



UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS
ESCUELA DE POSTGRADO

**CARACTERIZACIÓN POLIFENÓLICA DE ORUJOS Y ESCOBAJOS
DE UVA CARMÉNÈRE PROVENIENTES DE DIFERENTES
LOCALIDADES VITIVINÍCOLAS DE CHILE.**

Tesis para optar al Título Profesional de Ingeniero Agrónomo y al Grado de
Magister en Enología y Vitivinicultura

CLAUDIA BELÉN CERDA MORAGA

Directores de Tesis
ELÍAS OBREQUE SLIER
REMIGIO LÓPEZ SOLÍS

Profesores consejeros
MARCELA MEDEL MARABOLÍ
CARLA JARA CAMPOS

SANTIAGO - CHILE
2014

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS ESCUELA DE POSTGRADO

**CARACTERIZACIÓN POLIFENÓLICA DE ORUJOS Y ESCOBAJOS DE UVA
CARMÉNÈRE PROVENIENTES DE DIFERENTES LOCALIDADES VITIVINÍCOLAS DE
CHILE.**

Tesis para optar al Título Profesional de Ingeniero Agrónomo y al Grado de
Magister en Enología y Vitivinicultura

CLAUDIA BELÉN CERDA MORAGA

	Calificaciones (Memoria de Título)	Calificaciones (Tesis de grado)
DIRECTORES DE TESIS		
Elías Obreque S. Ingeniero Agrónomo, Dr.	6.8	Aprobado
Remigio López S. Bioquímico, Dr.	6.8	Aprobado
PROFESORES CONSEJEROS		
Marcela Medel M. Ingeniero Agrónomo - Enólogo, Dr.	6.7	Aprobado
Carla Jara C. Ingeniero Agrónomo - Enólogo, Dr.	6.7	Aprobado

Santiago, Chile
2014

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, agradezco a mis padres Claudia y Eduardo, por su confianza, entrega y amor infinito. A mis hermanos Natalia y Javier, por hacer de mí una mejor persona día a día. Y a mis abuelos Wilma y Heriberto, quienes con su paciencia y consejos me han ayudado a lograr todo esto.

También agradecer a Cristhian y Divi quienes con su alegría, cariño y compañía fueron un apoyo fundamental durante este proceso.

A los profesores del departamento de Enología, muchas gracias por las ganas de enseñar y la buena disposición que siempre tuvieron conmigo. También agradecer al profesor Elías Obrequé por el tiempo, dedicación y paciencia entregados en este estudio.

Por último, agradecer a la Comisión Nacional de Investigación Científica y Tecnológica (CONICYT) quienes a través del proyecto FONDECYT N° 11121322 hicieron posible el financiamiento de esta investigación.

ÍNDICE

Índice de Contenido:

Capítulo I. Compuestos fenólicos, distribución y condiciones que limitan su desarrollo y concentraciones.	1
❖ Compuestos Fenólicos	
➤ No Flavonoides	2
➤ Flavonoides	2
❖ Origen y síntesis de compuesto fenólicos	4
❖ Factores que influyen la síntesis de los compuestos fenólicos	6
➤ Efecto de las condiciones edafo-climáticas de la zona de cultivo sobre la síntesis de los polifenoles	6
❖ Presencia de los compuestos fenólicos en la uva de <i>Vitis vinifera</i> L.	6
❖ Subproductos de la vinificación como fuente de polifenoles y compuestos antioxidantes: Orujos y escobajos	8
❖ Literatura citada	11
Capítulo II. Caracterización polifenólica de orujos y escobajos de uva carménère provenientes de diferentes localidades vitivinícolas de Chile.	17
❖ Resumen	18
❖ Palabras claves	18
❖ Abstract	19
❖ Keywords	19
❖ Introducción	20
❖ Hipótesis	22
❖ Objetivo	22
➤ Objetivos específicos	22
❖ Materiales y Métodos	23
➤ Lugar de estudio	23
➤ Materiales	23
▪ Escobajos y orujos	23
▪ Equipamiento	23
▪ Reactivos y Solventes	23
➤ Métodos	23
▪ Tratamiento y Diseño de experimento	23
▪ Procedimiento	24
▪ Variables a medir	25
• Fenoles totales	25
• Intensidad colorante	25

• Antocianos totales	25
• Fenoles de bajo peso molecular mediante análisis por HPLC-DAD	25
• Fraccionamiento de proantocianidinas	25
• Capacidad antioxidante	26
▪ Análisis estadístico	26
❖ Resultados	
➤ Variables edafo-climáticas de Localidades del estudio	27
➤ Contenido de polifenoles totales de los extractos de escobajo	29
➤ Valores de color y capacidad antioxidante de los extractos de escobajo	30
➤ Contenido de las fracciones de flavan-3-oles en escobajo de Carménère	31
➤ Cuantificación de Fenoles de bajo peso molecular de escobajo de Carménère por HPLC-DAD	32
➤ Contenido de polifenoles totales de los extractos de orujo	33
➤ Valores de color y capacidad antioxidante de los extractos de orujo	34
➤ Contenido de las fracciones de flavan-3-oles en escobajo de Carménère	35
➤ Cuantificación de Fenoles de bajo peso molecular de orujo de Carménère por HPLC-DAD	36
➤ Análisis de Componentes principales	37
❖ Discusión	39
❖ Conclusiones	44
❖ Literatura citada	45

Índice de Cuadros:

❖ Cuadro 1. Variables edafológicas de las localidades seleccionadas de los valles de Limarí, Maipo, Cachapoal y Maule.	27
❖ Cuadro 2. Variables climáticas de los Valles de Limarí, Maipo, Cachapoal y Maule, comprendido entre los meses de Enero a Mayo de la temporada 2013	28
❖ Cuadro 3. Cuantificación de Fenoles de bajo peso molecular de escobajo de Carménère por HPLC-DAD	32
❖ Cuadro 4. Cuantificación de Fenoles de bajo peso molecular de orujo de Carménère por HPLC-DAD	36

Índice de Figuras:

❖ Figura 1. Ácidos fenólicos en la uva	2
❖ Figura 2. Compuestos fenólicos flavonoles	4
❖ Figura 3. Antocianidinas	4
❖ Figura 4. Ruta de síntesis de compuestos fenólicos. Ruta del ácido siquímico.	5
❖ Figura 5. Línea de flujo para la elaboración de extractos	25
❖ Figura 6. Valores de fenoles, taninos y antocianos totales de escobajo de Carménère	27
❖ Figura 7. Valores de intensidad colorante, matiz y capacidad antioxidante de escobajo de Carménère	28
❖ Figura 8. Fracciones monomérica, oligomérica y polimérica de flavan-3-oles de escobajos de Carménère	29
❖ Figura 9. Valores de fenoles, taninos y antocianos totales de orujo de Carménère	33
❖ Valores de taninos totales, antocianos totales y capacidad antioxidante de orujo de Carménère	34
❖ Figura 11. Fracciones monomérica, oligomérica y polimérica de flavan-3-oles de orujo de Carménère	35
❖ Figura 12. Biplot de datos multivariantes, basado en las variables estudiadas en escobajo de Carménère	37
❖ Figura 13. Biplot de datos multivariantes, basado en las variables estudiadas en orujo de Carménère	38

CAPÍTULO I: MONOGRAFÍA

**COMPUESTOS FENÓLICOS: DISTRIBUCIÓN Y CONDICIONES QUE
AFECTAN SU DISPONIBILIDAD**

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Compuestos Fenólicos

Los compuestos fenólicos poseen un rol fundamental en la producción de vinos, siendo responsables del color, astringencia y amargor de vinos blancos y tintos (Obreque-Slier *et al.*, 2010a; Obreque-Slier *et al.*, 2012; Pérez-Margariño and González *et al.*, 2006). Estos compuestos proceden de diferentes partes del racimo de uva y son extraídos principalmente durante la vinificación del vino (Mendez, 2005). Las diversas estructuras de estos compuestos son derivados de la estructura básica del fenol (hidroxibenceno), lo que permite clasificarlos en dos grandes grupos: fenoles no flavonoides y fenoles flavonoides (Flamini *et al.*, 2013).

No Flavonoides

Los ácidos fenólicos corresponden a compuestos fenólicos no flavonoides los cuales se dividen en ácidos benzoicos y ácidos cinámicos (Flanzy, 2000; Flamini *et al.*, 2013) (Figura 1). Los ácidos benzoicos, suelen estar en forma de glucósidos, en ésteres o en forma libre; mientras que ácidos cinámicos suelen encontrarse esterificados, principalmente con tartárico (Méndez, 2005).

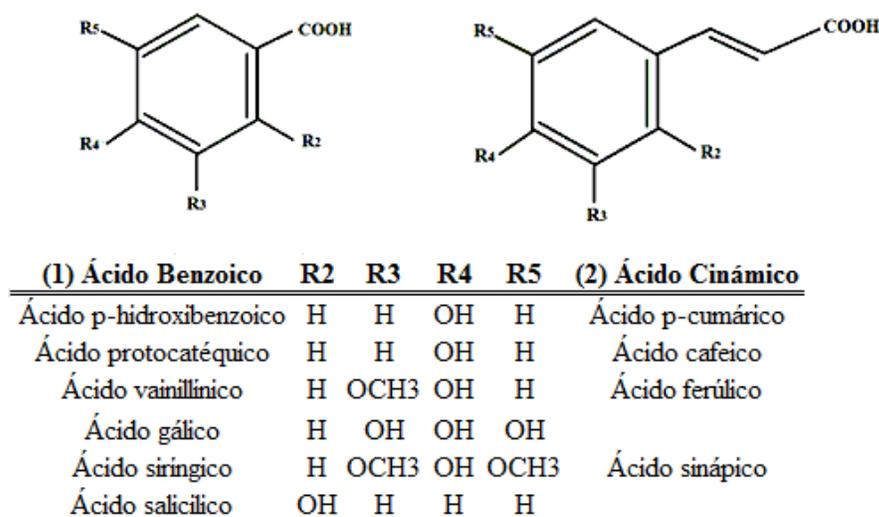


Figura 1. Ácidos fenólicos en la uva

Los ácidos fenólicos son compuestos incoloros o ligeramente amarillentos al oxidarse y no presentan aroma o sabor definido. Sin embargo, son precursores de los fenoles volátiles, algunos de los cuales también aparecen en la degradación de la lignina durante el proceso del tostado de las barricas (Flanzy, 2000; Zoecklein *et al.*, 2001).

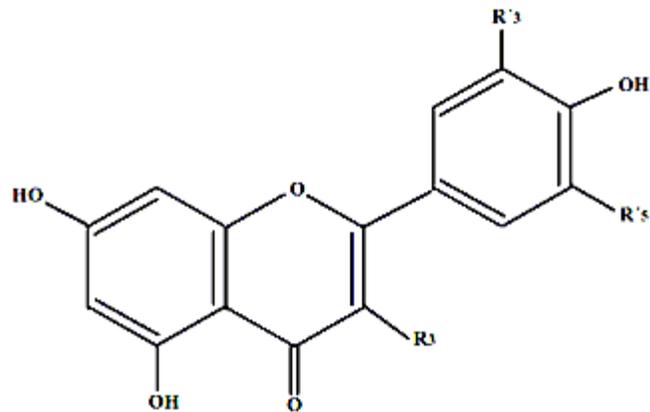
Del mismo modo, entre los compuestos no flavonoides se encuentran los estilbenos, los cuales poseen como estructuras químicas dos anillos bencénicos, unidos por un grupo etilénico. En este grupo se encuentra el resveratrol, cuya estructura química puede derivar en sus formas isoméricas cis-trans, las cuales poseen características beneficiosas para la salud humana (Martínez *et al.*, 2003; Pasten y Granett, 2006; Vélez-Marín *et al.*, 2012).

Flavonoides

Los flavonoides corresponden a un grupo de compuestos diversos, los cuales están presentes en un gran número de procesos, tales como, el crecimiento del tubo polínico, la relación planta-patógeno y la pigmentación de los tejidos en el fruto (Peña, 1999). Los compuestos flavonoides son pigmentos amarillos, con una estructura correspondientes a dos anillos bencénicos unidos por un heterociclo oxigenado (Andrade *et al.*, 2001). Los principales compuestos flavonoides son los flavonoles, flavanoles y antocianos (Flamini *et al.*, 2013).

Los flavonoles corresponden a pigmentos naturales que pueden formar complejos que ayuden a la copigmentación con antocianos (Cuidad y Valenzuela, 2002). La quercetina, kaemferol y miricetina corresponden a los principales flavonoles de la uva y vino (Figura 2).

Otros compuestos fenólicos flavanólicos de alta relevancia, corresponden a los flavanoles. Estos compuestos se localizan principalmente en las semillas y en menor medida en los hollejos, constituyendo la base de los taninos condensados. Estos taninos son grandes moléculas fenólicas obtenidas por polimerización de moléculas elementales. A diferencia de los taninos hidrolizables, estos taninos son propios de la uva, expresándose principalmente como polímeros de catequina o epicatequina (Mendez, 2005).



R3 = OH		
	R'3	R'5
Kaempferol	H	H
Quercetina	OH	H
Miricetina	OH	OH

Figura 2. Compuestos fenólicos flavonoles

Finalmente, los antocianos son fenoles flavanólicos, característicos de las uvas tintas y se localizan exclusivamente en la piel de las uvas. Excepcionalmente, se encuentran en la pulpa de alguna variedad muy coloreada, como por ejemplo en la Tintorera (Aleixandre y

Álvarez, 2003). La estructura química de estos compuestos consiste en dos anillos bencénicos unidos por un heterociclo insaturado catiónico y oxigenado (Souquet *et al.*, 2000) y se encuentran en forma más estable como glucósidos (antocianinas) que como agliconas (antocianidinas). Los antocianos se han asociado fuertemente al color, cuya expresión depende de las condiciones del medio en cuanto a pH y concentración de sulfuroso presente en el ambiente (Capdevila *et al.*, 2001).

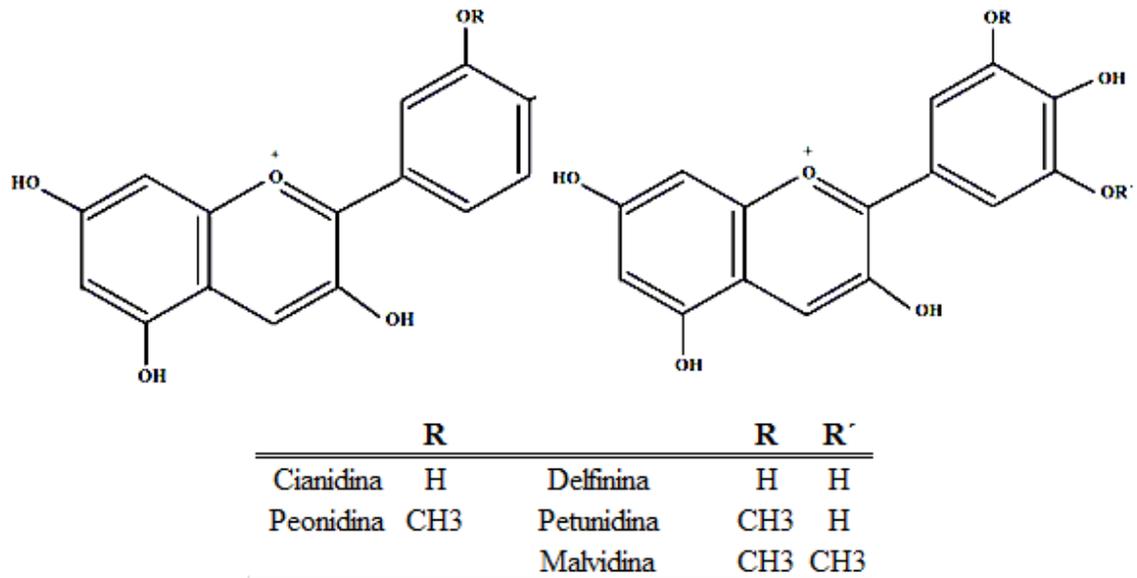


Figura 3. Antocianidinas.

En las uvas tintas, se encuentran generalmente 5 antocianinas: 3-D-glucósido de malvidina, de delfinidina, de peonidina, de cianidina y de petunidina. La 3-D-glucósido de malvidina es el pigmento más común de las variedades de *Vitis vinifera* L. (Zoecklein *et al.*, 2001). De las antocianinas totales del vino, solo una porción de ellas se encuentra en forma libre. Esta proporción es cercana al 60 % en el vino joven y puede llegar a un 10 % en un vino de dos o más años. Las antocianinas se pueden encontrar unidas a taninos condensados, aciladas con ácidos cinámicos o con el ácido acético, unidas al etanal o bien al anhídrido sulfuroso (Mirabel *et al.*, 1999).

Origen y Síntesis de compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos se originan a partir del metabolismo secundario de los vegetales, y pueden sintetizarse principalmente mediante dos vías: la vía del ácido siquímico y la vía del ácido malónico (Ávalos y Pérez-Urria, 2009). El ácido siquímico es formado a partir de la vía fosfato pentosa dando origen a la L-fenilalanina, que junto a la tirosina y al triptófano son los principales aminoácidos aromáticos, los cuales sólo se sintetizan en el reino vegetal (Zamora, 2003). A partir de eritrosa-4-P y del ácido fosfoenolpirúvico, se inicia una secuencia de reacciones que conduce a la síntesis de ácido siquímico y aminoácidos aromáticos (fenilalanina, triptófano y tirosina). Así, la fenilalanina corresponde a la base para la formación de los compuestos fenólicos. Esta ruta está presente en plantas, hongos y bacterias, pero no en animales (Ávalos y Pérez-Urria, 2009).

La enzima fenilalanina amonio liasa (PAL), cataliza la formación de ácido cinámico por vía de la eliminación de una molécula de amonio de la fenilalanina. Esta enzima está situada en un punto de ramificación entre el metabolismo primario y secundario por lo que la reacción que cataliza es una importante etapa reguladora en la formación de muchos compuestos fenólicos. Las reacciones posteriores a la catalizada por PAL son básicamente adiciones de más grupos hidroxilo y otros sustituyentes. Los ácidos trans-cinámico y *p*-cumárico se metabolizan para formar ácido ferúlico y ácido caféico cuya principal función es ser precursores de otros derivados más complejos: cumarinas, lignina, taninos, flavonoides e isoflavonoides (Ávalos y Pérez-Urria, 2009). Estos compuestos se originan por la unión del ácido cinámico con la malonil coenzima A, la cual es generada a partir de la Acetil-CoA, reacción catalizada por la enzima chalcona sintetasa (Ávalos y Pérez-Urria, 2009).

