diferentes Zonas, norte, central, sur y de los valles de Maipo, Rapel, Curico y Maule. También se consideraron cepas de diferentes años Se escogieron algunos vinos de consumo masivo de las familias y de fácil adquisición y otros de guarda como el Casillero del Diablo.

Se seleccionaron marcas de vinos cabernet Sauvignon de consumo masivo como: Cousiño Macul, Doña Dominga, Misiones de Rengo, Sunrise, Santa Emiliana, Ventisquero Clásico y Canepa.

Los métodos desarrollados para evaluar capacidad antioxidante abarcan diferentes estrategias. Existen métodos que evalúan tiempos de inducción (TRAP) ,métodos que relacionan la concentración en estado estacionario de un radical libre(TAR), métodos que capacidad de un antioxidante para reducir Fe^{+3} (FRAP) y métodos de integración. (ORAC) (13)

En relación a su capacidad antioxidante, se comparó la sensibilidad de dos métodos basados en la metodología ORAC que mide la capacidad de la muestra problema para retardar el consumo de una molécula de referencia expuesta a una fuente controlada de radicales libres. En particular, se usaron como moléculas de referencia rojo de pirogalol (PGR) y fluoresceína.

El método utilizado se denomina ORAC (oxygen radical absorbance capacity), es uno de los más utilizados, para estimar capacidad antioxidante. El índice ORAC incluso ha sido incluido en el etiquetado de algunas frutas disponibles en el comercio.

Esta metodología fue desarrollada por Cao y colaboradores (14) Ellos propusieron utilizar como molécula blanco ficoeritrina, Trolox como antioxidante standard (un análogo hidrosoluble de vitamina E) y ABAP como generador de radicales peroxilo).

El método ORAC es de integración, por lo que se basa en la estimación del área bajo la curva de los perfiles de decaimiento y no en las pendientes iniciales del proceso (velocidad de reacción). Se debe considerar que en ciertas condiciones, para antioxidantes muy eficientes, el índice ORAC usando fluoresceína como blanco está muy influenciado por la estequiometría del proceso sin tener mucha relación con la reactividad de los antioxidantes en estudio.

Prior y colaboradores (15) han validado una variación del método por los elevados costos de ficoeritrina, que interactúa con polifenoles, proporcionando índices ORAC que no están directamente relacionados con la capacidad antioxidante de los compuestos en estudio. En el nuevo método se reemplazó la ficoeritrina como molécula blanco por la fluoresceína. (FL)

El método ORAC-F es ampliamente utilizado, pero se ha observado que la fluoresceína es fácilmente protegida por antioxidantes poco reactivos, dando un índice ORAC muy influenciado por factores estequiométricos, lo que se correlaciona directamente con el número de fenoles totales de la muestra. Esto es de vital importancia, ya que, en medios biológicos, sería más importante la rapidez con que un antioxidante neutraliza un radical libre que la estequiometría de la reacción.

A partir de estos antecedentes, se ha diseñado un nuevo método ORAC basado en el uso del Pirogalol rojo (PGR) como molécula blanco (ORAC – PGR) (16) El pirogalol rojo reaccionó rápidamente con radicales piróxilo generados a partir de ABAP, alcanzando el orden cero de la reacción (en PGR). La mayor reactividad mostrada por el pirogalol rojo hace de este compuesto una molécula blanco más difícil de proteger que la fluoresceína. No se generan tiempos de inducción y el índice ORAC estimado por este método correlacionaría más con la reactividad de los antioxidantes estudiados.(17)

Se aplicó la metodología Folin-Ciocalteu para medir el contenido fenólico de los vinos. El método es considerado como una forma de titular los fenoles a partir de una reacción colorimétrica que se basa en la estimación de la reducción del reactivo Folin-Ciocalteu por la reacción con los fenoles la cual genera un complejo azul intenso cuantificable a 740 nm por espectrofotometría visible. De esta manera, relacionando la absorción a 740 nm con un compuesto de referencia, se puede estimar la concentración de fenoles totales, expresándose como equivalentes de la molécula patrón. Se trabajó en triplicado de cada muestra de vino y posteriormente se calculó el índice Folin. (18)

HIPÓTESIS

Los vinos chilenos de cepas de cabernet sauvignon provenientes de la Zona Central tienen una mayor capacidad antioxidante debido al clima favorable para la maduración de la uva con respecto a otras zonas del país.

OBJETIVO GENERAL

Evaluar la capacidad antioxidante de vinos tintos chilenos de cepa cabernet sauvignon de las distintas zonas del país mediante las técnicas ORAC-Fluoresceína, ORAC- Pirogalol, el índice de fenoles totales con la técnica Folín para evidenciar la zona con el clima más favorable.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 1.- Calcular la concentración total de fenoles en los vinos chilenos estudiados.
- 2.- Evaluar capacidad antioxidante de los vinos chilenos utilizando la técnica ORAC-Fluoresceína.
- 3.- Evaluar capacidad antioxidante de los vinos chilenos utilizando la técnica ORAC-PGR.
- 4.- Comparar método ORAC-fluoresceína con el ORAC –PGR.
- 5.- Establecer correlaciones entre los índices ORAC y la concentración de fenoles.
- 6.- Comparar la capacidad antioxidante de los vinos chilenos de las distintas zonas del país.

METODOLOGÍA

MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales

Solventes

- Agua ultra pura
- Agua destilada
- Tampón Fosfato, 75Mm , pH=7,4 ($\text{Na}_2\text{PO}_4/\text{NaH}_2\text{PO}_4$)

Reactivos

- ABAP (2,2- azobis (2-metilpropionamidina)) 97% Sigma Aldrich.
- Pirogalol rojo (PGR), (ácido 2-(4,5,6-trihidroxi-3-oxo-3H-xanten-9-il) Benzensulfónico), Sigma Aldrich.
- Fluoresceína (FL), (ácido 2- (hidroxi-3oxo-3H- xanten-9-il) Benzoico, Sigma Aldrich.
- Trolox (ácido 6 Hidroxi-2,5,7,8-tetrametil-2-carboxílico), 97%, Sigma Aldrich.
- Carbonato de Sodio, Merck.
- Reactivo Folin (Folin-Ciocalteu's phenol reagent, 2N) ,Sigma-Aldrich.
- $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$ (di-sodio hidrogenofosfato dihidratado), Merck.
- $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$ (sodio dihidrogenado monohidratado) Merck.

MUESTRAS

Se utilizaron muestras de vinos tintos Cabernet Sauvignon de diferentes marcas., cepas y de diferentes zonas del país.

Vinos tintos Cabernet Sauvignon

- Cabernet Sauvignon, "Cousiño Macul " 2009 Valle del Maipo.
- Cabernet Sauvignon, "Misiones de Rengo " 2007 Valle Central.
- Cabernet Sauvignon, "Santa Dominga " 2007 Valle de Colchagua.
- Cabernet Sauvignon, "Sunrise " , 2009 , Valle Central.
- Cabernet Sauvignon, "Santa Emiliana " , 2009 Valle del Limarí.
- Cabernet Sauvignon, "Ventisquero Clásico", 2009, Valle de Colchagua.
- Cabernet Sauvignon, " Casillero del Diablo " , 2008 de Valle de Pirque, Santiago.
- Cabernet Sauvignon, "Canepa" , do, 2008 ,Valle del Maule.

INSTRUMENTOS

- Appliskan
- Espectrofotómetro UV visible
- Fluorímetro UV visible
- Agitador Magnético Seepdsafe
- Balanza Hanna Instruments.Scientech Modelo SA 120
- Baño Termoregulado. Nahita Model 601/1
- Peachímetro Digital ph Meter .Jenco .Model 60
- Sonicador Elma Tansonic 310

MÉTODOS

Método Folin

El reactivo Folin-Ciocalteao es una disolución formada por una mezcla de ácidos fosfomolibdénico $H_3PMo_{12}O_{40}$ y fosfotúngstico, que en medio básico se reducen al oxidar los compuestos fenólicos presentes en muestras complejas como el vino. Producto de esta reacción redox, se forma un complejo azul MoW, el cual es cuantificable a 740nm por espectrofotometría visible.

Curvas de Calibrado

Se aplicó la metodología Folin, y el compuesto de referencia (Trolox), a distintas concentraciones y se obtuvo la dependencia de la absorbancia a 740nm con la concentración (μ m y mg/l) de cada compuesto.

Utilizando las curvas de calibrado de los compuestos de referencia se obtuvo la concentración de polifenoles totales de las muestras de vino estudiadas, expresadas en equivalentes Trolox (μ M o ppm).

El índice Folin se expresó en equivalentes de Trolox según:

$$\text{Índice Folin} = (UAX_H / UA_{Ref}) \times N^{\circ}_{OHref}$$

Donde,

UAX_H = absorbancia a 740nm del compuesto en estudio

UA_{Ref} = absorbancia a 740nm del compuesto de referencia, Trolox

$N^{\circ}_{OH Ref}$ = número de hidroxilos del compuesto de referencia (Trolox = 1)

Método Folin

A 1ml de muestra de vino tinto 25ul de vino tinto /ml) en tampón fosfato pH=7,4, se adicionaron 5ml del reactivo Folin previamente diluido (1/10) en agua ultrapura .Después de 7 minutos, se agregaron 4 ml de de una solución de Carbonato de Sodio al 7,5% .La dilución se incubó por dos horas a oscuridad y finalmente se midió la absorbancia a 740 nm. El control se realizó según el protocolo pero en vez de 1ml de muestra se adicionó 1ml de agua ultrapura.

ORAC-fluoresceína (ORAC-FL)

Se siguió el curso de la reacción por el decaimiento de la fluoresceína, mediado por radicales peroxilo. La fluorescencia se midió utilizando una longitud de onda de excitación de 493nm y de emisión de 515nm. La cinética de reacción se siguió hasta llegar a un 80% del decaimiento de la intensidad de la fluorescencia inicial a 37°C. De las curvas de decaimiento de la intensidad de la fluorescencia en función del tiempo se estimó el área bajo la curva (ABC) del control y en presencia de las muestras de vino, se calculó el índice ORAC.

Procedimiento: Se adicionaron 50µm de ABAP (0,6M) a una disolución de fluoresceína (70Nm) previamente termostatzada a 37°C en ausencia y presencia de aditivos. En medio de tampón fosfato pH 7,4.

En el caso de las muestras de vino se realizaron distintas disoluciones en tampón fosfato pH=7,4; para vinos tinto se usó una disolución 100ul/ml.

ORAC-pirogalol rojo (ORAC-PGR)

Se estudió el decaimiento de la absorbancia, mediada por radicales peroxilo. La absorbancia se midió a 540 nm, todas las disoluciones se realizaron en tampón fosfato pH 7,4 a 37°C.

Se estimó el área bajo la curva (ABC), del control y muestras (en presencia de vino), los que permitió calcular los índices ORAC y las pendientes iniciales.

Procedimiento: Se adicionaron 50ul de ABAP (0,6M) a una disolución de pirogalol rojo (5Um) previamente termostatzada a 37°C en ausencia y presencia de aditivos.

