

ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y CONTENIDO EN FENOLES TOTALES EN VINOS DE ORIGEN NACIONAL

Karina R. AVALOS LLANO⁽¹⁾; Sonia C. SGROPPO⁽²⁾ y Jorge R. AVANZA⁽²⁾

ABSTRACT: Twelve red wines, five rosé wines and seven white wines of argentinian production were studied. Total antioxidant activity were determined with chromogen radical DPPH[•] (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) test and total phenolics by two methods: with Folin-Ciocalteu reagent using gallic acid standard and Absorbance at 280 nm. Besides, total anthocyanins were estimated by a spectrophotometric pH differential method. There was a linear correlation between antioxidant activity and total phenolics ($r^2 = 0.981$), but not with anthocyanins.

RESUMEN: Se analizaron 12 muestras de vinos tintos, 5 vinos rosados y 7 vinos blancos de producción nacional, consumidos habitualmente en la región de Nordeste argentino. Se determinó la actividad antioxidante total utilizando el test del radical cromógeno DPPH[•] (2,2-difenil-1-picrilhidracilo) y el contenido en fenoles por dos métodos: con el reactivo de Folin-Ciocalteu utilizando un patrón de ácido gálico y lecturas de Absorbancia a 280 nm. Además, se cuantificó el nivel de antocianinas totales por espectrofotometría a pH diferencial. Se encontró una correlación lineal entre la actividad antioxidante y el contenido en fenoles totales determinado por ambos métodos ($r^2 = 0,981$), no así con el nivel de antocianinas.

Palabras claves: actividad antioxidante total, fenoles totales, vinos argentinos, DPPH[•].

Key words: total antioxidant activity, total phenols, argentine wine, radical DPPH[•].

INTRODUCCIÓN

En los últimos años han surgido numerosos estudios, que demuestran que el consumo moderado de vino es beneficioso para la salud, principalmente en la prevención de enfermedades crónicas asociadas al estrés oxidativo, tales como, aterosclerosis, artritis, demencia, cáncer. Es así que, los compuestos antioxidantes ingeridos en la dieta serían fundamentales para la prevención de este tipo de enfermedades. Los antioxidantes son esencialmente importantes para el organismo por la capacidad que tienen de proteger a las macromoléculas biológicas contra el daño oxidativo. Entre los más conocidos figuran los tocoferoles, el ácido ascórbico, los flavonoides, antocianinas, carotenoides, ácidos fenólicos (Larson, 1997).

Se han propuesto diversos métodos para evaluar la actividad antioxidante en alimentos. En general, estos métodos se basan en la capacidad de los antioxidantes para captar radicales libres (Arnao *et al.*, 1998; Robards *et al.*, 1999). Se utilizan métodos de detección en fase lipídica, generando enzimáticamente el radical ABTS^{•+}, o bien con el test del radical DPPH[•]; en fase acuosa, test TAA y del Status Antioxidante total; en sistemas de membrana,

peroxidación del linoleato, LH/LUV test; actividad antioxidante del óxido nitroso y otros (Cano *et al.*, 2000; Arnao, *et al.*, 2001; Brand-Williams *et al.*,

(1) Becaria de pre-grado de la SECYT-UNNE.

(2) Laboratorio de Tecnología Química. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales y Agrimensura. UNNE. Av. Libertad 5470, (3400) Corrientes, Argentina. E-mail: ssgrosso@exa.unne.edu.ar.

1995; Arnao *et al.*, 1998; Rapisarda *et al.*, 1999; Azuma *et al.*, 1999). Además, las determinaciones de la capacidad antioxidante realizadas *in vitro* dan idea aproximada de lo que ocurre en situaciones complejas *in vivo*. Por otra parte, por lo general, la actividad antioxidante total está dada por la sumatoria de las actividades antioxidantes de los componentes individuales del producto, modificada a veces por el efecto sinergista o inhibidor de cada uno de ellos.

En vinos, los principales compuestos fenólicos son el ácido cafeico, epicatequina, catequina, ácido gálico, cianidina, malvidina-3-glucósido, rutina, miricetina, quercetina, resveratrol (Frankel *et al.*, 1995; Simonetti *et al.*, 1997; Ghiselli *et al.*, 1998). Estos fenoles, además de contribuir a las características organolépticas del vino, poseen en mayor o en menor grado propiedades antioxidantes. Generalmente, la composición fenólica de los vinos depende de varios factores como ser la variedad de las uvas, suelo, clima, prácticas agronómicas, proceso de elaboración, y añejamiento.