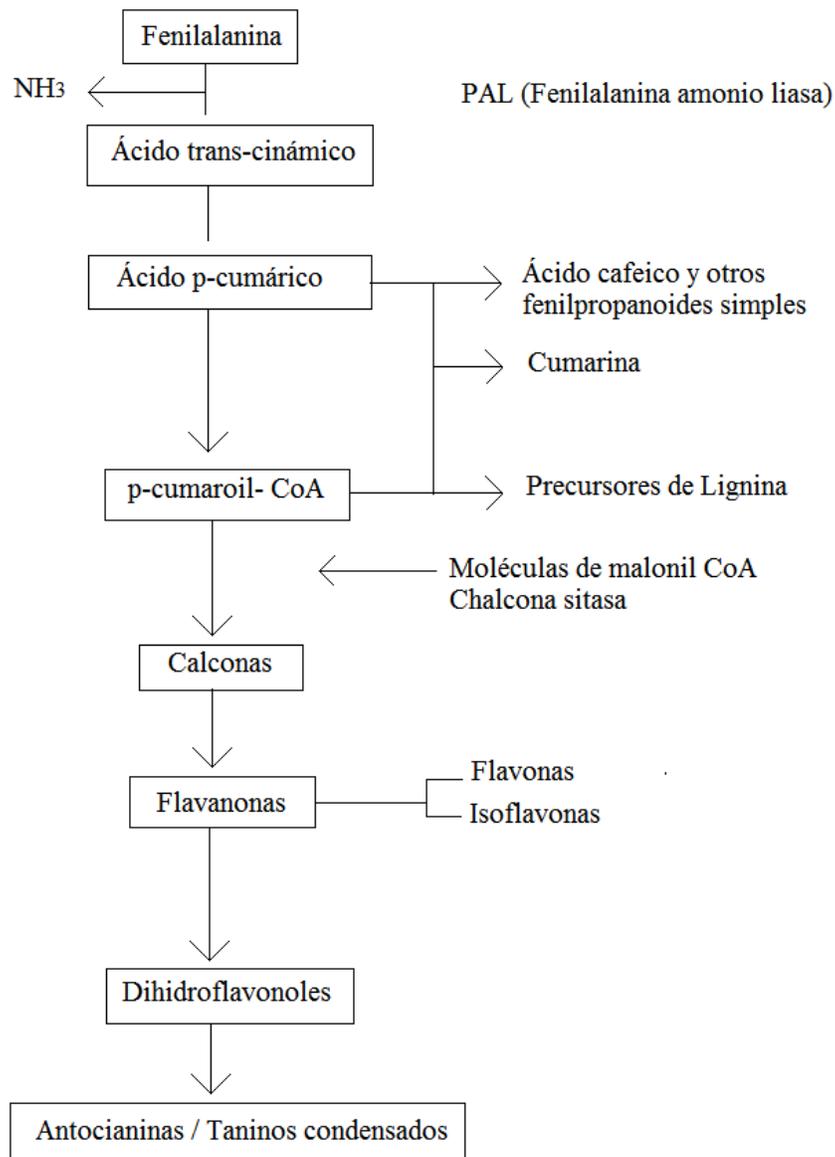


Figura 4. Ruta de síntesis de compuestos fenólicos. Ruta del ácido siquímico.

Factores que influyen la síntesis de los compuestos fenólicos

La síntesis y estabilidad de los compuestos fenólicos depende de diversos factores, tales como, la variedad, los manejos culturales y las condiciones edafo-climáticas (Pia, *et al.*, 2008; Ramos and Martínez, 2010; Constantini *et al.*, 2012). Diversos estudios han demostrado que la variedad de vid es uno de los factores que tiene mayor incidencia sobre la composición fenólica de la uva, ya que la capacidad de síntesis y de acumulación de los diversos compuestos estaría determinada genéticamente (González *et al.*, 2006). La variedad incide de manera fundamental en determinados aspectos, ya sea en las proporciones entre los distintos compuestos así como también en la presencia o ausencia de estos (González *et al.*, 2006). González *et al.* (2006), determinaron diferencias en el contenido de taninos y antocianos en vinos producidos al sur de Uruguay, encontrando que la variedad Tannat presentaba concentraciones mayores de taninos y antocianos totales que las variedades Cabernet Sauvignon y Merlot. Por otra parte, De la Cerda (2013), estableció que la concentración de polifenoles totales en orujos está en estrecha relación con la variedades de uva, determinando concentraciones en Sauvignon blanc de 19,29 mg EAG/g de orujo y en Cabernet sauvignon de 14,49 mg EAG/g de orujo. Asimismo, Rebolo (2007), determinó una mayor concentración de fenoles totales en las pieles de Carignan provenientes de la región de Santiago de Compostela en España, en comparación a los valores encontrados en Red Globe y Sugar one, provenientes de la misma zona. Las observaciones descritas previamente demostrarían el rol fundamental de la variedad en la disponibilidad de compuestos fenólicos.

Por otro lado, se ha observado que los manejos relacionados con las condiciones que se le entrega al ecosistema por parte del humano, afectan la síntesis de compuestos fenólicos. Estudios antropológicos demuestran que las diferencias culturales, étnicas y educacionales que presente una localidad y/o comunidad influyen directamente en la manera en que se trabaja y en los resultados obtenidos (Milton, 2009; Krotz, 2011). Desde la elección del lugar de cultivo hasta las diversas prácticas agronómicas que se realizarán durante el proceso fenológico de la vid (por ejemplo poda, chapoda, y el deshoje) afectarán la síntesis de compuestos fenólicos (Navarrete, 2003; Anónimo, 2005). Por ejemplo, Navarrete (2003), estableció que la chapoda realizada en el periodo de maduración de las bayas, produce una reducción de un 40% en la deshidratación. Asimismo, Zúñiga (2006) reportó un aumento en el color de bayas de Crimson seedless al realizar un anillado y aplicar ácido giberélico, lo que indicaría que el manejo en campo influye de manera relevante en el resultado final del cultivo. Además, también se ha observado que los factores edafo-climáticos afectan de manera apreciable la síntesis y contenido de polifenoles.

Efecto de las condiciones edafo-climáticas de la zona de cultivo sobre la síntesis de los polifenoles

El suelo y el clima corresponden a dos factores edafo-climáticos que afectan de manera relevante la síntesis y composición fenólica. En el caso de las condiciones climáticas del lugar de cultivo de la vid, se ha observado que los vinos elaborados con uvas que provienen de climas soleados, en donde el cultivo recibe entre 1500 y 1600 horas de luz durante el periodo de maduración, poseen un mayor nivel de compuestos flavonoides antociánicos.

(Andrades y González, 1995). Además, se ha demostrado que algunas variedades de uva que presentan una maduración tardía, como en el caso de Carménère (Pszczólkowski, 2004), al ser cosechadas en condiciones enológicas inapropiadas, generan vinos con mayor astringencia y amargor, lo cual está relacionado con la composición fenólica (Van Leeuwen, 2010). Esta observación es respaldada por Villaseca *et al.* (2009), los cuales realizaron un estudio acerca de la fecha de maduración de 11 variedades de vid, concluyendo que las variedades más tardías como Cabernet Sauvignon y Carménère, presentarían algunas notas verdes o inmaduras en el vino, lo cual estaría estrechamente relacionado con la composición fenólica.

Otra variable climática de alta relevancia es la temperatura. Se ha descrito que temperaturas bajas (5-8°C) o por el contrario muy elevadas (>30-32°C), desfavorecen la síntesis de compuestos antocianicos (Andrades y González, 1995), mientras que una oscilación térmica entre 15 y 18°C durante la maduración, favorecería la síntesis de estos pigmentos, pues produciría la activación de hormonas y enzimas claves dentro de la síntesis de antocianos, tales como el ácido absícico y la enzima PAL (Peña, 2005; López, 2008). Tal como se mencionó anteriormente, la síntesis de compuestos fenólicos está directamente relacionada con la enzima fenilalanina amonio liasa (PAL), la cual es dependiente de la luz y temperatura, por lo que un exceso o déficit de éstas condiciones, afectará la síntesis de estos compuestos (Del Valle *et al.*, 2005; Botta *et al.*, 2007; López, 2008).

Por otra parte, el suelo es un factor ambiental que influye fuertemente en la síntesis de polifenoles en la baya de vid. Fregoni (1999) menciona que en suelos material parental donde predominen los carbonatos generaría una alta disponibilidad de calcáreo activo lo que generaría una disminución de los antocianos. Asimismo, el pH ácido del suelo favorecería el color tinto de la baya, debido a que una leve acidez (pH 6-6.5) favorece la absorción principalmente de hierro, el cual puede formar complejos con las antocianinas (Ferreya *et al.*, 2001). Por otro lado, se ha reportado que las características edáficas de un suelo estarán en estrecha relación con la disponibilidad hídrica de un viñedo. Así, se ha observado que la clase textural del suelo, condicionará la retención y acumulación de agua, y por lo tanto la disponibilidad hídrica de la planta (Sellés *et al.* 2003; Ojeda *et al.*, 2002). De este modo, un suelo que permita naturalmente una restricción hídrica, evitaría la acumulación de agua dentro del perfil del suelo, generando un efecto sobre la composición fenólica (Jaramillo, 2002; Casanova *et al.*, 2004). Del mismo modo, un suelo que presente una textura más fina (Franco arcillosa –Franco limosa), tendrá una mayor retención de la humedad, debido a que presenta una menor proporción de espacios libres (poros), lo que dificultaría el paso del agua. Contrariamente, un suelo con una clase textural más gruesa (Franco arenosa - areno francosa), con un tamaño de las partículas que permita un espacio poroso mayor, el paso de agua será más rápido y su retención será menor (Jaramillo, 2002). Finalmente, un déficit de nitrógeno en un suelo no fertilizado limitará la producción de uva, debido a que este no se encontrará disponible en la solución suelo para que la planta pueda incorporarlo a ella y realizar sus funciones tanto vitales como secundarias, tales como la síntesis de polifenoles (Jaramillo, 2002; Casanova *et al.*, 2004; Van Leeuwen, 2010).

Presencia de los compuestos fenólicos en la uva de *Vitis vinifera* L.

Los compuestos fenólicos corresponden a metabolitos secundarios presentes en el Reino Vegetal (Elzaawely *et al.*, 2007; Muñoz y Ramos, 2007; Nicod *et al.*, 2014). Se ha descrito que la uva de vid vinífera es una fuente importante de polifenoles, los cuales se distribuyen principalmente en el hollejo, pulpa, semilla y raquis (Avello y Suwalsky, 2006; Zimmermann, 2006; Ruberto *et al.*, 2007). Algunos autores, reportan que los polifenoles estarían distribuidos de manera diferencial en éstos tejidos (Casares, 2010; Palazón *et al.*, 2013). Así, el hollejo, la pulpa, la semilla y el raquis presentarían concentraciones de polifenoles totales entre 30-40, 4-8, 60-70 y 2-8 %, respectivamente (Zhao *et al.*, 1999; Ribéreau *et al.*, 2006 Casares, 2010). Tal como se mencionó previamente, estas concentraciones dependerán directamente de la variedad, fecha de cosecha y zona de cultivo.

Las pieles corresponden a reservorios fundamentales de antocianinas en variedades tintas (Rodríguez-Montealegre *et al.*, 2006; Obreque-Slier *et al.*, 2010b). Además, presenta altas concentraciones de flavonoles (miricetina-3-*O*-glucósido, quercetina-3-*O*-galactósido, quercetina-3-*O*-glucósido, kaemferol-3-*O*-galactósido y kaemferol-3-*O*-glucosido) y valores menores en compuestos no flavonoides (ácido gálico, caftárico, vainillínico, siríngico y protocatequico), y fracciones proantocianidínicas (Rodríguez-Montealegre *et al.*, 2006; Obreque-Slier *et al.*, 2010b).

Por otra parte, las semillas presentan en su mayoría flavan-3-oles de forma monomérica (catequina epicatequina y epigallocatequina), ácidos fenólicos (ácido gálico) y dímeros de proantocianidinas (B1 y B2) (Rodríguez-Montealegre *et al.*, 2006; Obreque-Slier *et al.*, 2010b).

Chamorro *et al.* (2012), determinaron la concentración de polifenoles totales en semillas de la variedad tempranillo cercana a los 0,71 g EAG/100 g de materia seca. Asimismo, estos autores observaron en la pulpa una concentración de 0,11 g EAG/100 g de materia seca, lo que coincide con lo reportado por Ratnassoriya y Rupasinghe (2012) en pulpa del cultivar Lucie Kuhlman. Ambas observaciones, demostrarían que las semillas presentan una mayor concentración de estos compuestos en comparación con la pulpa. En el caso de los hollejos de *Vitis vinifera* L. Obreque-Slier *et al.* (2010b), realizaron un estudio comparativo en hollejos de uva Carménère y Cabernet Sauvignon durante la maduración, reportando que los valores de intensidad colorante, fenoles y antocianos totales en hollejos de uvas Carménère fueron mayores que los observados en Cabernet Sauvignon. Por otra parte, estos mismos autores demostraron que las semillas de uva de Carménère presentaron una mayor concentración de fenoles totales en el inicio del proceso de maduración. Asimismo, Fanzone *et al.* (2011), encontró valores de fenoles totales en semillas de Malbec que superaron en más de un 100% a los valores encontrados en pieles de la misma muestra. Por último, Cuevas (2004), determinó la concentración de fenoles totales en hollejos de cuatro variedades de vid cultivadas en el Valle del Maipo. El cv. Carménère presentó una concentración cercana a los 7,95 mg EAG/g de hollejo. Mientras, que Cabernet Sauvignon, Merlot y Cabernet franc obtuvieron 3,18; 3,38 y 3,80 mg EAG/g de hollejo, respectivamente. Las observaciones descritas previamente demuestran que las semillas y

hollejos poseen una concentración diferencial de polifenoles, lo cual estaría directamente relacionado con la variedad de *Vitis vinifera*L.

Subproductos de la vinificación como fuente de polifenoles y compuestos antioxidantes: Orujos y escobajos

Una vez cosechada la uva, ésta se destina al proceso de vinificación. En el caso del vino tinto, se utilizan hollejos y semillas. Durante la fermentación alcohólica (FA), los compuestos fenólicos provenientes de las bayas son transferidos al vino, mientras que los escobajos generalmente son eliminados antes del proceso de molienda (Ribéreau *et al.*, 2000).

Se ha comprobado que la extracción de polifenoles a partir de las uvas durante el proceso de FA es incompleto, alcanzando alrededor de un 30 a 40% de extracción (Van Balen, 1984; Mazza, 1995). Por lo tanto, parte de los compuestos fenólicos presentes en las vid no son transferidos al vino. Además, este proceso fermentativo genera grandes cantidades de residuos vegetales, los cuales corresponden a aproximadamente a un 30% del total de la vendimia (Makris *et al.*, 2007). Esto, indicaría, que tanto el orujo como los escobajos constituirían una fuente importante de polifenoles (Cruz *et al.*, 2004; Mikes *et al.*, 2008; Vatai *et al.*, 2009).

En el caso de los escobajos, se ha estimado que los vinos elaborados a partir de una cosecha no despallada, contienen altos niveles de compuestos fenólicos (Makris *et al.*, 2007; Souquet *et al.*, 2000). El escobajo presenta una cantidad significativa de polifenoles (Zimmermann, 2006), entre los que se destacan los compuestos como ésteres de ácidos fenólicos (principalmente ácido cafeoiltartárico), flavanoles (catequina, procianidina B1, B2, B3, B4 y C1), flavonoles como la quercetina y flavanonoles tal como la astilbina (Llobera and Cañellas, 2007). Del mismo modo, Mikes *et al.* (2008), determinaron que la concentración de los compuestos fenólicos presentes en el escobajo es significativamente mayor a la concentración de dichos compuestos en la baya. Por ejemplo, las concentraciones de catequina encontrada en los escobajos de la variedad tinta Blauer Burgunder llega a un valor de 2226,6 mg EC/kg de peso fresco, mientras que las bayas de la misma variedad alcanzaron un valor de 515,6 mg EC/kg de peso fresco. Asimismo, se observó que el contenido de resveratrol, en bayas resultó despreciable en todas las variedades estudiadas, alcanzando un promedio de 0,5 mg/kg de peso fresco, en comparación a la concentración encontrada en escobajos cuya concentración estuvo cerca de los 19,86 mg/kg de peso fresco. Cabe destacar, que la presencia de resveratrol en escobajos aporta de gran manera a la capacidad antioxidante que estos puedan presentar, según González *et al.* (2012), la capacidad antioxidante estaría estrechamente relacionada con la concentración de compuestos fenólicos, y con el poder antioxidativo de estos compuestos, lo que es avalado por Spatafora *et al.* (2013), quién determinó que el resveratrol junto con compuestos de bajo peso molecular como la catequina, quercetina y ácido gálico presentan un importante poder antioxidante.

Por otra parte en el orujo, los compuestos fenólicos presentes corresponden en su mayoría a ácidos fenólicos y antocianos (Spigno y De Faveri, 2007). Su composición corresponde a una mezcla de polisacáridos (30%), pectina ácidas (20%), lignina (15%), proteínas estructurales y fenoles (Pinelo *et al.*, 2006). Se ha observado que posterior a la vinificación

del vino tinto, cerca del 60-65% de los compuestos fenólicos permanecen en el orujo (Sun *et al.*, 2001). También, se ha demostrado que la composición de polifenoles totales de las pieles de orujo de Cabernet Sauvignon, Pinot Noir y Merlot poseen altos contenidos de polifenoles totales, flavonoles y proantocianidinas en comparación a otros residuos del procesamiento de frutos de la industria alimentaria, tales como pieles de frutas y verduras además de semillas y carozos (Deng *et al.*, 2011). Así mismo Da Porto *et al.* (2014) establece la importancia de la obtención de estos compuestos, ya que presentan una importante fuente de antioxidante para la salud humana, alcanzando valores que van desde los 393.5 a los 545.8 $\mu\text{M ET/g}$ de orujo.

LITERATURA CITADA

- Aleixandre, J. y Álvarez, I. 2003. *Tecnología Enológica*. Ed. Síntesis. Madrid. España. 446p.
- Andrade, P., G. Mendes, V. Falco, P. Valentao and R. Seabra. 2001. Preliminary study of flavonols in port wine grape varieties. *Food Chemistry*. 73: 397-399.
- Andrades, M. y M. González. 1995. Influencia climática en la maduración de la uva: Estudio de cultivares de la Rioja y de Madrid. *Zubía Monográfico*. 7: 79-102.
- Anónimo. 2005. Manejo agronómico de la vid para producir vinos de calidad excepcional en el concepto de terruño. Informe técnico. Pontificia Universidad Católica. 23p.
- Araya, H., C. Clavijo y C. Herrera. 2006. Capacidad antioxidante de frutas y verduras cultivadas en Chile. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*. 56(4).
- Ávalos, A. y E. Pérez-Urria. 2009. Metabolismo secundario de las plantas. *Revista Reduca. Serie Fisiología Vegetal*. 2(3): 119-145.
- Avello, M. y M. Suwalsky. 2006. Radicales libres, antioxidantes naturales y mecanismos de protección. *Atenea* 494: 161-172.
- Botta, A., L.Ruz, C. Marín, N. Sienas, M. Camión, E. 2007. Montesinos y R. Piñal. Estudio del mecanismo de acción de un nuevo producto para el control de enfermedades fúngicas. XI Congreso SECH. Actas de Horticultura n°48. Sociedad Española de Ciencias Hortícolas.
- Capdevila, F., M. Vilavella, J. García, S. Mínguez y E. Revilla. 2001. Caracterización de variedades tintas según el análisis de las antocianinas. Reunión del Grupo de Trabajo de Experimentación en Viticultura y Enología. La Alberca. Murcia, España.
- Casanova, M., W. Vera, W. Luzio y O. Salazar. 2004. *Edafología, guía de clases prácticas*. Universidad de Chile. Facultad de Ciencias Agronómicas. Departamento de Ingeniería y Suelos. Santiago. Chile. 74p.
- Casares, A. 2010. Análisis de polifenoles en los vinos mediante técnicas de separación. Proyecto final de carrera. Ingeniería Técnica Industrial, especialidad Química. Departamento de Química. Universidad Politécnica de Catalunya. Barcelona. España.
- Chamorro, S., A Viveros, I. Álvarez, E. Vega and A. Breves. 2012. Changes in polyphenols and polysaccharide content of grape seed extract and grape pomace after enzymatic treatment. *Food Chemistry*. 133: 308-314.
- Constantini, E., P. Bucelli and S. Priori. 2012. Quaternary landscape history determines the soil functional characters of terroir. *Quaternary International*. 265: 63-73
- Cruz, J., H. Domínguez and P. Juan. 2004. Assessment of the production and antioxidant from winemaking waste solids. *Journal Agricultural Food Chemistry*. 52: 5612-5620.