Índice ORAC

El índice ORAC fue estimado en relación a Trolox de acuerdo a:

$$\text{Índice ORAC} = \frac{(ABC - ABC^{\circ})}{(ABC_T - ABC^{\circ})} \times [\text{Trolox}] \times F$$

Donde:

ABC = área bajo la curva del perfil de decaimiento del 80% de la absorbancia asociada a la molécula blanco en presencia de muestra de vino.

ABC° = área bajo la curva del perfil de decaimiento del 80% de la absorbancia asociada a la molécula blanco en ausencia de la muestra (experimento control).

ABC_T = área bajo la curva del perfil de decaimiento del 80% de la absorbancia asociada a la molécula blanco en presencia de Trolox.

F = Factor de dilución del vino tinto.

El índice ORAC fue estimado con una [Trolox] = 10uM y el factor de dilución del vino fué 1500.

Los resultados se analizaron con test de Anova (0,05).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En estudios anteriores (19) no se apreciaron variaciones significativas de los valores de índice Folín en vinos de la misma cepa, sin embargo en los de cepas diferente se apreciaron valores mayores de vinos tintos que los vinos rosé y blanco, donde los vinos tintos tienen un índice Folín ocho veces mayor que el índice de vino blanco y cinco veces el índice del vino rosé. En cambio en la presente tesis los análisis Folín se realizaron sólo en la cepa de vinos tintos cabernet sauvignonn donde se seleccionaron diversas marcas mostrando diferencias, una tendencia de mayor a menor de las siguientes marcas: canepa, el casillero del diablo después le siguen misiones de rengo ,Cousiño macul y Ventisquero clásico, Misiones de Rengo. Entre los vinos que presentan los índices Folín más bajos son Sunrise, Santa Emiliana y Doña Dominga lo que indica que contienen menos polifenoles. (Tabla N°4)

Los poli fenoles son responsables del color de los vinos tintos y de la astringencia dándole cuerpo y estructura al vino y ocasionalmente producen sabores amargos Cada cepaje tiene su composición fenólica y está fuertemente condicionada por factores agronómicos y ambientales. (20)

El índice Folín de los vinos estudiados tiene una relación con las marcas y las zonas donde se encuentran las viñas: zona central y aledañas como el valle Central, del Maipo, Pirque y Colchagua las cuales tienen factores agronómicos, ambientales, geográficos y climáticos similares.

Respecto a la capacidad antioxidante de los vinos que ha sido medida con ORAC-PGR y ORAC-F de los vinos tintos chilenos de cepa cabernet sauvignonn, el valor ORAC-PGR fue la mitad de ORAC-FL. (21)

EL análisis realizado evidenció la misma relación obtenida en estudios anteriores de la relación ORAC-PGR/ORACFL obteniendo valores cercanos a 0,5. (22)

Respecto a los índices ORAC-PGR los valores obtenidos fluctúan entre 8,26 y 29, 16.

Las marcas de los vinos tintos analizados que presentan mayor índice ORAC-PGR según los cálculos obtenidos son: Canepa, Casillero del diablo, Cousiño Macul, Ventisquero clásico .y Misiones de Rengo. Por lo tanto estos vinos evidencian mayor capacidad antioxidante que los vinos de marca Sunrise, Santa Emiliana, y Doña Dominga y tienen una directa relación con el índice Folín es decir con los fenoles totales como se muestra en la tabla 4 donde se presentan los resultados.

Los índices ORAC-F obtenidos de los vinos estudiados coinciden con los valores más altos de los vinos de las mismas marcas que son: Canepa, Casillero del diablo, Cousiño Macul, Ventisquero Clásico y también tienen una directa relación con los índices Folín como indican los resultados de la tabla 1.

Los vinos tintos de la cepa cabernet sauvignonn que se analizaron en la presente tesis resultaron tener un buena capacidad antioxidante con ambas técnicas empleadas y los más alto provienen de viñedos de la zona más central de nuestro país entre la V y VI región como las siguientes marcas: Canepa , Casillero del diablo, Cousiño Macul, Ventisquero Clásico las cuales provienen de viñedos del valle del Maule, Valle de Pirque, Valle de Maipo y del Valle de Colchagua como indica la ruta del vino en nuestro país.

CONCLUSIONES

La aplicación del método Folín arrojó un alto contenido de polifenoles de los vinos tintos chilenos de cepa cabernet sauvignon.

Las condiciones climatológicas de la zona central de nuestro país son altamente propicias para el cultivo de la vid ya que los vinos tienen alto contenido de polifenoles y por lo tanto una buena capacidad antioxidante, corroborado por los altos valores del índice ORAC.

El índice ORAC de las muestras de vino fue diferente, dependiendo de la molécula blanco utilizado. Esto demuestra que el método ORAC es muy dependiente de las condiciones empleadas.

Se puede concluir que la metodología ORAC-PGR y ORAC-FL son buenas alternativas para estudiar la capacidad antioxidante de compuestos de baja, mediana y alta reactividad.

En esta experiencia se observó que los vinos protegieron eficientemente a PGR sin generar tiempos de inducción como la Fluoresceína.

Los resultados comparativos de los métodos ORAC-PGR y ORAC-FL, son concordantes a otros estudios, resultando los últimos dos veces mayores a los primeros.

Los resultados muestran una mayor eficiencia en el decaimiento al 80% en la técnica ORAC –Pirogalol. Se comprueba además mayor eficiencia de los métodos usando valores de concentraciones menores de 10 μ M Trolox.

La buena correlación entre los valores de ORAC y los índices Folín indican que un alto contenido de polifenoles del vino tendrá una buena capacidad antioxidante.

Además se apreció una buena correlación entre ORAC-FL y ORAC-PGR lo que indica que ambos métodos evidencian la capacidad antioxidante.

Los resultados apoyan la recomendación de un consumo moderado de vino tinto como complemento a la dieta mediterránea.

Los vinos tintos chilenos de cepa cabernet sauvignon de la zona central presentaron mayor capacidad antioxidante por el clima favorable que permite la lenta y completa maduración de la uva.

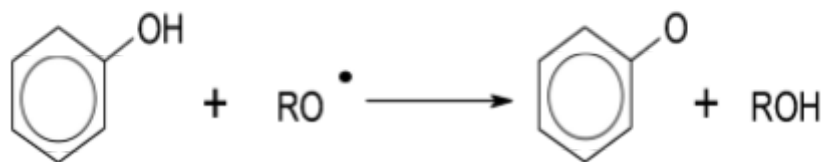
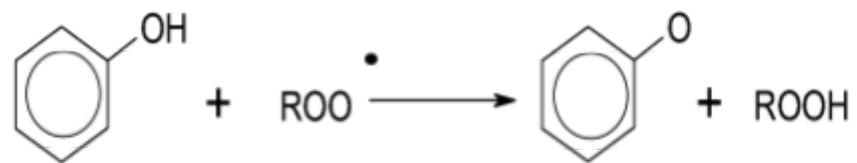
ANEXOS

INDICE DE FIGURAS

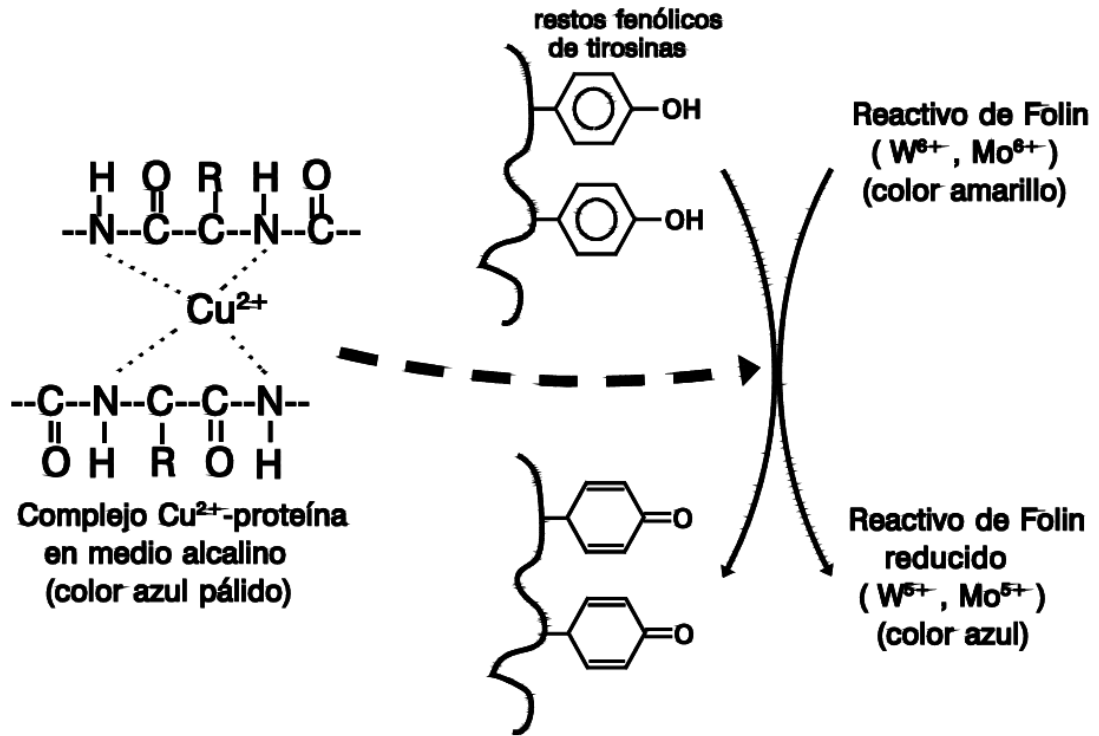
Figura -1 Reacción de compuestos fenólicos con radical peróxilo o alcoxilo.

Figura -2 Reacción de Folín Ciocalteau.

**REACCION DE COMPUESTOS FENÓLICOS CON RADICAL
PERÓXILO Y ALCOXILO**



REACCIÓN DE FOLÍN - CIOCALTEAU



ABREVIATURAS

- ERO** : Especies Reactivas de Oxígeno
- PGR** : Pirogalol rojo
- FL** : Fluoresceína
- ABAP** : Diclorhidrato de 2,2'-azobis – (2-amidinopropano)
- ROO•** : Radicales Peroxilo
- ORAC** : Oxygen Radical Absorbance Capacity
- UV** : Ultravioleta
- TE** : Equivalentes de Trolox
- UA** : Unidades de absorbancia
- ABC** : Área bajo la curva

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla -1 Valores de índice Folín de muestras de distintos tipos de vinos tintos.

Tabla -2 Índices Folín, ORAC-PGR, ORAC-FL, de distintos vinos.

Tabla-3 Índices ORAC- PGR, ORAC-F y ORAC-PGR/ORACFL.

Tabla-4 Capacidad antioxidante de vinos según marcas y años.

ÍNDICE DE GRAFICOS

Grafico -1 Decaimiento de PGR inducido por ABAP en presencia de distintas concentraciones de Trolox.

Grafico-2 Decaimiento de FL inducido por ABAP en presencia de distintas concentraciones de Trolox.

Grafico-3. Dependencia de ABC con la concentración de Trolox ORAC-PG, ORAC-FL.