Kanner *et al.* (1994) estudiaron el efecto antioxidante de los fenoles del vino en la peroxidación lipídica utilizando diferentes catalizadores biológicos. Vinson y Hontz (1995), propusieron el uso de un índice de fenoles antioxidantes para fijar la capacidad antioxidante en vinos (contenido de fenoles/IC50 de lipoproteínas). Por su parte, Frankel *et al.* (1995), evaluaron la capacidad de inhibición de la oxidación *in vitro* del LDL humano en vinos californianos, analizando la capacidad de los principales compuestos fenólicos y del resveratrol. Otros autores, entre ellos Sato *et al.* (1996), Simonetti *et al.* (1997), Arnao *et al.* (1998), Ghiselli *et al.* (1998), estudiaron la actividad antioxidante en vinos de diversos orígenes (español, italiano y estadounidense) por diferentes métodos y su relación con el contenido de polifenoles.

El objetivo de este trabajo fue determinar la relación existente entre la actividad antioxidante total determinada por medio de la reacción con el reactivo DPPH' en vinos argentinos y el contenido en fenoles totales.

Los ensayos se llevaron a cabo con vinos de origen nacional habitualmente consumidos por el grueso de la población de la región, comercializados en la ciudad de Corrientes durante el período agosto del 2001-mayo del 2002 y correspondientes a un segmento de precios intermedios, los cuales generalmente son elaborados con mezclas de uvas. Se utilizaron 12 marcas de vino tinto, 5 de vino rosado y 7 de vino blanco embotellados en el lugar de origen (Tabla 1). El muestreo se realizó separando 5 botellas de cada marca y las determinaciones se hicieron por triplicado tomando alícuotas de cada botella previo homogeneizado del vino.

Para caracterizar los vinos se efectuaron determinaciones de extracto seco por evaporación de una alícuota del vino y pesada del residuo (g/l) (AOAC-920.62-15th ed. 1990), cenizas por calentamiento en mufla a 550°C (g/l) (AOAC-920.67-15th ed. 1990), dióxido de azufre total, por titulación con I_2 0.02N (mg/l) y pH por potenciometría.

Se determinaron los espectros de las muestras de vino en la zona del UV-visible con un espectrofotómetro Metrolab 1700, utilizando una celda de 1cm de paso óptico termostaticada a 25°C. Los espectros de los vinos tintos y rosados, dentro del rango de longitudes de onda de 400 a 700 nm, se efectuaron sobre muestras diluidas 10 veces con agua destilada, ajustando el pH de las soluciones a 4.0 y 1.0. En los vinos blancos las lecturas se hicieron sin dilución. Para determinar los espectros en la zona del ultravioleta, se utilizaron diluciones de 1:25 para vinos tintos y rosados y 1:10 para los blancos. Las muestras fueron centrifugadas a 3500 rpm durante 10 minutos, antes de realizar las mediciones.

Tabla 1: Identidad y origen de los vinos analizados.

Nº	Establecimiento	Tipo	Etiquetado
----	-----------------	------	------------

1	Cavas de Sta María S.A.	Tinto	Fino	
2	(Mendoza)	Tinto	Fino.	Barbera-
3	Nieto Senetiner (Mendoza)	Tinto	Bonarda.	
4	Santa Ana S.A. (Mendoza)	Tinto	Fino	
5	Aitor Ider Balbo S.A.A.C.I.	Tinto	Fino.Borgoña.Bonarda-	
6	(Mendoza)	Tinto	Malbec	
7	Nieto Senetiner (Mendoza)	Tinto	Fino. Borgoña	
8	Finca Flichman S.A. (Mendo-	Tinto	Fino	
9	za)	Tinto	Fino. Borgoña	
10	N° INVG 72952 (Mendoza)	Tinto	Fino.Borgoña.Bonarda-	
11	Esmeralda S.A. (Mendoza)	Tinto	Malbec	
12	A-71071 (Mendoza)	Tinto	Fino	
13	Humberto Canale S.A. (Río	Rosado	Fino. Borgoña	
14	Negro)	Rosado	Fino	
15	Etchart de PR Argentina S.A.	Rosado	Fino.Borgoña.	
16	(Mendoza)	Rosado	De Mesa	
17	Del Valle S.A. (Mendoza)	Rosado	Fino	
18	FeCoVitA Coop. Ltda (Mendo-	Blanco	Fino. Primavera.	
19	za)	Blanco	Fino. Rose.	
20	FeCoVitA Coop. Ltda (Mendo-	Blanco	Fino	
21	za)	Blanco	Fino. Semillón.	
22	Aitor Ider Balbo S.A.A.C.I.	Blanco	Fino	
23	(Mendoza)	Blanco	Fino	
24	José Orfila Ltda (Mendoza)	Blanco	Fino	
	G-71666 (Mendoza)		Fino	
	López (Mendoza)		Fino	
	Santa Ana S.A. (Mendoza)		Fino	
	N° INVG 72952 (Mendoza)			
	Etchart de PR Argentina S.A.			
	(Mendoza)			
	A-72320, DI 2579 (Mendoza)			
	Trapiche S.A.I.C.A. (Mendo-			
	za)			
	N° INVG 72952 (Mendoza)			

