



Govern de les Illes Balears

Conselleria d'Agricultura, Medi Ambient i Territori

**CARACTERITZACIÓ CROMÀTICA, FENÒLICA I
POTENCIAL ANTIOXIDANT DE VINS I
SUBPRODUCTES PROCEDENTS DE VARIETATS
MINORITÀRIES DE VINYA DE LES
ILLES BALEARS**

Investigadors:

Joana Maria Luna Prohens

Antoni Negre Vich

Joan March Mascaró

Josep Cifre Llompart

Carme Garau Taberner

ÍNDEX

ÍNDEX

RESUM.....	12
1. INTRODUCCIÓ	16
1.1. <i>El sector vitivinícola a les Illes Balears</i>	16
1.1.1. La producció de vi a les Illes Balears.....	17
1.1.2. Les varietats minoritàries de les Illes Balears	20
1.2. <i>La generació de residus de la indústria vitivinícola.....</i>	22
1.2.1. Els residus de la indústria agroalimentària.....	22
1.2.2. Els subproductes de la indústria vitivinícola	25
1.2.3. Importància econòmica, social i mediambiental.....	26
1.3. <i>Els antioxidants d'origen natural</i>	27
1.3.1. Característiques dels antioxidants	28
1.3.2. Efectes beneficiosos dels antioxidants sobre la salut humana	29
1.3.3. Els antioxidants en els aliments	30
1.4. <i>Els compostos fenòlics</i>	31
1.4.1. Classificació dels compostos fenòlics	32
1.4.2. Localització dels compostos fenòlics.....	35
1.4.3. Quantificació dels compostos fenòlics	37
1.5. <i>Els mètodes d'avaluació del potencial antioxidant.....</i>	38
1.5.1. Mètodes per avaluar la capacitat antioxidant.....	38
1.5.1.1. Assaig ABTS	39
1.5.1.2. Assaig DPPH	40
1.5.1.3. Assaig FRAP	41
1.5.1.4. Assaig CUPRAC	42
2. OBJECTIUS.....	46
3. MATERIALS I MÈTODES	50
3.1. <i>Condicions experimentals</i>	50
3.1.1. Les varietats de raïm	50
3.1.2. Descripció del camp experimental	52
3.2. <i>Presa i preparació de les mostres</i>	55
3.2.1. Procediment d'elaboració dels vins	57
3.2.2. Procediment d'obtenció dels subproductes	58
3.3. <i>Anàlisi fisicoquímica de les mostres.....</i>	63
3.3.1. Característiques cromàtiques.....	63
3.3.2. Contingut total de compostos polifenòlics.....	63
3.3.2.1. Determinació del contingut en polifenols totals.....	63
3.3.2.2. Determinació del contingut en antocians.....	64
3.3.2.3. Determinació dels tanins condensats	65
3.3.3. Avaluació de la capacitat antioxidant.....	66
3.3.3.1. Assaig ABTS	66
3.3.3.2. Assaig DPPH	67
3.3.3.3. Assaig FRAP	68
3.3.3.4. Assaig CUPRAC	68

3.4. Anàlisi estadística	69
4. RESULTATS I DISCUSSIÓ	72
4.1. Característiques cromàtiques	72
4.1.1. Vins	72
4.1.2. Subproductes	73
4.2. Contingut total de compostos polifenòlics.....	75
4.2.1. Vins	75
4.2.1.1. Contingut en polifenols.....	76
4.2.1.2. Contingut en antocians i tanins	78
4.2.2. Subproductes	78
4.2.2.1. Contingut en polifenols.....	80
4.2.2.2. Contingut en antocians i tanins	83
4.3. Avaluació de la capacitat antioxidant	87
4.3.1. Vins	87
4.3.1.1. Assaig ABTS	88
4.3.1.2. Assaig DPPH	89
4.3.1.3. Assaig FRAP	90
4.3.1.4. Assaig CUPRAC	90
4.3.2. Subproductes	91
4.3.2.1. Assaig ABTS	94
4.3.2.2. Assaig DPPH	95
4.3.2.3. Assaig FRAP	96
4.3.2.4. Assaig CUPRAC	97
4.4. Relacions entre els paràmetres avaluats	100
4.4.1. Relació entre components fenòlics i capacitat antioxidant	101
4.4.1.1. Vins.....	101
4.4.1.2. Subproductes	102
4.4.2. Relació entre la capacitat antioxidant avaluada per diferents mètodes.....	104
4.4.2.1. Vins.....	104
4.4.2.2. Subproductes	105
5. CONCLUSIONS.....	110
6. BIBLIOGRAFIA	116

ÍNDEX TAULES

Taula 1. Classificació dels composts fenòlics presents en el vi i influència en la seva qualitat organolèptica (Font: González-Centeno, 2009).....	33
Taula 2. Descripció de les diferents varietats negres i blanques estudiades.	50
Taula 3. Dades de l'estació meteorològica de Son Ferriol durant l'any 2010 obtingudes del Sistema d'Informació Agroclimàtica per al Reguiu (SIAR).	54
Taula 4. Identificació i codificació de les mostres de vi i els subproductes estudiats.	56
Taula 5. Caracterització global dels vins elaborats a partir de varietats minoritàries i varietats de referència.	58
Taula 6. Rendiments en extracte antioxidants per tipus de subproducte i per cada varietat minoritària i de referència.....	62
Taula 7. Intensitat de color (IC), tonalitat (T) i proporcions de component groga (% Ye), vermella (% Rd) i blava (% Bl) dels vins de varietats minoritàries i de referència. Els valors són mitjanes ($n = 3$) $\pm$ errors estàndards.	72
Taula 8. Intensitat de color (IC), tonalitat (T) i proporcions de component groga (%Ye), vermella (%Rd) i blava (%Bl) dels subproductes de diferents varietats de vinya minoritàries i de referència. Els valors són mitjanes ($n = 4$) $\pm$ errors estàndards.....	74
Taula 9. Índex de polifenols totals (IPT), contingut en polifenols totals (FC: Folin-Ciocalteu), contingut en antocians i contingut en tanins condensats dels vins de varietats minoritàries i de referència. Els valors són mitjanes ($n = 3$) $\pm$ errors estàndards.....	76
Taula 10. Índex de polifenols totals (IPT), contingut en polifenols totals (FC), contingut en antocians i contingut en tanins condensats dels subproductes de diferents varietats de vinya minoritàries i de referència. Els valors són mitjanes ($n = 3$) $\pm$ errors estàndards.	79
Taula 11. Potencial antioxidant avaluat mitjançant els mètodes ABTS, DPPH, FRAP i CUPRAC dels vins de varietats minoritàries i de referència. Els valors són mitjanes ($n = 6$) $\pm$ errors estàndards.	87
Taula 12. Potencial antioxidant avaluat mitjançant els mètodes ABTS, DPPH, FRAP i CUPRAC dels subproductes de diferents varietats de vinya minoritàries i de referència. Els valors són les mitjanes ($n = 6$) $\pm$ errors estàndards.	93
Taula 13. Coeficient de correlació lineal (r) i recta de regressió lineal ($y=ax+b$) entre la composició polifenòlica i la capacitat antioxidant avaluada per diferents mètodes dels vins de varietats minoritàries i de referència.	101
Taula 14. Coeficient de correlació lineal (r) i recta de regressió lineal ($y=ax+b$) entre la composició polifenòlica i la capacitat antioxidant dels subproductes de diferents varietats minoritàries i de referència.	103
Taula 15. Coeficient de correlació lineal (r) i recta de regressió lineal ($y=ax+b$) entre els diferents mètodes emprats per la quantificació de la capacitat antioxidant en vins de varietats minoritàries i de referència.....	105

Taula 16. Coeficient de correlació lineal (r) i recta de regressió lineal ($y=ax+b$) entre els diferents mètodes emprats per la quantificació de la capacitat antioxidant en els subproductes de diferents varietats minoritàries i de referència.	106
---	-----

ÍNDIX FIGURES

Figura 1. Regions vitícoles de les Illes Balears (Font: Vera <i>et al.</i> , 2010).	17
Figura 2. Superfície cultivada de vinya en milers d'hectàrees dels principals països viticultors de tot el món. Dades extretes de l'OIV, 2011.	18
Figura 3. Volum de producció de vi en milions d'hectolitres dels principals països viticultors de tot el món. Dades extretes de l'OIV, 2011.	18
Figura 4. Evolució de la superfície de vinya durant el període comprès entre els anys 2004-2010.....	19
Figura 5. Col·lecció de varietats minoritàries de vinya de les Illes Balears, present al camp experimental de Sa Granja (Conselleria d'Agricultura, Medi Ambient i Territori).	22
Figura 6. Residus de vinya procedents de la indústria vitivinícola: pasta premsada fermentada i rapa, respectivament.	25
Figura 7. Antioxidants com a segrestadors de radicals lliures.....	31
Figura 8. Característiques més significatives de les antocianidines.	34
Figura 9. Fragment de l'estructura polimèrica d'un tanin condensat.	35
Figura 10. Localització dels composts fenòlics al raïm.	36
Figura 11. Localització de la parcel·la objecte d'estudi, situada a Palma (Polígon 29, Parcel·la 9000).....	53
Figura 12. Diagrama ombrotèrmic del camp experimental de Sa Granja durant l'any 2010, amb les temperatures i precipitacions mitjanes mensuals.	55
Figura 13. Procés de vinificació i moment de recol·lecció dels subproductes.	60
Figura 14. Microplaca NUNC de 96 pous per estimar la capacitat antioxidant de les mostres mitjançant un lector espectrofotomètric multiplaques.	66
Figura 15. Intensitat de color dels diferents extractes dels subproductes. Els valors són mitjanes (n = 4) ± errors estàndards.	75
Figura 16. Contingut en composts fenòlics mitjançant el mètode Folin-Ciocalteu (FC). Els valors són mitjanes (n = 3) ± errors estàndards.	77
Figura 17. Índex de polifenols totals (IPT) dels subproductes de diferents varietats de vinya minoritàries i de referència. Els valors són mitjanes (n = 3) ± errors estàndards.	82
Figura 18. Contingut total en polifenols (Folin-Ciocalteu: FC) dels subproductes de diferents varietats de vinya minoritàries i de referència. Els valors són mitjanes (n = 3) ± errors estàndards.	82
Figura 19. Contingut total en antocians dels subproductes de diferents varietats de vinya minoritàries i de referència. Els valors són mitjanes (n = 3) ± errors estàndards.	84

Figura 20. Contingut total en tanins condensats dels subproductes diferents de varietats de vinya minoritàries i de referència. Els valors són mitjanes ($n = 3$) $\pm$ errors estàndards.	85
Figura 21. Capacitat antioxidant dels vins de varietats minoritàries i de referència avaluada pels mètodes ABTS, DPPH, FRAP i CUPRAC. Els valors són mitjanes ($n=6$) $\pm$ errors estàndards.	91
Figura 22. Avaluació de la capacitat antioxidant total de les pastes premsades obtingudes de diferents varietats. Els valors són mitjanes ($n = 6$) $\pm$ errors estàndards.....	98
Figura 23. Avaluació de la capacitat antioxidant total de les pastes fermentades obtingudes de diferents varietats. Els valors són mitjanes ($n = 6$) $\pm$ errors estàndards.....	98
Figura 24. Avaluació de la capacitat antioxidant total de les rapes obtingudes de diferents varietats. Els valors són mitjanes ($n = 6$) $\pm$ errors estàndards.	99

RESUM

RESUM

El present estudi sobre la caracterització cromàtica, fenòlica i del potencial antioxidant de vins procedents de 5 varietats minoritàries de vinya de les Illes Balears, pretén contribuir en el coneixement d'aquests vins, escassament estudiats, i que estan despertant l'interès actual del sector en la recerca de vins amb trets característics i diferencials. Així mateix, també es pretén caracteritzar els seus subproductes (pasta premsada, pasta fermentada i rapa) amb la finalitat de donar-los un valor afegit com a ingredient funcional, ric en antioxidants.

Per a aquesta finalitat, es seleccionaren les varietats minoritàries Escursac, Sabater, Gorgollassa, Giró ros i Quigat, i dues de referència, Cabernet sauvignon i Chardonnay. Es va mesurar la intensitat de coloració, la tonalitat i la proporció de cada color per determinar la caracterització cromàtica. La composició fenòlica es va quantificar mitjançant l'índex de polifenols totals, el mètode de Folin-Ciocalteu, i el contingut en antocians i tanins. La capacitat antioxidant s'avaluà mitjançant els assajos ABTS, DPPH, FRAP i CUPRAC.

Com era d'esperar, els vins negres van presentar major intensitat de color, contingut de compostos fenòlics i capacitat antioxidant que els blancs, essent Escursac la varietat minoritària que exhibí els valors més alts, i Sabater els més baixos. Els vins blancs no van mostrar diferències significatives entre ells. En quant a subproductes, qualsevol dels residus estudiats va proporcionar un interessant contingut en compostos polifenòlics i, en termes generals, es va identificar a la rapa com el subproducte més adequat per obtenir un concentrat d'antioxidants. No va existir cap tendència entre les diferents varietats, i s'ha constatat que el potencial reductor es troba dins el mateix interval en blanques que negres (tant per les rapes com per les pastes). Existeix una estreta relació lineal entre el contingut de polifenols i la capacitat antioxidant. Aquesta, també va ser positiva, encara que menys ajustada, en el cas dels subproductes, a excepció dels antocians, que no van mostrar cap relació. La correlació entre els mètodes antioxidants va ser bona en tots els casos, però menys ajustada en el cas dels subproductes.

INTRODUCCIÓ

1. INTRODUCCIÓ

1.1. El sector vitivinícol a les Illes Balears

Per la seva situació en el centre de la mar Mediterrània, les Illes Balears han rebut al llarg de la història influències de moltes civilitzacions (fenicis, cartaginesos, grecs, bizantins, àrabs, etc.), les quals han anat deixant les seves empremtes, no només en la cultura i el patrimoni balear, sinó també en la qualitat dels seus aliments (Vera *et al.*, 2010).

Aquests aliments de qualitat diferenciada formen part de l'actual riquesa alimentària balear i constitueixen un patrimoni gastronòmic que es troba lligat íntimament a la terra de la qual és originari, ja que són el resultat de la combinació entre la història, la tradició i el medi geogràfic en el qual es produeixen o elaboren. A més, factors com la insularitat, el clima mediterrani (de temperatures suaus i pluviometria moderada) i els tipus de sòls, fan possible que les Illes Balears comptin amb unes característiques edafoclimàtiques pròpies, les quals es deixen sentir en les seves produccions agroalimentàries.

A mitjans dels anys vuitanta, al món vitivinícol de les Illes, es van iniciar una sèrie d'esforços per millorar la qualitat dels vins per respondre a les exigències del consumidor i es va afavorir, tant la introducció de noves varietats d'àmplia implantació internacional, com la de varietats autòctones.

Actualment, a les Illes Balears, es disposa d'un total de vuit denominacions de qualitat, destinant més de 1500 ha al conreu de vinya. Situades a l'illa de Mallorca, s'estableixen les Denominacions d'Origen (DO) *Binissalem* i *Pla i Llevant*, creades els anys 1989 i 1999, respectivament. Les altres sis indicacions geogràfiques, distribuïdes per les diferents illes, són Vins de la Terra (VT): VT *Serra de Tramuntana-Costa Nord* (2002), VT *Illa de Menorca* (2002), VT *Eivissa* (2003), VT *Illes Balears* (2003), VT *de Formentera* (2004) i VT *Mallorca* (2007) (González-Centeno, 2009).

Des de l'aparició de la primera denominació d'origen, el sector vitivinícola de les Illes Balears ha sofert un important creixement (figura 1), molt marcat entre els anys 1999 i 2001 amb l'aparició de la segona DO i dels primers VT.

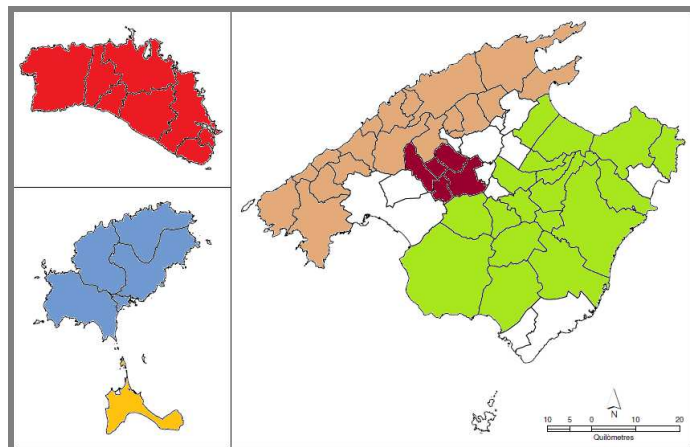


Figura 1. Regions vitícoles de les Illes Balears (Font: Vera *et al.*, 2010).

Per tant, els aliments de qualitat diferenciada originaris de les Illes Balears mostren una personalitat única, que els hi és conferida tant per factors ambientals com per factors humans. Són aliments que compten amb unes qualitats diferencials i una distinció de qualitat, que permet distingir-los de la resta de productes genèrics. A més, es tracta d'aliments que són ben valorats i apreciats pels consumidors, els quals troben en l'etiquetatge la garantia sobre l'origen del producte.

1.1.1. La producció de vi a les Illes Balears

La superfície mundial del vi ocupa una superfície total de 7586 milers d'hectàrees arreu del món. Per zones, la Unió Europea representa el 57.7% de la superfície total cultivada, seguida d'Àsia (21.6%) i Amèrica (13.2%). En quant al volum de producció de vi, l'any 2011, la producció mundial de vins se situa al voltant dels 270 milions d'hectolitres.