- Cuevas, R. 2004. Caracterización polifenólica de hollejos de las variedades cv. Cabernet Sauvignon, Merlot, Cabernet Franc y Carménère durante el periodo de maduración. Memoria Ingeniero Agrónomo. Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Agronómicas. Santiago, Chile.
- Da Porto, C., A. Natalino and D. Decorti. 2014. Extraction of proanthocanidins from grape marc by supercritical fluid extraction using CO₂ as solvent and etanol-water misture as co-solvent. *The Journal of Supercritical Fluids*. 87: 59-64.
- De la Cerda, A. 2013. Caracterización polifenólica y de la capacidad antioxidante de orujos de cuatro variedades de *Vitis vinifera* L. Memoria Ingeniero Agrónomo. Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Agronómicas. Santiago, Chile.
- Del Valle, G., A. González y R. Báez. 2005. Antocianinas en uva (*Vitis vinifera* L.) y su relación con el color. *Revista Fitotecnia Mexicana*. 28 (4): 359-568.
- Deng, Q., M. Penner and Y. Zhao. 2011. Chemical compounds of dietary fiber and polyphenol of five different varieties of wine grape pomace skins. *Food Research International*. 44(9): 2712-2720.
- Elzaawely, A., T. Xuan, H. Koyama and S. Tawata. 2007. Antioxidant activity and contents of essential oil and phenolic compounds in flowers and seeds of *Alpinia zerumbet* (Pers.) B.L. Burtt. and R.M. Sm. *Food Chemistry*. 104: 1648-1653.
- Fanzone, M., F. Zamora, V. Jofré, M. Assof and A. Peña. 2011. Phenolic composition of Malbec grape skins and seeds from Valle de Uco (Mendoza, Argentic) during ripening. Effect of cluster thinning. *Journal Agricultural Food and Chemistry*. 59: 6120-6136.
- Ferreira, R., J. Peralta, A. Sadzawka, C. Muñoz y J. Valenzuela. 2001. Efecto de la acidificación del sustrato y del agua de riego en la nutrición, desarrollo y producción de arándano ojo de conejo (*Vaccinium ashei* reade). *Agricultura Técnica*. 61 (4): 163-170.
- Flamini, R., F. Mattivi, M. De Rosso, P. Arapitsas and L. Bavaresco. 2013. Advanced knowledge of three important classes of grape phenolics: Anthocyanins, Stilbenes and Flavonols. *International Journal of Molecular Sciences*, 14: 19651-19669.
- Flanzy, C. 2000. *Enología: Fundamentos Científicos y Tecnológicos*. A. Madrid Vicente; Ediciones Mundi-Prensa. 783p.
- Fregoni, M. 1999. Maduración de la uva- Desarrollo y metabolismo de la baya, evolución de los componentes: polímeros y aromas. Seminario Internacional "Hacia la Enología del siglo XXI". Mendoza-Argentina. 31 –49.
- González, G., G. Gil, L. Barreiro, M. Ferrer y J. Franco. 2006. Composición fenólica de las uvas de las principales variedades tintas de *Vitis vinifera* cultivadas en Uruguay. *Agrociencia*. 10 (2): 1-14.
- González, M., M. Jaurdes, A. Femania, S. Simal, C. Rossellóand P. Teissedre. 2012. Proanthocyanidin composition and antioxidant potential of the stem winemaking

- byproducts from 10 different grape varieties (*Vitis vinifera* L.). Journal of Agricultural and Food Chemistry. 60: 11850-11858.
- Jaramillo, D. 2002. Introducción a la ciencia del suelo. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias. Medellín. Colombia. 619p.
- Krotz, E. 2011. Viaje, trabajo de campo y conocimiento antropológico. Alteridades. 1(1): 50-57.
- Llobera A. and J. Cañellas. 2007. Dietary fibre content and antioxidant activity of Manto Negro red grape (*Vitis vinifera*): pomace and stem. Food Chemistry. 101: 659-666.
- López, J. 2008. Efecto de distintos niveles de luminosidad sobre la composición fenólica y la expresión génica de enzimas de la ruta fenilpropanoide en bayas de variedad Carménère. Memoria Ingeniero Agrónomo. Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Agronómicas. Santiago, Chile.
- Makris D., G. Boskou and Andrikopoulos N. 2007. Polyphenolic content and in vitro antioxidant characteristics of wine industry and other agrifood solid waste extracts. Journal of Food Composition and Analysis. 20: 125-132.
- Martínez, S., J. González, J. Culebras y M. Tuñón. 2003. Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. Departamento de fisiología, Universidad de León y hospital de León. España.
- Mazza, G. 1995. Anthocyanins in grape and grape products. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 35: 341-371.
- Méndez, J. 2005. Estudio de la maduración fenólica y antocianica en uvas tintas de Bobal para diferentes condiciones agrológicas. Tesis Doctoral. Universidad Politécnica de Valencia. Dpto. de Tecnología de Alimentos. Valencia, España. 364 p.
- Mikes, O., N. Vrchotová, J. Tríska, M. Kyselánová and J. Smidrkal. 2008. Distribution of major polyphenolic compounds in vine grape of different cultivars growing in south Moravian vineyards. Czech Journal of Food Science. 26(3): 182-189.
- Milton, K. 2009. Ecologías: antropología, cultura y entorno. Universidad de Belfast. Belfast, Reino Unido.
- Mirabel, M., C. Saucier, C. Guerra and Y. Glories. 1999. Copigmentation in model wine solution: occurrence and relation to wine aging. American Journal of Enology and Viticulture. 50 (2): 211-218.
- Muñoz, A. y F. Ramos. 2007. Componentes fenólicos de la dieta y sus propiedades biomedicinales. Revista Horizonte Médico. 3(7): 23-31.
- Navarrete, O. 2003. Deshidratación prematura en bayas de *Vitis vinifera* L. cv. Merlot: efecto de la disminución del área foliar y aplicación de un antitranspirante. Tesis de título Ingeniero Agrónomo. Universidad de Talca. Facultad de Ciencias Agrarias. Talca, Chile. 44p.

Nicod, N., G. Chiva, E. Giordano, A. Dávalos, R. Parker and F. Visioli. 2014. Green tea, cocoa, and red wine polyphenols moderately modulate intestinal inflammation and do not increase high-density lipoprotein (HDL) production. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 62: 2228-2232.

Obreque-Slier E., C. Mateluna, A. Peña-Neira and R. López-Solís. 2010a. Quantitative determination of interactions between tannic acid and a model protein using diffusion and precipitation assays on cellulose membranes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 58: 8375-8379.

Obreque-Slier E., A. Peña-Neira, R. López-Solis, F. Zamora, F. Marín, R. Da Silva and O. Baureano. 2010b. Comparative study of the phenolic composition of seeds and skins from Carménère and Cabernet Sauvignon grape varieties (*Vitis vinifera* L.) during ripening. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 58: 3591-3599.

Obreque-Slier E., A. Peña-Neira and R. López-Solís. 2012. Interactions of enological tannins with the protein fraction of saliva and astringency perception are affected by pH. *Food Science and Technology*. 45: 88-93.

Ojeda, H., C. Andary, E. Kraeva, A. Carbonneau and A. Deloire. 2002. Influence of pre and postveraison water deficit on synthesis and concentration of skin phenolic compounds during berry growth of *Vitis vinifera* cv. Shiraz. *American Journal of Enology and Viticulture*. 53(4): 261-267.

Palazón, J., R. Cusidó y C. Morales. 2013. Metabolismo y significación biológica de los polifenoles del vino. Grupo de biotecnología vegetal. Facultad de Farmacia. Universidad de Barcelona. Disponible en: http://www.acenologia.com/ciencia55_2.htm Leído el 19 de diciembre de 2014.

Palomo, I., M. Gutiérrez, L. Astudillo, C. Rivera, C. Torres, L. Gúzman, R. Carrasco, G. Carrasco y M. Alarcón. 2009. Efecto antioxidante de frutas y hortalizas de la zona central de Chile. *Revista Chile de Nutrición*. 36(2).

Pasten, C. y H. Granett. 2006. Vino, fibrinólisis y salud. *Revista Médica de Chile*, 134: 1040-1048.

Peñaloza, J. y B. Rejano. 2014. Potenciación de la capacidad antioxidante mediante interacción sinérgica entre bioactivos de frutas nativas colombianas. *Alimentos Hoy*. 22(33).

Pérez-Margariño, S. and M. González-SanJosé. 2006. Polyphenols and colour variability of red wines made from grape harvested at different ripeness grade. *Food Chemistry*. 96(2): 197 –208.

Peña, A. 1999. Los componentes del color de los vinos tintos. pp 49-65 IN: Seminario Internacional de Microbiología y Polifenoles del vino. Universidad de Chile, Depto. de Agroindustria y Enología. Santiago, Chile. 125 p.

Peña, A. 2005. En uvas tintas factores que regulan el color. Informe técnico Vendimia Diciembre p. 10-12

- Pia, J., R. Cáceres, C. Cáceres, L. Jaime y C. Laime. 2008. El orujo de uva como un subproducto de la vinificación con valor económico significativo. *Revista Enología*. 6: 1-4.
- Pinelo M., A. Arnous and A. Meyer. 2006. Upgrading of grape skins: Significance of plant cell-wall structural components and extraction techniques for phenol release. *Trends in Food Science and Technology*. 17: 579–590.
- Pszczółkowski, P. 2004. La invención del cv. Carménère (*Vitis vinifera* L.) en Chile. Desde la mirada de uno de sus actores. *Revista Universum*. 2(19): 150–165.
- Ramos, M. and J. Martínez. 2010. Efecto of precipitation patterns and temperature trends on soil available for vineyards in a mediterranean climate area. *Agricultural Water Management*. 97: 1495-1502
- Ratnasooriya, C. and H. Rupasinghe. 2012. Extraction of phenolic compounds from grapes and their pomace using beta-cyclodextrin. *Food Chemistry*. 134:625-631.
- Rebolo, S. 2007. Estudio de la composición polifenólica de vinos tintos gallegos con D.O.: Ribeiro, Valdeorras y Ribeira sacra. Tesis doctoral. Universidad de Santiago de Compostela. Facultad de Ciencias. Departamento de Química analítica, nutrición y bromatología. Santiago de Compostela, España. 160p.
- Repo, R. y C. Encina. 2008. Determinación de la capacidad antioxidante y compuestos bioactivos de frutas nativas peruanas. *Revista de la Sociedad Química del Perú*. 7(2).
- Ribéreau P., Y. Glorie, A. Maujean and D. Dubourdieu. 2000. *Handbook of Enology*. Vol. 2. The chemistry of wine stabilisation and treatments. John Wiley & Sons, Ltd. England.
- Ribéreau, P., D. Dubourdieu, B. Donèche and A. Lonvaud. 2006. *Handbook of Enology*. Vol 1. The microbiology of wine and vinifications. 2nd edition. John Wiley & Sons, Ltd. England. 497 p.
- Rodríguez-Montealegre R., R. Romero-Peces, J. Chacón-Vozmedian, J. Martínez Gascuña, and E. García-Romero. 2006. Phenolic compounds in skins and seeds of ten grape *Vitis vinifera* L. varieties grown in a warm climate. *Journal of Food Composition and Analysis*. 19: 687-693.
- Ruberto, G., A. Renda, C. Daquino, V. Amico, C. Spatafora, C. Tringali and N. Tommasi. 2007. Polyphenol constituents and antioxidant activity of grape pomace extracts from five Sicilian red grape cultivars. *Food Chemistry*. 100: 203–210.
- Sellés, V., R. Ruiz, R. Ferreyra e I. Sellés. 2003. Efecto del estrés hídrico aplicado en distintos periodos de desarrollo de la vid cv. Chardonnay en la producción y calidad del vino. *Agricultura Técnica*. 63(3): 124-135.
- Souquet, J., B. Labarbe, C. Le Guernevé, V. Chaynier and M. Moutounet. 2000. Phenolic composition of grape stems. *Journal Agricultural Food Chemistry*. 48: 1076-1080.

- Spatafora, C., E. Barbagallo, V. Amico and C. Tringali. 2013. Grape stem from Silician *Vitis vinifera* cultivars as a source of polyphenol-enriched fraction with enhanced antioxidant activity. *Food Science and Technology*. 54: 542-548.
- Spigno, G. and D. De Faveri. 2007. Antioxidants from grape stalks and marc: Influence of extraction procedure on yield, purity and antioxidant power of the extracts. *Journal of Food Engineering*. 78: 793–801.
- Sun, B., J. Da Silva and M. Spranger. 2001. Quantification of catechins and proanthocyanidins in several portuguese grapevine varieties and red wine. *Ciencia e Técnica Vitivinícola*. 16(1): 23-34.
- Van Balen, J. 1984. Recovery of anthocyanins and other phenols from converting grapes into wine. M.S. Thesis. Davis: University of California phenolic composition of grape stems. *Journal Agricultural Food Chemistry*. 48:1076-1080.
- Van Leeuwen, C. 2010. Terroir: the effect of the physical environment on vine growth, grape ripening and wine sensory attributes / *Managing Wine Quality: Viticulture and Wine Quality*. A volume in Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition. p. 273–315
- Vatai, T., M. Skerget and Z. Knez. 2009. Extrction of phenolic compounds from elder berry and different grape marc varieties using organic solvent and/or supercritical carbon dioxide. *Journal of Food Engineering*. 90: 246-254.
- Vélez-Marín, M., F. Uribe-Velásquez y M. Lenz Souza. 2012. Papel del resveratrol de uva como antioxidante. *Luna Azul*. 34: 1909-2474.
- Zamora, F. 2003. *Elaboración y crianza del vino tinto: Aspectos científicos y prácticos*. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid, España. 224p.
- Zhao, J., J. Wang, Y. Chen and R. Agarwall. 1999. Anti-tumor-promoting activity of a polyphenolic fraction isolated from grape seeds in the mouse skin two-stage initiation-promotion protocol and identification of procyanidin B5-3'-gallate as the most effective antioxidant constituent. *Carcinogenesis*. 20(9): 1737-1745.
- Zimmermann, M. 2006. Extractos de residuos de la vitivinicultura: Concentración de polifenoles. *Revista FCA UNCuyo*. 38(1): 99–104.
- Zoecklein, B., K. Fugelsang, B. Gum y F. Nury. 2001. *Análisis y producción de vino*. Ed. Acribia. S.A. Zaragoza, España. 613p.
- Zuñiga, J. 2006. Efecto de anillado y aplicación de ácido giberélico sobre parámetros de calidad en vid (*Vitis vinifera* L.) cultivar Crimson seedless. Tesis para optar al título de Ingeniero Agrónomo. Universidad Mayor. Facultad de Ciencias Silvoagropecuarias. Santiago. Chile. 145p.

CAPÍTULO II: ARTÍCULO CIENTÍFICO

**CARACTERIZACIÓN POLIFENÓLICA DE ORUJOS Y ESCOBAJOS
DE UVA CARMÉNÈRE PROVENIENTES DE DIFERENTES
LOCALIDADES VITIVINÍCOLAS DE CHILE.**

RESÚMEN

Los polifenoles corresponden a metabolitos secundarios que poseen importantes propiedades organolépticas, farmacológicas y nutricionales. La uva de *Vitis vinifera* L. posee una alta concentración de compuestos fenólicos, los cuales son afectados por las condiciones edafoclimáticas de la zona de cultivo. Durante la vinificación de vinos se obtienen como subproductos, orujos y escobajos los cuales son una fuente importante de polifenoles. El objetivo de este estudio fue determinar la concentración de polifenoles y capacidad antioxidante de escobajos y orujos de uvas de Carménère proveniente de cuatro localidades de los Valles del Limarí, Maipo, Cachapoal y Maule. Se observó que los escobajos provenientes de las localidades del Valle de Limarí y el Maule, presentaron una mayor concentración de fenoles, antocianos y taninos totales que el resto de los tratamientos. Asimismo, se observó que los escobajos provenientes de la localidad del Valle de Limarí presentaron el menor valor de capacidad antioxidante (87,89 $\mu\text{M ET/g}$ de escobajo). En el caso de los escobajos provenientes del Valle del Cachapoal, mostraron contenidos significativamente mayores de proantocianidinas monoméricas y oligoméricas. Por otra parte, los orujos de la localidad del Valle de Cachapoal presentaron la mayor concentración de fenoles y antocianos totales comparado con el resto de los tratamientos. Asimismo, se observó que los orujos de la localidad del Valle del Limarí presentaron la mayor concentración de proantocianidinas oligoméricas, mientras que aquellos provenientes del Valle del Maule, mostraron la mayor concentración de proantocianidinas poliméricas. Los resultados sugieren que las condiciones edafoclimáticas de la zona de cultivo de Carménère, influye sobre la concentración de compuestos fenólicos de orujos y escobajos de *Vitis vinifera* L.

Palabras claves: Polifenoles, Capacidad antioxidante, Carménère, Subproductos.

ABSTRACT

Polyphenols are secondary metabolites displaying organoleptic, nutritional and pharmacological properties. Grapes of *Vitis vinifera* L. have a high content of phenolic compounds, which is affected by soil and climate in the growing area. Pomaces and stems are winemaking by-products and represent a potential source of polyphenols. The aim of this study was to determine both polyphenol contents and antioxidant capacity of Carmenere stems and pomaces from four locations in the valleys of Limarí, Maipo, Cachapoal and Maule, Chile. Stems from the Limarí and Maule valleys showed higher contents of phenols, anthocyanins and total tannins than the other two locations. Stems from the Limarí valley showed the lowest antioxidant capacity (87.89 μM ET/g stem). Stems from the Cachapoal valley showed higher contents of monomeric and polymeric proanthocyanidins. Pomaces from the Cachapoal valley had the highest contents of both total phenols and anthocyanidins compared to the other three locations. Pomaces from the Limari valley had the highest concentration of oligomeric proanthocyanidins while those from the Maule valley showed the highest concentration of polymeric proanthocyanidins. Altogether, this study suggested that soil and climate of the areas where Carmenere was grown influences the content of phenolic compounds in pomaces and stems of *Vitis vinifera* L.