Las antocianinas fueron estimadas en las muestras de vino tinto y rosado aplicando el método de pH diferencial (Prior *et al.*, 1998). Se realizaron las lecturas de la absorbancia de las muestras a pH 4.0 y 1.0 a las longitudes de onda 520 y 700 nm y utilizando la expresión: $A = [(A_{520} - A_{700})_{pH=1} - (A_{520} - A_{700})_{pH=4.0}]$, y se calculó el contenido de antocianinas totales expresándolas en mg de cianidina-3-glucósido equivalente/l ($\epsilon^{1\%} = 29600$ l/mol x cm).

Los fenoles totales se cuantificaron por el método de Folin-Ciocalteu modificación de Sato *et al.* (1996). Se utilizaron diluciones al 2%, 5% y 10% para vinos tintos, rosados y blancos respectivamente. Los resultados se expresan en mg de ácido gálico /100ml de vino.

También se calculó el valor de fenoles totales en vinos que presentaron un máximo de absorbancia a 280 nm, a partir de lecturas a esa longitud de onda, según el método rutinario sugerido por Somers y Evans (1977). Los resultados se expresan en unidades de absorbancia,

utilizando un factor de corrección de 4 (absorbancia de compuestos no fenólicos presentes en vinos).

La actividad antioxidante fue determinada por el test del DPPH' según la técnica propuesta por Brand-Williams (1995) modificada. Se preparó la mezcla de reacción con 100 µl de muestra (dilución 1:10) y 6 ml de solución de DPPH' ($3 \cdot 10^{-3}$ g/100ml) y cuando la reacción alcanzó el estado estacionario se realizó la lectura espectrofotométrica a 517nm. Para todos los vinos se fijó como tiempo de reacción los 40 minutos. Las determinaciones se efectuaron a 20°C. Se calcularon los mg de ácido gálico que presentan una actividad antioxidante equivalente a la actividad encontrada en 100 ml de vino, para lo cual se realizó una curva de calibración de la actividad antioxidante en función de la concentración de ácido gálico.

A los fines de obtener resultados comparables con los obtenidos por Sánchez-Moreno et al. (1999) para vinos españoles, se prepararon diluciones de las muestras de vino tinto en un rango de concentraciones de 5.93×10^{-2} a 35×10^{-2} expresados en g de materia seca/100ml. A 100µl de la muestra se le adicionaron 3.9ml de DPPH' en metanol (0.03 g/l) y se leyeron las absorbancias a 517nm a diferentes intervalos de tiempo hasta que la mezcla de reacción alcanzó el estado estacionario.

Se calculó la concentración de DPPH' remanente utilizando la siguiente expresión:

$$A_{517} = C_{\text{DPPH}'} \cdot (\text{g/l}) \cdot 29.658 - 0.029 \quad (r^2 = 0.999)$$

y se determinó gráficamente el valor de EC_{50} correspondiente a la concentración de vino capaz de reducir a la mitad la concentración inicial del reactivo DPPH'.

Los resultados fueron analizados estadísticamente y las diferencias entre muestras fueron calculadas por un Análisis de Varianza. Se utilizaron niveles de significancia de $\alpha = 0.05$.

ANÁLISIS DE RESULTADOS

A modo de ejemplo, se presentan los valores de los parámetros de caracterización de los vinos analizados en la Tabla 2. Varios autores, entre ellos Somers y Evans (1977); Sato et al. (1996); Hurtado et al. (1997) y Almela et al. (1996) encontraron valores similares en estos parámetros generales de caracterización para vinos de otros orígenes.