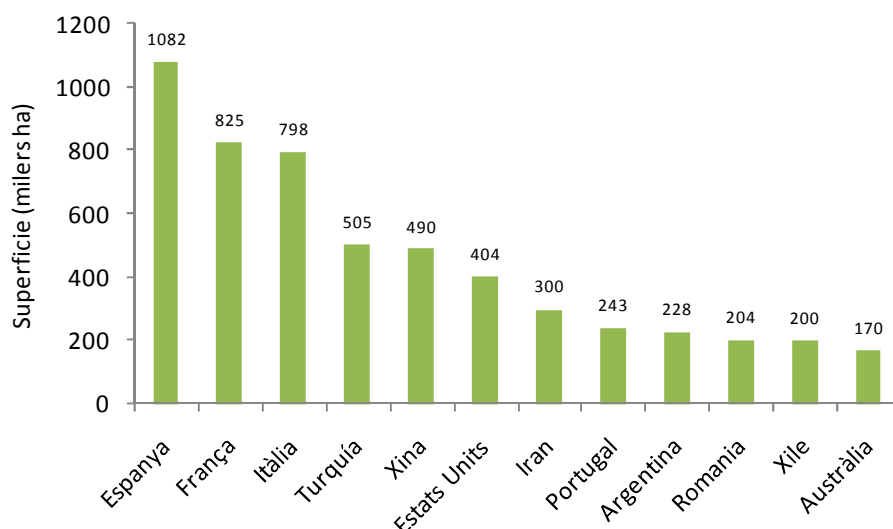


Figura 2. Superfície cultivada de vinya en milers d'hectàrees dels principals països viticultors de tot el món. Dades extretes de l'OIV, 2011.

A nivell estatal, Espanya és la primera regió en superfície plantada de vinya (figura 2) i el tercer país productor de vi de tot el món (figura 3). La producció anual de vi a Espanya s'estima en uns 40 milions d'hectolitres anuals. Cada any es recol·lecten més de 6.503 milions de quilograms de raïm (MARM, 2011).

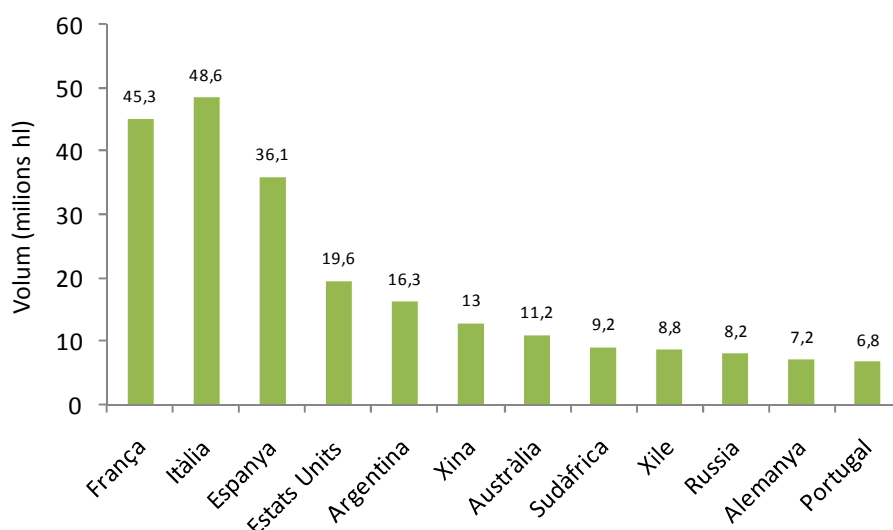


Figura 3. Volum de producció de vi en milions d'hectolitres dels principals països viticultors de tot el món. Dades extretes de l'OIV, 2011.

A les Illes Balears, segons les dades publicades per la Conselleria d'Agricultura, Medi Ambient i Territori (Desco i Mas, 2011), la superfície destinada al cultiu de vinya és de 2922 ha, donant una estimació de 54031 hL de vi elaborat. A l'any 2011, de les 8338 tones veremades, més de la meitat (5276 tones) corresponen a raïm registrat a les denominacions d'origen mallorquines DO Binissalem i DO Pla i Llevant, i la resta, 3062 tones, corresponen al raïm destinat a la producció de vi de la terra, majoritàriament al Vi de la Terra de Mallorca. EL volum de vi

Segons les estadístiques bàsiques de la Conselleria d'Agricultura, Medi Ambient i Territori (2010), si feim referència a les dades de l'evolució de la superfície de vinya (figura 4), el més destacable és el creixement que va experimentar durant l'any 2010 la superfície destinada a produir els vins amb la denominació Vins de la Terra, mentre que la superfície destinada a vins amb denominació d'origen es manté constant.

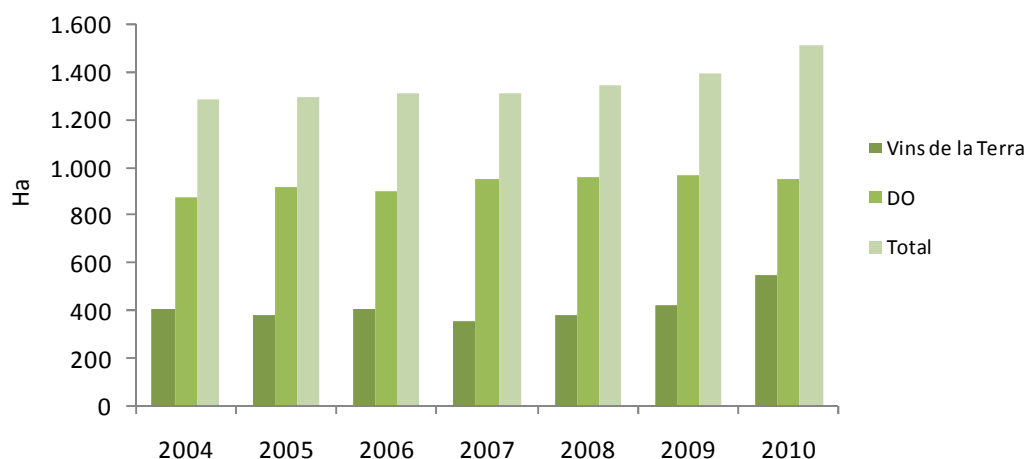


Figura 4. Evolució de la superfície de vinya durant el període comprès entre els anys 2004-2010.

Pel que fa als tipus de vins, la gran majoria és negre, concretament 359451 hL, que es destina tant a vi jove com a vins per a criança i reserva. Els vins negres majoritàriament s'elaboren a partir de vinyes de varietats de raïm autòctones, com el Manto negre o el Callet, però també de foranes, especialment de Cabernet sauvignon, Ull de llebre o

Merlot, entre d'altres més minoritàries. De la resta de vi elaborat, uns 12655 hL es destinen a l'elaboració de vi blanc, i 5429 hL a vi rosat.

1.1.2. Les varietats minoritàries de les Illes Balears

La tendència marcada per el sector vitivinícol a nivell mundial ha limitat el nombre de varietats usades en el procés de vinificació, degut al fet de prioritzar criteris de producció, resistència a plagues o rendiment, la qual cosa condueix a una major homogeneïtzació en la tipologia de vins. D'aquesta manera, en els darrers anys l'evolució de la viticultura ha produït, per una banda, una millora generalitzada dels vins, i per l'altra, una pèrdua de l'originalitat que els lliga a la zona de producció (Puertas *et al.*, 2008).

El sector és conscient de la necessitat d'obtenir vins amb un caràcter diferenciador i peculiar que els concedeixi un valor afegit. Una de les maneres d'afrontar aquesta estandarització és produir vins amb perfils de qualitat, peculiars, lligats al *terroir*, i diferenciant més els productes. Així, la tendència actual del sector vitivinícol es dirigeix cap a l'interès que suscita al sector la recuperació i utilització de material vitivinícol minoritari per a l'elaboració de vi amb característiques més peculiars i de qualitat diferenciada, per damunt aspectes relacionats amb la producció. A més, degut a la importància que ha destacat la comunitat científica en el manteniment dels recursos fitogenètics per a garantir el futur de la biodiversitat, s'ha despertat un gran interès arreu de diferents sectors en potenciar varietats autòctones i minoritàries de diferents indrets.

D'aquí la importància d'apostar pel cultiu de varietats minoritàries i locals per l'elaboració de vins de qualitat que mostrin un perfil diferenciador. I és per això que l'interès per les varietats minoritàries esdevé cada vegada de més importància en el sector productiu (García de Luján *et al.*, 1991).

La viticultura espanyola, de tradició mil·lenària, disposava d'un notable patrimoni genètic, però es va trobar a prop de l'extinció com a conseqüència de la plaga fil·loxèrica, que va dur a quasi un segle d'abandonament del cultiu de les vinyes. A més, la recent reconversió de les vinyes ha fet desaparèixer les plantacions més antigues, que és on es conserva la major part de la riquesa varietal. Així, existeix un marcat perill d'extinció de varietats autòctones que han estat cultivades en distintes regions vitícoles tradicionals i que en l'actualitat es troben només de forma marginal i en ocasions resulta molt difícil la seva localització i identificació. La única forma de conservar aquest patrimoni és detectar-lo, estudiar-lo i conservar-lo en bancs de germoplasma per la seva futura utilització en programes de millora o en reintroduccions amb garantia d'autenticitat varietal.

Actualment, aquest patrimoni genètic en recessió està essent estudiat i recuperat mitjançant diferents projectes de recerca, de manera que en l'actualitat pràcticament totes les regions vitivinícoles d'Espanya estan apostant per estudiar, seleccionar i recuperar les varietats autòctones més adequades de cada zona (Puertas *et al.*, 2009).

La riquesa varietal de vinya de les Illes Balears permet descobrir varietats amb un bon potencial de vinificació i unes característiques enològiques clarament diferenciades que a més suposen un major potencial i una major revalorització del sector. Així, l'estudi de varietats autòctones mallorquines comença amb l'establiment del banc de germoplasma (PMGB) situat a la finca experimental de Sa Granja, propietat de la Conselleria d'Agricultura, Medi Ambient i Territori, depenent del Govern de les Illes Balears (figura 5). El camp experimental es va constituir a partir d'unes primeres accessions enviades pel banc nacional de germoplasma (VGB) l'any 1999, i es va continuar amb més accessions obtingudes de les prospeccions realitzades arreu de l'illa de Mallorca entre els anys 2000 i 2004 (Martorell, 2011).



Figura 5. Col·lecció de varietats minoritàries de vinya de les Illes Balears, present al camp experimental de Sa Granja (Conselleria d'Agricultura, Medi Ambient i Territori).

A nivell de Balears, l'administració pública en col·laboració amb la Universitat de les Illes Balears, està posant esforços en l'estudi, conservació i potenciació de les varietats autòctones, ja que la diversitat genètica present a Balears és suficient perquè no sigui necessari introduir noves varietats de vinificació mitjançant millora genètica. A més, autors com García-Muñoz *et al.* (2011) consideren que la indústria vitivinícola de les Illes Balears és molt apreciada per la seva investigació sobre l'originalitat i l'autenticitat vinculada a les varietats autòctones.

1.2. La generació de residus de la indústria vitivinícola

1.2.1. Els residus de la indústria agroalimentària

La indústria agroalimentària és, no només un dels sectors industrials més extensos, sinó també un sector essencial per a totes les economies. Aquest fet reflexa la seva contribució per satisfer les necessitats bàsiques de tot ésser humà (Maslow, 1970). Com a conseqüència, en els darrers anys s'ha produït un dramàtic augment en la demanda d'aliments degut a l'increment de la població mundial i a l'associat augment

del nivell de benestar d'una part de la població. La resposta a aquests reptes ha estat traduït en una intensificació de l'agricultura, un increment exponencial de la producció d'aliments, així com del transport i emmagatzematge de productes agroalimentaris (Waldron, 2007). En els països més desenvolupats, aquest augment ha vingut acompanyat per un creixement explosiu del processat d'aquests aliments. A mesura que la globalització creix, el processat d'aliments augmenta i els productes finals són transportats als mercats apropiats a qualsevol punt del globus.

Desgraciadament, el processat dels productes agroalimentaris genera una gran quantitat de residus i/o subproductes. Segons estimacions de la xarxa AWARANET (2008) finançada per la Unió Europea, la producció de residus generats pel sector agroalimentari a Europa s'ha estimat en uns 222 milions de tones anuals. Una part significativa d'aquests residus són en certa manera explotats, per exemple, com a substrat per a l'alimentació animal o com a abonats.

Existeixen però grans quantitats d'aquest material a les quals no se'ls dona cap sortida amb els riscos mediambientals que duu associats. El cost associat amb el tractament i eliminació d'aquests residus suposa varies desenes de milions d'euros a l'any, principalment atribuïbles a les diferents estratègies emprades per a la seva eliminació.

Els avantatges que ofereix una utilització racional dels subproductes agroalimentaris basada en estudis científics que incloguin l'aplicació de noves tecnologies poden considerar-se no només des del punt de vista econòmic, contribuint a la diversificació de la producció, sinó també en termes mediambientals, minimitzant la quantitat de residus generats, i inclòs en termes socials, ajudant a la supervivència de sectors agroalimentaris tradicionals.

Molts residus procedents del sector agroalimentari contenen components bioactius que presenten un elevat potencial per ser explotats en diferents camps com l'alimentació, la cosmètica o la farmacologia (Laufenberg *et al.*, 2003). De fet, en els darrer anys s'ha produït un notable augment de l'interès per l'explotació d'aquests

components amb la intenció de revalorar la producció del producte principal (Waldron *et al.*, 2004).

En quant a la normativa que regeix la producció de residus, va ser a partir del Tractat de Roma, a principis dels anys 70, quan es va iniciar la política Comunitària en Medi Ambient. En 1973 va aparèixer el primer dels 5 programes d'acció en matèria ambiental i més endavant, el 1997, la Comissió Europea, mitjançant la Directiva 97/689/CE sobre residus perillosos, revisà l'estratègia Comunitària per a la gestió dels residus i marcà les pautes a seguir per cada un dels Estats Membres. És en aquesta directiva on s'estableix la responsabilitat del productor, la promoció de la valorització, la minimització, l'eliminació final i el control dels trasllats de residus. A Espanya, l'any 1998, amb l'objecte de preveure la producció de residus, es va publicar la Llei 10/1998 de Residus, en la qual s'establia un règim jurídic de la producció, gestió i foment de la reutilització, reciclat i valorització per protegir el medi ambient i la salut de les persones. La importància socioeconòmica i mediambiental d'aquets residus ha donat lloc a l'actualització de la normativa en matèria de residus i la seva reutilització. D'aquesta manera, el passat juliol de 2011, la Llei 10/1998 quedava derogada i substituïda per la nova Llei 22/2011 de 28 de juliol. En l'article 3 i 4 d'aquesta llei, es defineixen els següents conceptes:

- *Residu*: són aquelles substàncies o objectes que són rebutjades pel seu posseïdor o que tenen l'obligació de rebutjar.
- *Subproducte*: són substàncies o objectes que formen part d'un procés de producció; la finalitat primària del procés no és la producció d'aquest.
- *Valorització*: tot aquell procediment, el resultat del qual serveixi per a que el residu tenguin una finalitat útil en substituir altres materials.

1.2.2. Els subproductes de la indústria vitivinícola

Els subproductes de la indústria vitivinícola tenen una especial rellevància si es té en compte que el raïm és un dels cultius fruiters amb major producció mundial: més de 65 milions de tones anuals. Aproximadament, uns 30 milions de tones anuals corresponen a la producció de la Unió Europea en el seu conjunt, essent Espanya, Itàlia i França els països amb major producció (Base de dades FAO a faostat.fao.org).

Es tracta per tant d'un dels sectors agroalimentaris que destaca per l'important volum de residus o subproductes que genera, aproximadament un 20% del raïm tractat (Laufenberg et al., 2003). Aquest tipus de subproductes ha generat als darrers anys un notable interès degut a la presència tant de components antioxidants, com d'un elevat percentatge de fibra alimentària (Femenia, 2007).

Entre els subproductes generats per la indústria alimentària a Espanya, s'han de ressaltar els produïts per la indústria vitivinícola. Si es té en compte que la producció de residus pot arribar a uns 20 kg per cada 100 kg de raïm produït, això suposa que la producció de residus derivats de la indústria vitivinícola pot arribar als 1.300 milions de quilograms de residus (figura 6).



Figura 6. Residus de vinya procedents de la indústria vitivinícola: pasta premsada fermentada i rapa, respectivament.

En menor escala, a les Illes Balears, on el vi és un dels aliments més característics (és l'únic producte que compta amb dues Denominacions d'Origen Protegides), la importància del tractament dels residus/subproductes produïts és important, no només en termes quantitativs sinó també des del punt de vista de qualitat global del procés de producció.

Així, fent referència a les Illes Balears i basant-nos en dades publicades per la Conselleria d'Agricultura, Medi Ambient i Territori, i suposant que la producció de residus és un 20% de la producció total, s'estima que només a Balears es produeixen 1667 tones de residus derivats de la indústria vitivinícola.

1.2.3. Importància econòmica, social i mediambiental

La implementació del concepte de desenvolupament sostenible en la producció vitivinícola sorgeix del principi de sostenibilitat de les activitats humanes, incorporant elements com l'aprofitament dels subproductes.