Grafico- 4. Perfiles de decaimiento de la absorbancia promovido por ABAP en presencia de vinos tintos cabernet sauvignon Ventisquero clásico Casillero del diablo.

Grafico -5. Perfiles de decaimiento de la absorbancia promovido por ABAP en presencia de vinos tintos cabernet sauvignon Ventisquero clásico Casillero del diablo.

Grafico -6. Perfiles de decaimiento de la absorbancia promovido por ABAP en presencia de vinos tintos cabernet sauvignon Casillero del diablo.

Grafico 7 Perfiles de decaimiento de la absorbancia promovido por ABAP en presencia de vinos tintos cabernet sauvignon Santa Emiliana y Canepa.

Grafico- 8 Perfiles de decaimiento de la absorbancia promovido por ABAP en presencia de vinos tintos cabernet sauvignon Sunrise.

Grafico- 9 Perfiles de decaimiento de la absorbancia promovido por ABAP en presencia de vinos tintos cabernet sauvignon Cousiño Macul.

Grafico -10. Perfiles de decaimiento de la absorbancia promovido por ABAP en presencia de vinos tintos cabernet sauvignon Doña Dominga.

Grafico-11. Perfiles de decaimiento de la absorbancia promovido por ABAP en presencia de vinos tintos cabernet sauvignon Misiones de Rengo.

Grafico- 12. Perfiles de decaimiento de la absorbancia promovido por ABAP en presencia de vinos tintos cabernet sauvignon: Sunrise, Casillero del diablo, Canepa, Ventisquero clásico. Santa Emiliana. Cousiño Macul, Doña Dominga, Misiones de Rengo.

Grafico- 13. Perfiles de decaimiento de la fluorescencia promovido por ABAP en presencia de vinos tintos cabernet sauvignon Ventisquero Clasico y Canepa.

Grafico- 14. Perfiles de decaimiento de la fluorescencia promovido por ABAP en presencia de vinos tintos cabernet sauvignon Misiones de Rengo.

Grafico-15. Perfiles de decaimiento de la fluorescencia promovido por ABAP en presencia de vinos tintos cabernet sauvignon Casillero del diablo.

Grafico-16. Perfiles de decaimiento: decaimiento de la absorbancia de PGR promovido por ABAP en presencia de vino tinto Canepa.

Grafico- 17. Perfiles de decaimiento de la fluorescencia de FL en presencia de vino tinto Canepa.

Grafico -18 : Perfiles de decaimiento de la fluorescencia promovido por ABAP en presencia de vinos tintos cabernet sauvignon : Sunrise, Casillero del diablo, Canepa, Ventisquero clásico. Santa Emiliana. Cousiño Macul, Doña Dominga, Misiones de Rengo.

Grafico 19 Este muestra la correlación entre el índice Folín, los valores de ORAC-FL y ORAC-PGR de los vinos estudiados.

Grafico-20. Correlación entre los índices ORAC-PGR versus los índices ORAC-FL.

Metodología ORAC

Se estudió la protección de FI y PGR y se estimó la dependencia del ABC hasta el 80% del consumo) con la concentración de la molécula de referencia.

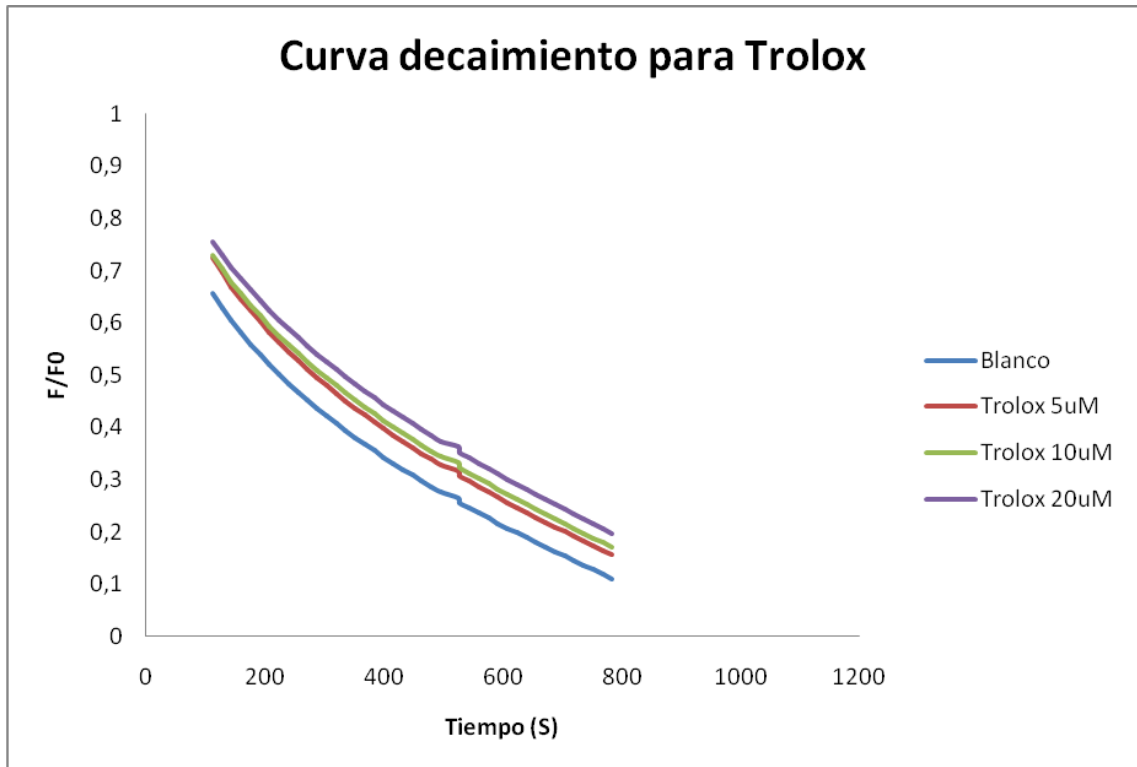


Grafico 1 .- Perfiles de decaimiento de PGR($\lambda = 540$) incubado a 37°C inducido por 10Mm de ABAP en distintas concentraciones de Trolox : 5uM , 10Um y 20uM .El control es el blanco en ausencia de Trolox.

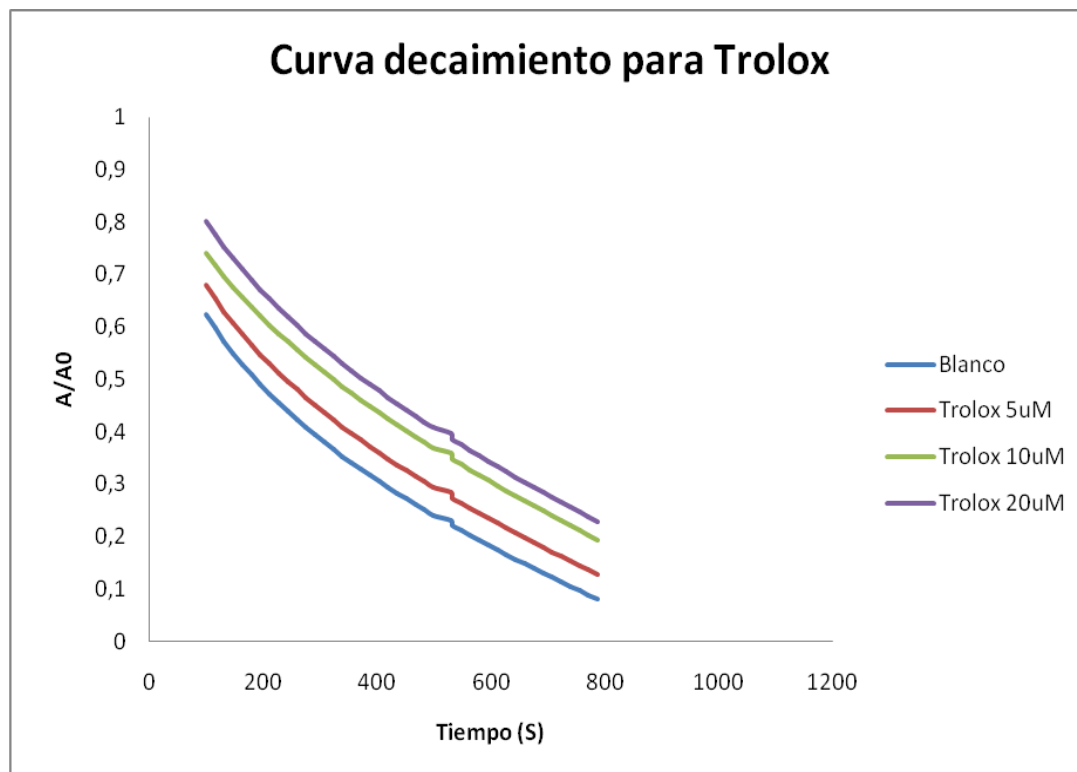
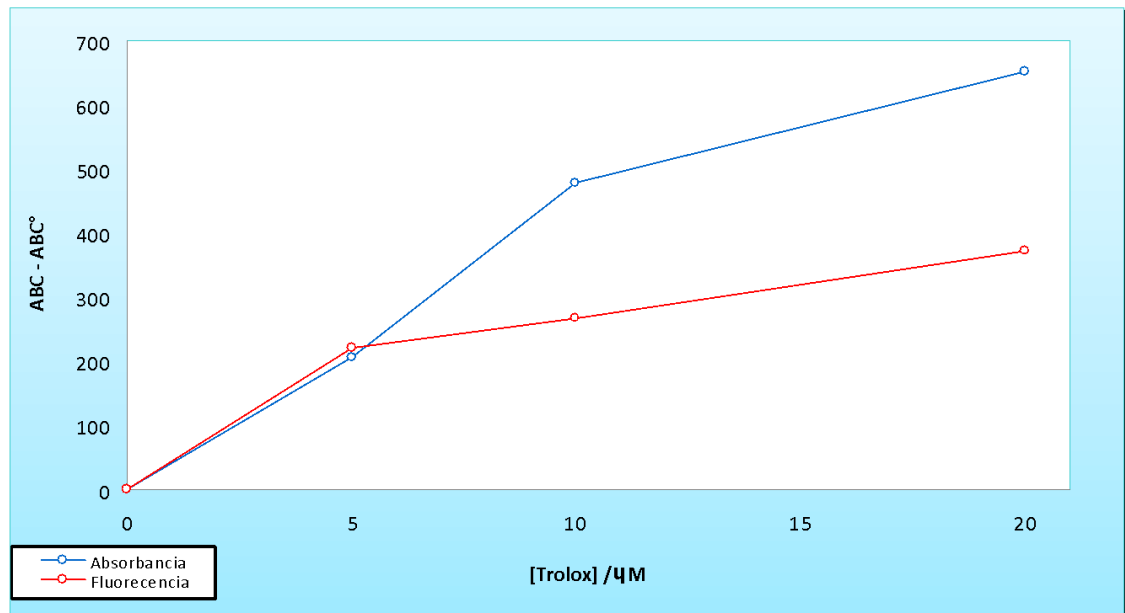


Grafico 2.- Decaimiento de la fluorescencia de ($\lambda_{\text{excitación}} 493$ y $\lambda_{\text{emisión}} 515$), inducido por 10mM de ABAP en presencia de distintas concentraciones de Trolox : 5uM, 10uM y 20 uM y el blanco que es el control en ausencia de Trolox.