Los contenidos de antocianinas totales expresados como cianidina-3-glucósido para los vinos tintos analizados están comprendidos en el rango de 27.4 ± 3.0 mg/l a 116.8

± 1.7 mg/l. En los vinos rosados, los niveles encontrados son más reducidos, 1.07 ± 1.02 mg/l y 38.06 ± 2.04 mg/l. En la Tabla 3, se presentan los valores de antocianinas totales para los vinos tintos y rosados analizados, siendo las diferencias encontradas estadísticamente significativas ($P < 0.05$). Esta amplitud en el rango de antocianinas es debida, en gran parte, a la variedad de las uvas, las técnicas agronómicas utilizadas, el proceso de elaboración y el tiempo de almacenamiento. Aplicando diversas técnicas de separación y cuantificación por HPLC, Frankel *et al.* (1995) encontraron en vinos tintos californianos contenidos de malvidina-3-glucósido de 0.9 a 90.2 mg/l y cianidina-3-glucósido de 0 a 9.5 mg/l, y, por su parte, Ghiselli *et al.* (1998) informaron para un vino italiano niveles de antocianinas del orden de 191 mg/l.

Tabla 2: Valores de extracto seco (g/l), cenizas (g/l), SO_2 total (mg/l) y pH de vinos tintos, rosados y blancos nacionales.

Nº	extracto seco (g/l)	cenizas (g/l)	SO_2 total (mg/l)	pH
1	25.67 \pm 0.04	4.61 \pm 0.10	55.94 \pm 0.01	3.75 \pm 0.01
2	19.75 \pm 0.78	3.71 \pm 0.16	120.38 \pm 1.22	3.80 \pm 0.01
3	20.55 \pm 0.23	3.26 \pm 0.04	58.37 \pm 1.22	3.75 \pm 0.01
4	24.99 \pm 0.26	3.61 \pm 0.13	101.66 \pm 0.64	3.75 \pm 0.01
13	32.61 \pm 0.13	3.35 \pm 0.07	141.44 \pm 3.08	3.75 \pm 0.01
14	16.43 \pm 0.32	3.20 \pm 0.04	112.06 \pm 1.54	3.80 \pm 0.01
15	26.19 \pm 0.14	1.92 \pm 0.11	69.63 \pm 3.08	3.20 \pm 0.01
17	50.83 \pm 0.04	3.18 \pm 0.01	97.92 \pm 1.06	3.80 \pm 0.01
19	18.66 \pm 0.25	4.07 \pm 0.04	98.46 \pm 3.85	3.97 \pm 0.03
20	20.21 \pm 0.11	2.36 \pm 0.04	59.30 \pm 0.77	3.48 \pm 0.03
22	15.36 \pm 0.43	1.87 \pm 0.00	104.45 \pm 3.08	3.30 \pm 0.01
24	17.37 \pm 0.10	2.67 \pm 0.01	148.64 \pm 2.49	3.50 \pm 0.01

Tabla 3: Contenidos de antocianinas totales en vinos tintos y rosados.

Nº	Antocianinas totales (mg de cianidin-3-glucósido equivalente/l)
----	---

2	91.6 ±1.3
3	27.4±3.0
4	116.8±1.7
9	71.3 ±3.1
13	10.2±1.3
14	12.1±1.4
15	12.2±1.4
16	1.07±0.2
17	1.07±2.4

El contenido de fenoles totales expresados en mg de ácido gálico/100ml, estuvo comprendido en el rango de 85.33 a 180.33 para vinos tintos, 57.41 a 67.47 para rosados y 3.73 a 31.80 en vinos blancos (P < 0.05). Estos resultados se encuentran dentro del rango de valores hallados por varios autores para otros vinos (Vinson y Hontz, 1995; Simonetti et al., 1997; Sanchez-Moreno et al., 1999).

Los valores de fenoles totales, en vinos tintos, obtenidos por lecturas de la absorbancia a 280 nm fueron de 22.72 a 40.57, para vinos rosados entre 11.85 y 13.65 y para blancos entre 2.06 y 5.75 (P < 0.05), valores próximos a los reportados por Somers y Evans (1977). Se encontró una relación lineal entre los valores de fenoles totales determinados por el método de Folin-Ciocalteu y las lecturas de absorbancia a 280 nm, de la forma:

$$FT_{670} = 9.785 + 3.534*FT_{280} \quad r^2 = 0.993$$

La actividad antioxidante expresada en mg de ácido gálico equivalentes/100ml de vino tomó valores de 38.4 a 77.8 para los vinos tintos, entre 12.2 y 25.74 para los rosados y 3.80 a 9.96 para los blancos (P< 0.05).