Keywords: Polyphenols, Antioxidant Capacity, Carménère, Byproducts.

INTRODUCCIÓN

Los polifenoles son compuestos de gran importancia en la industria enológica, debido a que participan en las propiedades del color, amargor y astringencia de los vinos (Pérez-Margariño and González-San José, 2006; Obreque-Slier *et al.*, 2010a; Obreque-Slier *et al.*, 2012). Además, se ha observado que aportan características antioxidativas, antiinflamatorias, antivirales y cumplen un papel regulador en enfermedades cardiovasculares y gástricas (Díaz-Gomez *et al.*, 2013; Muñoz y Ramos, 2007; Pasten y Granett, 2006).

Por otro lado, se han descrito diversas fuentes de polifenoles, tales como, frutas, verduras, semillas y flores (Elzaawely *et al.*, 2007; Muñoz y Ramos, 2007; Nicod *et al.*, 2014), las cuales poseen distintas concentraciones y composiciones. La uva de *Vitis vinifera* L. posee un alto contenido de polifenoles (Avello y Suwalsky, 2006), el cual está fuertemente condicionado por factores como, manejos enológicos y agrícolas (Monagas *et al.*, 2005), aspectos edafológicos (Keller, 2003), aspectos varietales (Rodríguez-Montealegre *et al.*, 2006; Obreque-Slier *et al.*, 2010b) y variables climáticas (Nicholasa *et al.*, 2011). Uno de los factores que influye fuertemente en la disponibilidad de compuestos fenólicos corresponde al lugar de origen de la uva. Así, Elorduy (2012), estableció que la composición fenólica de vinos españoles provenientes de distintos valles es fuertemente dependiente de la zona geográfica. De la misma manera, Ketter (2008) estableció diferencias entre los vinos provenientes de distintos valles chilenos, encontrando una mayor concentración de polifenoles totales en vinos Cabernet Sauvignon provenientes del Valle de Curicó. Del mismo modo, Salgado (2003), determinó que la suma de los compuestos fenólicos de bajo peso molecular en vinos chilenos de la variedad Carménère alcanzó los 59,52 mg/L en Maipo alto en comparación a los 28,46 mg/L encontrados en Curicó alto, mientras que los compuestos antocianicos, presentaron una alta variabilidad entre los vinos provenientes de distintos valles.

Es importante mencionar que Carménère es una variedad cultivada a lo largo de todo Chile la cual presenta una variada adaptabilidad a las condiciones agroclimatológicas del país. La variedad Carménère es originaria de la zona del Medoc, la cual está ubicada en la región de Burdeos (Pszczólkowski, 2004). Posterior a la crisis ocurrida en Europa a causa de la filoxera, se produjo una paulatina desaparición de este cultivar. Sin embargo, a mediados de la década de los 90, esta variedad fue redescubierta en Chile (Pszczólkowski, 2004). Desde ese entonces, son diversos los esfuerzos que se han hecho para posicionar a Carménère como la variedad emblemática de Chile (Fola, 2005; Pszczólkowski, 2004). La variedad Carménère abarca un total de 10.420 ha plantadas, lo que corresponde al 8,1 % del total de hectáreas plantadas de uvas para vinificación en nuestro país (SAG, 2012). Dentro de las regiones con mayor superficie de plantación se encuentran la IV, VI, VII y Región Metropolitana [150, 5486, 3497 y 1000 hectáreas, respectivamente (SAG, 2012)], representadas principalmente por los Valles de Limarí (IV), Maipo (RM), Cachapoal (VI) y Maule (VII). Esta variedad es reconocida por su intenso color y altos contenidos polifenólicos en sus vinos (Fernández *et al.*, 2007; Salgado, 2003; Sánchez, 2005).

Es importante mencionar que estos compuestos no solo forman parte del fruto, sino que también están presentes en los subproductos de la vinificación, tales como los orujos y escobajos, los cuales son recolectados en el despalillado (escobajos) y posterior vinificación (orujos) (Ruberto *et al.*, 2007). Estos residuos orgánicos son utilizados en su mayoría para abonos, compost o fertilizantes y corresponden a parte importante de los racimos cosechados, alcanzando hasta un 40% del total de la vendimia (Laufenberg *et al.*, 2003).

El escobajo o raspón es el esqueleto vegetal que sostiene el fruto de la vid y está formado en su mayoría por elementos vegetales que son poco deseados en la elaboración de los vinos (De la Riva, 2011). Se ha estimado que los vinos elaborados a partir de una cosecha no despalillada, contienen altos niveles de compuestos fenólicos (Souquet *et al.*, 2000; Makris *et al.*, 2007), ya que el escobajo presenta una cantidad significativa de polifenoles (Zimmermann, 2006). De acuerdo a Zimmermann (2006), el escobajo de Malbec posee alrededor de 25 mg de quercetina por g de escobajo seco. De igual forma, Cruz *et al.*, (2004), demostraron que en el escobajo se encuentran una amplia variedad de compuestos fenólicos de bajo peso molecular, tales como ácido gálico, ácido siríngico, ácido p-cumárico, entre otros. Asimismo, Bavaresco *et al.* (1997), determinaron que los escobajos de *Vitis vinifera* L. poseen un gran número de fenoles, entre ellos resveratrol, que corresponde a un polifenol de bajo peso molecular que es ampliamente deseado por la industria farmacéutica debido a su gran potencial antioxidante (Martínez *et al.*, 2003; Vélez-Marín *et al.*, 2012)

Por otra parte, el orujo corresponde al conjunto de semillas y hollejo que quedan después de la vinificación (Flanzy, 2000; Vatai *et al.*, 2009). Los compuestos fenólicos presentes en el orujo, corresponden en su mayoría a ácidos fenólicos y antocianos (Spigno and De Faveri, 2007). En un estudio realizado por Sánchez (2005), se determinó una concentración de 998 mg/L de polifenoles totales en orujos de Carménère, mientras que en la variedad Sauvignon blanc se observaron contenidos de 483,3 mg/L. Por su parte, De la Cerda (2013), demostró que el orujos de la variedad Carménère posee menores valores de polifenoles que los observados en los orujos de las variedades blancas, mientras que estas últimas presentaron valores menores de antocianos e intensidad colorante.

A partir de los antecedentes anteriormente expuestos, es posible observar que los compuestos fenólicos poseen una alta relevancia y que su presencia depende de diversos factores, entre ellos las condiciones agro-climatológicas del lugar de origen. Además, es posible visualizar que los subproductos de la vinificación (orujos y escobajos), son una fuente importante de estos compuestos. No obstante, existe escasa información con respecto a la relación entre las condiciones agro-climatológicas del lugar y la concentración de polifenoles presentes en orujos y escobajos. Más aún, no existen estudios que caractericen polifenólicamente los orujos y escobajos del cultivar Carménère, la variedad emblemática de la industria nacional chilena.

HIPÓTESIS

La composición fenólica y capacidad antioxidante de orujos y escobajos de uva Carménère, está estrechamente relacionada con el lugar de origen.

OBJETIVO

Caracterizar la composición polifenólica y capacidad antioxidante de orujo y escobajo de uvas del cultivar Carménère provenientes de diferentes localidades vitivinícolas.

OBJETIVOS ESPECIFICOS

Determinar la concentración de polifenoles y capacidad antioxidante de orujo de uvas de Carménère proveniente de una localidad del Valle de Limarí, Maipo, Cachapoal y Maule.

Analizar la composición polifenólica y capacidad antioxidante de escobajo de uva de Carménère proveniente de una localidad del Valle de Limarí, Maipo, Cachapoal y Maule.

MATERIALES Y MÉTODOS

Lugar de estudio

Los análisis se efectuaron en los laboratorios del Departamento de Agroindustria y Enología de la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de Chile.

Materiales

Escobajos y orujos

El estudio se realizó con muestras de escobajos y orujos de *Vitis vinifera* L. cv. Carménère proveniente de cuatro localidades vitivinícolas de los Valle de Limarí (Viña Tabalí 30°58'29"S 71°36'7"W), Valle del Maipo (Viña Barón Philippe de Rothschild 34°60'40"S, 71°17'18,2"W), Valle del Cachapoal, (Viña La Rosa 34°40'35,2"S, 71°15'5"W) y Valle del Maule (Viñedos Agrícola Teno 34°51'0" S; 71°09'0" W). Estas 4 localidades están inmersos en cuatro de las regiones con mayor superficie de plantación de vid [IV, VI, VII y Región Metropolitana con 150, 5486, 3497 y 1000 hectáreas, respectivamente (SAG, 2012)]. Las uvas fueron obtenidas de plantas cultivadas en sistema de conducción de espaldera y con manejos vitivinícolas similares.

Equipamiento

Para la elaboración del extracto se utilizó una Minipimer Brown. El equipamiento utilizado para el análisis de fenoles totales, antocianos totales, taninos totales y capacidad antioxidante fue un Espectrofotómetro Shimadzu UV-1700 Pharmaspec UV-vis. Para el análisis de fenoles de bajo peso molecular se utilizó un Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiencia (HPLC-DAD) marca Agilent Technologies 1200 series, constituido por un inyector automático modelo L-7200 y un detector de arreglo de fotodiodos alineados modelo L-7455. En el caso del análisis de fenoles de bajo peso molecular se utilizó una columna Nova-Pak C18 (4 µm; 3,9 mm DI x 300 mm; Water Corporation, Milford, MA, USA).

Reactivos y Solventes

Los reactivos grado pro-análisis y grado HPLC se adquirieron en Merk (Darmstadt, Germany). Los estándares de los compuestos fenólicos de bajo peso molecular se adquirieron en Sigma-Aldrich (St. Louis, USA) y los cartuchos de fraccionamiento Sep-Pak C18 en Waters (Ireland)

Métodos

Tratamiento y Diseño de experimentos

El diseño correspondió a dos ensayos completamente independientes (escobajo y orujo), cada uno con cuatro tratamientos y tres repeticiones. Los tratamientos correspondieron a los orujos y escobajos provenientes de las uvas de cuatro localidades, cada una asociada a los Valles de Limarí, Maipo, Cachapoal y Maule. En ambos ensayos, la unidad experimental

correspondió a cuarteles de 2 hectáreas, mientras que la unidad muestral fue de 10 g de escobajo u orujo seco.

Procedimiento

Las uvas de Carménère fueron cosechadas con 24°brix, éstas provinieron de un cuartel de 2 hectáreas con un marco de plantación de 2 x 1 metros y con una producción por planta de 2 kg aproximadamente. El rendimiento promedio de uva de cada viñedo alcanzó los 12.000 kg/há, de los cuales se obtuvieron aproximadamente 1200 kg de escobajos y 1800 kg de orujos. Una vez cosechadas, fueron trasladadas a la bodega y se procedió a la selección y molienda. Durante el despalillado, se tomaron tres muestras de escobajos provenientes del cuartel seleccionado, cada una de éstas en diferentes momentos para asegurar una muestra aleatoria (al inicio, en el medio y al final del proceso de despalillado). Posterior a la molienda la uva fue sometida a una maceración prefermentativa durante tres días, a baja temperatura (11-13°C) y se adicionó una dosis de 5g/hL de SO₂. Luego, se procedió a inocular el mosto con una dosis de 20 g/hL de levaduras seleccionadas. El proceso de vinificación constó de un régimen de remontajes correspondientes al paso de 1,5 a 2 veces el volumen en 24 horas, la temperatura se manejó entre los 25 y 28°C y el periodo se extendió por 10 días aproximadamente. Una vez terminada la fermentación alcohólica se realizó un trasiego para posteriormente descubar. El orujo fue prensado y durante la descarga se tomaron las muestras correspondientes a orujos. Las muestras se transportaron en oscuridad y en presencia de hielo hasta el laboratorio, en donde fueron llevadas a un túnel de secado durante 8 horas a 30°C. Las muestras se molieron y se mantuvieron congeladas a -4°C para su posterior análisis. Previo al desarrollo de los análisis se procedió a la elaboración de la molienda para luego seguir con la elaboración de los extractos, tanto de escobajos como orujo (Figura 5).

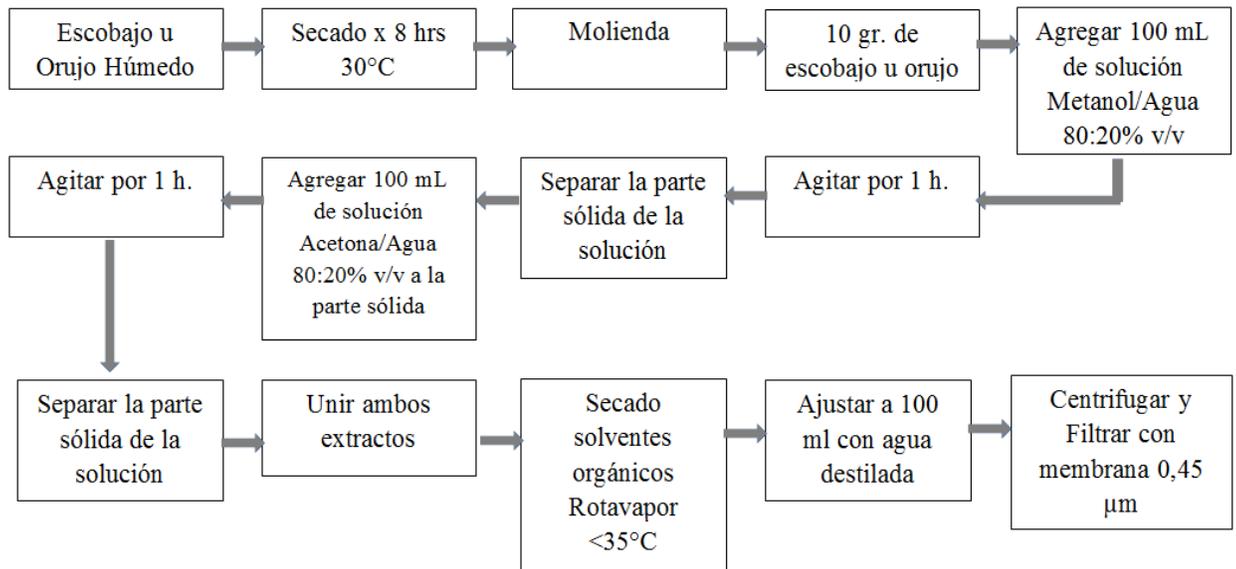


Figura 5. Línea de flujo para la elaboración de extractos (Izquierdo, 2011)

Variables a medir

Fenoles totales. 1 mL del extracto de muestra y se diluyó en un matraz aforado con agua destilada (1:50 para escobajo y 1:100 para orujos). Luego, se midió la absorbancia a una longitud de onda de 280 nm (García-Barceló, 1990).

Taninos totales. En un tubo centrífuga de 10 mL se colocó 1 mL de extracto de orujos o escobajo y 3 mL de solución de metilcelulosa disuelta en agua destilada (0,04% p/v). Luego de agitar y dejar reposar el tubo durante 2 a 3 minutos, se aplicaron 2 mL de una solución saturada de sulfato de amonio (43.47 g/100 mL de agua destilada) y 4 mL de agua destilada. Los 10 mL, se agitaron y se dejaron reposar por 10 minutos a 20°C. Para la muestra control se preparó una solución similar, pero sin la agregación de la solución de metilcelulosa. Ambas muestras se centrifugaron durante 5 minutos a 3500 rpm. Finalmente, se midió la absorbancia de ambos tubos a una longitud de onda de 280 nm (Mercurio *et al.*, 2007).

Intensidad colorante. Se estableció mediante la suma de las absorbancias a longitudes de onda de 420 nm, 520 nm y 620 nm (Glories, 1978).

Antocianos totales. 1 mL de extracto de orujo o escobajo se mezcló con 1 mL de solución de alcohol ácido (HCl 1% en etanol 95%) y 20 mL de HCl al 2% en agua. La mezcla se agitó y se distribuyeron 10 mL en dos tubos de ensayo. Al primer tubo se le agregó 4 mL de metabisulfito de sodio al 15% y al segundo 4 mL de agua destilada. Luego de 20 minutos, se midió la absorbancia a una longitud de onda de 520 nm (García-Barceló, 1990).

Fenoles de bajo peso molecular mediante análisis por HPLC-DAD. 50 mL de extracto de escobajo u orujos fueron extraídos con 20 mL de éter (3 veces) y con 20 mL de acetato de etilo (3 veces más). Al extracto obtenido se le agregaron 2 g de sulfato de sodio anhidro y se dejó reposar por 30 minutos. Posteriormente, el extracto fue secado bajo vacío a una temperatura menor a 35°C. La muestra se redisolvió en 2 mL de una mezcla de etanol:agua (50:50 vol:vol), se filtró en una membrana de 0,45 µm y se fue analizado por HPLC-DAD (Bengochea *et al.*, 1995, modificado por Peña-Neira *et al.*, 2007). La cuantificación de los polifenoles se realizó mediante comparación del espectro UV y tiempo de retención de los respectivos estándares (Obreque-Slier *et al.*, 2009).

Fraccionamiento de proantocianidinas. 10 mL de extracto de escobajo u orujo fueron secados a vacío (temperatura < 30°C). Luego, se redisolvió la muestra con 20 mL de solución buffer fosfato pH 7, se filtró y colocó en los cartuchos C-18 y tC-18, previamente acondicionados con 10 mL de metanol, 20 mL de agua destilada y 10 mL de buffer fosfato pH 7. Posteriormente, se percolaron por los cartuchos, 10 mL de buffer fosfato diluido en agua (1:8) y secaron durante 2 hr con nitrógeno gaseoso. Las fracciones monomérica (F-I) + oligomérica (F-II) fueron eluidas agregando 25 mL de acetato de etilo, y posteriormente la fracción polimérica (F-III) fue eluida con 15 mL de metanol. Las fracciones F-I + F-II fueron secadas bajo vacío (temperatura < 30°C), redisueeltas con 10 mL de solución buffer fosfato pH 7 y colocadas nuevamente en los cartuchos (previamente reacondicionados), los cuales fueron secados con nitrógeno gaseoso. Posteriormente, F-I fue eluido con 25 mL de éter y F-II con 15 mL de metanol (Sun *et al.* 1998). Para la cuantificación de las fracciones flavánicas, se realizó el ensayo de la vainillina. F-I y F-II se rehidrataron con 3 mL de

metanol y F-III con 3 mL de metanol:agua (1:10). En dos tubos de ensayo se agregó 1 mL de muestra rehidratada y 2,5 mL de ácido sulfúrico 25% en metanol (v/v). A un tubo se le agregaron 2,5 mL de vainillina al 1% en metanol y al otro tubo 2,5 mL de metanol (control). Ambos fueron medidos a una longitud de onda de 500 nm durante 5000 segundos para F-III y 1800 segundos para F-II. F-I se midió inmediatamente tras una exposición de 15 minutos en baño María a temperatura < 30°C.