Grafico 3.- Dependencia de ABC con la concentración de Trolox ORAC-FI.



ORAC - ABSORBANCIA:

$$ABC-ABC^{\circ} = 47,65 + 32,69 [Trolox] r = 0,9383$$

ORAC - FLUORESCENCIA:

$$ABC-ABC^{\circ} = 66,68 + 16,89 [Trolox] r = 0,8486$$

En el grafico 3 se presenta la dependencia del area bajo la curva con la concentración de Trolox .Como se observa en este gráfico ,el ABC aumentó linealmente con la concentración de Trolox. Sin embargo la eficiencia del trolox fue diferente para FI y PGR. En la concentración 5µM la protección es casi la misma y existe una mínima diferencia entre las pendientes. Sin embargo, al aumentar la concentración de Trolox 10µM y 20µM

se pudo apreciar un aumento en la pendiente por el método ORAC-PGR por sobre la pendiente del método ORAC-FI.

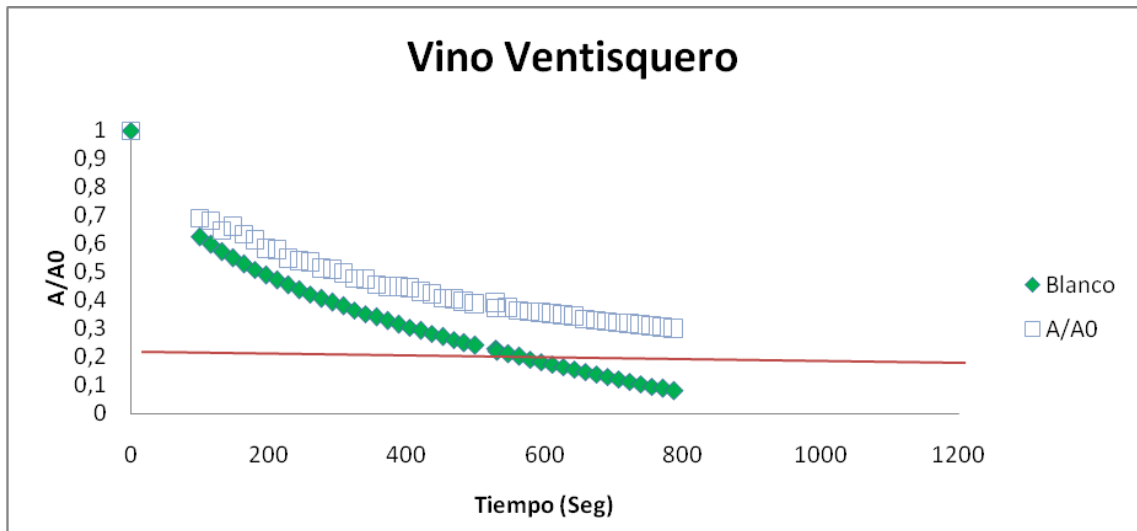


Gráfico 4: Perfil de decaimiento de la absorbancia promovido por ABAP (10mM) en presencia del vino tinto cabernet sauvignonn Ventisquero clásico.

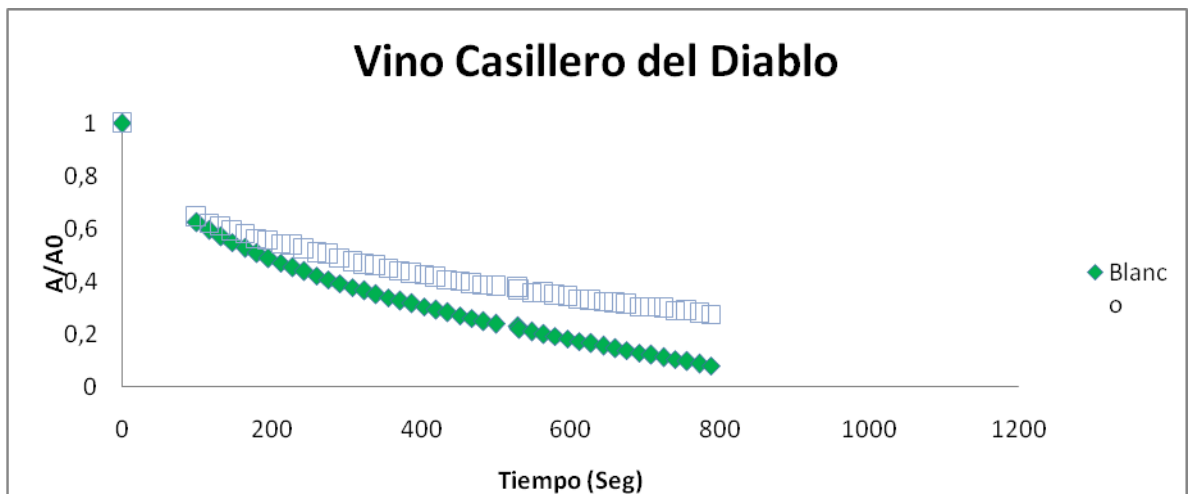


Gráfico 5: Perfil de decaimiento de la absorbancia promovido por ABAP (10mM) en presencia del vino tinto Cabernet sauvignonn Casillero del diablo.

El vino casillero del diablo presenta una mayor protección que el ventisquero clásico, esto tiene una directa relación con los índices Folín de estos vinos.

Grafico 6.- Perfil de decaimiento de la absorbancia promovido por ABAP (10mM) en presencia de vino tinto Cabernet sauvignonn Santa Emiliana.

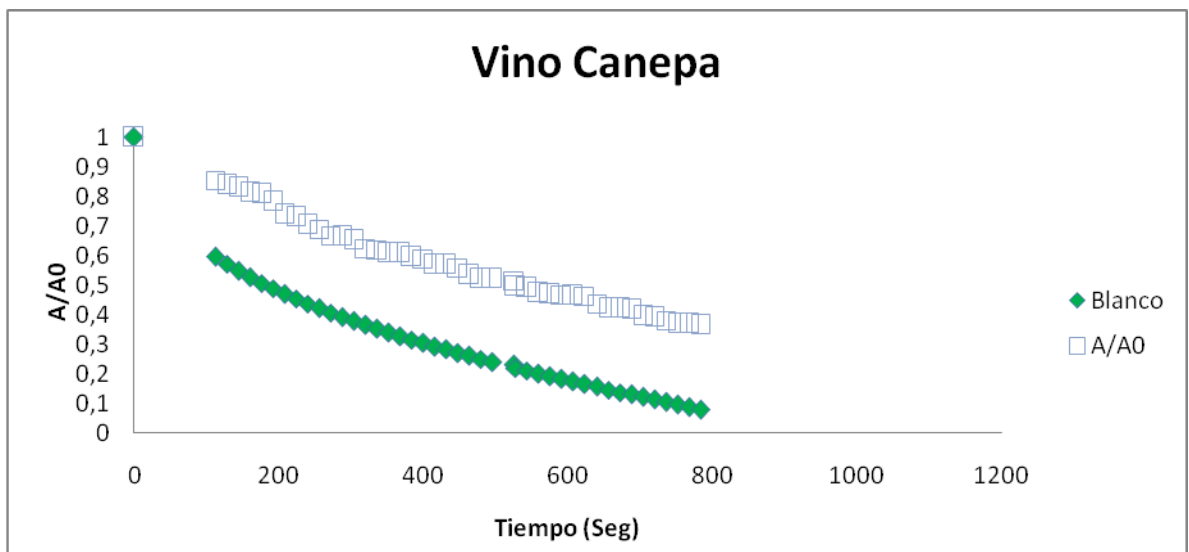


Grafico 7.- : Perfil de decaimiento de la absorbancia promovido por ABAP (10mM) en presencia del vino tinto Cabernet sauvignonn Canepa.El vino Canepa presenta una protección mayor al vino Santa Emiliana, ésto tiene una directa relación con los índices Folín de estos vino.

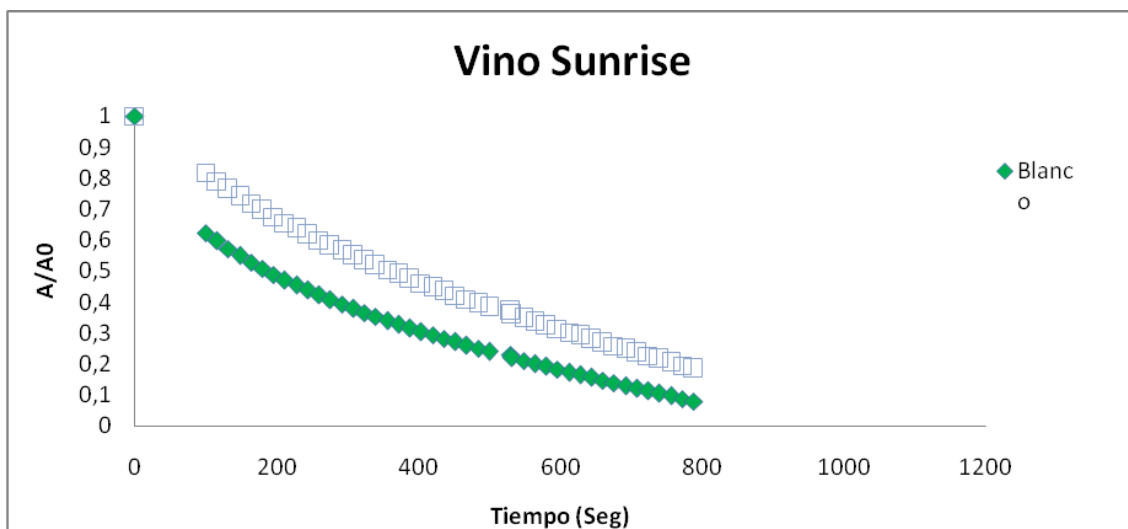


Grafico 8.- Perfil de decaimiento de la absorbancia promovido por ABAP (10mM) en presencia de vino tinto Cabernet sauvignonn Sunrise.