L'interès per una alimentació sana i equilibrada ha obert les portes als denominats aliments funcionals. Aquests es diferencien dels aliments convencionals pel fet que, a part del seu valor nutricional, contenen elements addicionals que fan que siguin especialment beneficiosos per a la salut (German *et al.*, 1999; Menrad *et al.*, 2003; Shahidi, 2009).

Com a conseqüència del fort descens en el consum de fruites i hortalisses fresques, la dieta és cada vegada més pobre en fibra i substàncies antioxidants. En base a aquestes afirmacions es planteja l'ús d'excedents de producció agrícola com a solució per obtenir concentrats de fibra i antioxidants d'elevada qualitat, la incorporació dels quals a determinats productes alimentaris incrementi no tan sols el seu potencial nutritiu i/o terapèutic (Nassiri-Asl *et al.*, 2009), sinó també el consum de fibra i antioxidants en la dieta.

Així doncs, no basta amb plantejar únicament l'eliminació de residus, s'han d'optimitzar els recursos dels que disposam, donant un nou ús a tot allò que ja s'ha utilitzat. Mitjançant la ciència i la tecnologia s'han d'intentar esgotar les capacitats potencials d'ús que els residus puguin presentar, obtenint així un triple benefici: econòmic, social i mediambiental.

En particular, la indústria del vi de l'illa de Mallorca es troba en creixement, alhora que els residus generats durant l'elaboració de vi tenen un procés més complex degut a la insularitat. Així, la revalorització dels subproductes de la vinificació és cada vegada més reconeguda gràcies a les seves prometedores aplicacions i, sobretot, a causa de les preocupacions ambientals.

1.3. Els antioxidants d'origen natural

En l'actualitat, l'estudi de la capacitat antioxidant constitueix una tecnologia emergent, innovadora, econòmica i respectuosa amb el medi ambient. És per això que està generant un enorme interès en diferents sectors com l'alimentació, la farmacologia, la cosmètica, etc., que requereixen de tecnologies netes i eficients per aconseguir la millora i/o la producció de nous productes.

L'obtenció d'extractes rics en composts amb propietats antioxidants a partir de materials vegetals de diferent procedència, o bé, la recerca d'aliments o begudes amb elevat poder antioxidant, com és el cas del vi, és un dels aspectes que estan essent objecte de nombroses investigacions.

L'ús d'antioxidants sintètics en la indústria alimentària és constantment objecte d'examen per l'Autoritat Europea de Seguretat Alimentària per raons toxicològiques i, per tant, l'interès de les fonts d'antioxidants naturals augmenta constantment. Això fa que la substitució dels antioxidants sintètics pels naturals estigui d'actualitat, i beneficia en gran mesura al sector de la tecnologia alimentària. Hi ha un creixent

interès pels antioxidants naturals a causa del seu paper essencial en la prevenció de diverses malalties i la seva protecció contra el deteriorament químic (Roussis *et al.*, 2007).

La recuperació dels antioxidants provinents dels subproductes de la vinificació és una opció interessant, no només per l'alt contingut en compostos polifenòlics que tenen un efecte protector contra algunes malalties, sinó també perquè es podria donar sortida a una gran quantitat de deixalles de la indústria del vi (Louli *et al.*, 2004).

1.3.1. Característiques dels antioxidants

Les principals característiques d'un compost o sistema antioxidant són: la prevenció o detecció d'una cadena de propagació oxidativa mitjançant l'estabilització del radical generat, i la regeneració de l'antioxidant radicalari ajudant així a reduir el mal oxidatiu en el cos humà (Namiki, 1990).

De la mateixa manera, Gordon (1990) dóna una classificació dels antioxidants, mencionant que hi ha dos tipus principals d'antioxidants: el *primari*, que provoca la ruptura de la reacció en cadena i segresta radicals lliures; i el *secundari*, que pot incloure la desactivació de metalls, inhibició dels hidroperòxids lipídics per interrupció de la producció de volàtils indesitjables, la regeneració d'antioxidants primaris, etc.

En base a tot això, es pot definir un antioxidant en l'àmbit dels aliments com “aquella substància que, en baixes concentracions, actua prevenint o retardant en gran mesura l'oxidació de materials fàcilment oxidables tals com els greixos” (Chipault, 1962).

1.3.2. Efectes beneficiosos dels antioxidants sobre la salut humana

Davant l'estrès oxidatiu d'un organisme, aquest respon amb la defensa antioxidant, però en determinades ocasions pot ser insuficient, desencadenant diferents processos fisiològics i fisiopatològics.

Els efectes protectors dels antioxidants en contra d'aquestes reaccions oxidatives nocives són de major interès, sobretot en termes de biologia, medicina i nutrició (Magalhaes *et al.*, 2008).

En l'actualitat són molts els processos relacionats amb la producció de radicals lliures com són: mutagènesi, transformació cel·lular, càncer, arterioesclerosi, infart de miocardi, diabetis, malalties inflamatòries, trastorns del sistema nerviós central, envelliment cel·lular, etc. (Rice-Evans *et al.*, 1995; Halliwell, 1996). És ben sabut que els productes i subproductes obtinguts de la vinificació són rics en compostos polifenòlics, els quals són coneguts per presentar un efecte protector front a malalties com certs tipus de càncer, arteriosclerosi i malalties del cor, entre d'altres (Rupasinghe i Clegg, 2007; Kronrashov *et al.*, 2009) i també per la seva capacitat per conservar els aliments (Ping *et al.*, 2011b).

Una prova clara de la importància d'aquest tipus de compost tant als productes com als subproductes de la indústria vitivinícola són les nombroses investigacions científiques dedicades a aquesta temàtica en els darrers anys (Torres *et al.*, 2002; Negro *et al.*, 2003; Louli *et al.*, 2004; Kammerer *et al.*, 2005a i 2005b, Pinelo *et al.*, 2006; Makris *et al.*, 2007; Amico *et al.*, 2008; Sánchez-Guerrero *et al.*, 2008; Anastasiadi *et al.*, 2009; Yu *et al.*, 2009; Nassiri-Asl i Hosseinzadeh, 2009).

1.3.3. Els antioxidants en els aliments

A l'organisme es produeix un equilibri entre oxidants/antioxidants, quan aquest equilibri es romp a favor dels oxidants es produeix un estrés oxidatiu que està implicat en molts processos fisiopatològics. Per tant, és de vital importància el consum d'aliments que continguin antioxidants naturals, ja que d'aquesta manera es pot mantenir l'equilibri entre oxidants/antioxidants o inclús que estiguin a favor dels antioxidants. A més, si tenim en compte que durant la vida es produeix un equilibri entre oxidants i antioxidants, i a mesura que l'individu envelleix, aquest balanç està a favor dels oxidants, és de vital importància un consum d'aliments rics en antioxidants naturals per poder contrarestar-los (Young *et al.*, 1999).

Així, un aliment funcional es defineix com “tot aquell aliment semblant en aparença física a l'aliment convencional, consumit com a part de la dieta diària, però capaç de produir efectes metabòlics o fisiològics, útils a la conservació d'una bona salut física i mental, reduint el risc de malalties cròniques-degeneratives, a més de les seves funcions nutricionals bàsiques”.

D'altra banda, els aliments funcionals contenen també substàncies fisiològicament actives que compleixen, al igual que els nutrients essencials, una funció de benefici contribuint a reduir la incidència de certes malalties cròniques i per tant són necessàries per a una vida saludable (Caragay, 1992).

1.3.4. Fonts naturals dels antioxidants

La major part de capacitat antioxidant dels vegetals pot ser deguda als polifenols que posseeixen característiques biològiques extenses i, particularment, a la seva propietat de segrestar radicals lliures (Aquino *et al.*, 2001).

Una gran quantitat d'estudis han establert que els compostos fenòlics de les plantes són potents antioxidants amb efectes antimutagènics i anticarcinogènics (Rice-Evans *et al.*, 1997).

L'activitat antioxidant dels polifenols és la propietat de major interès, ja que ha estat l'objecte de nombrosos estudis; aquest fet es deu a que a la seva estructura química conté un nombre variable de grups hidroxil fenòlics, els quals reaccionen amb els radicals lliures (figura 7).

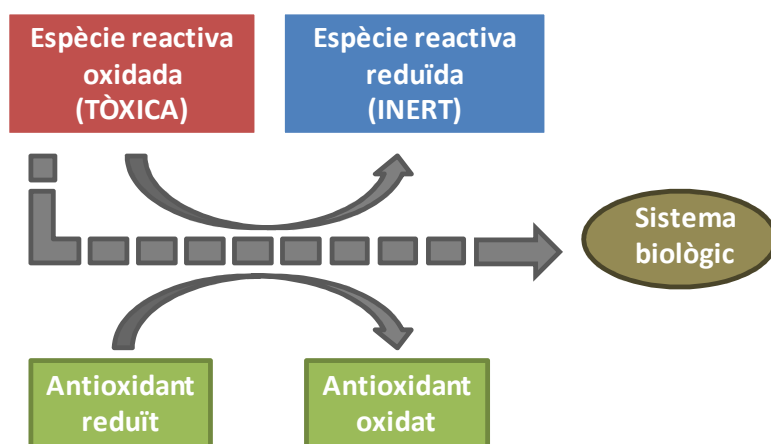


Figura 7. Antioxidants com a segrestadors de radicals lliures.

1.4. Els compostos fenòlics

Les plantes vasculars sintetitzen una gran quantitat de molècules orgàniques com a conseqüència del seu metabolisme secundari. Els fenols són metabòlits secundaris àmpliament distribuïts en el regne vegetal, i es troben localitzats a totes les parts de les plantes i la seva concentració és variable durant tot el seu cicle vegetatiu.

Els compostos fenòlics participen en diverses funcions tals com l'assimilació de nutrients, la síntesi proteica, l'activitat enzimàtica, la fotosíntesi, la formació de components estructurals, l'al·lelopatia i la defensa front als factors adversos de l'ambient (Paladino, 2010).

Un nombre significatiu d'estructures fenòliques estan associades al color, les característiques sensorials (sabor, astringència, duresa), les característiques nutritives i les propietats antioxidants dels aliments d'origen vegetal (Robbins, 2003; Kähkönen *et al.*, 2001).

1.4.1. Classificació dels compostos fenòlics

Les molècules fenòliques poden classificar-se en dos grans grups segons la seva estructura: flavonoides, que són metabòlits d'origen biogenètic mixte (shikimat + acetat) i es troben situats principalment a la pell, rapa i llavors del raïm; i no flavonoides, que provenen d'òrgens biogenètics diversos i es troben presents també a la polpa (taula 1). Ambdós grups es subdivideixen en diferents tipus de composts fenòlics, cadascun dels quals juga un paper determinant en la configuració del cos organolèptic del vi (Hidalgo, 2002; Zamora, 2003; Llaudy, 2006; Romero, 2008; Keskin *et al.*, 2009).

El color és una de les característiques organolèptiques que defineixen la qualitat del vi. En un procés de tast, és el primer atribut en ésser avaluat i ofereix informació sobre la qualitat, el possible aroma, determinades característiques gustatives i l'estat de conservació del vi. Els composts fenòlics participen en la coloració del raïm i en les propietats visuals i gustatives del vi (Reynier i de la Iglesia, 2001).

Taula 1. Classificació dels compostos fenòlics presents en el vi i influència en la seva qualitat organolèptica (Font: González-Centeno, 2009).

Influència en la qualitat organolèptica del vi			
NO FLAVONOIDES	Àcids fenòlics	Àcids benzoics	Baixa influència directa sobre el color, olor i gust del vi. Possible participació al color mitjançant fenòmens de copigmentació. Precursors de fenols volàtils per l'acció de microorganismes, originant possibles defectes olfactius.
		Àcids cinàmics	
	Estilbens	Resveratrol	Cap interferència en el color i gust del vi. Importants propietats funcionals (antioxidant, anticancerígen, antiinflamatori, etc.).
FLAVONOIDES	Flavonols	Influència en la component groga del color del vi negre Contribució al color característic del vi blanc. Participació en la component blava del color del vi negre com a cofactor de copigmentació del antocians.	
	Flavononols i Flavones	Influència similar a la dels flavanols en la qualitat organolèptica del vi.	
	Antocians	Responsables del color característic del vi negre (components vermella i blava). Modulador de la intensitat i tonalitat del vi negre en funció dels fenòmens de copigmentació, polimerització i combinació amb altres compostos fenòlics.	
	Catequines i Tanins Condensats	Participació molt significativa en el cos, estructura, sensació en boca, capacitat per l'envelliment, astringència, amargor, acidesa i estabilitat del color del vi en el temps.	

D'entre tots els compostos fenòlics existents a un raïm, els més destacats són els antocians i els tanins:

Antocians

Els antocians representen una part important tant a nivell qualitatiu com quantitatiu dels flavonoides de la baia. Es localitzen a la pell i a les 3 o 4 primeres capes cel·lulars de l'hipodermis, contribuint de manera preponderant al color de les espècies negres (Flanzy, 2000). Aquests pigments també es troben a les polpes de les varietats tintoreres.

Els antocians estan formats pel denominat catió benzopirili, on certs grups OH fenòlics de la seva estructura han estat substituïts per diferents sucres formant les anomenades antocianidines (figura 8). Depenent del medi en el que es trobin, el color de les antocianines pot variar des del vermell (medi àcid) fins al blau (medi bàsic).

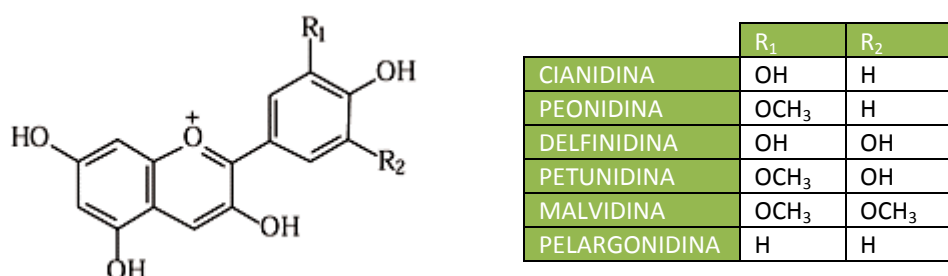


Figura 8. Característiques més significatives de les antocianidines.

Així, els antocians han estat indicats entre els composts fenòlics com els principals responsables dels efectes beneficiosos de consum de vi negre (Soleas *et al.*, 2002; Kong *et al.*, 2003). D'aquesta manera, la pasta de raïm negre, fàcilment disponible a àrees de producció de vi, podria ser explotada com a font de polifenols.

Tanins condensats

Es generen per polimerització de catequines. Aquests polímers constitueixen els tanins presents en el raïm (figura 9), coneguts per la seva capacitat per precipitar les proteïnes (Vila, 2002).

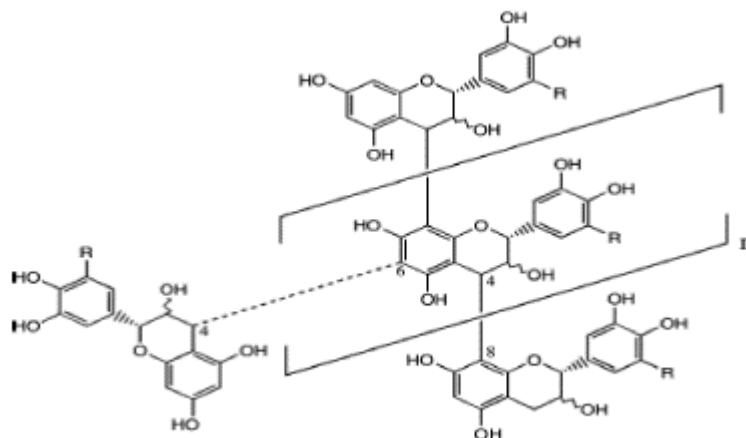


Figura 9. Fragment de l'estructura polimèrica d'un tanin condensat.

Al vi, aquests tanins, a més d'atorgar propietats beneficioses per la salut humana, són els components quantitativament més importants en relació a certes característiques organolèptiques. Així, l'astringència del vi es deu principalment a la presència d'aquestes molècules, a més de que participen molt significativament en el cos, estructura, capacitat per l'envelliment, amargor, acidesa i estabilitat del color del vi en el temps.

Els tanins es sintetitzen durant la primavera (època de creixement de la baia) i la seva síntesi finalitza poc després del verolat. Així que, a partir de finals del verolat, els continguts totals de tanins al raïm ja estan completats i no canvien durant el procés de maduració del raïm (Ojeda, 1999).

1.4.2. Localització dels compostos fenòlics

La distribució d'aquests compostos fenòlics en el raïm s'organitza tal i com mostra la figura 10. La pell conté àcids fenòlics, antocians, tanins i flavonols, mentre que a la polpa es troben àcids fenòlics, alguns tanins i excepcionalment antocians (varietats

tintoreres). En canvi, les llavors contenen àcids fenòlics, i tanins (però aquests són diferents als de la pell i donen astringència i amargor) i la rapa únicament conté tanins.