Capacidad antioxidante. Inicialmente, se elaboró una solución madre de 10 mg de 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) en 10 mL de metanol. Luego, a 1 mL de la solución madre se le adicionó 50 mL de metanol (Solución de trabajo). En cuatro matraces aforados de 10 mL, se colocaron cuatro alícuotas de extracto de escobajo u orujo dependiendo el caso (0.10, 0.50, 0.75 y 1.25 mL). Luego cada muestra fue aforada con agua destilada hasta completar los 10 mL. Luego, para el análisis de la muestra se colocaron 100 µl de cada matraz en diferentes tubos de ensayos y se les agregó 3,9 mL de solución de trabajo de DPPH (Solución Muestras). Para la Solución Blanco, se colocaron 100 µl en tubos de ensayo y se les agregó 3,9 mL de metanol. Finalmente, para la Solución Control, se colocaron 100 µl de metanol en un tubo de ensayo y se le agregó 3,9 mL de DPPH. Los tubos se dejaron durante 30 minutos en oscuridad. Luego, se midió cada muestra a una longitud de onda de 517 nm contra metanol. Así, se calculó el porcentaje de decoloración de la muestra, de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Decoloración} = [(1 - (\text{abs. Sol. Muestra} - \text{abs. Sol. Blanco})) / \text{abs. Sol. Control}] * 100$$

Se utilizó Trolox (6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromo-2-acido carboxilo) como antioxidante estándar y los resultados se analizaron mediante una regresión lineal entre 1% y 90%. Los resultados se expresaron en TEAC [µmol Equivalente Trolox (TE) por g de orujo] (Brand-Williams *et al.*, 1995).

Análisis Estadístico

Los resultados fueron sometidos a un Análisis de Varianza (ANDEVA) y un Análisis de Componentes Principales (ACP). Al existir diferencias significativas entre los tratamientos, se aplicó la prueba de rango múltiple de Tukey con un 5% de significancia. Los datos fueron procesados con el software InfoStat®, versión 2008.

RESULTADOS

Variables edafo-climáticas de Localidades del estudio

En el Cuadro 1, se muestran las principales características edafológicas de las localidades de cultivos de los distintos tratamientos del estudio (CIREN, 1996a; CIREN, 1996b; CIREN, 1997; CIREN, 2005). Se observó que los suelos del T1 y T4 poseen un mismo origen y profundidad, al igual que los suelos del T2 y T3. Por su parte, se observa que todas las texturas de los suelos de las zonas de cultivo son diferentes, mientras que el color del suelo en profundidad de los tratamientos T1 y T4 fueron similares, al igual que el color del suelo de la superficie de los tratamientos T2 y T3.

Cuadro 1. Variables edafológicas de las localidades seleccionadas de los Valles de Limarí, Maipo, Cachapoal y Maule.

	Serie	Origen	Profundidad	Textura		Color		Observaciones
T1	Limarí	Aluvial / Sedimentario	Ligeramente	S P	Franco arenosa Franco arenosa	S P	Pardo Pardo oscuro	Permeabilidad moderada rápida, buen drenaje. Terraza baja
T2	Buín	Aluvial / Estratificado	Moderadamente	S P	Franco a Franco arenosa Franco arenosa fina a Franco	S P	Pardo oscuro Pardo muy oscuro	Buena porosidad y actividad biológica en todo el perfil
T3	La Rosa	Aluvial / Estratificado	Moderadamente	S P	Franco arcillo limosa Franco limosa	S P	Pardo oscuro Gris oscuro o pardo grisáceo	Permeabilidad moderada rápida, drenaje de moderado a bueno
T4	Teno	Aluvial / Sedimentario	Ligeramente	S P	Franco arcillo limosa Franco arcillosa	S P	Pardo oscuro Pardo oscuro	Permeabilidad moderada a lenta, drenaje imperfecto

S= superficie, P= profundidad; Ligeramente profundo=40-70 cm; Moderadamente profundo=70-90 cm.

Por otra parte, en el Cuadro 2 se presentan los valores de las principales variables climáticas de los valles en estudio (Boletín Agroclimático, 2013). El valle de Limarí presentó los mayores valores promedios de temperaturas máximas y mínimas, radiación solar y evapotranspiración entre los meses de enero y mayo. Asimismo, el valle de Cachapoal presentó los valores promedios más altos de precipitaciones, mientras que el valle del Maule presentó el mayor valor promedio de porcentaje de humedad.

Cuadro 2. Variables climáticas de los valles de Limarí, Maipo, Cachapoal y Maule, comprendido entre los meses de Enero a Mayo de la temporada 2013

LIMARI

	T° máx	T° min	pp (mm)	Radiación Solar (cal/cm ² día)	Humedad (%)	ET (mm)
Enero	29,7	13	0,6	620	68,6	186,4
Febrero	28,2	11,6	0,9	563,5	70,2	176,1
Marzo	26,7	10,2	1,2	507	71,8	165,8
Abril	23,9	8,9	1,4	404	74,6	120
Mayo	20,6	8	80,8	301	80,8	
Promedio	25,82	10,34	84,9	479,1	73,2	162,075

MAIPO

	T° max	T° min	pp (mm)	Radiación Solar (cal/cm ² día)	Humedad (%)	ET (mm)
Enero	28,4	13,2	0,2	610	73,8	170
Febrero	27,85	10,85	0,4	532	70,2	170
Marzo	27,3	8,5	0,6	454	66,6	
Abril	23,1	5,3	1	395	71,3	101
Mayo	17,9	4,2	91,3	287	77,7	
Promedio	24,91	8,41	93,5	455,6	71,92	147

CACHAPOAL

	T° max	T° min	pp (mm)	Radiación Solar (cal/cm ² día)	Humedad (%)	ET (mm)
Enero	29,7	13,6	0	620	73,9	159
Febrero	29,2	11,25	0	565	71,25	139,8
Marzo	28,7	8,9	0	510	68,6	120,6
Abril	23,4	5,8	0,4	396	77	71,6
Mayo	17,5	4,5	115	289	84	
Promedio	25,7	8,81	115,4	476	74,95	122,75

MAULE

	T° max	T° min	pp (mm)	Radiación Solar (cal/cm ² día)	Humedad (%)	ET (mm)
Enero	29,6	12,9	0	624	71,1	172
Febrero	27,75	9,8	0,6	567,5	72,5	149,5
Marzo	25,9	6,7	1,2	511	73,9	127
Abril	22,2	4,6	2,1	398	79,2	127
Mayo	16,3	3,5	85	285	87,2	
Promedio	24,35	7,5	88,9	477,1	76,78	143,875

T°: temperatura expresada en °Celsius. Pp: precipitaciones. ET: evapotranspiración.

Contenido de polifenoles totales de los extractos de escobajo

En la Figura 6 se muestra el contenido de fenoles, taninos y antocianos totales de los escobajos de Carménère provenientes de distintas localidades vitivinícolas. Se observó que los escobajos provenientes de las localidades de los Valles del Maipo y Cachapoal presentaron los menores valores de los parámetros mencionados con 10,9-11.2 mg EA/g, 3.01-4.51 mg EC/g y 0.12-0.23 mg EM/g de escobajo respectivamente, mientras que los extractos de escobajos de las localidades de Limarí y Maule presentaron contenidos significativamente mayores con respecto al resto de los tratamientos.

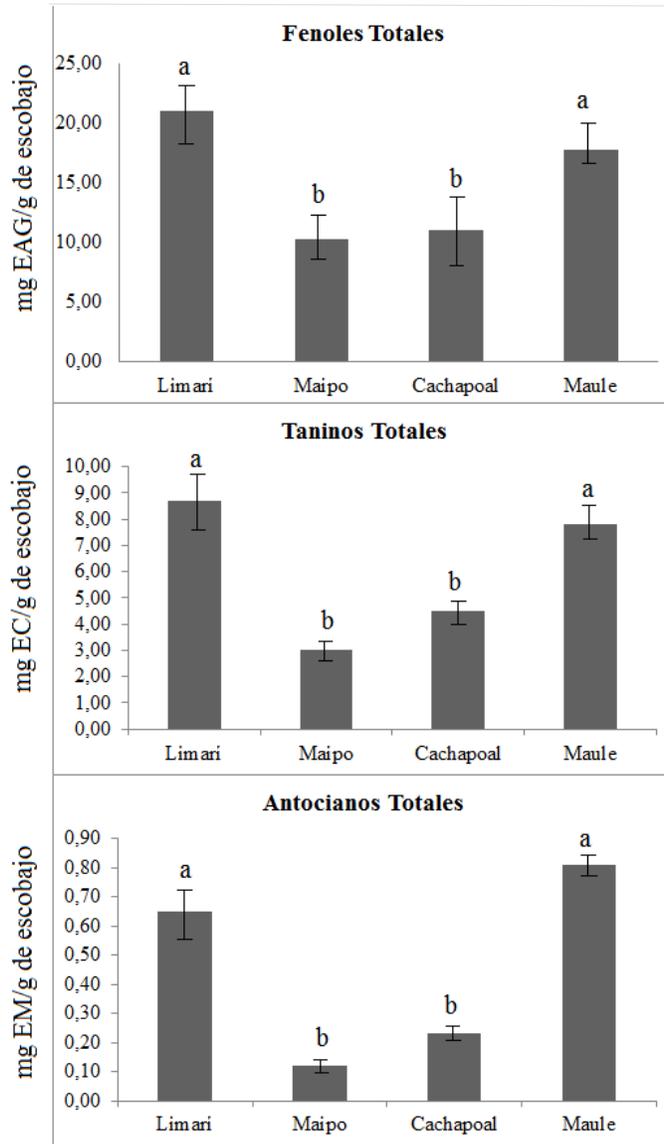


Figura 6. Valores de fenoles, taninos y antocianos totales de escobajo de Carménère provenientes de localidades de cuatro valles de Chile. Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas (Test Tukey, $p \leq 0,05$). EAG, Equivalentes de Ácido Gálico; EC, Equivalentes de Catequina y EM, Equivalentes de Malvidina.

Valores de color y capacidad antioxidante de los extractos de escobajo

En el Figura 7 se muestran los valores de intensidad colorante, matiz y capacidad antioxidante de los escobajos de Carménère. En el caso de la intensidad colorante se observó que el extracto de escobajos provenientes de la localidad del valle de Limarí presentaron valores significativamente mayores que aquellos provenientes de las localidades de los valles del Maipo y Cachapoal (1.47 UA por sobre 0.69 obtenidos por Maipo y 1.02 por Cachapoal). Ambos extractos presentaron valores mayores de matiz comparado con el extracto de escobajos del Valle de Limarí. Este último presentó el menor valor de capacidad antioxidante con 87.89 $\mu\text{M ET/g}$ de escobajo.

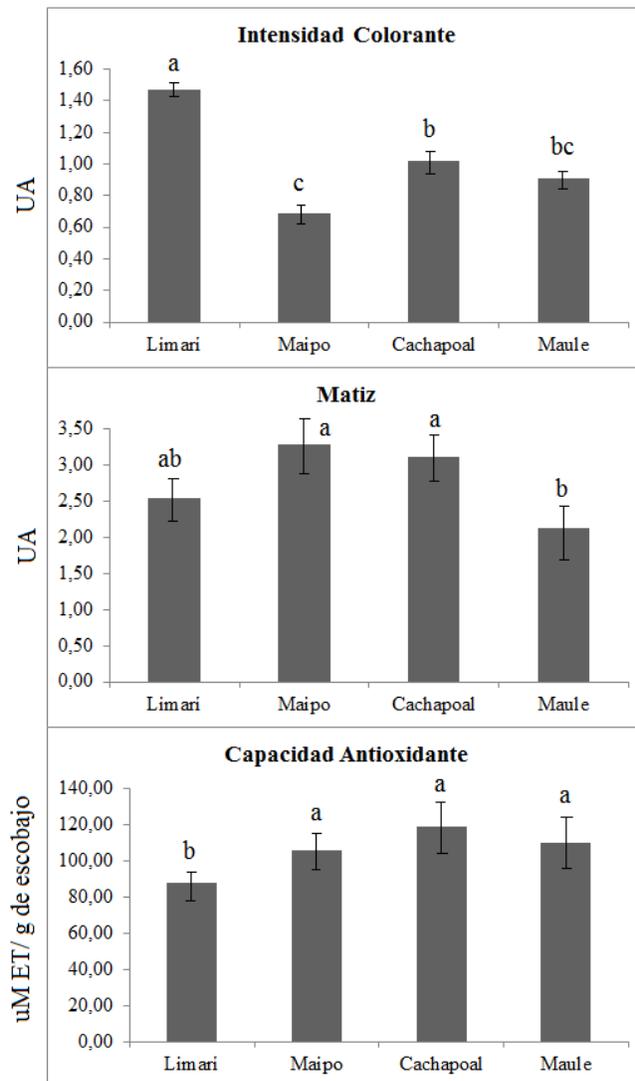


Figura 7. Valores de intensidad colorante, matiz y capacidad antioxidante de escobajo de Carménère provenientes de localidades de cuatro valles de Chile. Letras distintas en una columna indican diferencias estadísticamente significativas (Test Tukey, $p \leq 0,05$). UA, unidades de absorbancia; ET, equivalente Trolox.

Contenido de las fracciones de flavan-3-oles en escobajo de Carménère

En la Figura 8, se muestra el contenido de las fracciones mono, oligo y poliméricas de flavan-3-oles presentes en los extractos de escobajos de Carménère provenientes de distintas localidades vitivinícolas chilenas. Se observó que los escobajos de la localidad del valle del Maule presentaron la menor concentración de flavanoles oligoméricos y poliméricos (0.65 mg FO/g de escobajo y 1.21 mg FP/g de escobajo), mientras que el resto de los tratamientos no presentó diferencias significativas. Por otra parte, los escobajos de la localidad de Cachapoal presentaron los mayores valores en las tres fracciones de flavan-3-oles.

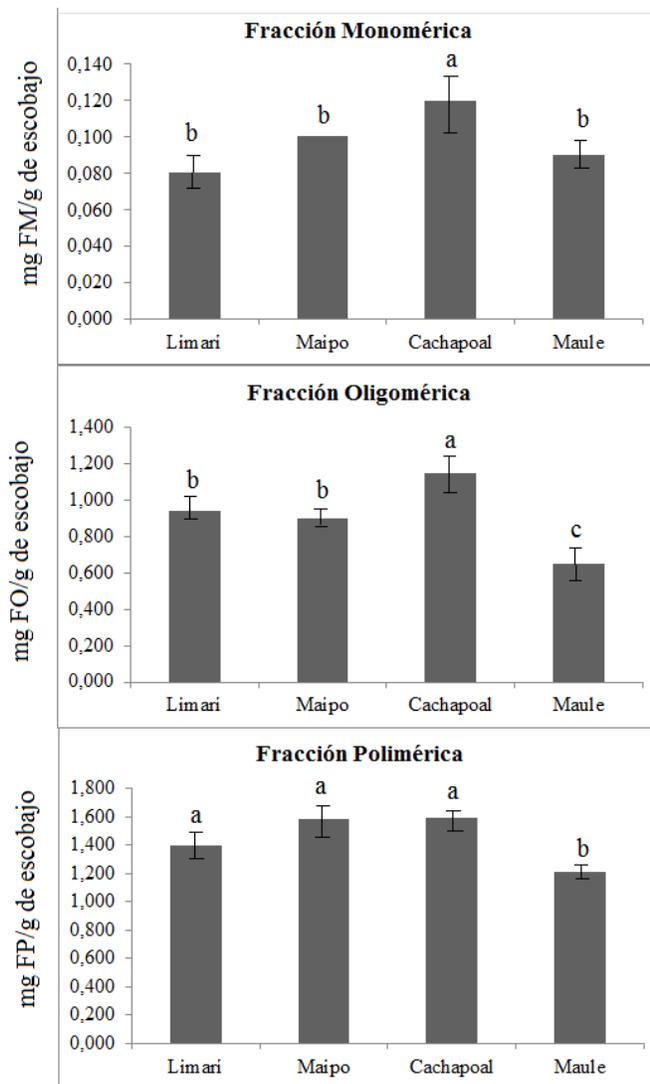


Figura 8. Fracciones monomérica, oligomérica y polimérica de flavan-3-oles de escobajos de Carménère provenientes de localidades de cuatro valles de Chile. Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas (Test Tukey, $p \leq 0,05$). FM, Fracción Monomérica; FO, Fracción Oligomérica; FP, Fracción Polimérica.

Cuantificación de Fenoles de bajo peso molecular de escobajo de Carménère por HPLC-DAD

El Cuadro 3 muestran los compuestos fenólicos de bajo peso molecular identificados y cuantificados en los extractos de escobajo (mg/g). Los compuestos correspondieron a ácido gálico (AG), ácido ferúlico (AF), ácido protocatéquico (AP), flavonoles (Fs), (-)-epicatequina (EC), quercetina (Q), procianidina B3 (PB3), procianidina B1 (PB1), procianidina B4 (PB4), procianidina B2 (PB2), diversas procianidinas (Ps), procianidina trimérica (PT), diversos compuestos de la familia de las astilbinas (AS), galatos de procianidinas (GPs), ácido elágico (AE), vainillina (V) y resveratrol (RE). Se observó que los escobajos provenientes de la localidad del valle de Limarí presentaron las mayores concentraciones de EC, Q, PB4, Ps, PT, AS, AE en comparación al resto de los tratamientos. Asimismo, los escobajos de la localidad del Maule presentaron concentraciones significativas de PB1, GP y V. Los escobajos de la localidad del valle del Maipo presentaron altos contenidos de PB3 y RE, mientras que los escobajos de la localidad de Cachapoal mostraron concentraciones significativas de AP.