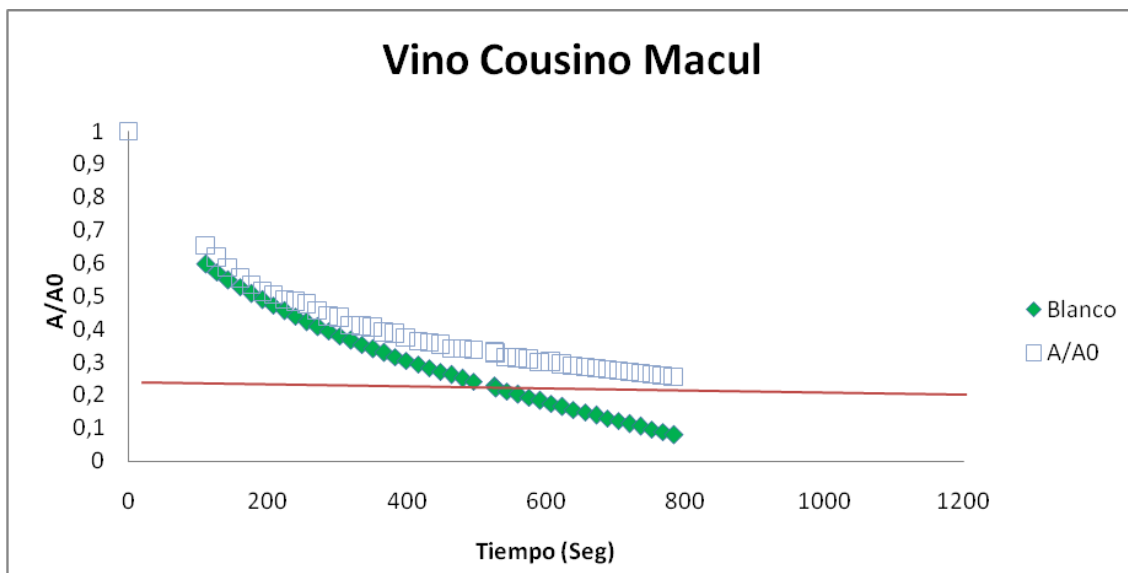


Gráfico 9.- : Perfil de decaimiento de la absorbancia promovido por ABAP (10mM) en presencia de vinos tintos cabernet sauvignonn Cousiño Macul.

El vino Cousiño Macul presenta una protección mayor al vino Sunrise.

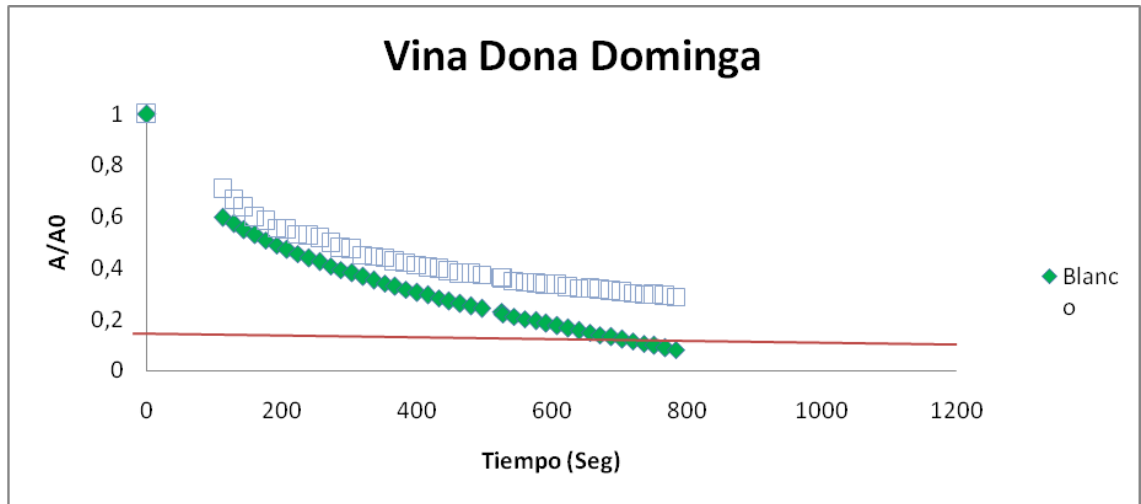


Gráfico 10.- Perfil de decaimiento de la absorbancia promovido por ABAP (10mM) en presencia del vinos tinto Cabernet sauvignonn Doña Dominga.

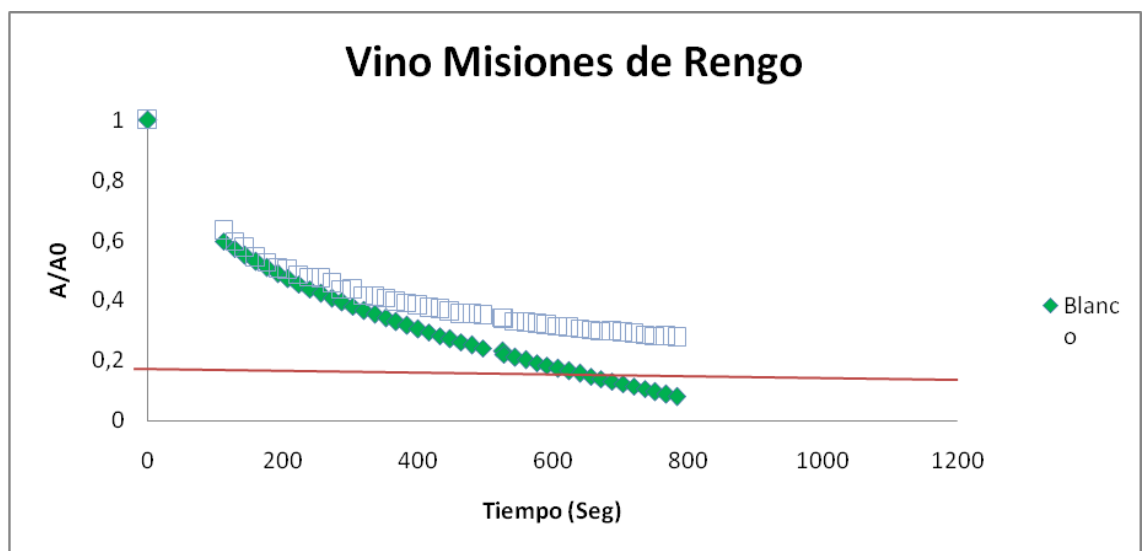


Grafico 11.-Perfil de decaimiento de la absorbancia promovido por ABAP (10mM) en presencia del vino tinto Cabernet sauvignonn Misiones de Rengo.

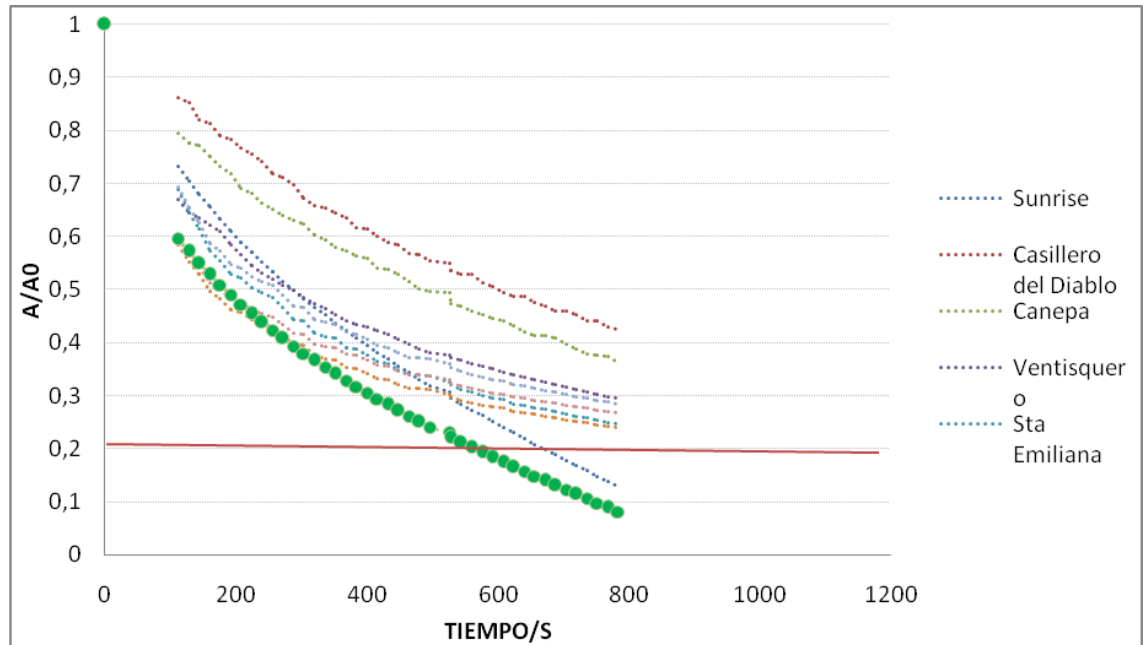


grafico 12: Perfiles de decaimiento de la absorbancia promovido por ABAP (10Um) en presencia de vinos tintos cabernet sauvignonn: Sunrise, Casillero del diablo, Canepa, Ventisquero clásico. Santa Emiliana. Cousiño Macul, Doña Dominga, Misiones de Rengo.

El grafico12 muestra que los vinos que presentan mayor protección son: Canepa, Casillero del diablo, Cousiño Macul, Ventisquero clásico .y Misiones de Rengo. Por lo tanto estos vinos evidencian mayor capacidad antioxidante que los vinos Sunrise, Santa Emiliana, y Doña Dominga.

MÉTODO ORAC-F

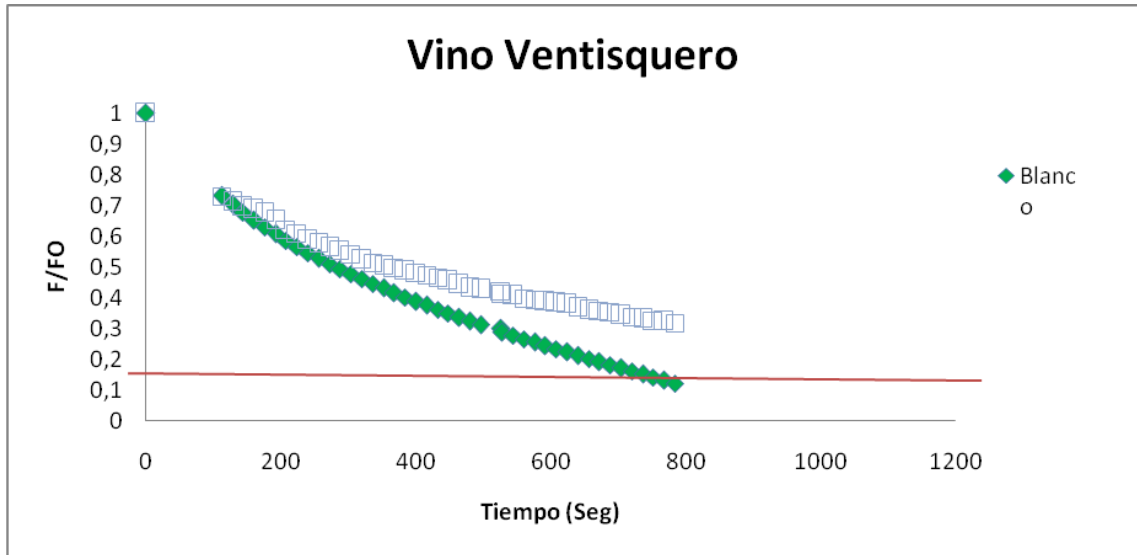


Gráfico 13.- Perfil de decaimiento de la fluorescencia promovido por ABAP (10mM) en presencia de vino tinto Cabernet sauvignonn Ventisquero.

