

COMPOSICIÓN FENÓLICA Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE VARIEDADES MINORITARIAS DE VID DE LAS ISLAS BALEARES

Joana M. Luna, M. Carme Garau, Antoni Negre, Joan March, Antoni Martorell*

***Instituto de Investigación y Formación Agraria y Pesquera. Consejería de
Agricultura y Pesca del Gobierno de las Illes Balears. C/ d'Eusebi Estada,
145, 07009 Palma (Illes Balears). *e-mail: jmluna@dgagric.caib.es***

Área de enología

RESUMEN

La actividad antioxidante de determinados componentes, como podrían ser los compuestos fenólicos presentes en un vino, permiten prevenir reacciones oxidativas de degradación, y por tanto, tienen un efecto positivo contra determinadas enfermedades, gracias a la inhibición del proceso de envejecimiento celular. El objeto de este estudio se centró en la evaluación del potencial antioxidante y del contenido en polifenoles de vinos blancos y tintos procedentes de variedades minoritarias de vid de las Islas Baleares. Para ello, se determinó el contenido en polifenoles mediante el método Folin-Ciocalteu y la actividad antioxidante con los métodos DPPH, FRAP y CUPRAC, así como su correlación con la intensidad de color de los vinos. Los resultados obtenidos mostraron que las variedades tintas, especialmente la variedad Sabater, fue la que presentó un mayor contenido en polifenoles y por tanto, una mayor actividad antioxidante e intensidad de color. Las variedades blancas presentaron valores de éstos parámetros notablemente inferiores a los obtenidos para las tintas.

PALABRAS CLAVE: vino, compuestos fenólicos, capacidad antioxidante

1. INTRODUCCIÓN

Los antioxidantes son compuestos fenólicos que inhiben o retrasan el proceso oxidativo de otras moléculas. La mayoría de antioxidantes naturales se obtienen a partir de plantas y son mayoritariamente compuestos fenólicos o polifenólicos (Llobera, 2004).

Está demostrado el efecto protector de los antioxidantes biológicos contra el cáncer y sobre enfermedades coronarias, arterioesclerosis, diabetes, artritis reumática, Parkinson y Alzheimer, entre otros. Igualmente retardan el proceso de envejecimiento celular (Rupasinghe & Clegg, 2007; Garewall, 1997).

Así pues, el uso de antioxidantes naturales ha sido promovido debido a los efectos positivos que tienen sobre la salud, pero también debido a la creciente preocupación de que algunos antioxidantes sintéticos pueden tener efectos

secundarios no deseables sobre la salud (Majo et al., 2008; Okonogi et al., 2007).

En los últimos años se ha despertado el interés en buscar alternativas naturales, como por ejemplo los biofenoles de plantas, que tengan una actividad antioxidante similar o incluso superior a los antioxidantes sintéticos. Este es el motivo por el cual, el estudio de antioxidantes naturales ha aumentado de forma considerable (Beutner, 2001).

Se ha demostrado que el vino es una de las fuentes más importantes en cuanto al contenido en antioxidantes (Fernández-Pachón et al., 2006; Monagas et al., 2006). Desde entonces, se ha mostrado un gran interés en la evaluación de la composición fenólica y de la actividad antioxidante de los vinos, ya que los polifenoles ayudan a prevenir el estrés oxidativo, y con ello todas las enfermedades anteriormente mencionadas.

La determinación de polifenoles en vinos se centra principalmente en dos métodos: el índice de polifenoles totales (IPT), que es una magnitud adimensional que sirve para evaluar de forma conjunta la presencia de polifenoles en los vinos, y el índice de Folin-Ciocalteu, que determina la concentración de polifenoles totales de los vinos expresado en miligramos de ácido gálico equivalente por litro. El perfil polifenólico de los vinos tintos se diferencia de los blancos principalmente por la distinta composición de las uvas tintas y blancas, además de la tecnología de vinificación utilizada.

La actividad antioxidante en el vino puede ser evaluada de distintas maneras. Los métodos más utilizados son: DPPH, FRAP y CUPRAC. En ellos, a partir de la formación de radicales, se determina la capacidad que tiene la muestra de vino para reducir estos radicales, que será proporcional a la cantidad de antioxidantes contenidos en la muestra de vino (Kondrashov et al., 2009).