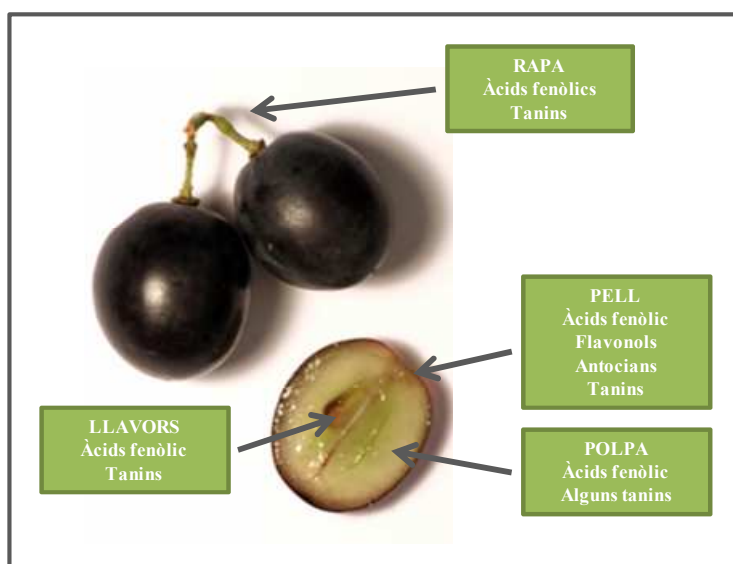


Figura 10. Localització dels composts fenòlics al raïm.

Després de la vinificació, els compostos fenòlics es troben al vi i participen de manera important en la qualitat visual i organolèptica dels vins (cos, estructura, espessor, etc.) i també en els seus defectes (amargor, duresa, falta de cos). Així, els constituents fenòlics més importants a l'hora d'elaborar un vi són els antocians i tanins. La seva evolució durant la maduració és un dels factors determinants de la qualitat del raïm (Reynier i de la Iglesia, 2001).

A les vinificacions clàssiques, només una tercera part del total dels fenols existents passa al vi. El grau d'extracció de substàncies fenòliques depèn de varis factors que incideixen en diversa mesura, segons el tipus de substància de la que tracta. Entre els factors d'extracció poden citar-se la força amb la que està retinguda la substància, l'afinitat entre solut i solvent, el temps d'extracció, la temperatura, la presència de coadjuvants com SO_2 i enzims pectolítics i la manipulació de parts sòlides (Vila, 2002). Així, la maceració és un procés d'extracció fraccionada del raïm negre que involucra la difusió de substàncies des de la fase sòlida (pells, llavor, rapa) fins a la seva dissolució

al vi (Peynaud, 1984). El grau d'extracció depèn de la magnitud i l'estabilitat del color, l'astringència, l'estructura tànnica del vi i el potencial del vi per a l'envelliment (Zoecklein, 1991).

Aparentment, la proporció de les diferents estructures químiques presents al raïm depenen del patrimoni genètic dels ceps. Però per un mateix cep, el contingut dels diversos constituents fenòlics del raïm està condicionat per factors agronòmics com són el tipus de maneig i les condicions climàtiques i de sòl (Vila, 2002).

1.4.3. Quantificació dels compostos fenòlics

Per a la quantificació del contingut en polifenols totals, el mètode de *Folin Ciocalteu* (Singleton *et al.*, 1965; Hidalgo, 2002; Stasko *et al.*, 2008) és el més àmpliament emprat, ja que es basa en mesurar tot allò que és capaç de reduir el reactiu de Folin, donant així una estimació de la potència antioxidant.

Però a més, molts autors mesuren també l'índex de polifenols totals (IPT) a partir de l'absorbància a 280 nm. Tot i que aquesta metodologia es basa en l'absorció característica dels cicles de benzè de la majoria de fenols a aquesta longitud d'ona, i que està per tant, menys influenciada per l'estat oxidatiu de les molècules analitzades (Amendola *et al.*, 2010), és àmpliament emprada per fer estudis comparatius entre el mateix grup de mostres estudiades.

Per a la quantificació dels antocians, no existeix cap mètode capaç de determinar acuradament els antocians totals, si bé aquest valor sol estimar-se a partir dels antocians lliures i els blanquejables, utilitzant mètodes químics i cromatogràfics.

El mètode de determinació dels tanins condensats es basa en una hidròlisi àcida amb calor. Aquestes molècules tenen la propietat d'alliberar antocianidines en medi àcid i calent per la ruptura d'unions intermonomèriques (Vila, 2002). Així, mitjançant

espectrometria es mesura la diferència entre l'absorbància de les antocianidines alliberades.

1.5. Els mètodes d'avaluació del potencial antioxidant

Si feim una recerca bibliogràfica al cercador ISIWeb of Knowledge, la quantitat d'articles que contenen l'expressió "antioxidants" es multiplica en un 400% en la darrera dècada, passant de 16080 articles trobats fins a l'any 1996 fins als 55493 articles a l'any 2011.

Aquesta situació exigeix l'existència d'un simple, convenient i fiable anàlisi de metodologies per a la determinació ràpida de la capacitat antioxidant dels compostos, com ara aliments i mostres biològiques.

Com s'ha comentat en l'apartat anterior, el mètode de *Folin Ciocalteu* és el més àmpliament emprat a la determinació dels composts fenòlics totals. No obstant això, a raó de les propietats antioxidants que manifesten aquests components, l'anàlisi de la capacitat antioxidant total del raïm i/o del vi reflecteix significativament el contingut polifenòlic de les mostres (Radovanovic *et al.*, 2009). La capacitat antioxidant pot mesurar-se mitjançant nombrosos mètodes espectrofotomètrics. Es basen en l'existència de molts i distints substrats, així com per la composició que presenten els distints sistemes en els quals s'efectua la medicació.

1.5.1. Mètodes per avaluar la capacitat antioxidant

L'activitat antioxidant d'un compost pot avaluar-se per distints mètodes que examinen directament l'habilitat d'aquesta capacitat antioxidant a la vegada que avaluen el possible efecte prooxidant sobre diferents molècules.

Aquests mètodes han de ser ràpids, reproduïbles i requerir quantitats petites dels composts químics per analitzar, a més de no estar influenciats per les propietats físiques d'aquests compostos (Marco, 1968).

La majoria de mètodes emprats per determinar la capacitat antioxidant consisteixen en accelerar l'oxidació en un sistema lipídic, usualment mitjançant escalfament i monitorant el consum d'oxigen, la pèrdua de substrat o bé la formació de producte. Degut a que molts factors poden afectar l'oxidació, els resultats poden variar depenent de les condicions d'oxidació emprades. Els assajos que mesuren substrats o productes també poden donar resultats variables depenent de la seva especificitat (Fukumoto i Mazza, 2000).

Entre els mètodes més emprats per a l'avaluació de l'activitat antioxidant total es troben els assajos ABTS, DPPH, FRAP i CUPRAC.

1.5.1.1. Assaig ABTS

Aquest assaig es fonamenta en la quantificació de la decoloració del radical ABTS (Re *et al.*, 1999). El compost ABTS (2,2'-azino-bis-3-etil benzotiazolin -6- sulfonat d'amoni) presenta un color verd clar amb un màxim d'absorció a 342 nm. Quan es fa reaccionar amb el persulfat potàssic es produeix una reacció d'oxidació de l'ABTS, que genera el seu radical. Aquest radical passa a presentar noves característiques amb un color verd fosc i un màxim d'absorció a 734 nm.

Per determinar la capacitat antioxidant d'una mostra, aquesta s'ha d'afegir prèviament a la generació del radical ABTS. D'aquesta manera es determina la inhibició en la formació del radical, que es tradueix en un retràs en l'aparició de la coloració verd fosc.

Entre els avantatges que presenta aquest mètode, trobam que l'eliminació dels radicals lliures de l'ABTS pot ser avaluada en un ampli rang de pH, el que permet

estudiar l'efecte del pH sobre els mecanismes antioxidants. A més, el radical ABTS és soluble en aigua i en dissolvents orgànics, el que permet la determinació de la capacitat antioxidant a mostres tant hidrofíliques com lipofíliques (Magalhaes *et al.*, 2008).

No obstant això, com que els resultats obtinguts per les mostres estan relacionats amb un compost antioxidant estàndard que mostra diferent comportament cinètic, els resultats proporcionats per aquest assaig són dependents del temps d'anàlisi. A més, aquest assaig té l'inconvenient de que el radical ABTS no és representatiu de les biomolècules i, fins i tot, no el podem trobar en cap sistema biològic.

Termodinàmicament, qualsevol compost que té un potencial redox menor que l'ABTS pot reaccionar amb el radical.

1.5.1.2. Assaig DPPH

Aquest mètode es basa en la reducció del radical DPPH pels antioxidants de la mostra. Brand-Williams *et al.*, (1995) van avaluar l'activitat de compostos específics emprant el radical lliure estable 2,2-difenil-1-picrilhidracil (DPPH) en una solució metanòlica. La reducció del DPPH es monitorea per disminució de l'absorbància a una longitud d'ona característica. En la seva forma de radical lliure, el DPPH té una coloració púrpura que absorbeix a 515 nm i quan s'hi afegeix la mostra antioxidant, el radical DPPH sofreix reducció, i la coloració porpra es perd progressivament. En conseqüència, la mesura de capacitat antioxidant és quantificada per decoloració de la solució, que és proporcional a la seva concentració.

La decoloració del radical es determina a 515 nm i la quantificació es realitza emprant solucions patró d'àcid ascòrbic o trolox.

Els inconvenients que presenta aquest mètode és que el DPPH només es pot dissoldre en medi orgànic, i que l'acció entre el DPPH i un compost depèn de la conformació estructural del mateix, pel que les comparacions quantitatives no són sempre apropiades. A més, en alguns casos la interpretació resulta complicada, ja que alguns antioxidants o altres molècules poden causar interferències si posseeixen un espectre d'absorció similar al DPPH, com per exemple els carotenoides.

Malgrat les limitacions esmentades, el radical DPPH és estable i es troba comercialment disponible, i no ha de ser generat abans de l'assaig, com és el cas de l'ABTS. Per tant, es considera un mètode espectrofotomètric fàcil i útil pel que fa per a la detecció de la capacitat antioxidant tant de compostos purs com de mostres complexes (Magalhaes *et al.*, 2008).

1.5.1.3. Assaig FRAP

L'anàlisi FRAP va ser introduït per Benzie i Strain (1996) per mesurar l'activitat antioxidant total d'una mostra. Es basa en la capacitat dels polifenols per reduir un complex fèrric (Fe^{3+}) a un complex ferrós (Fe^{2+}) mitjançant la molècula tripiridil s-triazina (TPTZ). Aquest complex que es genera dóna una coloració blava, d'intensa proporcionalitat a la capacitat reductora de la mostra, que pot quantificar-se per colorimetria (593 nm) en base a un patró de sulfat ferrós (Silva *et al.*, 2002).

Aquest mètode ha estat modificat recentment per al seu ús en microplaques (Tsao i Deng, 2004), donant una millor reproduïbilitat i un rendiment de processament de mostres més alt.

Tal i com ocorre amb els altres mètodes de determinació de capacitat antioxidant, l'assaig FRAP és ràpid, senzill i fàcilment automatitzable, i la capacitat de reduir el ferro es considera un índex del poder antioxidant de la mostra. Però mesurar la capacitat reductora no significa mesurar la capacitat antioxidant. D'aquesta manera, la reacció

no és específica i, per tant, qualsevol reacció amb un potencial redox inferior originarà la reducció del complex Fe^{3+} -TPTZ.

1.5.1.4. Assaig CUPRAC

L'assaig de reducció, CUPRAC, es basa en la reducció del Cu(II) a Cu(I) per l'acció combinada de tots els antioxidants presents en una mostra que actuen com agents reductors. En aquest cas, l'assaig utilitza la neocuprina (2,9-dimetil -1,10-fenantrolina) juntament amb el Cu(I) que té el màxim d'absorbància 450 nm. S'utilitza també com a patró diferents dilucions de trolox per quantificar el potencial antioxidant de la mostra.

L'avantatge que presenta el mètode CUPRAC és que el reactiu cromogènic és soluble tant en aigua com en un medi orgànic, per tant, el mètode es pot assajar tant en antioxidants hidròfils com lipòfils. A més, com en els anteriors mètodes, és simple, clar i fàcilment reproduïble. Però s'ha de mencionar també que aquest mètode no mesura la realitat química que té lloc en l'oxidació dels lípids, i tampoc utilitza una font de radicals biològicament rellevant. Així i tot, aquest no ha de ser un requisit previ per aquest tipus d'assaig, que és àmpliament acceptat.

En definitiva, donades les diferents dificultats o carències que presenten cada un dels mètodes per separat, per aconseguir un perfil de confiança del potencial antioxidant d'un producte és necessari avaluar la seva capacitat antioxidant a partir de diferents mètodes alhora (Pérez-Jiménez et al., 2008), donat que amb un sol mètode no s'obtenen resultats consistents (Rivero-Pérez et al., 2008).

OBJECTIUS

2. OBJECTIUS

El present estudi té com a **objectiu principal** contribuir en la caracterització de la composició cromàtica, fenòlica i capacitat antioxidant dels vins elaborats a partir de varietats minoritàries de vinya de les Illes Balears, així com dels subproductes generats durant el seu procés de vinificació. Amb aquesta finalitat, les matèries primeres que s'utilitzen en aquest projecte estan constituïdes pel vi i els excedents de la seva fabricació, bàsicament rapa, pasta premada i pasta fermentada, corresponents a cinc varietats de raïm locals i dues de referència.

Per tal d'assolir l'objectiu general plantejat i en vistes a la caracterització de vins monovarietals i a l'obtenció final d'un concentrat alimentari a partir dels seus subproductes, que mantingui al màxim les seves propietats antioxidants, es desenvolupen els següents **objectius concrets**:

1. Caracteritzar les propietats cromàtiques i la composició fenòlica, contingut en polifenols totals, antocians i tanins de cinc vins monovarietals procedents de varietats de vinya minoritàries de les Illes Balears.
2. Avaluar el potencial antioxidant dels diferents vins monovarietals en base a quatre mètodes diferents per a la determinació de la capacitat antioxidant total: ABTS, DPPH, FRAP i CUPRAC.
3. Identificar els subproductes més adequats, és a dir, aquells que puguin proporcionar els compostos amb una major bioactivitat (polifenols, antocians i tanins), per la seva posterior incorporació com a ingredients d'alt valor afegit a la indústria alimentària.
4. Avaluar el potencial antioxidant dels diferents subproductes vitivinícoles a partir dels diferents mètodes posats a punt: ABTS, DPPH, FRAP i CUPRAC.

5. Analitzar la influència de la varietat de raïm sobre el color, la composició fenòlica i potencial antioxidant dels diferents subproductes vitivinícoles.
6. Determinar la correlació existent entre la composició fenòlica i el potencial antioxidant avaluats amb els diferents mètodes tant per als vins monovarietats com per als diferents subproductes.
7. Establir la correlació entre els diferents mètodes utilitzats (ABTS, DPPH, FRAP i CUPRAC) per a l'avaluació del potencial antioxidant tant dels vins com dels diferents subproductes.

Es pretén així, no només avançar en el coneixement científic, amb la caracterització fenòlica dels vins monovarietals de varietats minoritàries de vinya, sinó també revaloritzar els subproductes vitivinícoles en base al seu potencial com a font de compostos antioxidants, i donar suport a les bodegues de les Illes Balears envers la problemàtica mediambiental ocasionada per la mala gestió dels subproductes que hi generen.

MATERIALS I MÈTODES

3. MATERIALS I MÈTODES

3.1. Condicions experimentals

3.1.1. Les varietats de raïm

Es varen seleccionar cinc cultivars (*Vitis vinifera* L.) de varietats de raïm autòcton procedents de l'illa de Mallorca. El criteri de selecció de les varietats es fonamentà en tres aspectes: i) varietats que fossin locals de l'illa de Mallorca; ii) varietats autòctones que pel seu interès estiguin autoritzades o en procés d'autorització en el Registre de Varietats Comercials de l'Oficina Espanyola de Varietats Vegetals i/o iii) varietats que pels seus sabors i aromes peculiars han despertat l'interès del sector en la recerca de vins amb trets característics i diferencials.

Les varietats negres escollides van ser Sabater, Escursac i Gorgollassa; i les varietats blanques seleccionades van ser Giró ros i Quigat. Addicionalment, i amb la finalitat de poder comparar els resultats obtinguts per a les varietats autòctones, es consideraren dues varietats de referència: Cabernet sauvignon (negre) i Chardonnay (blanca). A la taula 2 es presenta una descripció breu de cada una de les varietats.

Taula 2. Descripció de les diferents varietats negres i blanques estudiades.

Cabernet sauvignon	
	Varietat negra originària de França, àmpliament estesa a climes temperats i poc humits. Amb bona resistència a plagues i malalties, ja era reconeguda la seva autorització per a la vinificació en el Decret 835/1972 (BOE núm. 87 de 11 d'abril de 1972). Presenta una vigorositat alta i una producció mitjana, amb un raïm de mida mitjana no gaire compacte. Coloració molt intensa i estable.

Taula 2 (cont). Descripció de les diferents varietats negres i blanques estudiades.

Sabater	
	És una varietat tinta, d'elevada producció i bon vigor, sensible a <i>Botrytis</i>. De brotada primerenca i cicle de maduració mitjà, presenta unes fulles grans i un raïm mitjà i compacte. És característica la seva baixa coloració, però presenta un aroma peculiar.
Escursac	
	Varietat tinta, amb una producció i vigor mitjans. Amb un raïm de mida mitjana, solt i baies amb una coloració blau-negre molt intensa. Amb un període de maduració mitjà i un bon aroma. Dins l'any 2011 es va iniciar la tramitació per part de la Conselleria d'Agricultura, Medi Ambient i Territori, per autoritzar l'Escursac com a varietat per a vinificació.
Gorgollassa	
	Varietat tinta, presenta una baixa producció però un bon vigor. De brotada tardana i cicle de maduració llarg. Té unes fulles molt dentades i un raïm de mida mitjana i solt. El seu aroma és peculiar i intens. Varietat recentment autoritzada a les Illes Balears per <i>Ordre del conseller de Presidència de 18 de maig de 2011 per la qual es modifica la classificació de varietats de vinya autoritzades a les Illes Balears</i> (BOIB núm. 81 de 2 de juny de 2011).