Compuestos	Valle de Limarí	Valle del Maipo	Valle de Cachapoal	Valle del Maule
Ácido gálico	28,09 ± 2,76 a	27,18 ± 6,05 a	26,00 ± 4,18 a	25,23 ± 0,38 a
Ácido ferúlico	10,67 ± 1,99 a	11,16 ± 1,03 a	11,92 ± 1,35 a	9,88 ± 0,43 a
Ácido protocatéquico	2,26 ± 0,91 b	5,32 ± 1,32 ab	10,45 ± 3,89 a	7,84 ± 1,12 ab
Flavonoles	347,14 ± 27,46 a	180,51 ± 14,89 b	157,85 ± 12,33 b	307,40 ± 9,54 a
Epicatequina	73,06 ± 10,55 a	49,97 ± 4,25 b	42,48 ± 2,94 bc	63,79 ± 1,82 ab
Quercetina	247,83 ± 20,76 a	119,21 ± 7,01 c	163,09 ± 10,3 b	185,19 ± 2,94 b
Procianidina B3	16,34 ± 0,00 b	29,69 ± 2,63 a	N.D	N.D
Procianidina B1	31,98 ± 1,38 c	33,50 ± 2,04 c	67,29 ± 9,08 b	174,07 ± 12,8 a
Procianidina B4	29,68 ± 3,49 a	12,17 ± 1,72 b	11,86 ± 3,54 b	17,16 ± 1,26 b
Procianidina B2	20,95 ± 2,42 a	15,33 ± 1,27 ab	19,07 ± 2,15 a	10,55 ± 0,92 b
Procianidinas	656,84 ± 100,73 a	156,07 ± 3,23 b	89,13 ± 10,8 b	208,03 ± 7,52 b
Trímero	91,30 ± 6,11 a	34,58 ± 3,91 c	38,29 ± 3,92 c	57,50 ± 0,91 b
Familia Astilbinas	100,60 ± 17,06 a	19,23 ± 5,77 c	16,61 ± 1,59 c	57,87 ± 1,72 b
Galato de procianidina	69,32 ± 8,36 b	25,66 ± 0,23 c	34,08 ± 2,45 c	140,53 ± 2,31 a
Ácido Elágico	110,51 ± 11,09 a	71,29 ± 9,81 b	83,52 ± 7,06 ab	70,05 ± 1,78 b
Vainillina	36,12 ± 1,22 ab	34,33 ± 0,28 b	31,76 ± 0,66 c	38,17 ± 0,30 a
Resveratrol	163,92 ± 7,64 b	299,8 ± 4,66 a	126,71 ± 8,85 b	68,77 ± 0,97 c

Letras distintas en una misma fila indican diferencias estadísticamente significativas de acuerdo al análisis de comparación múltiple de Tukey ($p \leq 0,05$). N.D: No Detectado.

Contenido de polifenoles totales de los extractos de orujo

En la Figura 9 se muestra el contenido de fenoles, taninos y antocianos totales de orujos de Carménère provenientes de distintas localidades vitivinícolas. Se observó que los orujos provenientes de la localidad del valle de Cachapoal presentaron los mayores valores de fenoles y antocianos totales (23.41 mg EAG/g de orujo y 13.24 mg EM/g de orujo respectivamente), mientras que los extractos de orujo de las localidades de los valles de Maipo y Maule presentaron contenidos significativamente mayores con respecto al resto de los tratamientos en taninos totales.

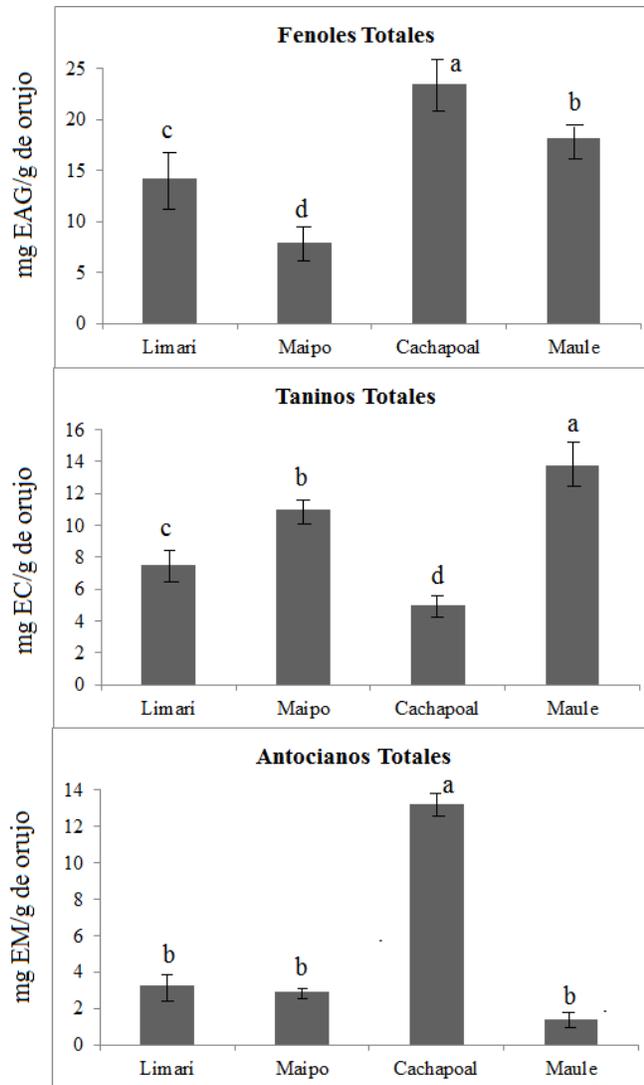


Figura 9. Valores de fenoles, taninos y antocianos totales de orujo de Carménère provenientes de localidades de cuatro valles de Chile. Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas (Test Tukey, $p \leq 0,05$). EAG, Equivalentes de Ácido Gálico; EC, Equivalentes de Catequina y EM, Equivalentes de Malvidina.

Valores de color y capacidad antioxidante de los extractos de orujo

En el Figura 10 se muestran los valores de intensidad colorante, matiz y capacidad antioxidante de los orujos de Carménère. En el caso de la intensidad colorante se observó que el extracto de orujos provenientes de la localidad del valle de Cachapoal presentaron valores significativamente mayores que aquellos provenientes de los valles del Maipo y Limarí. El extracto del Maule presentó un mayor valor en matiz (8.67 UA) comparado con el extracto de orujos del valle de Cachapoal (3.96 UA). Este último también presentó el mayor valor de capacidad antioxidante con respecto al resto de los tratamientos, alcanzando un valor de 80.54 μ M ET/g de orujo.

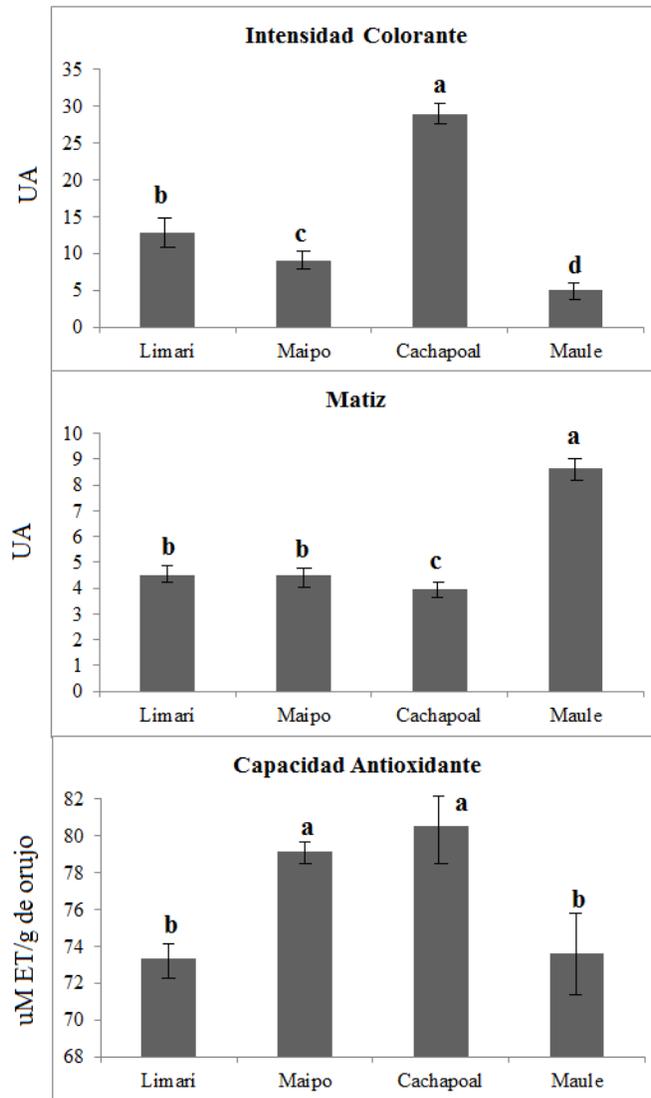


Figura 10. Valores de taninos totales, antocianos totales y capacidad antioxidante de orujo de Carménère provenientes de localidades de cuatro valles de Chile. Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas (Test Tukey, $p \leq 0,05$). UA, unidades de absorbancia; ET, equivalente Trolox.

Contenido de las fracciones de flavan-3-oles en escobajo de Carménère

En la Figura 11, se muestra el contenido de las fracciones mono, oligo y poliméricas de flavan-3-oles presentes en los extractos de orujo de Carménère. Se observó que los orujos de la localidad del valle del Cachapoal presentaron la menor concentración de flavanoles monoméricos y oligoméricos (0.06 mg FM/g de orujo y 0.64 mg FO/g de orujo) mientras que el resto de los tratamientos no presentó diferencias significativas en la fracción monomérica. Por otra parte, los orujos de todas las localidades de todos los valles presentaron concentraciones similares de polímeros de flavan-3-ol, a diferencia de la localidad del valle del Maule que obtuvo el mayor valor (1.89 mg FP/g de orujo)

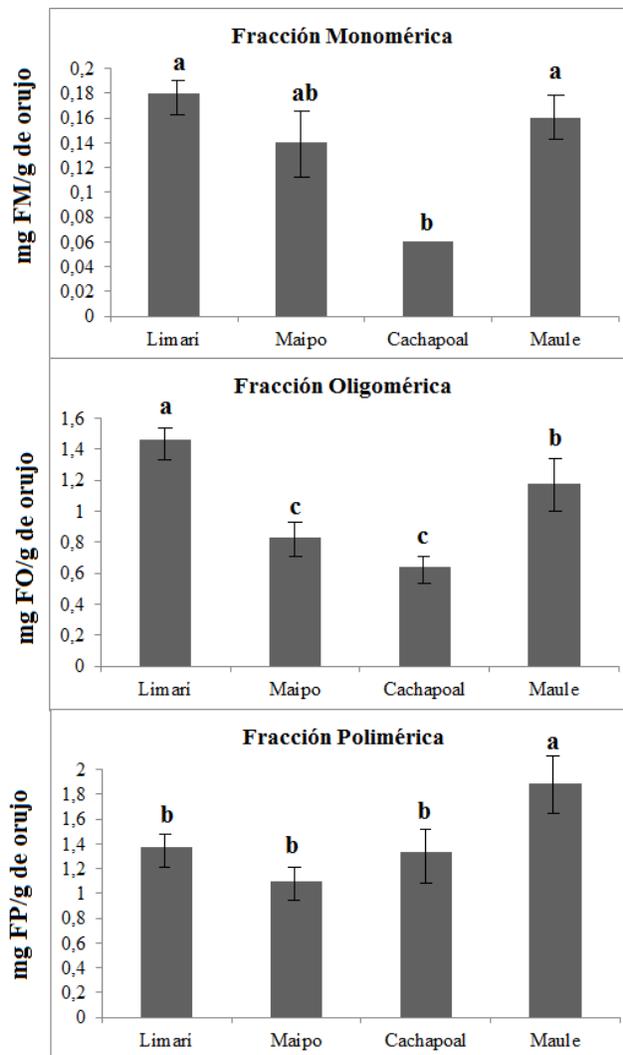


Figura 11. Fracciones monomérica, oligomérica y polimérica de flavan-3-oles de orujo de Carménère provenientes de localidades de cuatro valles de Chile. Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas (Test Tukey, $p \leq 0,05$). FM, Fracción Monomérica; FO, Fracción Oligomérica; FP, Fracción Polimérica.

Cuantificación de Fenoles de bajo peso molecular de orujo de Carménère por HPLC-DAD

El Cuadro 4 muestran los compuestos fenólicos de bajo peso molecular identificados y cuantificados en los extractos de orujo (mg/g). Los compuestos correspondieron a ácido gálico (AG), ácido protocatéquico (AP), catequina (C), epicatequina (EP), flavonoles (Fs), procianidina B3 (PB3), procianidinas (P), ácido sirínigico (AS), ácido vainillínico (AV), ácido caftárico (AC), ácido cefeico (ACF), galato de procianidina (GPs). Se observó que los orujos provenientes de la localidad del valle de Maule presentaron las mayores concentraciones de C, E, PB3, P y AV en comparación al resto de los tratamientos. Por el contrario, los orujos de la localidad del valle del Maipo presentaron concentraciones significativamente menores de C, E, Fs, PB3 y ACF. Mientras que los orujos provenientes del valle del Cachapoal presentaron altos contenidos de Fs, AS, ACF y GPs, por su parte los orujos del valle de Limarí mostraron concentraciones significativas de AP y AC.

Compuestos	Valle de Limarí	Valle del Maipo	Valle de Cachapoal	Valle del Maule
Ácido gálico	135,56 ± 0,74 a	137,00 ± 1,82 a	86,50 ± 1,68 c	107,62 ± 6,37 b
Ácido protocatéquico	9,23 ± 1,13 a	8,54 ± 0,51 a	4,31 ± 1,96 b	7,38 ± 1,02 ab
Catequina	189,06 ± 6,66 b	172,06 ± 4,80 b	257,33 ± 7,81 b	628,30 ± 7,15 a
Epicatequina	259,02 ± 6,05 b	226,32 ± 5,45 b	244,92 ± 8,67 b	467,34 ± 6,02 a
Flavonoles	484,61 ± 4,48 b	406,25 ± 5,72 b	581,35 ± 6,91 a	441,04 ± 5,70 b
Procianidina B3	33,61 ± 2,19 bc	24,20 ± 3,02 c	70,80 ± 5,05 b	165,98 ± 8,00 a
Procianidinas	162,20 ± 5,57 b	190,80 ± 3,81 b	170,29 ± 3,01 b	612,96 ± 9,56 a
Ácido sirínigico	76,91 ± 2,29 b	61,23 ± 1,60 b	103,08 ± 6,39 a	59,00 ± 3,10 b
Ácido vainillínico	45,2 ± 1,21 a	43,46 ± 0,65 a	43,18 ± 3,88 a	48,84 ± 4,04 a
Ácido caftárico	48,65 ± 5,72 a	42,31 ± 2,10 ab	24,06 ± 3,86 bc	11,31 ± 0,58 c
Ácido cafeico	17,03 ± 3,84 b	14,75 ± 0,09 b	52,27 ± 3,84 a	16,92 ± 2,22 b
Galato de procianidina	N.D	N.D	323,70 ± 2,08 a	247,52 ± 2,72 b

Letras distintas en una misma fila indican diferencias estadísticamente significativas de acuerdo al análisis de comparación múltiple de Tukey ($p \leq 0,05$). N.D: No Detectado.

Análisis de Componentes principales

En la Figura 12, se muestra el comportamiento de las localidades seleccionadas, clasificadas de acuerdo a concentraciones obtenidas por cada variable. El ACP explicó el 81,2% de la variabilidad de los datos. De acuerdo a la primera componente (CP1) las variables fenoles, fracción oligomérica, fracción polimérica, e intensidad colorante se encontraron correlacionadas positivamente entre ellas y negativamente con el matiz. Además, se observa una tendencia entre los tratamientos 2 y 3 (localidad de los Valles del Maipo y Cachapoal respectivamente) hacia un mayor valor en matiz y capacidad antioxidante, mientras que el tratamiento 1, lidera en valores correspondiente a variables como la fracción oligomérica y polimérica. Por su parte, la fracción monomérica y antocianos totales representan un mayor valor en el tratamiento 4, es decir, en la localidad del Valle del Maule, mientras que los tratamientos 2 y 3 presentan valores que tienden a una similitud.

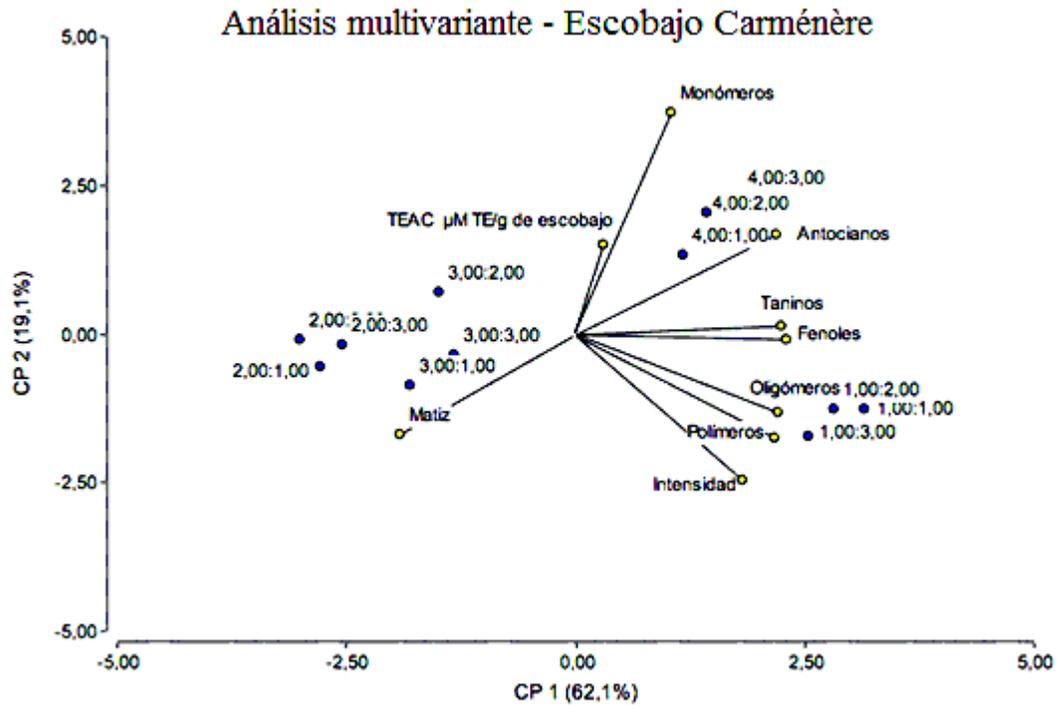


Figura 12. Biplot de datos multivariantes, basado en las variables estudiadas en escobajo de Carménère.

En la Figura 13, se muestra el comportamiento de las localidades seleccionadas, clasificados en las concentraciones obtenidas por cada variable. El ACP explicó el 81,9% de la variabilidad de los datos. En el CP1 podemos observar una correlación positiva entre las variables correspondientes a taninos totales, fracción monomérica y oligomérica, mientras que estas mismas variables se correlacionan de forma negativa con antocianos totales, intensidad colorante y capacidad antioxidante. Por otra parte, se puede observar que los tratamientos 1, 2 y 4 presentan una mayor concentración en variables como matiz, taninos, mientras que el tratamiento 3, presenta una mayor concentración en antocianos.