2. OBJETIVOS

El objetivo del presente estudio fue determinar la composición fenólica y la capacidad antioxidante de cinco vinos monovarietales, procedentes de variedades minoritarias de vid de las Islas Baleares.

3. METODOLOGÍA

3.1. Muestra

Se recolectaron cinco variedades autóctonas minoritarias de las Islas Baleares, y mediante la elaboración de microvinificaciones se obtuvieron sus correspondientes vinos monovarietales. Las variedades estudiadas fueron: Sabater, Gorgollassa y Escursac como variedades tintas, y Giró Ros y Quigat como variedades blancas. Las variedades Gorgollassa y Giró Ros son de reciente autorización en la comunidad autónoma, mientras que el resto han mostrado tener aptitudes enológicas suficientes para empezar con el proceso de autorización.

3.1.1. Elaboración de vinos blancos

Para la vinificación de los vinos blancos se utilizó una prensa hidráulica de 30 L de capacidad con una presión de 1 a 2 atm. El mosto obtenido tras el prensado se sulfitó con 50 mg SO₂/L y se desfangó a una temperatura de 8 °C. Finalmente, se hicieron las rectificaciones necesarias hasta obtener una acidez total de 5 g ácido tartárico/L y 12° de alcohol potencial.

La fermentación se realizó en depósitos de acero inoxidable a una temperatura de 17 °C y tras inocular 0.25 g/L de levaduras comerciales liofilizadas *Saccharomyces cerevisiae* (Lalleman, Rhone 2226). Diariamente, se efectuaron controles de densidad y temperatura del mosto para determinar el momento de finalización de la fermentación. Una vez terminada la fermentación y tras una adición de sulfuroso, el vino fue trasegado en varias ocasiones hasta su embotellamiento.

3.1.2. Elaboración de vinos tintos

La uva, una vez despalillada y sulfitada (50 mg SO₂/L), se incorporó en depósitos de vinificación de acero inoxidable. Se hicieron las mismas correcciones que en los vinos blancos para obtener la acidez y contenido en azúcares deseado. La fermentación alcohólica se controló a una temperatura de 25 °C y con la misma levadura que en los vinos blancos. Para evitar acetificaciones de las partes sólidas se realizaron bazuqueos diarios. Una vez terminada la fermentación alcohólica, el vino fue descubado y corregido mediante la aplicación de sulfuroso. Se añadió 0.01 g levaduras/L al depósito para iniciar la fermentación maloláctica. Una vez terminada la fermentación, se realizaron varios trasiegos hasta su posterior embotellado.

3.2. Composición fenólica

3.2.1. Índice de polifenoles totales (IPT)

La determinación del índice de polifenoles totales (IPT) del vino se realizó mediante la medida de la absorbancia a una longitud de onda 280 nm por espectrofotometría (espectrofotómetro Beckman serie U).

3.2.2. Contenido en polifenoles totales

La cuantificación polifenólica de los vinos fue determinada con el método oficial UE, denominado índice de Folin-Ciocalteu, usando ácido gálico como patrón. En un matraz de 25 mL se colocó una alícuota de muestra (200 µL para los vinos tintos y 500 µL para los vinos blancos), 0.5 mL del reactivo de Folin y 10 mL de carbonato sódico anhidro al 20%. La absorbancia de las muestras fue medida a 750 nm transcurridos 30 minutos.

Los resultados fueron expresados en miligramos equivalentes de ácido gálico por litro de vino (GAE/L).

3.3. Intensidad de color y matiz

Las absorbancias de los vinos se determinaron en muestras diluidas de vino a 420, 520 y 620 nm. La intensidad colorante es la suma de las tres absorbancias

y el matiz la relación entre la absorbancia a 420 nm y a 520 nm multiplicada por el factor de corrección 100.

3.4. Capacidad antioxidante

Para realizar las analíticas se usó una dilución 1:20 para los vinos tintos y 1:1 para los vinos blancos. Todas las muestras fueron analizadas por triplicado en un lector de placas.