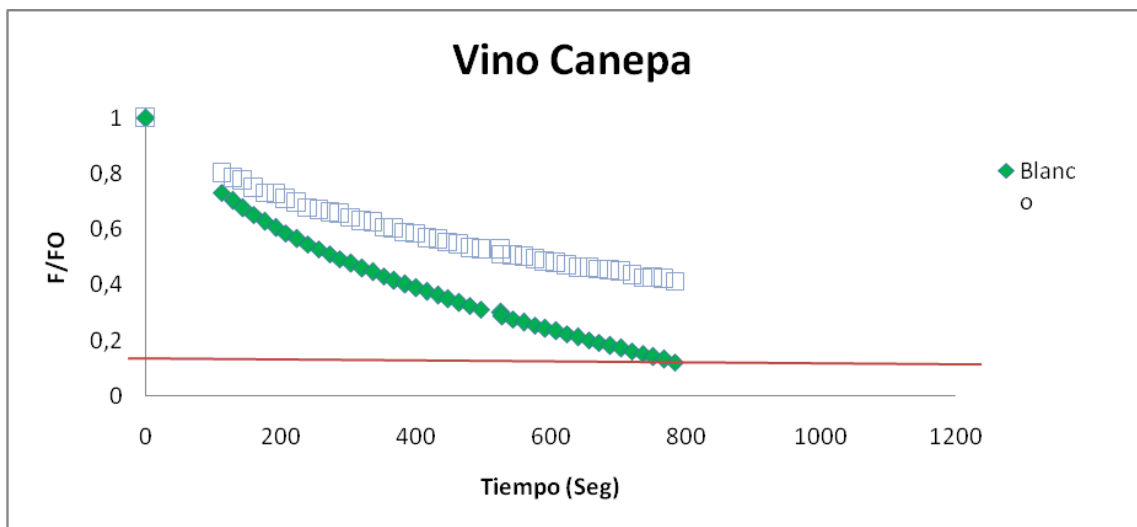


Grafico 14.- Perfil de decaimiento de la fluorescencia promovido por ABAP (10uM) en presencia de vino tinto Cabernet sauvignonn Canepa.

El vino Canepa presenta una protección mayor al vino Ventisquero Clasico, lo que indica que el vino Canepa tiene mayor capacidad antioxidante que el Ventisquero Clásico.

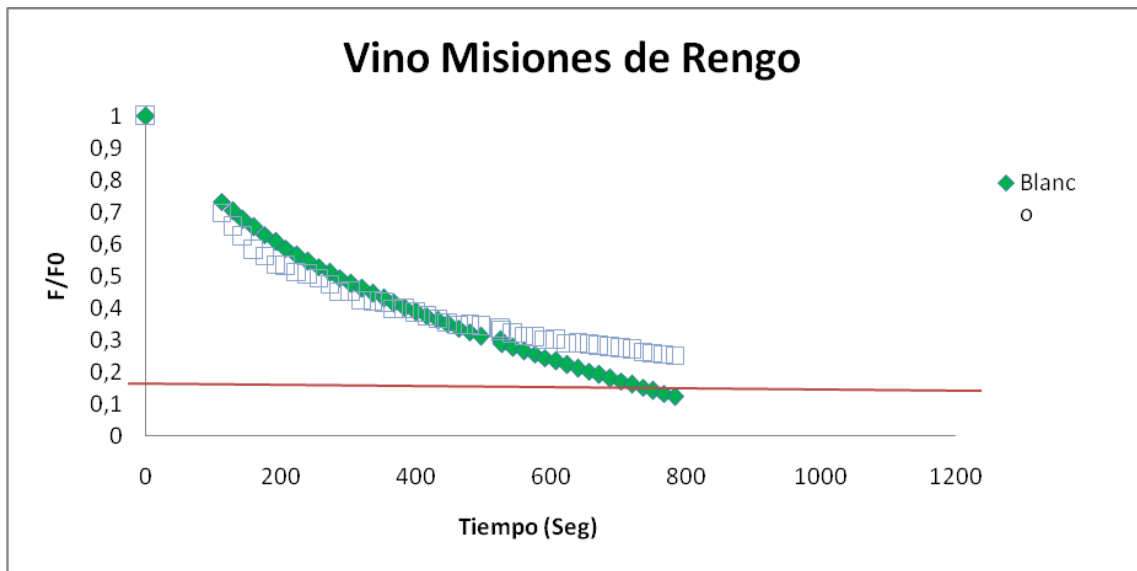
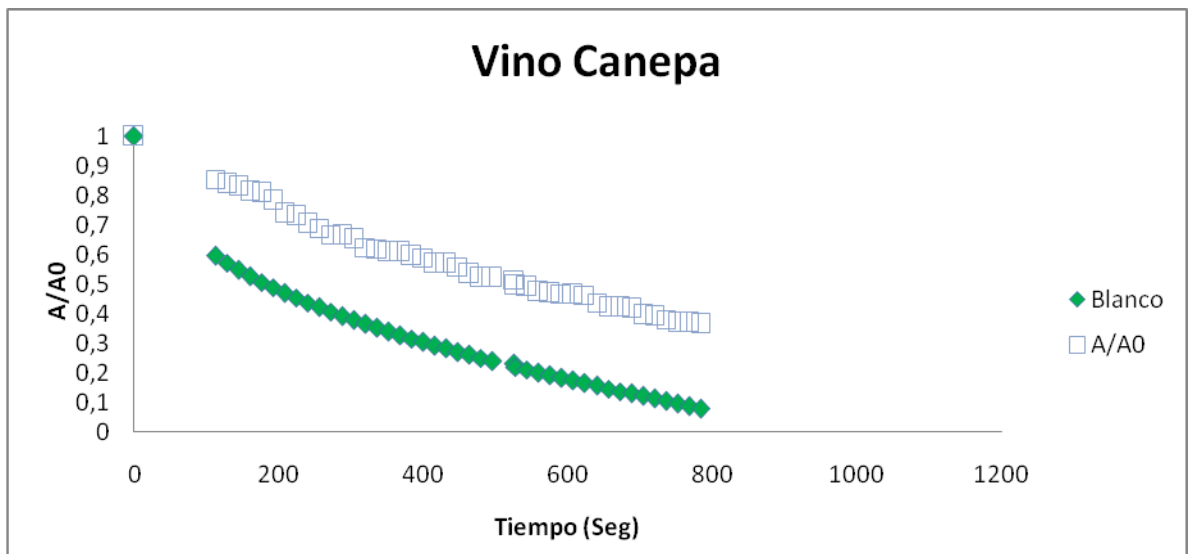


Grafico 15.- Perfiles de decaimiento de la fluorescencia promovido por ABAP (10mM) en presencia de vinos tintos cabernet sauvignonn Misiones de Rengo. El vino Misiones de Rengo presentó menor protección que canepa Casillero del diablo y Ventisquero clásico lo que indica su menor capacidad antioxidante.

ABSORBANCIA $(A/A_0)/t$



A

GRAFICO 16.- Perfil de decaimiento de la absorbancia de PGR promovido por ABAP en presencia de vino tinto Canepa 1ul/ml por triplicado.

FLUORESCENCIA ($F/F_0/t$)

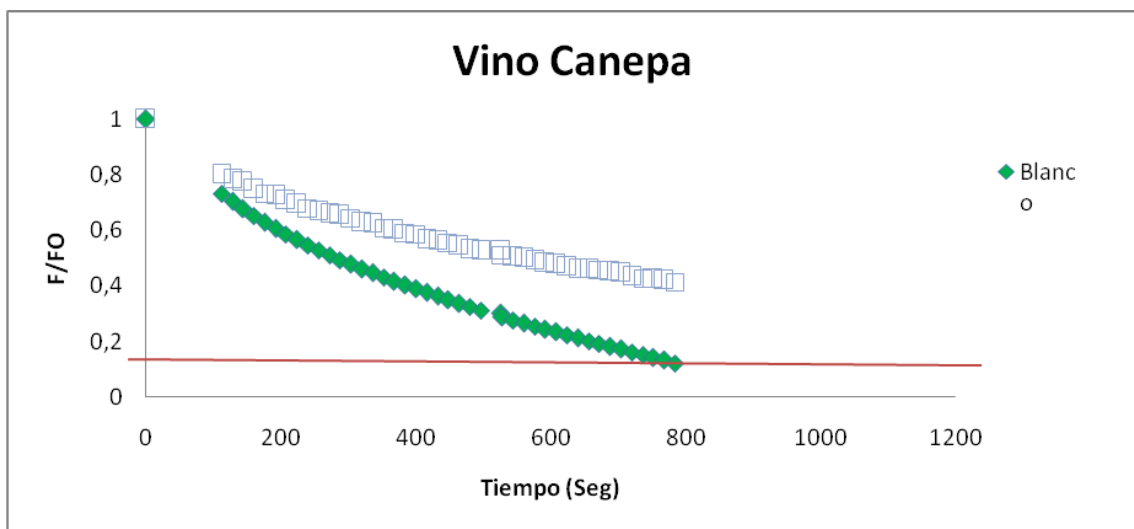


GRAFICO 17.- Perfil de decaimiento de la fluorescencia de Fluoresceína en presencia de vino tinto Canepa 1ul/ml por triplicado.

Como se observa en los graficos 16 y 17 al adicionar una alícuota de vino tinto a la disolución en presencia de molécula blanco y ABAP ,se apreciaron comportamientos similares .En el grafico 16 se observó que al adicionar una concentración de 1ul/ml de vino se genera una buena protección de PGR sin formación de tiempo de inducción.Sólo se observaron a cambios en las pendientes iniciales de decaimiento de PGR en presencia de diferentes vinos analizados.En el grafico 18 se presenta el efecto del vino tinto en el perfil de decaimiento de Fl ,realizado en triplicado al adicionar la misma concentración de

vino 1ul/ml y se observó el mismo comportamiento de una buena protección sin la formación de tiempos de inducción.

Los gráficos 16 y 17 indicarían que al adicionar la misma alícuota de vino en presencia de las moléculas blanco (PGR y FL) y ABAP se comportan en forma similar en cuanto a la protección y sin tiempos de inducción. Por lo tanto al mantener la misma concentración de vino el comportamiento fue similar en la eficiencia de los antioxidantes del mismo vino Canepa.