Fig. 1: Relación entre el contenido de fenoles totales expresados como mg de ácido gálico equivalentes/100ml de vino (FT_{670}) y en unidades de absorbancia (FT_{280}) en función de la actividad antioxidante de los vinos (AAO) para los vinos tintos, rosados y blancos analizados.

En la Fig. 1 se puede observar la correlación que existe entre los contenidos en fenoles totales expresados como mg de ácido gálico equivalentes/100ml de vino (FT_{670}) y en unidades de absorbancia (FT_{280}) en función de la actividad antioxidante de los vinos (AAO). La expresión matemática que relaciona ambas variables es:

$$FT_{280} = -0.142 + 0.643 * AAO \quad r^2 = 0.987$$

$$FT_{670} = 3.935 + 2.289 * AAO \quad r^2 = 0.981$$

Vinson y Hontz (1995) y Frankel *et al.* (1995) encontraron una correlación directa entre los polifenoles totales y la actividad antioxidante determinada por el porcentaje de inhibición de la oxidación de lipoproteínas humanas de baja densidad (LDL). Sato *et al.* (1996) analizando vinos de diversos orígenes y años de vendimia, informaron acerca de una relación lineal entre los polifenoles totales y el valor de la capacidad de captar radicales superóxido (SOSA). Simonetti *et al.* (1997), en vinos italianos, obtuvieron resultados similares al medir la actividad antioxidante total mediante el radical ABTS^{•+}. Sánchez-Moreno *et al.* (1999), aplicaron el test del DPPH[•] para cuantificar la capacidad antioxidante en vinos españoles, y encontraron una relación lineal entre el contenido en fenoles totales y la eficiencia antirradical (AE) que es igual a la inversa de la EC_{50} por el tiempo.

Los valores de EC_{50} de los vinos tintos argentinos estuvieron comprendidos dentro del mismo rango que los informados por Sánchez-Moreno *et al.* (1999).

Para los vinos analizados encontramos que la actividad antioxidante puede ser determinada por lectura de la absorbancia de la mezcla de reacción al tiempo en que se alcanzó el estado estacionario, con lo que se logra una simplificación al método de la Eficiencia Antirradical (AE). Por otra parte, en los vinos que tienen un máximo en el espectro para longitudes de onda de 280 nm, se puede cuantificar el contenido total de polifenoles por lectura directa de la absorbancia. A partir de las mediciones del contenido de polifenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu o por lecturas de absorbancia a 280 nm, se puede predecir la actividad antioxidante de los vinos con la relación matemática encontrada.

Con respecto a las antocianinas, no se observó una relación directa con la actividad antioxidante en los vinos rosados y tintos analizados, al igual que lo informado por Frankel et al. (1995); sin embargo, Ghiselli et al. (1998) al estudiar la capacidad antioxidante de las distintas fracciones polifenólicas del vino sugirieron que las antocianinas tendrían un papel importante en la actividad antioxidante total.

CONCLUSIONES

Se puede usar el radical DPPH^{*} como reactivo para la determinación de la actividad antioxidante en vinos, realizando las lecturas de absorbancia cuando la mezcla de reacción alcanza el estado estacionario.

Se encontró una relación lineal entre la actividad antioxidante de los vinos argentinos, determinada por el método propuesto, y el contenido en polifenoles totales (método de Folin-Ciocalteu).

Para vinos tintos y rosados, que presentan un máximo en su espectro UV a 280 nm se propone como método alternativo de cuantificación de fenoles totales, lecturas directas de absorbancia a 280 nm.

Los niveles de antocianinas totales en vinos tintos y rosados no presentaron una correlación directa con la actividad antioxidante de los vinos analizados, la cual resulta de la contribución que realizan las diferentes fracciones polifenólicas.

BIBLIOGRAFÍA

- ALMELA, L.; S. JAVALOY; J.A. FERNÁNDEZ-LÓPEZ and J.M. LÓPEZ-ROCA, 1996. Varietal classification of young red wines in terms of chemical and colour parameters. *J. Sci. Food Agric.*, 70: 173-180.
- AOAC, 1990. *Official Methods of Analysis of Association of Official Analytical Chemists*. 15 ed.
- ARNAO, M.B.; A. CANO and M. ACOSTA, 1998. Total antioxidant activity in plant material and its interest in food technology. *Recen. Res. Devel. in Agricultural and Food Chem*, 2: 893-904.