Taula 2 (cont). Descripció de les diferents varietats negres i blanques estudiades.

Chardonnay	
	Varietat blanca originària de la zona de francesa de Borgonya, però es troba àmpliament estesa arreu del món. S'adapta molt bé a sòls no humits. Presenta un vigor mitjà i un raïm petit. De brotada i maduració primerenques, és característica per la seva elevada acidesa. A l'igual que el Cabernet s., ja era reconeguda la seva autorització per a la vinificació en el Decret 835/1972 (BOE núm. 87 de 11 d'abril de 1972).
Giró ros	
	Varietat blanca molt productiva i vigorosa, de brotada mitjana. Amb unes fulles grans i raïms grans, solts i allargats. Elevada graduació i aroma peculiar molt intens. Varietat recentment autoritzada a les Illes Balears per <i>Ordre del conseller de Presidència de 18 de maig de 2011 per la qual es modifica la classificació de varietats de vinya autoritzades a les Illes Balears</i> (BOIB núm. 81 de 2 de juny de 2011).
Quigat	
	Varietat blanca de mitjana producció i sensible a míldiu, oïdi i <i>Botrytis</i> , de fulla gran i raïm compacte. Amb una brotada i maduració mitjanes, presenta una baixa graduació.

3.1.2. Descripció del camp experimental

Les varietats de raïm autòctones i de referència estan situades a una mateixa parcel·la experimental, en el banc de germoplasmsa de varietats de vinya de l'Institut de Recerca i Formació Agrària i Pesquera, entitat depenent del Govern de les Illes Balears

(veure figura 11) D'aquesta manera, totes les varietats es troben en les mateixes condicions climàtiques, tipus de sòl i pràctiques de cultiu de la vinya.



Figura 11. Localització de la parcel·la objecte d'estudi, situada a Palma (Polígon 29, Parcel·la 9000).

Les plantes, amb una edat de 13 anys, estan empeltades sobre el peu R-99 i conduïdes en espatllera. El sistema de poda emprat és el Royat (doble cordó, càrrega de 12 gemmes). El marc de plantació és de 2.50 x 1.20 metres.

Es tracta d'un camp experimental amb unes condicions meteorològiques típiques del clima mediterrani que duen associades un període de sequera estival que es pot observar en el diagrama ombrotèrmic de la figura 12. Els mesos de maig i octubre van ser els més plujosos de l'any, sobrepassant els 100 mm de precipitació en ambdós casos.

Les temperatures mitjanes van ser moderades, especialment les mínimes, ja que únicament la del mes de desembre es trobà per davall dels 10 °C (taula 3). L'any 2010 va ser un any sec amb una precipitació mitjana anual de 603 mm, i la temperatura mitjana va ser de 16.60 °C.

Taula 3. Dades de l'estació meteorològica de Son Ferriol durant l'any 2010 obtingudes del Sistema d'Informació Agroclimàtica per al Reguiu (SIAR).

Mes	Temp. Mitjana (°C)	Temp. Màxima (°C)	Temp. mínima (°C)	Humitat mitjana (%)	Velocitat vent (m/s)	Precip. (mm)	Radiació (MJ/m ²)	ETP (mm)	nº hores insolació
G	10.13	17.27	-0.78	80.01	1.25	88.60	7.28	28.98	7.15
F	10.78	20.06	-1.05	78.36	1.30	59.80	10.47	40.25	8.42
M	11.13	21.52	-1.72	77.81	1.10	56.20	14.65	64.62	9.61
A	14.62	26.37	3.95	76.88	0.89	30.60	19.55	82.47	10.73
M	17.48	31.07	7.00	71.34	1.05	116.00	25.46	133.87	11.44
J	21.57	32.60	12.52	68.21	1.21	15.20	26.63	146.70	12.77
J	25.80	37.24	0.00	68.11	1.29	1.20	27.11	179.10	12.45
A	24.99	35.10	15.37	69.90	1.21	3.80	22.48	147.79	11.50
S	22.05	32.31	0.00	71.65	0.95	37.40	18.54	104.61	10.50
O	17.54	29.46	4.33	78.49	1.10	113.00	12.83	65.39	9.07
N	13.40	22.63	1.28	76.61	1.17	38.80	8.88	38.18	7.67
D	9.72	21.64	-2.72	83.95	0.92	42.40	6.99	23.11	6.88
Anual	16.60	37.24	-2.72	75.11	1.12	603.00	16.74	1055.06	9.85

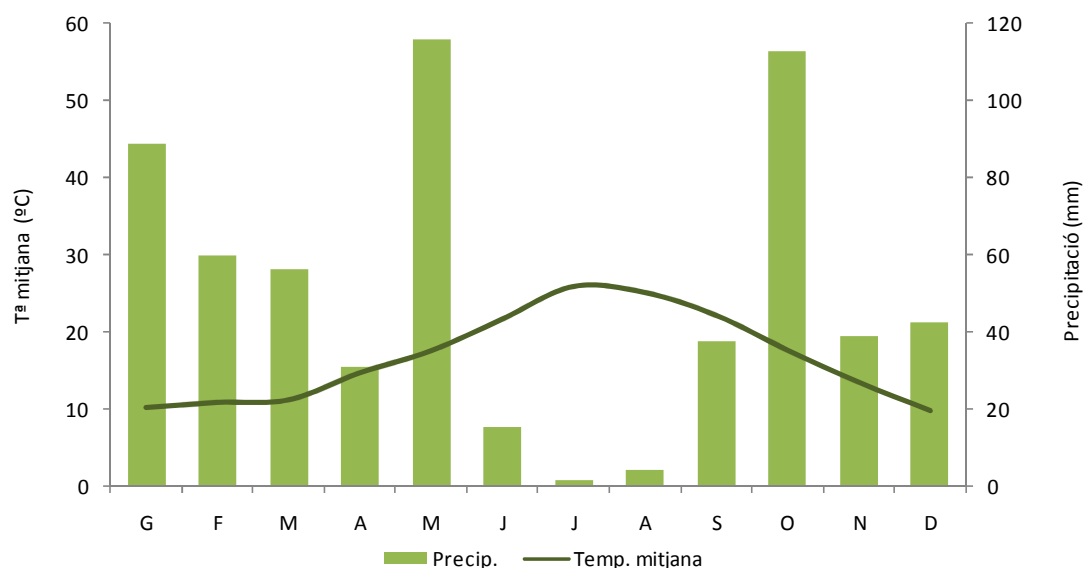


Figura 12. Diagrama ombrotèrmic del camp experimental de Sa Granja durant l'any 2010, amb les temperatures i precipitacions mitjanes mensuals.

3.2. Presa i preparació de les mostres

Per a l'obtenció tant dels vins com dels seus subproductes, cada varietat es va microvinificar per separat i durant el procés es van agafar mostres de subproductes. En el cas de vins negres, les mostres considerades varen ser: vi, pasta premsada, pasta fermentada i rapa; i en el cas de les vinificacions blanques: vi, pasta premsada i rapa. La figura 13 esquematitza les diferents mostres recollides per a cada varietat.

A la taula 4 es troben totes les varietats estudiades amb cada una de les mostres considerades per a cada varietat, així com la seva codificació.

Taula 4. Identificació i codificació de les mostres de vi i els subproductes estudiats.

Varietats de raïm		Mostra	Codi
Negres	Cabernet s.*	Vi	CS
		Pasta premsada	PP CS
		Pasta fermentada	PF CS
		Rapa	R CS
	Escursac	Vi	ES
		Pasta premsada	PP ES
		Pasta fermentada	PF ES
		Rapa	R ES
	Gorgollassa	Vi	GOR
		Pasta premsada	PP GOR
		Pasta fermentada	PF GOR
		Rapa	R GOR
	Sabater	Vi	SAB
		Pasta premsada	PP SAB
		Pasta fermentada	PF SAB
		Rapa	R SAB
Blanques	Chardonnay*	Vi	CH
		Pasta premsada	PP CH
		Rapa	R CH
	Giró ros	Vi	GR
		Pasta premsada	PP GR
		Rapa	R GR
	Quigat	Vi	QUI
		Pasta premsada	PP QUI
		Rapa	R QUI

*Varietats de referència

3.2.1. Procediment d'elaboració dels vins

a) Elaboració dels vins monovarietals

Els vins de les set varietats estudiades van ser elaborats sota condicions experimentals a escala de microvinificació durant l'any 2010. Així, es van obtenir 7 vins 100% monovarietals. La vinificació es va dur a terme seguint els protocols estàndards per la vinificació de vins blancs i negres (veure figura 13).

Per a l'elaboració de vins negres, es va incorporar el raïm derrapat dins depòsits d'acer inoxidable i es van efectuar les correccions d'acidesa fins al nivell desitjat (5 g àcid tartàric/L). La fermentació alcohòlica va arrencar amb l'addició de llevats comercials liofilitzats i es va controlar a 25 °C. Una vegada acabada la fermentació alcohòlica, el vi es va trasbalsar i corregir mitjançant l'aplicació de sulfurós. La fermentació malolàctica es va iniciar amb l'addició de bacteris làctics i, una vegada acabada la fermentació, es van realitzar varis trasbalsos fins al seu embotellament.

L'elaboració de vins blancs també es va dur a terme seguint la metodologia habitual, premsant directament el raïm. El most obtingut es va sulfitar i desfangar a 8 °C. Seguidament el most es va corregir fins obtenir l'acidesa desitjada. La fermentació alcohòlica es va realitzar després de la inoculació de llevats comercials en depòsits d'acer inoxidable i a una temperatura de 17 °C. Finalment, el vi va ser trasbalsat en diverses ocasions fins al seu embotellament.

Després d'embotellar els vins negres i blancs, s'emmagatzemaren les botelles a una temperatura ambient controlada (12-14 °C). Les analítiques es van dur a terme dos mesos després de l'embotellament.

Una vegada elaborats els vins monovarietals es van caracteritzar a partir dels següents paràmetres: pH, acidesa total, acidesa volàtil, sulfurós total, sucres reductors i contingut en alcohol. Les analítiques es realitzaren a l'Estació Enològica d'Haro d'acord amb la metodologia que figura a l'Organització Internacional de la Vinya i el Vi (OIV,

2000). Aquesta estació enològica compta amb un laboratori oficial acreditat per l'Entitat Nacional d'Acreditació, i fa les analítiques conforme als criteris recollits a la Norma UNE-EN (17025:2005). Els valors de la caracterització global dels vins elaborats per a aquest estudi es presenten a la taula 5.

Taula 5. Caracterització global dels vins elaborats a partir de varietats minoritàries i varietats de referència.

Varietat		pH	Acidesa total (g tartàric / L)	Acidesa volàtil (g acètic / L)	Sulfurós total (mg / L)	Sucres reductors (g /L)	Alcohol (% vol.)
negres	Cabernet s.*	4.09 ± 0.05	4.8 ± 0.3	0.65 ± 0.07	61 ± 4	1.0 ± 0.5	12.54 ± 0.15
	Sabater	3.96 ± 0.05	4.2 ± 0.3	0.62 ± 0.07	62 ± 4	<1.0	10.58 ± 0.15
	Escursac	3.75 ± 0.05	4.6 ± 0.3	0.54 ± 0.07	63 ± 4	1.2 ± 0.5	12.58 ± 0.15
	Gorgollassa	3.95 ± 0.05	4.7 ± 0.3	0.70 ± 0.07	55 ± 4	<1.0	11.62 ± 0.15
blancs	Chardonnay*	3.15 ± 0.05	6.8 ± 0.4	0.12 ± 0.02	88 ± 4	<1.0	11.89 ± 0.15
	Giró ros	3.68 ± 0.05	5.5 ± 0.4	0.27 ± 0.06	49 ± 4	<1.0	13.96 ± 0.15
	Quigat	2.98 ± 0.05	6.8 ± 0.4	0.15 ± 0.02	139 ± 4	<1.0	10.66 ± 0.15

* Vins de referència

b) Preparació de les mostres de vins

La preparació de les mostres per dur a terme l'anàlisi fisicoquímica dels vins es realitzà directament sobre les mostres de vi, una vegada fetes les dilucions pertinents segons el paràmetre avaluat. Les dilucions es prepararen dins un matrau aforat, afegint el volum necessari de vi i enrasant amb aigua destil·lada segons cada mètode.

3.2.2. Procediment d'obtenció dels subproductes

a) Presa de mostres de subproductes

Les mostres utilitzades en aquest estudi i que fan referència als subproductes, corresponen als desfets sorgits a cada una de les varietats vinificades per separat. Així,

es van agafar mostres de pasta premsada i rapa per a totes les varietats. Per a les varietats negres també es va agafar mostra de pasta fermentada, degut a que a les vinificacions de les varietats negres el raïm trepitjat fermenta alhora amb el most, cosa que no passa a les vinificacions dels vins blancs.

Durant el procés de vinificació (figura 13), es van recollir les mostres per ordre d'obtenció dels subproductes. Les rapes (R) es van agafar immediatament després del procés de desrapat del raïm. Les pastes premsades (PP) es van separar just després del procés del premsat en el cas dels vins blancs, i es va agafar una mostra de raïm trepitjat que després es va premsar manualment en el cas dels vins negres. Finalment, la pasta premsada fermentada de vins negres (PF) es va mostrejar en el moment de premsar els vins negres, una vegada acabada la fermentació alcohòlica.

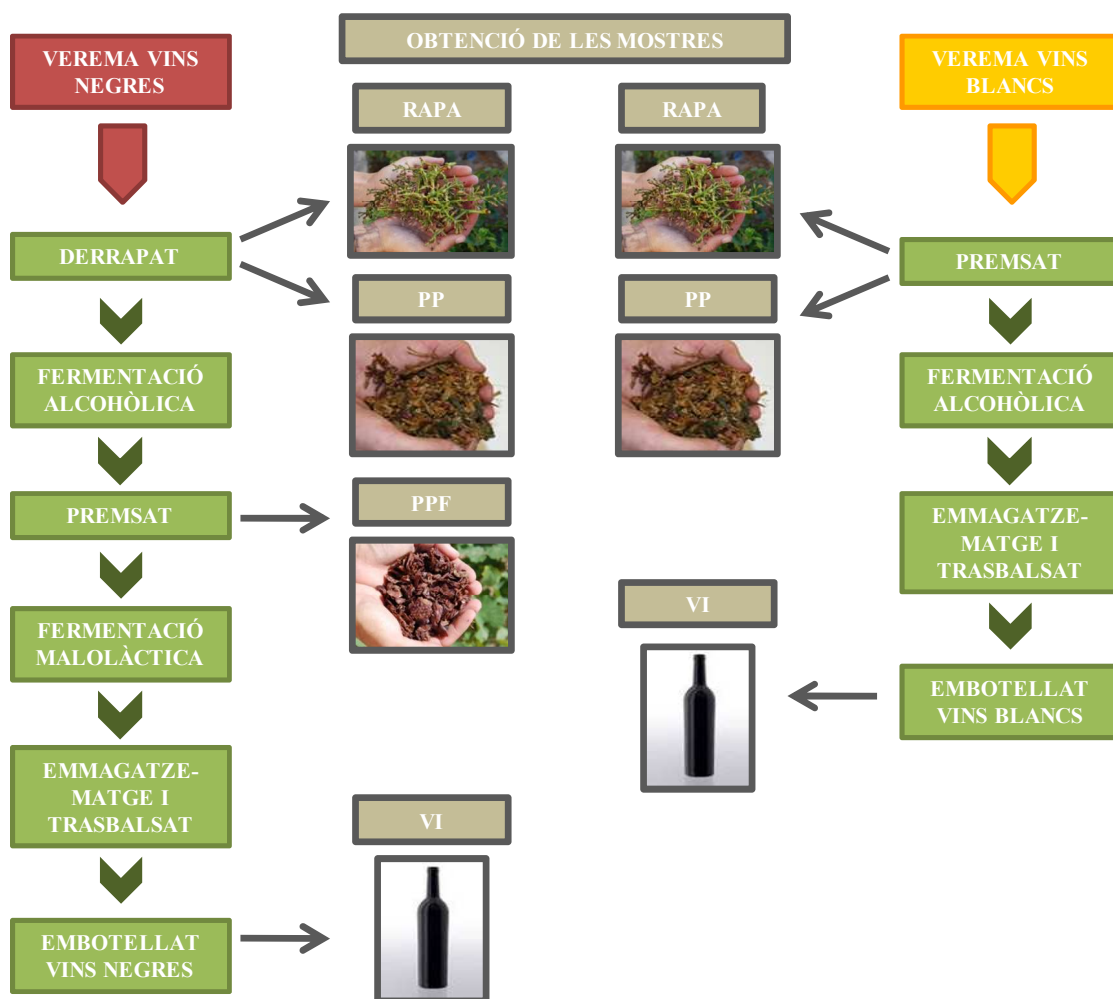


Figura 13. Procés de vinificació i moment de recollida dels subproductes.

b) Preparació de les mostres de subproductes

Una vegada recollides les mostres, es van liofilitzar mitjançant un equip liofilitzador a escala de laboratori (Cryodos, Telstar, Espanya). Les mostres van ser trossegades i congelades en nitrogen líquid a una temperatura de $-42\text{ }^{\circ}\text{C}$. Posteriorment es van introduir dins l'equip fins que la mostra va quedar completament liofilitzada. Acabada la liofilització, les mostres es varen triturar amb un molí d'aspes i sistema de refrigeració circulant per evitar l'escalfament de les mateixes. Aquest tractament

permet una perfecta preservació de les mostres de subproductes, impeditint qualsevol tipus de reacció degradativa. Finalment, les mostres es van emmagatzemar a les fosques i es van envasar al buit a 4°C fins al moment de ser analitzades.