FLUORESCENCIA

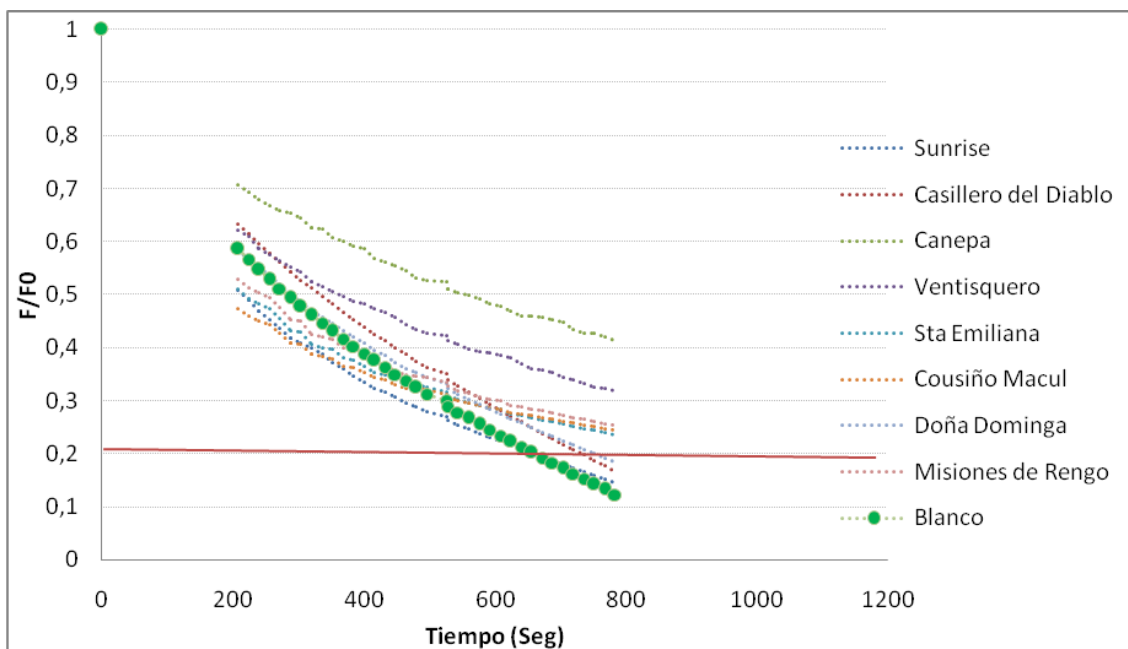


Gráfico 18: Perfiles de decaimiento de la fluorescencia promovido por ABAP (10Um) en presencia de vinos tintos cabernet sauvignonn : Sunrise,Casillero del diablo, Canepa, Ventisquero clásico. Santa Emiliana. Cousiño Macul, Doña Dominga, Misiones de Rengo

El gráfico 18 muestra que los vinos que presentan mayor protección son: Canepa, Casillero del diablo, Cousiño Macul, Ventisquero clásico .y Misiones de

Rengo. Por lo tanto estos vinos evidencian mayor capacidad antioxidante que los vinos Santa Emiliana, Sunrise y Doña Dominga

INDICES ORAC-PGR Y ORAC-FI

A partir de los datos presentados, de las áreas bajo la curva de los vinos, áreas bajo la curva del Trolox y de los blancos respectivos se estimó el índice ORAC-PGR y ORAC-FL de los ocho vinos Cabernet Sauvignon analizados, en triplicado. En la tabla N°2 se presentan los valores ORAC para los ocho vinos analizados, donde el índice ORAC-FL fue mayor que el índice ORAC-PGR. Esto podría ser relacionado con:

Si la protección ejercida por Trolox a FL o PGR está en diferentes escalas de eficiencia, daría valores no muy comparables entre sí. Así ambas técnicas dependen de la eficiencia del Trolox con FI y PGR.

VINOS TINTOS	ORAC-PGR	ORAC-FL	FOLIN (Trolox mM)
Sunrise	15,4 ± 6,15	26,03 ± 11,32	4,5 ± 0,63
Casillero del diablo	18,19 ± 6,63	40,1 ± 12,16	5,75 ± 0,66
Canepa	29,16 ± 7,22	48,57 ± 10,78	5,87 ± 0,63
Ventisquero	16 ± 3,89	29,66 ± 7,48	4,75 ± 0,45
Santa Emiliana	11,47 ± 4,24	24,68 ± 7,63	4,37 ± 0,45
Cousiño Macul	18,19 ± 5,02	30,15 ± 9,04	4,99 ± 0,59
Doña Dominga	14,45 ± 4,38	20,31 ± 5,81	4,12 ± 0,79

Misiones de Rengo	8,26 ± 6,15	12,09 ± 11,32	5,25 ± 0,63
Promedio	16,39 ± 5,75	28,59 ± 10,59	4,90 ± 0,56

Tabla N° : Índices Folín ,ORAC-PGR y ORAC-FL , de vinos tintos cabernet Sauvignnon (expresados en equivalentes de Trolox mM)

Al comparar la capacidad antioxidante analizada por ORAC-PGR y ORAC-FL para ocho vinos tintos cabernet sauvignnon se observó que el valor ORAC-PGR fue alrededor de la mitad del valor obtenido por ORAC-FL.

En los resultados mostrados en la tabla -2 se puede observar un comportamiento común, tanto para la evaluación de la capacidad antioxidante en ORAC-PGR y ORAC-FL como, el contenido de polifenoles totales (Índice Folín) en las muestras de vino.Si observamos los vinos con mayor capacidad antioxidante son Canepa ,Casillero del diablo,Ventisquero Clasico, Cousiño Macul y Misiones de Rengo lo que se relaciona en forma directa con los índice folín obtenidos , en donde los que tiene mayor contenido de polifenoles son los vinos Canepa ,Casillero del diablo ,Cousiño Macul,Ventisquero Clásicoy Misiones de Rengo.

VINOS TINTOS	ORAC-PGR	ORAC-F	ORAC-PGR/ ORAC-F
Sunrise	15,4 ± 6,15	26,03 ± 11,32	0,6
Casillero del diablo	18,19 ± 6,63	40,1 ± 12,16	0,5
Canepa	29,16 ± 7,22	48,57 ± 10,78	0,6
Ventisquero	16 ± 3,89	29,66 ± 7,48	0,5
Santa Emiliana	11,47 ± 4,24	24,68 ± 7,63	0,5
Cousiño Macul	18,19 ± 5,02	30,15 ± 9,04	0,6
Doña Dominga	14,45 ± 4,38	20,31± 5,81	0,7
Misiones de Rengo	8,26 ± 6,15	12,09 ± 11,32	0,7

Promedio

16,39 ± 5,75

28,59 ± 10,59

Tabla N°3 – Capacidad antioxidante por la técnica ORAC-PGR y ORAC-FL y la relación ORAC-PGR/ ORAC-FL de ocho vinos tintos chileno de las cepa Cabernet Sauvignon. Los valores son expresados como equivalentes mM de Trolox.

La tabla N°3 muestra las relaciones de ORAC-PGR/ ORAC-FL que fluctúan entre 0,5 y 0,7 donde evidencia que los valores de la capacidad antioxidante que son los índices ORAC-PGR corresponde en general a la mitad de los valores de la capacidad antioxidante de los índices ORAC-FL.

TABLA N°4. Capacidad antioxidante de vinos según marcas

MARCAS DE VINOS	ÍNDICE ORAC-P	ÍNDICE ORAC-F	ZONA
Cousiño Macul	18,19 ± 5,02	30,15 ± 9,04	Valle del Maipú
Misiones de Rengo	8,26 ± 6,15	12,09 ± 11,32	Valle Central
Santa Dominga	14,45 ± 4,38	20,31 ± 5,81	Valle de Colchagua
Sunrise	15,4 ± 6,15	26,03 ± 11,32	Valle Central
Santa Emiliana	11,47 ± 4,24	24,68 ± 7,63	Valle del Limarí
Ventisquero Clásico	16 ± 3,89	29,66 ± 7,48	Valle de Colchagua
Casillero del Diablo	18,19 ± 6,63	40,1 ± 12,16	Valle de Pirque
Canepa	29,16 ± 7,22	48,57 ± 10,78	Valle del Maule

La tabla N° 4 muestra que los índices ORAC-PGR de los vinos tintos Cabernet Sauvignon mas altos que son de los Vinos Canepa, Casillero del diablo, Cousiño Macul y Ventisquero Cásico que son viñedos de la zona central y coincide con los índices ORAC-F.

La marca Canepa es de los viñedos del Valle del Maule cerca del Maipo en la zona Central, la viña del Casillero del Diablo en las afueras de Santiago en el Valle de Pirque también de la zona central, en el Valle del Maipo los viñedos de la marca Cousiño Macul también zona central y en la VI región esta la viña del Valle de Colchagua LA marca Ventisquero Clásico.

Relación entre los índices Folín e Índice ORAC

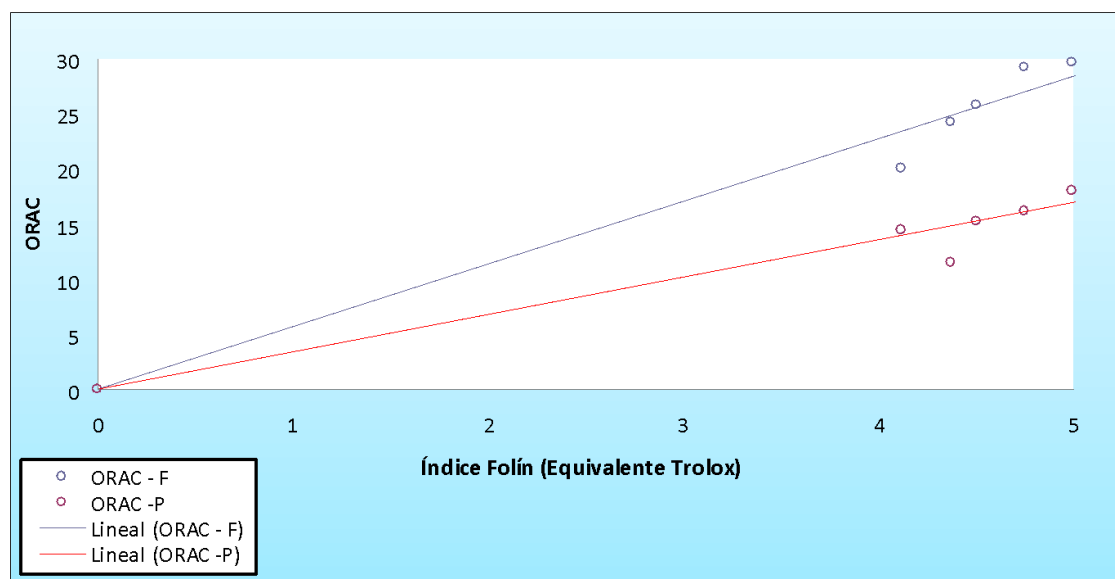


Gráfico 19.- Correlación entre el índice Folín, los valores de ORAC-FL y ORAC-PGR de los vinos estudiados. Los valores de ORAC y Folín fueron expresados en equivalentes de Trolox.