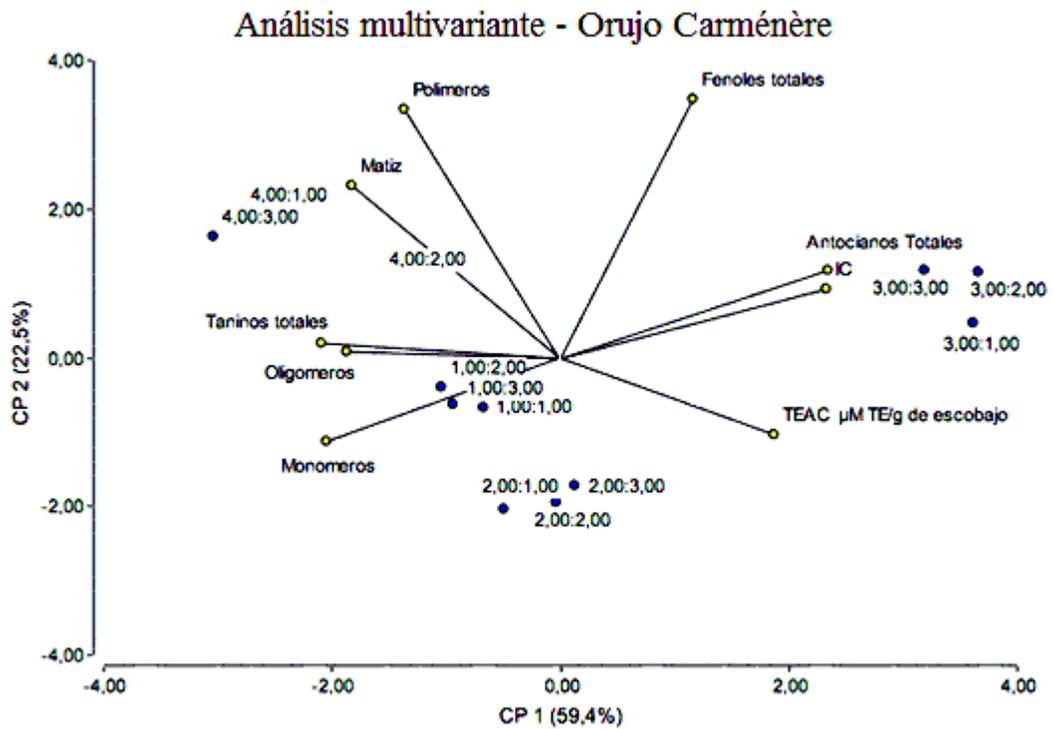


Figura 13. Biplot de datos multivariantes, basado en las variables estudiadas en orujo de Carménère.

DISCUSIÓN

Los compuestos fenólicos son metabolitos secundarios que se han sido asociados a propiedades sensoriales, farmacológicas y nutricionales (López *et al.*, 2003; Jackson, 2005; Monagas *et al.*, 2005; Pérez-Margariño y González-San José, 2006). La uva vinífera es considerada una importante fuente de polifenoles (Avello y Suwalsky, 2006). Del mismo modo, los residuos de la vinificación de la uva presentarían una gran cantidad de compuestos fenólicos. Así, los escobajos, que son descartados en el despalillado, y los orujos debido a una extracción incompleta desde la uva durante la producción de vino, podrían ser reservorios importantes de polifenoles (Rockenbach *et al.*, 2011). De cualquier modo, se ha observado que las condiciones edafo-climáticas de la localidad de cultivo, afectan la composición y concentración fenólica de la uvas, lo que podría afectar consecuentemente el contenido de polifenoles en orujos y escobajos (Monagas *et al.*, 2005). En este estudio se caracterizó polifenólicamente los orujos y escobajos de uva Carménère proveniente de 4 localidades ubicadas en valles de alta relevancia vitivinícola en Chile.

En el caso de los escobajos, se observó que la concentración de fenoles totales varió entre 10,29 y 21,03 mg EAG/g, los cuales se encuentran dentro del rango observado por Spigno y De Faveri (2007) y Bavaresco *et al.*, (1997) en escobajo de Barbera y Cabernet franc, respectivamente. Según Cuevas (2004), los hollejos de uvas tintas contienen valores que varían entre 3,18 y 7,95 mg EAG/g, mientras que las semillas poseen valores que se encuentran entre los 0,8 y 2,9 mg EAG/g, lo que demostraría que el contenido de polifenoles de escobajos se encuentra por sobre el contenido que poseen los hollejos y semillas de uva vinífera previo a la vinificación.

Por su parte, el contenido de antocianos totales varió entre 0,12 y 0,81 mg EM/g, mientras que el contenido de taninos totales varió entre 3,01 y 8,68 mg EC/g. Makris *et al.* (2007), reportaron que el contenido de antocianos en escobajos varía 0,05 a 0,75 mg EM/g, mientras que Yi *et al.* (2009), reportaron concentraciones entre 1,31 y 3,02 mg EM/g en escobajos de Cabernet Sauvignon y Royal Rouge. De mismo modo, Souquet *et al.* (2000) mencionan que el contenido de taninos totales en escobajos varía entre 21,7 y 38,8 mg EC/g. Las diferencias observadas en el contenido de taninos y antocianos totales entre este estudio y lo reportado previamente podrían estar relacionado con las distintas condiciones de la variedad, lugar de cultivo, año y método de extracción, los cuales afectan significativamente la concentración y extracción de polifenoles desde la baya (Andrades y González, 1995; Peña, 2005; López, 2008; Van Leeuwen, 2010).

Diversos autores mencionan que el contenido de taninos totales en semillas y hollejos de uvas para vino varían entre 32,9-123,0 mg EC/g y 1,26-20,9 mg/EC g, respectivamente (Canals *et al.*, 2005; Obreque-Slier *et al.*, 2010; Fanzone *et al.*, 2011). Por su parte, estudios previos mencionan que el contenido de antocianos totales en hollejos de uvas para vino varían 0,9-6,1 mg EM/g. En general, se observa que los escobajos de Carménère de las distintas localidades presentan concentraciones menores que las observadas en semillas y hollejos de uva, lo cual estaría relacionado con los factores mencionados anteriormente (Andrades y González, 1995; Peña, 2005; López, 2008; Van Leeuwen, 2010).

Comparativamente, se observó que el contenido de fenoles, taninos y antocianos totales entre los distintos tratamientos presentaron similar tendencia. Así, los escobajos provenientes de las localidades del valles de Limarí y Maule presentaron mayores concentraciones que los provenientes de Maipo y Cachapoal. Es interesante mencionar que el origen geológico y profundidad efectiva de los suelos de ambos grupos de valles son similares. Además, según la tabla Munsell, el color del suelo en profundidad de los valles de Limarí y Maule, y el color de los suelos en superficie de las localidades del valle del Maipo y Cachapoal son similares. Sumado a lo anterior, las precipitaciones acumuladas de los tratamientos 1 y 4 entre Enero y Mayo, variaron entre 84,9 y 88,9 mm, mientras que en las localidades de los tratamientos 2 y 3 se presentaron precipitaciones entre 93,5 y 115,4 mm. Esta última observación podría estar relacionada con las características del suelo, pues suelos con mayor profundidad, con color oscuro del suelo en superficie y origen geológico estratificado tal como los descritos para las localidades del Maipo y Cachapoal, estarían asociados a menores contenidos de polifenoles (Sellés *et al.* 2003; Jaramillo, 2002; Ojeda *et al.*, 2002).

Por otro lado, los escobajos utilizados en este estudio presentaron valores de intensidad colorante que variaron entre 0,69 y 1,47 UA, donde los escobajos de la localidad del valle de Limarí presentaron los mayores valores, mientras que los provenientes de la localidad valle del Maipo el menor valor. Esta tendencia estaría dada por la estrecha relación entre la intensidad colorante y los fenoles totales y taninos. Los valores obtenidos en este estudio coinciden con lo observado por Formento *et al.* (2005), quien observó valores entre 0,34 y 1,86 UA en escobajos de Malbec y Tintorera, respectivamente. En el caso del matiz se observó un comportamiento contrario, pues los escobajos de las localidades de los valles del Maipo y Cachapoal, presentaron los mayores valores.

En el caso de la capacidad antioxidante se encontró en el rango entre 87,89 y 119,29 $\mu\text{M ET/g}$ de escobajo, siendo el menor valor el obtenido en la localidad del valle de Limarí. Estos valores se encuentran por debajo de los valores obtenidos en Manto negro por Llorera y Cañellas (2007) y Jara *et al.* (2014), correspondientes a 217 $\mu\text{M ET/g}$ de escobajo y 324 $\mu\text{M ET/g}$ de escobajo, respectivamente. Sin embargo, en el estudio de Llorera y Cañellas (2007), los valores de la capacidad antioxidante mediante el método FRAP, fueron 76,6 y 114,8 $\mu\text{M ET/g}$, similares a los obtenidos en este estudio. No obstante lo anterior, los valores obtenidos en este estudio se encuentran por debajo de los encontrados en semillas (188,0-328,4 $\mu\text{M ET/g}$) (Rockenbach *et al.*, 2007). Es muy probable que las diferencias observadas con respecto a reportes previos, se deba al efecto del método de extracción y análisis, así como a los factores edafo-climáticos mencionados anteriormente.

Al fraccionar las proantocinidinas presentes en los escobajos se observa que en todas las muestras la fracción polimérica fue la más abundante, siendo a lo menos 13 veces mayor que su respectiva fracción monomérica. Este comportamiento coincide con lo observado en semilla y hollejos de uva vinífera en estudios previos (Cosme *et al.*, 2009; Obreque-Slier *et al.*, 2010). Sin embargo, las concentraciones de las fracciones de proantocianidinas encontradas en los escobajos son menores que las observadas por distintos autores en semillas (0,7 –1,8; 12,2 –17,7 y 58,6 –74,3 mg/g de fracción mono, oligo y polimérica, respectivamente) y hollejos (0,02 –0,06; 0,04 –0,6 y 1,5 –7.5 mg/g de fracción mono, oligo y polimérica, respectivamente) de uva vinífera (Monagas *et al.*, 2003; Cosme *et al.*, 2009).

Comparativamente, se observó que los escobajos provenientes de la localidad del valle de Cachapoal presentaron las mayores concentraciones de las distintas fracciones flavánicas, mientras que los escobajos provenientes de la localidad del valle de Maule presentaron los menores contenidos. Curiosamente, esta tendencia no es respaldada por la concentración de fenoles y taninos totales, los cuales frecuentemente son asociados con las fracciones mono, oligo y poliméricas de proantocianidinas (Vila *et al.*, 2009; Fernández *et al.*, 2010).

Del mismo modo, se observó que los fenoles de bajo peso molecular identificados en los escobajos usados en este estudio, son similares a los encontrados por Cruz *et al.* (2004), Mikes *et al.* (2008), González *et al.* (2012) y Jara *et al.* (2014). Sin embargo, los contenidos de estos compuestos son menores que los observados en reportes previos (Careti *et al.*, 2003; Gómez *et al.*, 2007), salvo en el contenido de procianidinas y flavonoles, donde González *et al.* (2012) reportan valores entre 79,1 y 202,3 mg/kg. Es importante destacar, las altas concentraciones de resveratrol en los escobajos de este estudio. Este compuesto se ha utilizado principalmente en la industria farmacéutica, debido a sus relevantes características antioxidativas. Además, se ha descrito como un compuesto que contribuye positivamente al sistema cardiovascular, inmunológico y respiratorio (Martínez *et al.*, 2003; Vélez-Marín *et al.*, 2012). Los valores obtenidos en este estudio coincide con lo observado por Balik *et al.* (2009) en las variedades Blauer Portugieser y Saint Laurent (42,1 y 276,1 mg/kg, respectivamente). Es interesante observar que las concentraciones de resveratrol de los escobajos provenientes de la localidad del valle del Maipo, a lo menos duplicaron las concentraciones observadas en el resto de los tratamientos. Algunos especialistas farmacéuticos establecen que la dosis de consumo recomendada bordea los 300 mg/día aproximadamente (Sanín, 2011; Masís, 2013). Lo que posibilitaría utilizar este subproducto con fines farmacéuticos.

En paralelo al estudio del escobajo, se analizó la composición fenólica de los orujos, los cuales fueron obtenidos luego de la fermentación alcohólica de las uvas de Carménère provenientes de los distintas localidades ubicadas en los 4 valles antes mencionados. En el caso de fenoles totales, se observó que las concentraciones variaron entre 7,93 y 23,41 mg EAG/g de orujo, coincidente con lo observado por De la Cerda *et al.* (2014), quienes observaron valores de 14 mg EAG/g en la misma variedad. Además, estos valores son similares a lo observado por Ruberto *et al.* (2007), quienes reportaron de 10,65 y 33,33 mg EAG/g en las variedades Cabernet sauvignon y Nero d'Avola, respectivamente. Asimismo, González *et al.* (2012), reportaron contenidos de cercano a 26 mg EAG/g en orujos de variedades blancas. Es interesante mencionar que los valores observados en este estudio son similares a lo observado en semillas y hollejos de uvas sin vinificar (Obreque-Slier *et al.*, 2010; Chamorro *et al.*, 2012), lo que indicaría que a pesar que durante la vinificación existe una extracción importante de polifenoles desde las partes sólidas de la uva, esta sería parcial, ya que una parte importante permanece en los subproductos de la vinificación, tales como los orujos (Sun *et al.*, 2001; Rockenbach *et al.*, 2011). Al comparar el contenido de fenoles totales, se observó que los orujos de la localidad de los Valles de Cachapoal y Maipo, presentaron los mayores y menores contenidos, respectivamente. Estas diferencias estarían asociadas a las variables climáticas y edafológicas correspondientes a las zonas de estudio.

Por su parte, la concentración de antocianos y taninos totales en los orujos de este estudio variaron entre 1,42-13,24 mg EM/g y 4,99-13,76 mg EC/g, respectivamente. Estos valores son menores con respecto al contenido de antocianos en orujos observado por Ruberto *et al.* (2007) (9,61 a 28,70 mg EM/g). Sin embargo, tanto la concentración de antocianos y taninos en orujos de este estudio, son mayores que lo observado por De la Cerda (2013), quien reportó concentraciones de 0,7 mg EM/g y 1,3 de mg EC/g orujos de Carménère proveniente del Valle del Maipo. Por otra parte, los valores de taninos totales observados en los orujos de este estudio son similares a los reportados en hollejos de uva, pero son menores con lo reportado en semillas de *Vitis vinifera* L. por Obreque-Slier *et al.* (2010).

Comparativamente, los orujos de la localidad del Valle de Cachapoal presentaron las mayores concentraciones de antocianos y menores contenidos de taninos, mientras que los provenientes de la localidad del Valle del Maule, presentaron una relación inversa. Este comportamiento diferencial de estos dos compuestos en ambas localidades, podría estar no solo relacionada con la mayor precipitación que afecto a la localidad de Cachapoal, sino que además a la permeabilidad diferencial de ambos suelos (moderadamente rápida con un drenaje de moderado a bueno de la localidad del valle de Cachapoal *versus* permeabilidad moderada a lenta y drenaje imperfecto de la localidad del Valle del Maule).

Los valores de intensidad colorante de los orujos del estudio variaron entre 5,30 y 28,87 UA, los cuales son mayores que los valores reportados por De la Cerda (2014) en orujos de Carménère (4,0 UA). Más aún, los valores reportados en este estudio son mayores que los observados en hollejos de uva sin vinificar (Canals *et al.*, 2005; Obreque-Slier *et al.*, 2005). Es interesante notar, que los orujos provenientes de la localidad del Valle de Cachapoal, presentaron los mayores valores con respecto al resto de los tratamientos. Esta tendencia estaría en estrecha relación con las altas concentraciones de fenoles y antocianos totales, los cuales influyen fuertemente en la coloración de los hollejos y semillas de uvas (Aleixandre y Álvarez, 2003; Hermosín, 2007). Contrariamente, los orujos provenientes de esta localidad, presentaron los menores valores de matiz, mientras que los orujos de la localidad del Valle del Maule presentaron el mayor valor de matiz y menor valor de intensidad colorante. En el caso de la capacidad antioxidante, se observó que los valores variaron entre 73,31 y 73,60 μM equivalente Trolox/g de orujo. Estos valores son similares a los reportados por Yi *et al.* (2009), en Cabernet Sauvignon y Royale Rouge (63,3 y 84,1 μM ET/g, respectivamente) y significativamente menores a los observados por Ruberto *et al.* (2007) (144,45 –389,3 μM ET/g en Nerello y Nero d'Avola, respectivamente).

En el caso de las fracciones de proantocianidinas, se observó que la fracción polimérica fue la más abundante en orujos de Carménère, mientras que los resultados más bajos fueron los correspondientes a las proantocianidinas monoméricas. En promedio, estos valores son similares a los obtenidos por De la Cerda (2013). Comparativamente, las concentraciones de las distintas fracciones son evidentemente menores que las observadas en hollejos (Sun *et al.*, 2001; Monagas *et al.*, 2003; Obreque-Slier *et al.*, 2013) y semillas de bayas (Sun *et al.*, 2001; Monagas *et al.*, 2003; Obreque-Slier *et al.*, 2010b; Obreque-Slier *et al.*, 2012), lo que confirmaría que durante la maceración y fermentación, existe un traspaso relevante de estas fracciones desde las partes sólidas al mosto (Zúñiga, 2005; Rothenback *et al.*, 2011).

En el caso de los fenoles de bajo peso molecular, se observó que los compuestos identificados en los orujos coinciden con los observados en extractos de semillas y hollejos

de *Vitis vinifera* L. (Rodríguez-Montealegre *et al.*, 2006; Obreque-Slier *et al.*, 2010; Rockenbach *et al.*, 2011; Obreque-Slier *et al.*, 2012; Obreque-Slier *et al.*, 2013). En el caso de los compuestos no flavonoides, se observó que el ácido gálico fue el más abundante, y presentó concentraciones significativas en las localidades de Limarí y Maipo. A pesar de lo anterior, los valores se encuentran por debajo de lo establecido por Wang *et al.* (2010), los cuales reportan concentraciones que duplican las concentraciones de ácido gálico en los orujos en este estudio. Sin embargo, las concentraciones de ácido gálico reportadas en este estudio son mayores que las observadas previamente en semillas y hollejos de uva vinífera (Obreque-Slier *et al.*, 2010; Santos *et al.*, 2014; López *et al.*, 2015).

En el caso de los flavonoles, se observó que la catequina y epicatequina fueron los fenoles monoméricos de bajo peso molecular más abundantes, coincidente con lo observado en semillas y hollejos de uvas (Rodríguez-Montealegre *et al.*, 2006; Obreque-Slier *et al.*, 2012; Obreque-Slier *et al.*, 2013). Así, los orujos de la localidad del Valle del Maule presentaron las mayores concentraciones de ambos polifenoles, lo cual coincide con las más altas concentraciones de taninos totales que presentaron los orujos de esta localidad. Esta última observación es reforzada con las significativas concentraciones de PB3 y Ps presentes en los orujos de esta misma localidad. Es interesante notar las altas concentraciones de flavonoles presentes en los orujos y específicamente las presentes en los orujos de la localidad de Cachapoal. De cualquier modo las concentraciones de flavonoles y flavanoles son mayores que las reportadas en algunos estudios realizados en semillas y hollejos de uva (Obreque-Slier *et al.*, 2010; Santos *et al.*, 2014; López *et al.*, 2015).

CONCLUSIONES

Los escobajos y orujos de uva Carménère provenientes de distintas localidades vitivinícolas, presentan concentraciones diferentes de polifenoles y capacidad antioxidante, las cuales estarían relacionadas con las condiciones climáticas y edafológicas de la localidad de cultivo.

Finalmente, se pudo determinar que tanto orujos como escobajos corresponden a una importante fuente de polifenoles, los cuales podrían ser utilizados con fines nutricionales y farmacológicos.