Les mostres liofilitzades es van enviar a la Unitat de Recerca Enològica de la Universitat de Burdeus (França) per aconseguir els extractes de compostos fenòlics. El procediment partí dels concentrats liofilitzats de cada mostra i s'extragueren els polifenols mitjançant l'ús d'un Sistema Accelerat d'Extracció per Solvents (ASE 350) equipat amb un controlador de dissolvent (Dionex Corporation, Sunnyvale, CA).

Les condicions experimentals de l'equip ASE van ser: temps de 4 minuts, pressió a 10341 kPa, i temperatura a 25 °C. Es va utilitzar flux de nitrogen gasós per evitar l'oxidació durant l'extracció. Uns 10 g de cada mostra es van carregar dins una cel·la d'extracció amb un filtre de paper de cel·lulosa, i es van sotmetre a 7 extraccions mitjançant una solució acetona-aigua (70:30) i posteriorment, 4 extraccions més mitjançant una solució metanol-aigua (60:40). Tots els extractes es van combinar i evaporar en condicions de baixa pressió. El residu sòlid obtingut es va redissoldre en 30 mL d'aigua abans de la reliofilització i finalment es va emmagatzemar sota condicions de foscor fins a la seva anàlisi.

Una vegada finalitzada l'extracció, es van diluir 40 mg d'extracte en una solució d'etanol-aigua (25:75) i es van aplicar ultrasons durant 5 minuts. El rendiment de l'extracte es va recalcular considerant la dilució i el contingut d'humitat de les mostres. Per tal de facilitar la comparació de resultats (taula 6), els rendiments d'extracte es van expressar tant en base seca (g d'extracte per cada 100 g de matèria seca), com en base humida (g d'extracte per 100 g de matèria fresca).

Els rendiments d'extracció per als diferents subproductes i varietats són menors a les pastes fresques i fermentades que a les rapes. Com és d'esperar, les pastes fermentades de les varietats negres (obtingudes després del procés de maceració) exhibeixen un rendiment significativament més baix que l'extracte de les pastes

premsades. Els resultats de totes les determinacions fisicoquímiques s'expressen com a g extracte/100 g matèria seca, pel que òbviament, quan es comparen els resultats en condicions humides, la tendència canvia en funció del contingut d'humitat dels residus.

Totes les anàlisis fisicoquímiques s'avaluaren sobre l'extracte d'antioxidants de cada subproducte.

Taula 6. Rendiments en extracte antioxidants per tipus de subproducte i per cada varietat minoritària i de referència.

<i>varietat</i>	<i>sub-producte</i>	<i>g extracte/ 100 g matèria seca</i>	<i>g extracte/ 100 g matèria fresca</i>
Cabernet s.*	PP	41.32	11.69
	PF	16.95	5.58
	R	37.41	9.91
Escursac	PP	32.44	8.44
	PF	17.92	5.13
	R	42.81	12.49
Gorgollassa	PP	35.79	9.79
	PF	16.40	4.29
	R	40.22	10.99
Sabater	PP	28.74	6.62
	PF	19.84	4.79
	R	42.16	12.68
Chardonnay*	PP	31.97	9.10
	R	46.18	13.05
Giró ros	PP	38.96	12.85
	R	42.96	13.01
Quigat	PP	39.78	8.36
	R	48.36	12.31

3.3. Anàlisi fisicoquímica de les mostres

3.3.1. Característiques cromàtiques

L'anàlisi de color va ser mesurat a totes les mostres (vins i subproductes) emprant una dilució 1:5. Es va determinar la proporció de color groc (%Ye), vermell (%Rd) i blau (%Bl), mitjançant lectures espectrofotomètriques a 420 (component groga), 520 (component vermella) i 620 nm (component blava), respectivament. La intensitat de color es va determinar com la suma dels valors de les tres absorbàncies (equació 1), i la tonalitat es va expressar com el rati d'absorbància a 420 i 520 nm (equació 2) (Glories, 1984).

$$I = A_{420} + A_{520} + A_{620} \quad \text{Equació 1}$$

$$N = \frac{A_{420}}{A_{520}} \quad \text{Equació 2}$$

Els valors d'absorbància es van mesurar amb un espectrofotòmetre Beckman Coulter (Beckman Coulter UV/Vis series U, Spain) amb un pas de llum de 10 mm. Les absorbàncies es van determinar per triplicat i els resultats s'expressen com a mitjana dels tres valors i del seu error estàndard.

3.3.2. Contingut total de compostos polifenòlics

3.3.2.1. Determinació del contingut en polifenols totals

El contingut en polifenols totals en els vins i subproductes es va determinar mitjançant dos mètodes diferents: l'índex de polifenols totals (IPT) i l'assaig de Folin-Ciocalteu (FC) (mètode Folin-Ciocalteu).

L'índex de polifenols totals es va avaluar d'acord amb Ribéreau-Gayón (1970) mesurant l'absorbància dels vins i dels extractes diluïts en aigua (1:50) a 280 nm. El resultat final s'obtingué multiplicant el valor de l'absorbància pel factor de dilució.

El contingut de polifenols totals es va determinar per espectrofotometria segons el mètode Folin-Ciocalteu de la següent manera: tant les mostres de vi com els extractes dels subproductes es diluïren en aigua destil·lada amb 0.5 mL de reactiu de Folin-Ciocalteu i 10 mL de carbonat sòdic (20% v/v) i s'enrasaren en un matrau aforat de 25 mL. La solució s'homogeneïtzà i es deixà reposar a les fosques durant 30 minuts. Finalment, l'absorbància es mesurà a 750 nm.

La concentració de polifenols totals es calculà a partir d'una corba de calibratge per a cada mostra de vi i subproducte (equació 3 i 4, respectivament), emprant àcid gàl·lic com a estàndard (50 a 500 mg/L). Les dades es van expressar com a mg equivalents d'àcid gàl·lic (GAE) per litre de vi, i com a g equivalents d'àcid gàl·lic per 100 g de matèria seca en el cas dels subproductes. Els resultats corresponen a una mitjana de tres repeticions en el cas dels vins i de sis en el cas dels subproductes liofilitzats.

$$y = 92.32x + 0.04 \quad r^2 = 0.996 \quad \text{Equació 3}$$

$$y = 0.09x + 0.04 \quad r^2 = 0.996 \quad \text{Equació 4}$$

Cal remarcar que, l'estimació dels compostos polifenòlics totals a partir de dos mètodes diferents, aconsegueix un espectre més ampli del contingut global de polifenols de les mostres.

3.3.2.2. Determinació del contingut en antocians

El contingut en antocians es va determinar espectrofotomètricament per decoloració de les mostres amb una solució de bisulfit sòdic seguint el mètode descrit per

Ribéreau-Gayon i Stonestreet (1965). Segons aquest mètode, s'agafa 1 mL de mostra i s'hi afegeixen 1 mL d'etanol (96%) i 20 mL d'àcid clorhídric (0.7%). Es preparen dos tubs d'assaig amb 5 mL de la barreja a cada un; al primer, s'hi addicionen 2 mL d'aigua destil·lada, i al segon, 2 mL de bisulfit sòdic (7%). Un cop agitats es deixen reposar 10 minuts i es mesura l'absorbància a 520 nm. La diferència entre els valors d'absorbància dels dos tubs es multiplica pel factor de correcció 875.

La concentració d'antocians totals s'expressa en mg/L en el cas dels vins, i en g/100 g de matèria seca en el cas dels subproductes.

3.3.2.3. Determinació dels tanins condensats

L'anàlisi dels tanins condensats es basa en la transformació de les proantocianidines en antocianidines per escalfament en medi àcid, tal i com descriu el mètode Ribéreau-Gayon i Stonestreet (1966).

Breument, el mètode es basa en l'addició de 6 mL d'àcid clorhídric (37%) a 2 mL de mostra diluïda (1:50). Els tubs d'assaig amb la mescla han d'impedir l'entrada de llum, es segellen hermèticament i es deixen reaccionar durant 30 minuts en un bany d'aigua a 100 °C. Després de refredar la mostra ràpidament en aigua-gel s'hi afegeix 1 mL d'etanol (96%) i es mesura l'absorbància a 550 nm. El valor final és corregit pel blanc, que segueix la mateixa metodologia, però en lloc de posar-lo en bany a 100 °C es deixa a temperatura ambient. La concentració de tanins condensats totals es mesura com la diferència entre les absorbàncies multiplicat pel factor de correcció 19.33.

La concentració de tanins totals s'expressa en mg/L en el cas dels vins, i en g/100 g de matèria seca en el cas dels subproductes.

3.3.3. Avaluació de la capacitat antioxidant

Les dilucions emprades a les mostres de vi van ser 1:20 pels vins negres i 1:1 pels vins blancs a fi d'aconseguir una resposta lineal. En el cas dels subproductes, es pesà al voltant de 40 mg d'extracte i es va diluir en 10 mL d'una solució d'etanol-aigua (25:75).

Tots els mètodes testats es van determinar espectrofotomètricament (Thermo Scientific Multiskan® Spectrum) emprant microplaques tipus NUNC de 96 pous i processant les dades amb el Software SkanIt 2.4.2. Cada valor presentat és la mitjana de sis determinacions. Els resultats dels diferents assajos es van expressar com la capacitat antioxidant en equivalents de trolox, calculat a partir d'una corba de calibratge d'entre 25 i 800 mM de trolox.

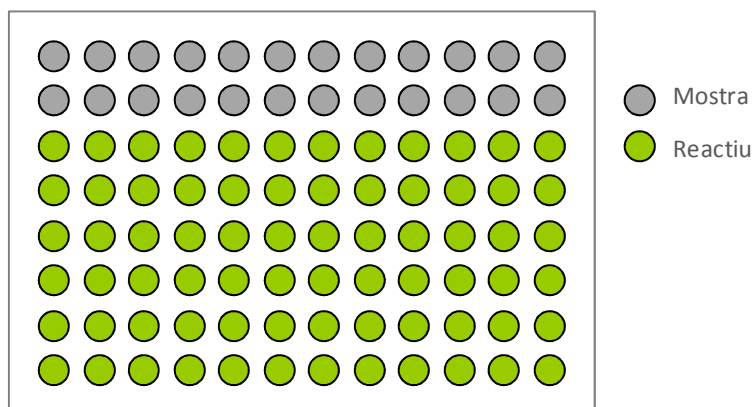


Figura 14. Microplaca NUNC de 96 pous per estimar la capacitat antioxidant de les mostres mitjançant un lector espectrofotomètric multiplaques.

3.3.3.1. Assaig ABTS

La metodologia emprada va consistir en fer reaccionar la solució ABTS (7 mM) amb persulfat de potassi ($K_2S_2O_8$, 2.45 mM) i es va incubar a les fosques durant 12 hores a 25 °C. En el moment d'emprar la solució combinada, aquesta es va diluir amb etanol

(80%) fins obtenir una absorbància de 0.70 ± 0.02 a 734 nm. Seguidament, es va incubar a la microplaca el reactiu ABTS i la mostra per separat. Després d'una incubació a 25 °C durant 25 minuts, es van mesclar 190 µl de la solució d'ABTS i 10 µl de la mostra. Es va registrar l'absorbància a 734 nm cada 5 minuts durant 30 minuts.

Les rectes de calibratge en equivalents de trolox obtingudes en l'assaig ABTS en vins i subproductes es mostren a les equacions 5 i 6, respectivament.

$$y = 1279.89x - 55.32 \quad r^2 = 0.981 \quad \text{Equació 5}$$

$$y = 979.52x + 38.30 \quad r^2 = 0.998 \quad \text{Equació 6}$$

3.3.3.2. Assaig DPPH

El mètode emprat per la captació de radicals lliures es va basar en el mètode descrit per Brand-Williams *et al.* (1995) i modificat per Roussis *et al.* (2007).

La solució DPPH (30 mM) es va preparar en etanol i s'incubà a 25 °C durant 25 minuts. Una vegada mesclats els 190 µL de reactiu i 10 µL de mostra es va registrar l'absorbància a 515 nm cada 5 minuts durant 30 minuts, per així determinar la concentració de DPPH remanent.

Les rectes de calibratge en equivalents de trolox obtingudes en l'assaig DPPH en vins i subproductes es mostren a les equacions 7 i 8, respectivament.

$$y = 2123.07x - 105.60 \quad r^2 = 0.919 \quad \text{Equació 7}$$

$$y = 2641.29x - 210.71 \quad r^2 = 0.938 \quad \text{Equació 8}$$

3.3.3.3. Assaig FRAP

El complex TPTZ es va preparar d'acord amb Özgen *et al.* (2006) mesclant 25 mL d'acetat de sodi (0.3 M, pH 3.6), 2.5 mL de TPTZ (10 mM) i 2.5 mL de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (20 mM). La barreja del reactiu i la mostra es van incubar per separat a 25 °C durant 25 minuts, i després es van afegir 10 µL de mostra a 190 µL de reactiu. Es va registrar l'absorbància a 593 nm cada 5 minuts durant 30 minuts.

Les rectes de calibratge en equivalents de trolox obtingudes en l'assaig FRAP en vins i subproductes es mostren a les equacions 9 i 10, respectivament.

$$y = 743.80x + 5.90 \quad r^2 = 0.998 \quad \text{Equació 9}$$

$$y = 718.58x + 15.07 \quad r^2 = 0.999 \quad \text{Equació 10}$$

3.3.3.4. Assaig CUPRAC

La capacitat antioxidant dels vins es va determinar d'acord amb el mètode presentat per Apak *et al.* (2004). El reactiu CUPRAC es va preparar amb unes proporcions 1:1:1 de Cu (II) 10 mM, dissolució de neocuprina (7.5 mM) i tampó d'acetat amoni (1 M, pH 7). La mostra i el reactiu CUPRAC es van incubar a 25 °C durant 25 minuts per separat, i a continuació es van afegir 25 µL de mostra i 30 µL d'aigua destil·lada a 190 µL de reactiu CUPRAC. L'absorbància de les mostres es va mesurar a 450 nm cada 5 minuts, durant un temps de 30 minuts.

Les rectes de calibratge en equivalents de trolox obtingudes en l'assaig CUPRAC en vins i subproductes es mostren a les equacions 11 i 12, respectivament.

$$y = 1075.09x - 0.98 \quad r^2 = 0.997$$

Equació 11

$$y = 1160.79x - 20.88 \quad r^2 = 0.996$$

Equació 12

3.4. Anàlisi estadística

L'anàlisi estadística de variància i de regressió es va dur a terme utilitzant el paquet de programari per a Windows Statgraphics® plus. La significació de les diferències entre mitges per a les mostres de vi, subproductes de la vinificació, varietats de raïm i els mètodes antioxidants, es va avaluar mitjançant el test de Duncan amb un nivell de significació del 5%.

RESULTATS I DISCUSSIÓ

4. RESULTATS I DISCUSSIÓ

4.1. Característiques cromàtiques

4.1.1. Vins

El color és un dels atributs més importants i està condicionat principalment pel seu contingut en polifenols. La caracterització del color dels vins monovarietals i els seus subproductes es va fer mitjançant les variables d'intensitat de color (IC), tonalitat (T) i quantificació dels paràmetres del color. Els resultats que fan referència a la caracterització cromàtica dels vins es mostren a la taula 7.

Taula 7. Intensitat de color (IC), tonalitat (T) i proporcions de component groga (% Ye), vermella (% Rd) i blava (% Bl) dels vins de varietats minoritàries i de referència. Els valors són mitjanes ($n = 3$) $\pm$ errors estàndards.

Varietat		IC	T	% Ye	% Rd	% Bl
negres	Cabernet s.*	8.15 $\pm$ 0.20 A	0.77 $\pm$ 0.00 C	38.11 $\pm$ 0.09 CD	49.24 $\pm$ 0.35 AB	12.65 $\pm$ 0.26 A
	Escursac	4.10 $\pm$ 0.00 B	0.66 $\pm$ 0.00 C	35.16 $\pm$ 0.40 E	53.05 $\pm$ 1.00 A	11.79 $\pm$ 0.64 A
	Gorgollassa	2.78 $\pm$ 0.10 C	0.89 $\pm$ 0.00 C	41.49 $\pm$ 0.95 CD	46.65 $\pm$ 1.07 BC	11.85 $\pm$ 0.35 A
	Sabater	2.04 $\pm$ 0.00 D	0.98 $\pm$ 0.00 C	43.33 $\pm$ 0.69 C	44.08 $\pm$ 1.00 C	12.59 $\pm$ 0.36 A
blanques	Chardonnay*	0.15 $\pm$ 0.00 E	2.48 $\pm$ 0.20 B	63.05 $\pm$ 1.55 AB	25.64 $\pm$ 1.30 D	11.31 $\pm$ 1.22 A
	Giró ros	0.21 $\pm$ 0.00 E	2.14 $\pm$ 0.10 B	58.77 $\pm$ 2.08 B	27.51 $\pm$ 0.53 D	13.72 $\pm$ 1.88 A
	Quigat	0.08 $\pm$ 0.00 E	3.75 $\pm$ 0.90 A	68.86 $\pm$ 4.86 A	19.60 $\pm$ 2.70 E	11.54 $\pm$ 2.22 A

*varietats de referència

A, B, C, D, E representen diferències significatives ($p < 0.05$) entre varietats

La IC ens dona una idea de la quantitat de color total que presenta una mostra, i la tonalitat representa la importància relativa del color groc sobre el vermell (Zamora, 2003). Com era d'esperar, els vins negres van mostrar valors de IC significativament més alts que els vins blancs. Així mateix, els valors de tonalitat van ser majors en el cas dels vins blancs, que presenten una major rellevància del color groc, tal i com es

reflexa a la component % Ye. La varietat Quigat va presentar el valor de component groga més elevat i els menors valors de les components vermella i blava.