El análisis de los índices Folín de los valores de ORAC de los vinos, se observó una relación directa del Índice ORAC-FL y ORAC-PGR con el contenido total de fenoles expresados en equivalentes de Trolox (mM) Las regresiones siguientes evidencian este comportamiento y son:

ORAC - F:

Índice Folín= 0,63 + 5,68 ORAC - F =0,63

ORAC - P:

Índice Folín= 0,65 + 3,38 ORAC - P =0,65

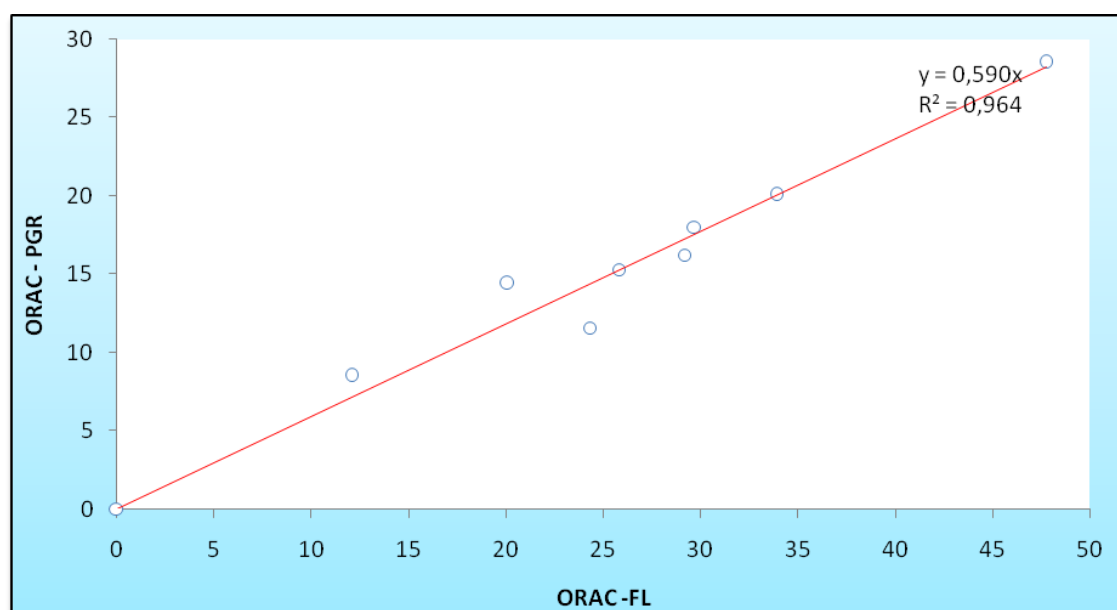


Grafico N°20- Correlación entre ORAC-PGR versus ORAC-FL

A partir de los datos del grafico 21 se puede plantear que existió una buena correlación entre ORAC-PGR y ORAC-FL. Lo que indica que las muestras de vino contienen un gran porcentaje de polifenoles que logran proteger a PGR como a FL.

ORAC - F= 0,65 + 3,38 ORAC - P =0,96

CONCLUSIONES

La aplicación del método Folín arrojó un alto contenido de polifenoles de los vinos tintos chilenos de cepa cabernet sauvignonn.

Las condiciones climatológicas de la zona central de nuestro país son altamente propicias para el cultivo de la vid ya que los vinos tienen alto contenido de polifenoles y por lo tanto una buena capacidad antioxidante, corroborado por los altos valores del índice ORAC.

El índice ORAC de las muestras de vino fue diferente, dependiendo de la molécula blanca utilizada. Esto demuestra que el método ORAC es muy dependiente de las condiciones empleadas.

Se puede concluir que la metodología ORAC-PGR y ORAC-FL son buenas alternativas para estudiar la capacidad antioxidante de compuestos de baja, mediana y alta reactividad.

En esta experiencia se observó que los vinos protegieron eficientemente a PGR sin generar tiempos de inducción como la Fluoresceína.

Los resultados comparativos de los métodos ORAC-PGR y ORAC-FL, son concordantes a otros estudios, resultando los últimos dos veces mayores a los primeros.

Los resultados muestran una mayor eficiencia en el decaimiento al 80% en la técnica ORAC –Pirogalol. Se comprueba además mayor eficiencia de los métodos usando valores de concentraciones menores de 10 μ M Trolox.

La buena correlación entre los valores de ORAC y los índices Folín indican que un alto contenido de polifenoles del vino tendrá una buena capacidad antioxidante.

Además se apreció una buena correlación entre ORAC-FL y ORAC-PGR lo que indica que ambos métodos evidencian la capacidad antioxidante.

Los resultados apoyan la recomendación de un consumo moderado de vino tinto como complemento a la dieta mediterránea.

Los vinos tintos chilenos de cepa cabernet sauvignon de la zona central presentaron mayor capacidad antioxidante por el clima favorable que permite la lenta y completa maduración de la uva.

BIBLIOGRAFÍA

- 1.- **Alarcón, A.M. Campos. AM. Edwards, E. Lissi, C. López Alarcón ,2008 , :** Antioxidant capacity of herbal infusions and tea extracts, Acniarison of ORAC-fluorescein and ORAC-pirolgalol red methodologies, Food Chemistry, V 107 P 1114-1119
- 2.-**Aguirre et all ,** El proyecto con líneas de acción, lo realizan las Universidades de Santiago -institución principal-, de Chile y la Viña Tarapacá ex Zavala (2)
- 3- **Boxin ou Hampsch-Woodill, Maureen ,and L.prior J.Agric Ronald , 2001,** Development and validation of an improved oxygen radical absorbance capacity assay using fluorescein as the fluorescent probe (method 1) , Food Chem,v49, p 4619 -4926
- 4- **Boxin ou Hampsch-Woodill, Maureen ,and L.prior J.Agric Ronald L. Prior,2001,** Journal Agriculture Food Chemistry, v49 p4619-4626
- 5.- **De la Torre, R.; Covas, M.I.; Pujadas, M.A.; Fito, M. i Farré, M.,2006** «Is dopamine behind the health benefits of red wine?, Eur J Nutr ,v45 (5) p 307-310ruso
- 6.-**Cao G Sofic E, Prior RL ,1999,**Free Radical Biology & Medicine , v 27 p 1173
- 7.-**Druso D.Perez, Federico Leighton, Alexis Aspee, Carolina Aliaga, and Eduardo Lissi,2000,** Biol.Res., v33 p71-77.
- 8-**Federico Leighton& Inés Urquiaga, Los componentes del vino y sus efectos beneficiosos para la salud humana,2000,** Revista INDEX FAC (Revista de la Federación Argentina de Cardiología, v 29,Nº 2 abril
- 9.- **Fernández M^a Soledad, Villaño Débora, Troncoso Ana M^a y García M^a Carmen, 2006,** Significado nutricional de los compuestos fenólicos de la dieta, Archivos Latinoamericanos de Nutrición, v56 (2) p 110 – 122
- 10.-**M.S Fernández – Pechón, D.Villano , A.M. Troncoso ,and M.C Garcia –Parrilla ,2005,** Journal, Journal Agriculture Food Chemistry , v53 p5024-5029
- 11.-**Dr Juan García Cazorla y al Dra María Xirau Vayreda y Robert Azorín Romero ,**Técnicas usuales de análisis en Enología , v1 p45-46

- 12.- **Gómez Gracia Enrique, 2008** , Beneficios de la Dieta Mediterránea, Revista Digital de la Universidad de Málaga , www.uma.es
- 13.-**Gutiérrez Maidata Alfredo** , Revista Cubana de Alimentación y Nutrición, Vino ,Polifenoles y protección a la salud v16 (2) ; P 4 – 134
- 14.-**Gomez-Cordoves et all ,2003**.Anthocyanin-derived pigments in G ,tempranillo,and cabernet sauvignonn wines produced in spain .AM.J.VITIC v54, p163-169
- 15.- **Lissi E. ,2007** , A novel and simple ORAC Methodology based on the interaccion of pyrogallol red with peroxy radical , Free Radical Research , v40 (9) , p 979 – 985
- 16.- **Leighton Federico 2003** , ¿Son los vinos chilenos mas saludables ¿ Comentarios sobre dieta y vino .Vino y salud Revista digital nutriguia .com
- 17.-**Leighton Federico , Urquiaga Inés et all , , Propiedades antioxidantes del vino y sus componentes** , 2001, Revista AQUI Castilla-La Mancha,v816 , p 28
- 18.-**López-Alarcón C., Lissi E ,2005**,Free Radical Research, v39 p 729
- 19.-**López Alarcón.,Lissi E., 2006**, Free Radical Research, v40 p 979.
- 20.- **López Alarcón., Lissi et all, 2009**, Int'lucence of thc target molecule un the ORAC-index. A comparison between aliiarin red and thioresccin hased metodologías, Jornal of Medical Food, v12, p6
- 21.-**Martínez - Valverde, Isabel, Periago, María Jesús y ROS, 2000**, Gaspar. Significado nutricional de los compuestos fenólicos de la dieta. ALAN, , vol.50, no.1, p.5-
- 22.- **Martínez Isabel . Periago María Jesús, Ros Gaspar, 2000**, Revisión de los métodos de evaluación de la actividad antioxidante in vitro del vino y valoración de sus efectos in vivo, **Archivos** Latinoamericanos de Nutrición , v50 (1), p 5 – 18
- 23.- **Maureen Hernández Ángel,. Lourdes García Bacallao, Dra. Delia Mercedes Rojo Domínguez y Téc. Dania Olivares Padilla, 2003**, Revista Cubana Invest Biomedic , v22 p1
- 24.-**Ortiz et all, 2009**,Tesis para optar al titulo de agrónomo Centro de desarrollo y difusión cultural vitivinícola universidad de las americas

- 25- **Peña Álvaro , 2006** , El color de los vinos , Vendimia,v1, p 24 -26
- 26.- **Rafael de la Torre y M^a Isabel Covas, 2007** , Polifenoles del aceite de oliva y homologías con el vinos en aspecto de salud, ACE Revista de Enología, v 82 ,p 4 – 8
- 27.-**Ronald L Prior and Guohua Cao,1999**, Free Radicals Biology & Medicine, v27, p1173-1181
- 28.-**Orthofer R and Lamuela-Raventos,1999**, Analysis of otal phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin Ciocalteu Reagent.Methods in Enzimology.Oxidants and Antioxidants, Part A ed Lester Packer ,San Diego ,USA ved p152-178
- 29- **Pérez Trueba, Gilberto, 2003**. Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas, Los flavonoides: antioxidantes o prooxidantes, vol 22 p1
- 30.-**Prior RL, Cao ,1999**,G.Free Radical Biology & Medicine v27 p1173
- 31.-**Sarría Chueca , 2004** , Boletín de la sociedad de pedriatría de Aragón , La Rioja y Soria , Flavonoides : compuestos bioactivos en los alimentos , v 34 p ; 88 – 92
- 32.-**UrquiagaI, Urzúa ,Leighton F ,2010**, Mediterranean diet and red wine protect against oxidative damage in young volunteers Atherosclerosis,EPub ;v211(2) p694-9.
- 33.- **Valls J , Lampreave M, Nada M. y Arola L, 2000** , Alimentación, equipos y tecnología, Enología, v19 (2) p 119-124
- 34.- **Vivar-Quintana A.; Santos-Buelga C.; Rivas-Gonzalo J.C. , 2002** ,«Anthocyanin-derived pigments and colour of red wines», An Chim v458, p 147-155.
- 35.- **Valenzuela B, Andrea Arteaga LL , Antonio y Rozowski N ,Jaime , 2007**,Rol de la dieta Mediterránea en la prevalencia del síndrome metabólico Revista Chilena de nutrición , v 34 (3) ,P 202 -212
- 36.- **Vinson J.A., and Hontz B.A., 1995**. Phenol Antioxidants Index: Comparative antioxidant effectiveness of red and white wines. J. Agric. Food Chem.,v 43, p401-403