3.4.1. Método DPPH

La capacidad de captación de radicales de los vinos fue determinada usando el radical 1,10-diphenyl-2-picryl-hydrazyl radical (DPPH) descrito por Brand-Williams et al. (1995) y modificado por Roussis et al. (2008). La decoloración del radical se determinó a 515 nm y la cuantificación se determinó usando una solución patrón de trolox (25-300 µM).

Los volúmenes utilizados fueron 190 µL de DPPH y 10 µL de muestra diluida. Las lecturas de absorbancia se hicieron cada minuto durante 30 minutos.

Los resultados fueron expresados como capacidad antioxidante en equivalentes de trolox (TEAC).

3.4.2. Método FRAP

El ensayo FRAP mide la capacidad de los antioxidantes contenidos en la muestra para reducir el complejo tripiridyltriazine férrico a una forma ferrosa Fe^{2+} , que absorbe luz a 593 nm (Özgen et al., 2006).

El reactivo FRAP fue preparado mediante una disolución TPTZ 0.01 M, añadiendo $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0.02 M y tampón de acetato sódico 0.3 M. Tras una incubación a 25 °C se efectuaron las lecturas a 593 nm. Los volúmenes utilizados fueron 190 µL de reactivo FRAP y 10 µL de muestra diluida.

El trolox fue utilizado como recta patrón, y los resultados se expresaron como capacidad antioxidante en equivalentes de trolox (TEAC).

3.4.3. Método CUPRAC

Finalmente, se valoró el método CUPRAC, basado en una reducción cúprica, usando el reactivo cobre (II)-neocuproína $[\text{Cu (II)-NC}]$ como agente oxidante cromogénico.

A la mezcla del reactivo cúprico se le añadieron 25 µL de muestra y 30 µL de agua, para obtener un volumen total de 195 µL. Tras una incubación a 25 °C se leyó la absorbancia a 450 nm.

4. RESULTADOS

4.1. Composición fenólica

Los métodos usados para determinar la composición fenólica de los vinos fueron el índice de polifenoles totales (IPT) y el método oficial Folin-Ciocalteu.

La determinación del IPT permite hacer un análisis comparativo entre las variedades objeto de estudio, ya que debido a su carácter adimensional no permite una cuantificación directa de la variedad. Según los resultados obtenidos, las variedades tintas mostraron valores muy altos con respecto a las variedades blancas. La variedad que presentó mayor IPT fue Sabater con un valor de 32.53, seguida de Escursac y Gorgollassa con valores de 28.52 y 22.93 respectivamente. Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1. Índice de Polifenoles Totales (IPT) e Índice de Folin para cada una de las variedades.

Variedad	IPT	Índice de Folin (mg GAE/L)
Sabater (t)	32.53 ± 0.03	1169.14 ± 2.06
Escursac (t)	28.52 ± 0.10	971.40 ± 2.81
Gorgollassa (t)	22.93 ± 0.10	869.59 ± 3.58
Giró Ros (b)	4.95 ± 0.09	214.86 ± 0.94
Quigat (b)	3.58 ± 0.08	128.02 ± 0.31

t, vino tinto; b, vino blanco; (n=3)

Al igual que con el IPT, el índice de Folin-Ciocalteu de los vinos blancos mostró valores muy bajos. El valor máximo fue alcanzado por el vino Sabater, con 1169.14 mg ácido gálico/L.

4.2. Intensidad de color y matiz

La caracterización del color de las variedades se hizo mediante dos variables, la intensidad y el matiz. La primera da una idea de la cantidad de color que posee el vino y la segunda representa la importancia relativa del color amarillo sobre el rojo expresado en tanto por cien (Zamora, 2003).

En la tabla 2 se puede observar que el vino monovarietal que obtuvo más intensidad de color fue Sabater, y la de menor color fue Quigat, con una absorbancia de 0.06. Además, se aprecia que existe una relación inversa entre la intensidad colorante y el matiz, ya que a mayor valor de intensidad menor valor de matiz, y por tanto menor importancia del color amarillo sobre el rojo, y viceversa. Se puede decir pues, que cuanto menor cantidad de color tiene un vino adquiere tonalidades más amarillas (de aquí que los vinos blancos presenten una intensidad colorante tan baja).

Tabla 2. Intensidad de color y matiz en vinos de variedades minoritarias.