- ARNAO, M.B., A. CANO; J.F. ALCOLEA and M. ACOSTA, 2001. Estimation of free radical-quenching activity of leaf pigments extracts. *Phytochemical Analysis*, 12: 138-143.
- ASUMA, K.; I, KATSUNARI; I, HIDEKAZU; H. HISAO and J. TERAQ, 1999. Evaluation of antioxidative activity of vegetable extracts in linoleic acid emulsion and phospholipid bilayers. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 79: 2010-2016.
- BRAND-WILLIAMS, W.; M.E. CUVELIER and C. BERSET, 1995. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm.-Qwiss.u-Technol.*, 28: 25-30.
- CANO, A.; M. ACOSTA and M.B. ARNAO, 2000. A method to measure antioxidant activity in organic media: application to lipophilic vitamins. *Redox Report*, 5 (6): 366-370.
- FRANKEL, E.; A. WATERHOUSE and P. TEISSEDE, 1995. Principal Phenolic Phytochemicals in selected California wines and their antioxidant activity in inhibiting oxidation of human low-density lipoproteins. *J. Agric. Food Chem.*, 43: 890-894.
- GHISELLI, A.; M. NARDINI; A. BALDI and C. SCACCINI, 1998. Antioxidant activity of different phenolic fractions separated from an Italian red wine. *J. Agric. Food Chem.*, 46, 2, 361-367.
- HURTADO, I.; P. CALDÚ; A. GONZALO; J. RAMON; S. MINGUEZ and C. FIOL, 1997. Antioxidative capacity of wine on human LDL oxidation in vitro: effect of skin contact in winemaking of white wine. *J. Agric. Food Chem.*, 45: 1283-1289.
- KANNER, J.; E. FRANKEL; R. GRANIT; B. GERMAN and J. KINSELLA, 1994. Natural antioxidants in grapes and wines. *J. Agric. Food Chem.*, 42: 64-69.
- LARSON, R., 1997. *Naturally occurring antioxidants*. CRC Press LLC, pág. 116.
- PRIOR, R.L.; G. CAO; A. MARTIN; E. SOFIC; J. MC EWEN; C. O'BRIEN; N. LISCHNER; M. EHLENFELD; W. KALT; G. KREWER and M. MAINLAND, 1998. Antioxidant capacity as influenced by total phenolic and anthocyanin content, maturity, and variety of *Vaccinium* species. *J. Agric. Food Chem.*, 46: 2686-2693.
- RAPISARDA, P.; A. TOMAINO; R. LO CASCIO; F. BONINA; A. DE PASQUALE and A. SAJJA, 1999. Antioxidant effectiveness as influenced by phenolic content of fresh orange juices. *J. Agric. Food Chem.*, 47: 4718-4723.
- ROBARDS, K.; P.D. PRENZLER; G. TUCKER; P. SWATSITANG and W. GLOVER, 1999. Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits. *Food Chemistry*, 66: 401-436.
- SANCHEZ MORENO, C; J. LARRAURI and F. SAURA CALIXTO, 1999. Free radical scavenging capacity of selected red, rosé and white wines. *J. Science of Food and Agriculture*, 79: 1301-1304.
- SATO, M.; N. RAMARATHNAM; Y. SUZUKI; T. OHKUBO; M. TAKEUCHI and H. OCHI, 1996. Varietal differences in the phenolic content and superoxide radical scavenging potential of wines from different sources. *J. Agric. Food Chem.*, 44: 37-41.
- SIMONETTI, P.; P. PIETTA and G. TETOLIN, 1997. Polyphenol Content and total antioxidant potential of selected Italian wines. *J. Agric. Food Chem.*, 45: 1152-1155.
- SOMERS, C. and M. EVANS, 1977. Spectral evaluation of young red wines: anthocyanin equilibria, total phenolics, free and molecular SO₂, "chemical age". *J. Science of Food and Agriculture*, 28: 279-287.

VINSON, J. and B. HONTZ, 1995. Phenol antioxidant index: comparative antioxidant effectiveness of red and white wines. *J. Agric. Food Chem.*, 43: 401-403.

Recibido/Received/: 10-Jun-03
Aceptado/Accepted/: 20-Nov-03