Cap de les varietats minoritàries negres estudiades va superar la IC mostrada pel vi de referència Cabernet sauvignon, amb un valor absolut de 8.15. No obstant això, amb la resta de paràmetres, excepte % Rd, no hi va haver diferències significatives entre Cabernet sauvignon i les varietats minoritàries negres. González-Neves *et al.* (2004) van presentar valors més baixos de IC (5.94) i resultats similars de T (0.79) amb el vi de Cabernet sauvignon.

Per altra banda, els vins blancs no van presentar diferències significatives en IC i les components de color % Ye i % Bl, en comparació amb la varietat de referència Chardonnay, mentre que sí es detectaren diferències ($p < 0.05$) en la T i % Rd.

4.1.2. Subproductes

Els paràmetres de color dels extractes diluïts i l'anàlisi estadística dels diferents subproductes corresponents a les distintes varietats es mostren a la taula 8.

Com es desprèn d'aquesta taula, existeix també una relació inversa entre la intensitat de coloració i la tonalitat, ja que a major valor d'intensitat menor valor de tonalitat i per tant, menor importància del color groc sobre el vermell, i a la inversa.

Respecte a l'anàlisi entre varietats, la màxima intensitat de color va ser assolida pels subproductes de pasta fermentada d'Escursac (11.20), que coincidí amb una major proporció de vermell (% Rd) i un menor percentatge de color groc (% Ye). En les pastes premsades, la varietat Giró ros va presentar el major valor de IC (2.69) mentre que la pasta premsada d'Escursac fou la que presentà menor coloració (0.91). En les rapes, els majors valors els van presentar les varietats Quigat i Gorgollassa.

Pel que fa a les diferències entre varietats negres i blanques, les mostres provinents de varietats blanques van mostrar una menor proporció de color vermell a les pastes premsades i no van reflectir diferències en les rapes.

Taula 8. Intensitat de color (IC), tonalitat (T) i proporcions de component groga (%Ye), vermella (%Rd) i blava (%Bl) dels subproductes de diferents varietats de vinya minoritàries i de referència. Els valors són mitjanes ($n = 4$) $\pm$ errors estàndards.

Varietat		Sub-producte	IC	T	% Ye	% Rd	% Bl
Negres	Cabernet s.*	PP	c 1.13 ± 0.05 D	b 1.19 ± 0.01 D	b 0.41 ± 0.00 C	b 0.34 ± 0.00 B	a 0.25 ± 0.00 D
		PF	a 6.64 ± 0.22 C	b 1.15 ± 0.00 C	b 0.41 ± 0.00 C	a 0.36 ± 0.00 B	a 0.23 ± 0.00 D
		R	b 1.00 ± 0.08 E	a 1.69 ± 0.04 A	a 0.49 ± 0.01 A	c 0.29 ± 0.00 C	b 0.21 ± 0.01 DE
	Escursac	PP	c 0.91 ± 0.00 E	b 1.03 ± 0.00 E	b 0.39 ± 0.00 D	b 0.38 ± 0.00 A	a 0.22 ± 0.00 E
		PF	a 11.20 ± 0.06 A	b 0.97 ± 0.00 D	b 0.37 ± 0.00 D	a 0.38 ± 0.00 A	a 0.24 ± 0.00 C
		R	b 1.61 ± 0.01 C	a 1.58 ± 0.00 C	a 0.49 ± 0.00 A	c 0.31 ± 0.00 A	b 0.20 ± 0.00 E
	Gorgollassa	PP	c 1.31 ± 0.02 C	b 1.21 ± 0.00 C	b 0.41 ± 0.00 C	b 0.34 ± 0.00 C	a 0.25 ± 0.00 C
		PF	a 7.25 ± 0.28 BC	b 1.25 ± 0.00 A	b 0.42 ± 0.00 A	a 0.33 ± 0.00 C	a 0.25 ± 0.00 B
		R	b 4.34 ± 0.13 A	a 1.63 ± 0.00 B	a 0.49 ± 0.00 A	c 0.30 ± 0.00 B	b 0.21 ± 0.00 CDE
	Sabater	PP	c 0.94 ± 0.01 E	b 1.20 ± 0.00 CD	b 0.41 ± 0.00 C	b 0.34 ± 0.00 B	a 0.25 ± 0.00 D
		PF	a 7.50 ± 0.12 B	b 1.23 ± 0.00 B	b 0.41 ± 0.00 B	a 0.34 ± 0.00 C	a 0.25 ± 0.00 A
		R	b 2.55 ± 0.09 B	a 1.65 ± 0.01 BC	a 0.48 ± 0.01 AB	c 0.29 ± 0.00 C	b 0.23 ± 0.01 BC
Blanques	Chardonnay*	PP	c 1.59 ± 0.01 B	b 1.34 ± 0.00 A	b 0.42 ± 0.00 B	b 0.31 ± 0.00 E	a 0.27 ± 0.00 A
		R	b 2.69 ± 0.01 B	a 1.62 ± 0.00 BC	a 0.48 ± 0.00 B	c 0.29 ± 0.00 C	b 0.23 ± 0.00 B
	Giró ros	PP	c 2.69 ± 0.01 A	b 1.32 ± 0.00 B	b 0.42 ± 0.00 AB	b 0.32 ± 0.00 D	a 0.26 ± 0.00 B
		R	b 1.35 ± 0.05 D	a 1.59 ± 0.00 C	a 0.48 ± 0.00 B	c 0.30 ± 0.00 B	b 0.22 ± 0.00 BCD
	Quigat	PP	c 1.25 ± 0.02 C	b 1.34 ± 0.01 A	b 0.42 ± 0.00 A	b 0.32 ± 0.00 D	a 0.26 ± 0.00 B
		R	b 4.42 ± 0.05 A	a 1.42 ± 0.00 D	a 0.44 ± 0.00 C	c 0.31 ± 0.00 A	b 0.25 ± 0.00 A

*varietats de referència

a, b, c representen diferències significatives ($p < 0.05$) entre tipus de subproducte (PP, PF i R)

A, B, C, D, E representen diferències significatives ($p < 0.05$) entre varietats

En relació a les diferències entre els tipus de subproductes, l'anàlisi de color revelà un increment significatiu ($p < 0.05$) de la component de color groga (% Ye) i una disminució de les components vermella (% Rd) i blava (% Bl) en les rapes respecte la resta de subproductes per a qualsevol de les varietats estudiades. En qualsevol cas, les rapes i

pastes premsades presenten intensitats de color significativament més baixes que les pastes fermentades (figura 15).

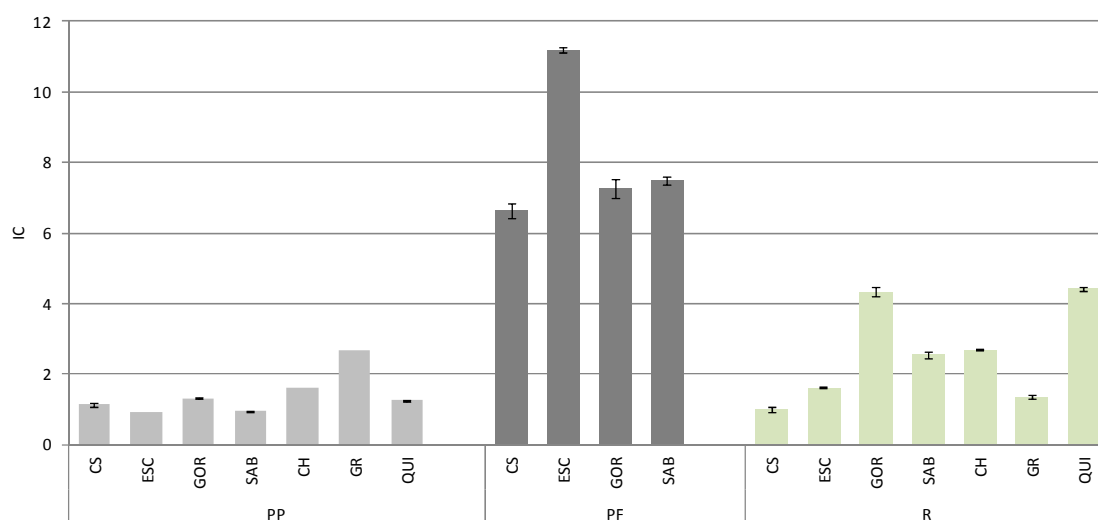


Figura 15. Intensitat de color dels diferents extractes dels subproductes. Els valors són mitjanes ($n = 4$) $\pm$ errors estàndards.

Com era d'esperar, els valors de color van canviar significativament d'un tipus de subproducte a un altre, i en menor mesura entre les varietats.

4.2. Contingut total de compostos polifenòlics

4.2.1. Vins

L'índex de polifenols totals (IPT), el contingut en polifenols totals (mètode Folin-Ciocalteu), el contingut en antocians i tanins condensats totals de les varietats minoritàries de Balears es van comparar amb els vins obtinguts de les varietats de referència Cabernet sauvignon i Chardonnay (taula 9).

Taula 9. Índex de polifenols totals (IPT), contingut en polifenols totals (FC: Folin-Ciocalteu), contingut en antocians i contingut en tanins condensats dels vins de varietats minoritàries i de referència. Els valors són mitjanes ($n = 3$) $\pm$ errors estàndards.

Varietat		IPT	FC (mg GAE/L)	Antocians (mg/L)	Tanins (mg/L)
Negres	Cabernet s.*	46.48 $\pm$ 0.25 A	1685.58 $\pm$ 74.61 A	550.08 $\pm$ 12.13 A	1739.70 $\pm$ 33.48 A
	Escursac	29.73 $\pm$ 0.79 B	1044.25 $\pm$ 8.12 B	254.63 $\pm$ 1.82 B	1.053.49 $\pm$ 67.65 B
	Gorgollassa	23.05 $\pm$ 1.29 C	909.30 $\pm$ 10.67 C	235.67 $\pm$ 2.39 C	921.40 $\pm$ 50.32 B
	Sabater	23.03 $\pm$ 0.81 C	828.29 $\pm$ 6.09 C	124.83 $\pm$ 4.58 D	811.86 $\pm$ 135.31 BC
Blanques	Chardonnay*	7.43 $\pm$ 0.38 D	227.06 $\pm$ 2.73 D	1.75 $\pm$ 0.00 E	386.60 $\pm$ 38.66 C
	Giró ros	8.10 $\pm$ 0.00 D	175.07 $\pm$ 8.95 D	1.75 $\pm$ 0.00 E	367.27 $\pm$ 290.81 C
	Quigat	6.25 $\pm$ 0.05 D	180.30 $\pm$ 2.08 D	1.75 $\pm$ 0.00 E	350.84 $\pm$ 35.76 C

*varietats de referència

A, B, C, D, E representen diferències significatives ($p < 0.05$) entre varietats

4.2.1.1. Contingut en polifenols

L'índex de polifenols totals permet fer una anàlisi comparativa entre totes les mostres de vi, ja que el seu caràcter adimensional no permet fer una avaluació quantitativa directa. Els vins negres van obtenir un valor mitjà d'IPT de 31.54, molt superior al valor mostrat pels vins blancs (valor mitjà de 6.39). Això demostra un elevat potencial fenòlic dels vins negres.

Cabernet sauvignon va presentar el major IPT, seguit per Escursac, mentre que els vins Gorgollassa i Sabater van presentar els valors més baixos. Aquests resultats estan d'acord amb Puértolas *et al.*, (2010), que van obtenir valors similars d'IPT per a les mostres de Cabernet sauvignon (entre 50 i 55). En el cas dels vins blancs, Quigat va presentar els resultats més baixos.

Escalona *et al.* (2006) indiquen valors similars d'IPT a vins de Sabater, Escursac, Gorgollassa i Giró ros presentant valors de 31.35, 33.90, 27.95 i 3.20, respectivament.

Els vins amb valors d'IPT inferior a 30 no permeten l'elaboració de vins negres amb vocació d'envelliment (Escalona *et al.*, 2009). D'acord amb aquests resultats, l'únic vi que permetria l'envelliment seria el vi de referència Cabernet sauvignon.

En quant a contingut en composts fenòlics (figura 16) mesurats a partir del mètode Folin-Ciocalteu, les concentracions obtingudes van oscil·lar entre 828 i 1685 mg GAE/L (valors mostrats per Sabater i Cabernet sauvignon, respectivament). Aquests resultats van ser inferiors als obtinguts per Villaño *et al.* (2004) que van des de 1262 a 2389 mg GAE/L i per Minussi *et al.* (2003) que va obtenir una concentració de 2113 mg/L per al Cabernet sauvignon. El valor de FC va ser significativament major per al vi de Cabernet sauvignon que per a la resta de vins de varietats minoritàries negres, seguint un comportament similar als valors d'IPT.

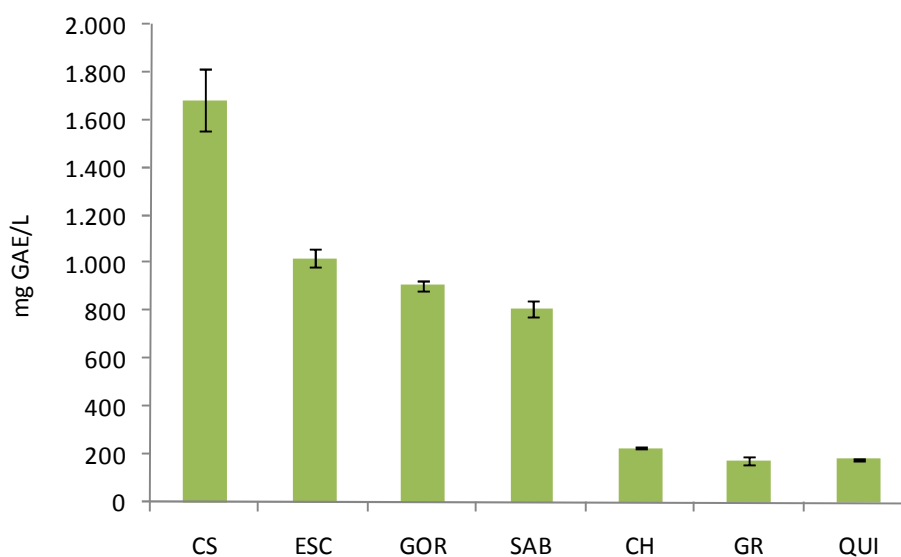


Figura 16. Contingut en composts fenòlics mitjançant el mètode Folin-Ciocalteu (FC). Els valors són mitjanes ($n = 3$) $\pm$ errors estàndards.

Respecte als vins blancs, el FC va variar de 180 a 227 mg GAE/L per Quigat i Chardonnay respectivament, valors que concorden amb els resultats disponibles a la bibliografia per a vins blancs (Villaño *et al.*, 2004; Minussi *et al.*, 2003). En aquest cas,

els vins blancs de varietats minoritàries no van mostrar diferències significatives en comparació amb el Chardonnay.

4.2.1.2. Contingut en antocians i tanins

Com era d'esperar, els vins negres també presentaren concentracions d'antocians i tanins més elevades que els vins blancs (taula 9). De fet, els valors d'antocians al cas dels blancs eren gairebé insignificants. Això és degut a que aquesta component és la responsable del color vermell i es troba majoritàriament a la pell del raïm (i per tant, absent als raïms blancs). Cabernet sauvignon va presentar el major contingut en antocians, seguit d'Escursac, Gorgollassa i Sabater, mostrant diferències significatives entre ells. Per a la concentració en tanins condensats, el vi Escursac va presentar el major valor després de Cabernet sauvignon, seguit pels vins de Gorgollassa i Sabater. Les varietats minoritàries negres no van presentar diferències significatives entre elles, però sí amb la varietat de referència Cabernet sauvignon. Puértolas *et al.* (2010) van publicar valors d'antocians per al Cabernet sauvignon similars als obtinguts en aquest estudi (525 a 690 mg/L). Pel que fa als blancs, no hi va haver diferències significatives ($p < 0.05$) en antocians ni tanins entre els vins de varietats minoritàries i Chardonnay.

D'acord amb aquests resultats, l'IPT, el contingut en polifenols, antocians i tanins als vins monovarietals van seguir la mateixa tendència que amb els valors de caracterització cromàtica, demostrant així un potencial antioxidant d'interès als vins de varietats minoritàries negres degut al seu alt contingut en compostos fenòlics.

4.2.2. Subproductes

Els resultats de les anàlisis del contingut total en polifenols (IPT i FC), i el contingut en antocians i en tanins condensats obtinguts per als diferents subproductes (pasta

premsada, pasta fermentada i rapa) de cada varietat minoritària estudiada, així com de les varietats de referència, es presenten a la taula 10, juntament amb la seva anàlisi estadística.

Taula 10. Índex de polifenols totals (IPT), contingut en polifenols totals (FC), contingut en antocians i contingut en tanins condensats dels subproductes de diferents varietats de vinya minoritàries i de referència. Els valors són mitjanes ($n = 3$) $\pm$ errors estàndards.