Variedad	Intensidad de color	Matiz
Sabater (t)	4.05 ± 0.03	482.71 ± 2.80
Escursac (t)	3.61 ± 0.05	316.39 ± 0.83
Gorgollassa (t)	2.28 ± 0.09	386.44 ± 1.90
Giró Ros (b)	0.10 ± 0.01	1289.59 ± 243.17
Quigat (b)	0.06 ± 0.01	7300.01 ± 141.42

t, vino tinto; b, vino blanco; (n=3)

4.3. Capacidad antioxidante

Los métodos DPPH, FRAP y CUPRAC están entre los métodos más utilizados para determinar la capacidad antioxidante. Se recomienda que al menos dos de estos ensayos se combinen para proporcionar una imagen fiable de la capacidad antioxidante total de un producto alimenticio (Pérez - Jiménez et al., 2008).

Independientemente del método utilizado (FRAP, CUPRAC o DPPH), los valores antioxidantes para todos los vinos estudiados fueron más altos con CUPRAC, intermedios con FRAP, y los más bajos con el ensayo DPPH. Los resultados obtenidos se muestran en la tabla 3.

Sin embargo, si analizamos las muestras por separado, el vino elaborado a partir de la variedad Sabater volvió a presentar los valores más elevados para cada uno de los ensayos. Y nuevamente, los vinos blancos fueron las muestras que obtuvieron los valores más bajos, demostrando que la cantidad de polifenoles totales está relacionado con la capacidad antioxidante de la muestra.

Tabla 3. Capacidad antioxidante total para los ensayos DPPH, FRAP y CUPRAC.

Variedad	Ensayo DPPH (mmol Trolox/L)	Ensayo FRAP (mmol Trolox/L)	CUPRAC (mmol Trolox/L)
Sabater (t)	4.22 ± 0.65	5.38 ± 0.79	9.21 ± 0.23
Escursac (t)	3.27 ± 0.29	4.51 ± 0.66	8.15 ± 0.24
Gorgollassa (t)	3.42 ± 0.51	4.45 ± 0.73	7.64 ± 0.27
Giró Ros (b)	0.33 ± 0.06	0.71 ± 0.14	1.50 ± 0.07
Quigat (b)	0.31 ± 0.07	0.45 ± 0.05	1.07 ± 0.02

t, vino tinto; b, vino blanco; (n=5)

Los valores de actividad antioxidante determinados por el método DPPH para vinos son similares a los obtenidos por Villaño et al. (2006) y Alén-Ruiz et al. (2009).

5. CONCLUSIONES

La caracterización de los compuestos fenólicos de las variedades de vid minoritarias de las Islas Baleares mostró una elevada presencia de estos compuestos en las variedades tintas. Cabe destacar que la variedad Sabater exhibió la mayor intensidad de color, mientras que la variedad blanca Quigat presentó los menores valores tanto en composición fenólica como en tonalidad de color. En general, se observó una elevada correlación entre ambos parámetros.

Los resultados de la capacidad antioxidante de las muestras mostraron una elevada correlación con el contenido en fenólicos e intensidad colorante. Todos los métodos evaluados (DPPH, FRAP y CUPRAC) indicaron la mayor actividad antioxidante en el vino tinto Sabater y la menor en Quigat.

Tal y como era de esperar, las variedades blancas obtuvieron un menor contenido en fenoles y una menor actividad antioxidante que las variedades negras.

6. AGRADECIMIENTOS

Los autores del presente trabajo agradecen el apoyo económico del proyecto RTA2009-00119, financiado por el INIA.

Bibliografía

ALÉN-RUIZ, F., GARCÍA-FALCÓN, M.S., PÉREZ-LAMELA, M.C., MARTÍNEZ-CARBALLO, E., SIMAL-GÁNDARA, J. (2009). "Influence of major polyphenols on antioxidant activity in Mencía and Brancellao red wines". *Food Chemistry*, Vol. 113, pgs. 53–60.

BEUTNER, S., BLOEDORN, B., FRIXEL, S., HERNÁNDEZ BLANCO, I., HOFFMANN, T., MARTIN, H.D., MAYER, B., NOACK, P., RUCK, C., SCHMIDT, M., SCHULKE, I., SELL, S., ERNST, H., HAREMZA, S., SEYBOLD, G., SIES, H., STAHL, W. Y WALSH, R. (2001). "Quantitative assessment of antioxidant properties of natural colorants and phytochemicals: carotenoids, flavonoids, phenols and indigoids. The role of β -carotene in antioxidant functions", *J. Sci. Food Agric.*, Vol. 81, pgs. 559-568.