LITERATURA CITADA

- Aleixandre, J. y Álvarez, I. 2003. *Tecnología Enológica*. Ed. Síntesis. Madrid. España. 446p.
- Andrades, M. y M. González. 1995. Influencia climática en la maduración de la uva: Estudio de cultivares de la Rioja y de Madrid. *Zubía Monográfico*. 7: 79-102.
- Avello, M. y M. Suwalsky. 2006. Radicales libres, antioxidantes naturales y mecanismos de protección. *Atenea*. 494: 161-172.
- Balík, J., M. Kyseláková, N. Vrchotová, J. Tríska, M. Kumsta, J. Veverka, P. Híc, J. Totusek and D. Lefnerová. 2009. Relations between polyphenols content and antioxidant activity in vine grapes and leaves. *Czech Journal of Food Science*. 26: 525-532.
- Bavaresco, L., E. Cantu, M. Fregoni and M. Trevisanz. 1997. Constitutive stilbene contents of grapevine cluster stems as potential source of resveratrol in wine. *Vitis*. 36(3): 115-118.
- Brand-Williams, W., M.E. Cuvelier y C. Berset. 1995. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel Wissenschaft und Technologie*. 22: 25-30.
- Canals, R., M. Llaudy, J. Valls, J. Canals and F. Zamora. 2005. Influence of ethanol concentration on the extraction of color and phenolic compounds from the skin and seeds of Tempranillo grapes at different stages of ripening. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 53: 4019-4025.
- Careti, M. C. Corradini, L. Elviri, I. Nicoletti and I. Zagnoni. 2003. Direct HPLC analysis of quercetin and trans-resveratrol in red wine, grape and winemaking byproducts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 51: 5226-5231.
- Chamorro, S., A Viveros, I. Álvarez, E. Vega and A. Breves. 2012. Changes in polyphenols and polysaccharide content of grape seed extract and grape pomace after enzymatic treatment. *Food Chemistry*. 133: 308-314.
- CIREN. 2005. *Estudio Agrológico IV Región. Descripciones de suelos, materiales y símbolos*. Centro de Información de Recursos Naturales. Santiago. Publicación N°129. 300 p.
- CIREN. 1997. *Estudio Agrológico, VII Región. Descripciones de Suelos. Materiales y Símbolos*. Centro de Información de Recursos Naturales. Santiago. Publicación N°117. 659 p.
- CIREN. 1996a. *Estudio Agrológico, Región Metropolitana. Descripciones de Suelos. Materiales y Símbolos*. Centro de Información de Recursos Naturales. Santiago. Publicación N°115. 425 p.

- CIREN. 1996b. Estudio Agrológico, VI Región. Descripciones de Suelos. Materiales y Símbolos. Centro de Información de Recursos Naturales. Santiago. Publicación N°114. 479 p.
- Cruz, J., H. Domínguez and P. Juan. 2004. Assessment of the production and antioxidant from winemaking waste solids. *Journal Agricultural Food Chemistry*. 52: 5612-5620.
- Cosme, F., J. Da Silva and O. Laureano. 2009. Tannin profiles of *Vitis vinífera* L. cv. red grapes growing in Lisbon and from their mono varietal wines. *Food Chemistry*. 112: 197-204.
- Cuevas, R. 2004. Caracterización polifenólica de hollejos de las variedades cv. Cabernet Sauvignon, Merlot, Cabernet Franc y Carménère durante el periodo de maduración. Memoria Ingeniero Agrónomo. Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Agronómicas. Santiago, Chile.
- De la Cerda, A. 2013. Caracterización polifenólica y de la capacidad antioxidante de orujos de cuatro variedades de *Vitis vinifera* L. Memoria Ingeniero Agrónomo. Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Agronómicas. Santiago, Chile.
- De la Riva, J. 2011. Servicio de vinos: elaboración, cata, conservación y normas generales de servicio. pp. 20. Ideas propias Editorial. España. 266p.
- Díaz-Gómez, R., R. López-Solís, E. Obreque-Slier and H. Toledo-Araya. 2013. Comparative antibacterial effect of gallic acid and catechin against *Helicobacter pylori*. *Food Science and Technology*. 54: 331-335
- Elorduy, X. C. Masqué, C. Martínez, C. Grau, F. Capdevila. 2012. Comprobación de la zonificación e base a parámetros analíticos de los vinos presentes en el mercado. *Acenología*. Disponible en: http://www.acenologia.com/correspondencia/vi_de_vila_Priorat_0212.htm. Leído el 6 de octubre de 2012.
- Elzaawely, A., T. Xuan, H. Koyama and S. Tawata. 2007. Antioxidant activity and contents of essential oil and phenolic compounds in flowers and seeds of *Alpinia zerumbet* (Pers.) B.L. Burtt. and R.M. Sm. *Food Chemistry*. 104: 1648-1653.
- Fernández, E., J. Coello y S. Maspoch. 2010. Estudio quimiométrico de parámetros vinícolas. Memoria de Máster. Universidad Autónoma de Barcelona. Facultad de Ciencias. Departamento de Química. Barcelona. España.
- Fernández, K., J. Kennedy and E. Agosín. 2007. Characterization of *Vitis vinifera* L. cv. Carménère grape and wine proanthocyanidins. *Journal Agricultural Food Chemistry*. 55: 3675-3680.
- Flanzy, C. 2000. *Enología: Fundamentos Científicos y Tecnológicos*. A. Madrid Vicente; Ediciones Mundi-Prensa. 783p.
- Fola, J. 2005. Chile elige al Carménère como cepa emblemática. *Revista Acaecer*. 353: 50.

- Formento, J., J. Rodríguez, H. Galiati, J. Paladino y C. Lúquez. 2005. Mosto concentrado tinto. Nueva variedad de vid para su elaboración. Universidad Nacional de Cuyo. Facultad de Ciencias Agrarias. Mendoza. Argentina.
- García-Barceló, J. 1990. Técnicas analíticas para el vino. Ediciones FAB. Barcelona, España. 1713p.
- Glories, Y. 1978. Recherches sur la matiere colorante des vins rouge. Thèse doctorat d'état, Université de Bordeaux II. 364p.
- Gómez, S., E. García and I. Hermosín. 2007. HPLC analysis of diverse grape and wine phenolics using direct injection and multidetection by DAD and fluorescence. *Journal of Food Composition and Analysis*. 20(7): 618-626.
- González, M., M. Jaurdes, A. Femania, S. Simal, C. Rosselló and P. Teissedre. 2012. Proanthocyanidin composition and antioxidant potential of the stem winemaking byproducts from 10 different grape varieties (*Vitis vinifera* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 60: 11850-11858.
- Hermosín, I. 2007. Copigmentación y piranoantocianos. El papel de los flavonoles y los ácidos hidroxicinámicos en el color del vino tinto. *ACE: Revista de Enología*. n°81.
- Izquierdo, A. 2011. Estudio comparativo de cuatro métodos de extracción de compuestos fenólicos de bayas de *Vitis vinifera* L. Memoria Ingeniero Agrónomo. Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Agronómicas. Santiago, Chile.
- Jackson, R. 2005. Chemical constituents of grapes and wines. In: *Wine Science, principles and applications*. 3rd ed. San Diego, California, EEUU: Elsevier. 789p.
- Jara, M., B. Gordillo, L. González, D. Hernanz, M. Escudero and F. Heredia. 2014. Comparative study of the enological potential of different winemaking byproducts: Implications in the antioxidant activity and color expression of red wine anthocyanins in a model solution. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 62: 6975-6983.
- Jaramillo, D. 2002. Introducción a la ciencia del suelo. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias. Medellín. Colombia. 619p.
- Keller, M. 2003. Grapevine anatomy and physiology. Washigton State University Edtions, United State. 282p.
- Ketter, R. 2008. Caracterización de la composición fenólica de vinos comerciales del cv. Cabernet Sauvignon provenientes de tres valles de Chile, de las vendimias 2002 –2003. Memoria Ingeniero Agrónomo. Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Agronómicas. Santiago, Chile.
- Laufenberg, G., B. Kunz and M. Nystroem. 2003. Transformation of vegetable waste into value added products: (A) the upgrading concept, (B) practical implementations. *Bioresource Technology*. 87(2): 167–198.

- Llobera, A. and J. Cañellas. 2007. Dietary fibre content and antioxidant activity of Manto Negro red grape (*Vitis vinifera* L.): pomace and stem. *Food Chemistry*. 101: 659–666.
- López, J. 2008. Efecto de distintos niveles de luminosidad sobre la composición fenólica y la expresión génica de enzimas de la ruta fenilpropanoide en bayas de variedad Carménère. Memoria Ingeniero Agrónomo. Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Agronómicas. Santiago, Chile.
- López, N., L. Gonzáles, C. González, R. López, P. Santamaría, I. López and T. Garde. 2015. Pulsed electric field treatment to improve the phenolic compound extraction from Graciano, Tempranillo and Grenache grape varieties during two vintages. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 28: 31-39.
- López, M., F. Martínez and C. Del Valle. 2003. The study of phenolic compounds as natural antioxidants in wine. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 43(3): 233–244.
- Makris, D., G. Boskou and N. Andrikopoulos. 2007. Recovery of antioxidant phenolics from white vinification solid by-products employing water/ethanol mixtures. *Bioresource Technology*. 98: 2963–2967.
- Martínez, S., J. González, J. Culebras y M. Tuñón. 2003. Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. Departamento de fisiología, Universidad de León y hospital de León. España.
- Masís, A., M. Vega y J. Sánchez. 2013. El resveratrol y sus posibles usos como nueva terapia farmacológica. *Revista Médica de Costa Rica y Centroamérica*. 70 (608): 679-684.
- Mercurio, M.D., R. Damberg, M. Herderich, and P. Smith. 2007. High throughput analysis of red wine and grape phenolics adaptation and validation of methyl cellulose precipitable tannin assay and modified somers color assay to a rapid 96 well plate format. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 55: 4651-4657.
- Mikes, O., N. Vrchotová, J. Tríska, M. Kyselánová and J. Smidrkal. 2008. Distribution of major polyphenolic compounds in vine grapes of different cultivars growing in south Moravian vineyards. *Czech Journal of Food Sciences*. 26(3): 182-189.
- Monagas, M.; C. Gómez-Cordovés, B. Bartolomé, O. Laureano, J. M. Ricardo-da-Silva. 2003. Monomeric, oligomeric and polymeric composition of flavan-3-ol composition of wines and grapes from *Vitis vinifera* L. cv. Graciano, Tempranillo, and Cabernet sauvignon. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 51(22): 6475-6481.
- Monagas M., B. Bartolomé and C. Gómez-Cordovés. 2005. Update knowledge about the presence of phenolic compounds in wine. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 42: 485-118.
- Muñoz, A. y F. Ramos. 2007. Componentes fenólicos de la dieta y sus propiedades biomedicinales. *Revista Horizonte Médico*. 3(7): 23-31.

- Nicholasa, K., M. Matthews, D. Lobell, N. Willits and C. Field. 2011. Effect of vineyard-scale climate variability on Pinot noir phenolic composition. *Agricultural and Forest Meteorology*. 151: 1556–1567.
- Nicod, N., G. Chiva-Blanch, E. Giordano, A. Dávalos, R. Parker and Francesco Visioli. 2014. Green Tea, Cocoa, and Red Wine Polyphenols Moderately Modulate Intestinal Inflammation and Do Not Increase High-Density Lipoprotein (HDL) Production. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 62: 2228-2232.
- Obreque-Slier, E., A. Peña-Neira, R. López-Solís, C. Ramírez-Escudero and F. Zamora-Marín. 2009. Phenolic characterization of commercial enological tannins. *European Food Research and Technology*. 229(6): 859-866.
- Obreque-Slier E., C. Mateluna, A. Peña-Neira and R. López-Solís. 2010a. Quantitative determination of interactions between tannic acid and a model protein using diffusion and precipitation assays on cellulose membranes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 58: 8375-8379.
- Obreque-Slier E., A. Peña-Neira, R. López-Solís, F. Zamora-Marín, J. Ricardo da Silva and O. Laureano. 2010b. Comparative study of the phenolic composition of seeds and skins from Carménère and Cabernet Sauvignon grape varieties (*Vitis vinifera* L.) during ripening. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 58: 3591–3599.
- Obreque-Slier E., A. Peña-Neira and R. López-Solís. 2012a. Interactions of enological tannins with the protein fraction of saliva and astringency perception are affected by pH. *Food Science and Technology*. 45: 88-93.
- Obreque-Slier, E., A. Peña-Neira, R. López-Solís, A. Cáceres-Mella, H. Toledo-Araya and A. López-Rivera. 2013. Phenolic compositions of skins from four Carménère grape varieties (*Vitis vinifera* L.) during ripening. *Food Science and Technology*. 54(2): 404-413.
- Ojeda, H., C. Andary, E. Kraeva, A. Carbonneau and A. Deloire. 2002. Influence of pre and postveraison water deficit on synthesis and concentration of skin phenolic compounds during berry growth of *Vitis vinifera* cv. Shiraz. *American Journal of Enology and Viticulture*. 53(4): 261-267.
- Peña, 2005. En uvas tintas factores que regulan el color. Informe técnico Vendimia Diciembre. p. 10-12
- Peña-Neira, A., A. Cáceres and C. Pastenes. 2007. Low molecular weight phenolic and anthocyanin composition of grape skin from cv. Syrah (*Vitis vinifera* L.) in the Maipo valley (Chile): Effect of cluster thinning and vineyard yield. *Food Science and Technology International*. 13(2): 153-158.
- Pasten, C. y H. Granett. 2006. Vino, fibrinólisis y salud. *Revista Médica de Chile*. 134: 1040-1048.
- Pérez-Margariño, S. y M. González-SanJosé. 2006. Polyphenols and colour variability of red wines made from grape harvested at different ripeness grade. *Food Chemistry*. 96(2): 197–208.

- Pszczółkowski, P. 2004. La invención del cv. Carménère (*Vitis vinifera* L.) en Chile. Desde la mirada de uno de sus actores. *Revista Universum*. 2(19):150–165.
- Rockenbach, I., E. Rodrigues, L. Gonzaga, V. Caliari, M. Genovese, A. Gonçalves and R. Fett. 2011. Phenolic compounds content and antioxidant activity in pomace from selected red grapes (*Vitis vinifera* L. and *Vitis labrusca* L.) widely produced in Brazil. *Food Chemistry*. 127(1): 174–179.
- Rodríguez-Montealegre R., R. Romero-Peces, J. Chacón-Vozmedian, J. Martínez Gascueña, and E. García-Romero. 2006. Phenolic compounds in skins and seeds of ten grape *Vitis vinifera* L. varieties grown in a warm climate. *Journal of Food Composition and Analysis*. 19: 687-693.
- Ruberto, G., A. Renda, C. Daquino, V. Amico, C. Spatafora, C. Tringal and N. De Tommasi. 2007. Polyphenol constituents and antioxidant activity of grape pomace extracts from five Sicilian red grape cultivars. *Food Chemistry*. 100: 203–210.
- SAG (Servicio Agrícola y Ganadero).Chile. 2012. Informe ejecutivo –Catastro vitícola nacional 2012, Chile. Disponible en: <http://www.sag.cl/sites/default/files/catastro2012-final.pdf>. Leído el 18 de junio de 2014.
- Salgado, A. 2003. Caracterización de la composición fenólica de vinos del cv. Carménère provenientes de cinco valles de Chile. Memoria Ingeniero Agrónomo. Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Agronómicas. Santiago, Chile. 72p.
- Sánchez, A. 2005. Caracterización de la fracción fenólica y de fibra dietética en orujos resultantes de la vinificación de uvas de las variedades Carménère y Sauvignon blanc. Memoria Ingeniero Agrónomo. Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Agronómicas. Santiago, Chile. 43p.
- Sanín, M. 2011. Resveratrol: ¿Un elixir de juventud ? *Revista Est-Ética*. 2 (2): 30-39.
- Santos, M., I. Souza, I. Toaldo, L. Correa, A. Telles, G. Pereira, M. Bordignon and J. Ninow. 2014. Phenolic compounds, organic acids and antioxidant activity of grape juices produced from new Brazilian varieties planted in the northeast region of Brazil. *Food Chemistry*. 161:94-103.
- Sellés, V., R. Ruiz, R. Ferreyra e I. Sellés. 2003. Efecto del estrés hídrico aplicado en distintos periodos de desarrollo de la vid cv. Chardonnay en la producción y calidad del vino. *Agricultura Técnica*. 63(3): 124-135.
- Souquet, J., B. Labarbe, C. Le Guernevé, V. Chaynier and M. Moutounet. 2000. Phenolic composition of grape stems. *Journal Agricultural Food Chemistry*. 48: 1076-1080.
- Spigno, G. and D. De Faveri. 2007. Antioxidants from grape stalks and marc: Influence of extraction procedure on yield, purity and antioxidant power of the extracts. *Journal of Food Engineering*. 78: 793–801.

- Sun, B., J. Da Silva and M. Spranger. 2001. Quantification of catechins and proanthocyanidins in several portuguese grapevine varieties and red wine. *Ciencia e Técnica Vitivinícola*. 16(1): 23-34.
- Sun, B., J. M. Ricardo Da Silva and I. Spranger. 1998. Critical factors of vanillin assay for catechins and proanthocyanidins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 46: 4267-4274.
- Van Leeuwen, C. 2010. Terroir: the effect of the physical environment on vine growth, grape ripening and wine sensory attributes / *Managing Wine Quality: Viticulture and Wine Quality*. A volume in Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition. p. 273–315
- Vatai, T., M. Škerget and Z'eljko Knez. 2009. Extraction of phenolic compounds from elder berry and different grape marc varieties using organic solvents and/or supercritical carbon dioxide. *Journal of Food Engineering*. 90: 246-254.
- Vélez-Marín, M., F. Uribe-Velásquez y M. Lenz Souza. 2012. Papel del resveratrol de uva como antioxidante. *Luna Azul*. 34: 1909-2474.
- Vila, H., S. Paladino, J. Nazralla y H. Gariotti. 2009. Desarrollo de estándares de calidad para uvas *Vitis vinífera* L. cv. Malbec y Syrah. *Revista FCA Universidad Nacional de Cuyo*. 41(2): 139-152.
- Wang, C., S. Chang, B. Inbaraj and B. Chen. 2010. Isolation of carotenoids, flavonoids and polysaccharides from *Lycium barbarum* L. and evaluation of antioxidant activity. *Food Chemistry*. 120: 184-192.
- Yi, C., J. Shi, J. Kramer, S. Xue, Y. Jiang, M. Zhang, Y. Ma and J. Pohorly. 2009. Fatty acid composition and phenolic antioxidants of wine making pomace powder. *Food Chemistry*. 114: 570-576.
- Zimmermann, M. 2006. Extractos de residuos de la vitivinicultura: Concentración de polifenoles. *Revista FCA Universidad Nacional de Cuyo*. 38(1): 99–104.
- Zúñiga, M. 2005. Caracterización de fibra dietaria en orujo y capacidad antioxidante en vino, hollejo y semilla de uva. *Memoria Ingeniero Agrónomo, Mención Enología*. Santiago, Chile: Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de Chile. 68p.