BRAND-WILLIAMS, W., CUVELIER, M.E., BERSET, C. (1995). "Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity", *Food Science and Technology*, Vol. 28(1), pgs. 25-30.

FERNÁNDEZ-PACHÓN, M.S., VILLAÑO, D., TRONCOSO, A.M., GARCÍA-PARRILLA, M.C. (2006). "Determination of the phenolic composition of sherry and table white wines by liquid chromatography and their relation with antioxidant activity", *Analytica Chimica Acta*, Vol. 563 (1-2), pgs. 101-108.

GAREWALL, A. S. (1997). "*Antioxidants and disease prevention*". Boca Raton FL.

KONDRASHOV, A., SEVCIK, R., BENÁKOVÁ, H., KOSTIROVA, M., STÍPEK, S. (2009). "The key role of grape variety for antioxidant capacity of red wines". *The European e-Journal of Clinical Nutrition and Metabolism*, Vol. 4, pages. 41-46.

LLOBERA, A. (2004). "*Obtenció d'antioxidants naturals a partir de subproductes del procés de vinificació del raïm autòcton Manto negro*". Conselleria d'Agricultura i Pesca, Quaderns d'Investigació, Vol. 1.

MAJO, D. D., LA GUARDIA, M., GIAMMANCO, S., LA NEVE, L., GIAMMANCO, M. (2008). "The antioxidant capacity of red wine in relationship with its polyphenolic constituents". *Food Chemistry*, Vol. 111, pgs. 45-49.

MONAGAS, M., GÓMEZ-CORDOVÉS, C., BARTOLOMÉ, B. (2006). "Evolution of the phenolic content of red wines from *Vitis vinifera* L. during ageing in bottle", *Food Chemistry*, Vol. 95(3), pgs. 405-412.

OKONOGI, S., DAUNGRAT, C., ANUCHPREEDA, S., TACHAKITTIRUNGROD, S., & CHOWWANAPHOONPOHN, S. (2007). "Comparison of antioxidant capacities and cytotoxicities of certain fruit peels", *Food Chemistry*, Vol. 103(3), pgs. 839-846.

OZGEN, M., REESE, R. N., TULIO JR. A. Z., SCHEERENS, J. C., Y MILLER, A. R. (2006). "Modified 2,2-azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid (ABTS) method to measure antioxidant capacity of selected small fruits and comparison to ferric reducing antioxidant power (FRAP) and 2,2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) methods", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Vol. 54, pgs. 1151-1157.

PÉREZ-JIMÉNEZ, J., SERRANO, J., TABERNERO, M., ARRANZ, S., DÍAZ-RUBIO, M. E., GARCÍA-DÍZ, L., GOÑI, I., Y SAURA-CALIXTO, F. (2008). "Effects of grape antioxidant dietary fiber in cardiovascular disease risk factors". *Nutrition*, Vol. 24(7-8), pgs. 646-653.

ROUSSIS, I.G., LAMBROPOULOS, I., TZIMAS, P., GKOULIOTI, A., MARINOS, V., TSOUPEIS, D., BOUTARIS, I. (2007). "Antioxidant activities of some Greek wines and wine phenolic extracts", *Journal of Food Composition and Analysis*, Vol. 21, pgs. 614– 621

RUPASINGHE, H. P., CLEGG, S. (2007). "Total antioxidant capacity, total phenolic content, mineral elements, and histamine concentrations in wines of different fruit sources", *Journal of Food Composition and Analysis*, Vol. 20, pgs. 133-137.

VILLAÑO, D., FERNÁNDEZ-PACHÓN, M.S., TRONCOSO, A.M., GARCÍA-PARRILLA, M.C. (2006). "Influence of enological practices on the antioxidant activity of wines", *Food Chemistry*, Vol. 95, pgs. 394–404

ZAMORA, F. (2003). "*Elaboración y Crianza del Vino Tinto: Aspectos Científicos y Prácticos*", Ed. Mundi-Prensa.