Varietat	Sub-producte	IPT	FC (g GAE/100 g m.s.)	Antocians (g/100 g m.s.)	Tanins (g/100 g m.s.)
Negres	<i>Cabernet s.*</i>	PP	b 0.58 ± 0.00 AB	c 2.47 ± 0.06 B	b 0.61 ± 0.02 A
		PF	a 1.26 ± 0.02 C	b 4.13 ± 0.07 B	a 0.37 ± 0.02 B
		R	a 1.51 ± 0.01 B	a 6.56 ± 0.13 B	c 0.06 ± 0.01 B
	<i>Escursac</i>	PP	b 0.50 ± 0.00 BCD	c 1.96 ± 0.01 CD	b 0.40 ± 0.01 B
		PF	a 1.37 ± 0.02 B	b 2.19 ± 0.09 C	a 0.52 ± 0.01 A
		R	a 2.02 ± 0.07 A	a 7.95 ± 0.11 A	c 0.18 ± 0.01 A
	<i>Gorgollassa</i>	PP	b 0.44 ± 0.03 D	c 0.91 ± 0.01 E	b 0.30 ± 0.01 C
		PF	a 1.18 ± 0.00 C	b 3.88 ± 0.09 B	a 0.18 ± 0.01 C
		R	a 1.84 ± 0.00 A	a 4.92 ± 0.18 D	c 0.02 ± 0.00 C
	<i>Sabater</i>	PP	b 0.48 ± 0.04 CD	c 1.77 ± 0.02 D	b 0.15 ± 0.01 D
		PF	a 1.48 ± 0.00 A	b 4.78 ± 0.31 A	a 0.19 ± 0.01 C
		R	a 1.37 ± 0.00 BC	a 4.39 ± 0.06 E	c 0.05 ± 0.00 B
Blanques	<i>Chardonnay*</i>	PP	b 0.63 ± 0.01 A	c 2.97 ± 0.28 A	b 0.05 ± 0.02 E
		R	a 1.17 ± 0.01 C	a 4.80 ± 0.02 D	c 0.01 ± 0.00 C
	<i>Giró ros</i>	PP	b 0.56 ± 0.01 AB	c 2.21 ± 0.02 BC	b 0.02 ± 0.00 E
		R	a 1.21 ± 0.01 C	a 5.31 ± 0.02 C	c 0.04 ± 0.00 B
	<i>Quigat</i>	PP	b 0.54 ± 0.00 BC	c 2.30 ± 0.02 BC	b 0.02 ± 0.01 E
		R	a 1.51 ± 0.01 B	a 5.06 ± 0.08 CD	c 0.02 ± 0.01 C

*varietats de referència

a, b, c representen diferències significatives ($p < 0.05$) entre tipus de subproducte (PP, PF i R)

A, B, C, D, E representen diferències significatives ($p < 0.05$) entre varietats

4.2.2.1. Contingut en polifenols

El contingut en polifenols totals (FC) en els diferents subproductes de varietats minoritàries de vinya va estar comprès entre 0.91 i 7.95 g/100 g, per els residus de pasta premsada de Gorgollassa i la rapa d'Escursac, respectivament. Paral·lelament, els resultats de l'IPT van oscil·lar entre 0.44 i 2.02, per a aquests mateixos subproductes (PP GOR i R ESC), el que demostra la mateixa tendència que quan s'avaluaren amb el mètode FC. A la bibliografia, la majoria d'estudis avaluen la composició fenòlica mitjançant el mètode FC donat que determinats compostos fenòlics no tenen el seu màxim d'absorció a 280 nm. No obstant això, el mètode d'IPT, presenta l'avantatge de ser un mètode senzill, ràpid i d'elevada reproduïbilitat.

Si feim una recerca bibliogràfica, en quant a les pastes premsades, hi ha molts estudis en distintes varietats de raïm que determinen la composició fenòlica, tant de varietats blanques com de negres. En el cas de les varietats minoritàries de Balears estudiades, totes les pastes premsades han mostrat un rang de polifenols amb el mètode FC entre 0.91 i 2.47 g/100 g m.s., sense mostrar diferències significatives entre varietats blanques i negres. Aquests valors són lleugerament inferiors als presentats per Negro *et al.* (2003) en la varietat Negro amaro que mostrà un contingut de 4.19 g/100 g m.s.; Deng *et al.* (2011) van estudiar pastes de Cabernet sauvignon i Merlot, obtenint valors similars d'entre 1.1 i 2.67 g/100 g m.s.; i finalment, Vatai *et al.* (2009) obtingueren valors fenòlics de 2.02 g/100 g m.s. en les mateixes varietats de raïm.

És ben sabut que hi ha un major contingut de polifenols en les varietats negres en comparació amb les blanques, especialment quan es comparen els vins negres i blancs. No obstant això, aquest fet no es reflecteix en les pastes premsades, ja que el contingut de polifenols obtingut per a les varietats blanques es troba dins l'ampli rang de pastes premsades de varietats negres (figures 17 i 18). Aquesta observació també va ser apreciada per Bravo i Saura-Calixto (1998), Llobera i Canyellas (2008) i Deng *et al.* (2011).

En canvi, són poques les investigacions que es dediquen a l'estudi de les pastes fermentades, fet que es reflecteix en la poca bibliografia trobada sobre aquest subproducte. Així i tot, els valors de pasta fermentada obtinguts en aquest treball es troben entre 2.19 i 4.78 g/100 g m.s. i estan d'acord amb els obtinguts per Llobera i Cañellas (2007) de 2.63 g/100 g m.s. per a la varietat Manto negro.

Si s'avaluen aquests valors, els resultats d'aquest estudi mostren que les pastes fermentades van presentar un increment significatiu ($p < 0.05$) del contingut polifenòlic, tant en la prova del Folin-Ciocalteu (FC) com en l'absorbància a 280 (IPT), respecte a les pastes premsades (veure figures 17 i 18).

Aquests resultats però, no signifiquen un increment dels compostos fenòlics en les pastes a mesura que té lloc la vinificació, ja que en termes absoluts, aquests components probablement disminuiran o no variaran; sinó que el que indiquen és un augment de la seva proporció. En definitiva, per a un mateix pes de raïm, el volum i concentracions de components (pells, polpa, llavors, etc.) varia en funció de que es tracti de pasta premsada o fermentada. Així, a una pasta premsada trobarem que per a la mateixa quantitat de polifenols presents a la mostra, aquests es troben en una concentració menor ja que hi interfereixen altres components i compostos estructurals que ja no hi són presents a les pastes fermentades, o hi són, però amb unes proporcions menors. I, per tant, la proporció dels compostos polifenòlics augmenta, tot i que el seu contingut disminueix.

A més, cal tenir en compte, que la màxima extracció de compostos fenòlics durant el procés de vinificació té lloc durant els primers dies de la maceració i que, a partir d'aquest punt, augmentar el temps de contacte amb les pastes de raïm no es tradueix en un increment en la concentració d'aquests (Gómez-Plaza *et al.*, 2006). Així, quan s'estableix l'equilibri entre la concentració de compostos fenòlics del vi i l'estructura dels teixits cel·lulars de les pastes de raïm, no es poden extreure més compostos fenòlics des de les pells cap al vi. Per tant, la major extracció de compostos polifenòlics

ja ha tengut lloc quan obtenim les pastes premsades, i no variarà gaire fins que obtinguem les fermentades.

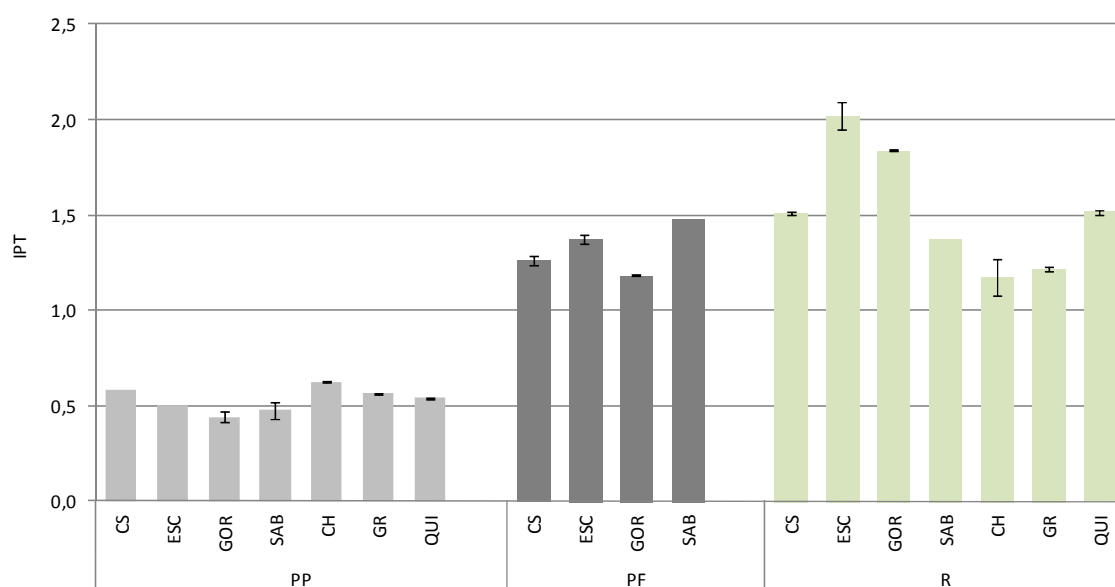


Figura 17. Índex de polifenols totals (IPT) dels subproductes de diferents varietats de vinya minoritàries i de referència. Els valors són mitjanes ($n = 3$) $\pm$ errors estàndards.

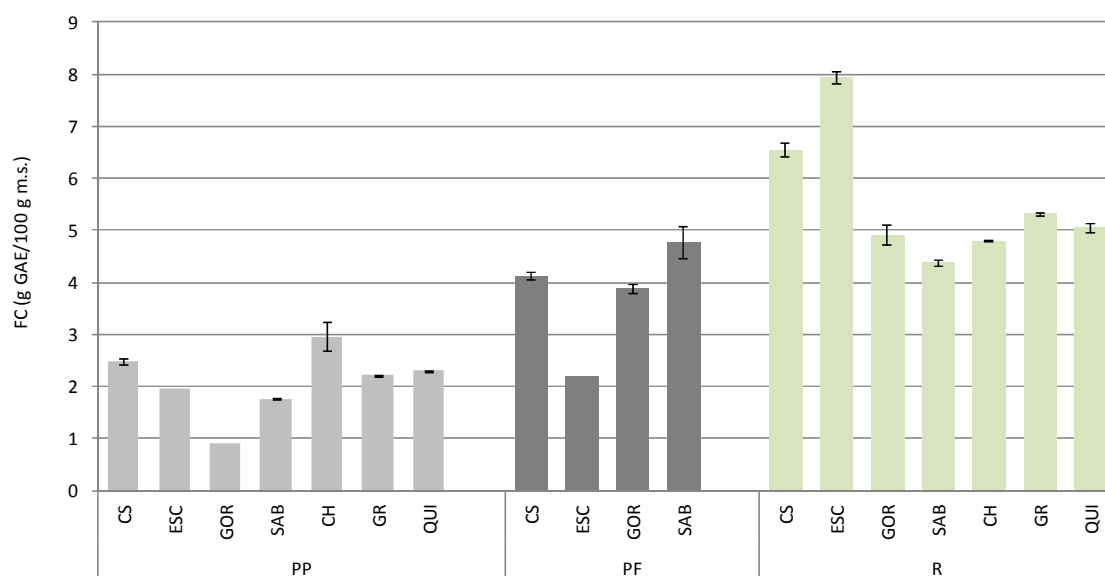


Figura 18. Contingut total en polifenols (Folin-Ciocalteu: FC) dels subproductes de diferents varietats de vinya minoritàries i de referència. Els valors són mitjanes ($n = 3$) $\pm$ errors estàndards.

Els valors presentats per les rapes van ser similars als de les pastes fermentades, superant també la concentració de composts fenòlics presentats per les pastes premsades. Altres autors també van trobar continguts en polifenols més alts a les rapes que a les pastes premsades fresques de distintes varietats de raïm (Alonso *et al.*, 2002; Llobera i Canyellas, 2008; Besharati *et al.*, 2009). Els autors que han basat els seus estudis en el contingut en polifenols de les rapes, publiquen una àmplia gamma de valors en quant a contingut en polifenols. Les xifres obtingudes en aquest estudi per a les rapes (4.39-7.95 g GAE/100 g m.s.) són molt semblants als obtinguts per Llobera i Canyellas (2008) en rapes de Prensall blanc de 8.73 g/100 g m.s.; Makris *et al.* (2007) en rapes de Roditis entre 3.12-7.47 g/100 g m.s.; Besharati i Taghizadeh (2009) en rapes i altres residus de vinya de 6.7 g/100 g m.s.; superiors als presentats per Bustamante *et al.* (2008) de 1.9 g/100 g m.s., per diferents varietats de vinya; i lleugerament inferiors als obtinguts per Llobera i Canyellas (2007) en rapes de Manto negre de 11.6 g/100 g m.s.

4.2.2.2. Contingut en antocians i tanins

A la figura 19 es mostren els resultats del contingut en antocians per a cada subproducte de les diferents varietats. Com era d'esperar, tant les pastes premsades com fermentades de les varietats negres van presentar un contingut significativament superior en antocians (entre 0.15 i 0.61 g/100 g m.s.) respecte a les varietats blanques (van oscil·lar entre 0.02 i 0.05 g/100 g m.s.).

Les rapes van mostrar uns valors significativament inferiors a les pastes premsades negres i fermentades, mostrant un contingut menyspreable, inferior a 0.06 g/100 g m.s. en tots els casos excepte la varietat Escursac, que va presentar un valor significativament superior de 0.18 g/100 g m.s.

Aquestes diferències significatives trobades entre les pastes premsades de varietats blanques i negres i les rapes, probablement són degudes a que els antocians es troben concentrats únicament a les pells dels raïms, estant absents a les rapes i llavors (Hrazdina *et al.*, 1980; Barceló *et al.*, 1994; Moutounet *et al.*, 1996). Aquests valors són similars als presentats en diversos estudis en varietats negres com Merlot i Cabernet Sauvignon de 0.03-0.14 g/100 g m.s. (Deng *et al.*, 2011); en Merlot de 0.45 g/100 g m.s. (Buccheti *et al.*, 2011) però lleugerament inferiors als presentats en Nero d'Amaro de 0.98 g/100 g m.s. (Negro *et al.*, 2003).

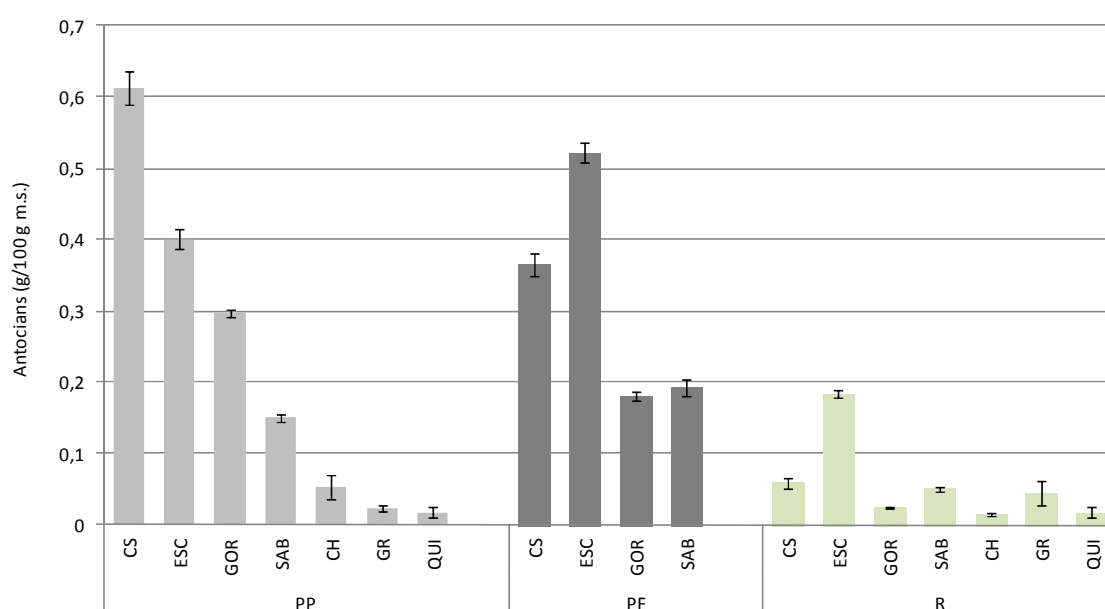


Figura 19. Contingut total en antocians dels subproductes de diferents varietats de vinya minoritàries i de referència. Els valors són mitjanes ($n = 3$) $\pm$ errors estàndards.

Si analitzam la comparació de resultats entre varietats, veiem que tot i que la varietat de referència Cabernet sauvignon, va presentar el major contingut en antocians a les pastes premsades fresques, aquest comportament no es va traduir en les pastes fermentades, en les quals va ser Escursac la varietat que mostrà el contingut més alt en antocians. Totes les varietats blanques, Chardonnay, Giró ros i Quigat, presentaren valors molt baixos i no van mostrar diferències significatives entre elles.

En quant a la concentració de tanins dels subproductes (figura 20), les rapes presentaren un contingut en tanins significativament superior ($p < 0.05$) a les pastes, oscil·lant entre 7.08 i 13.05 g/100 g m.s. En canvi, les pastes premsades i les fermentades oscil·laren entre 2.19 i 5.20 g/100 g m.s. i entre 4.65 i 6.56 g/100 g m.s., respectivament.

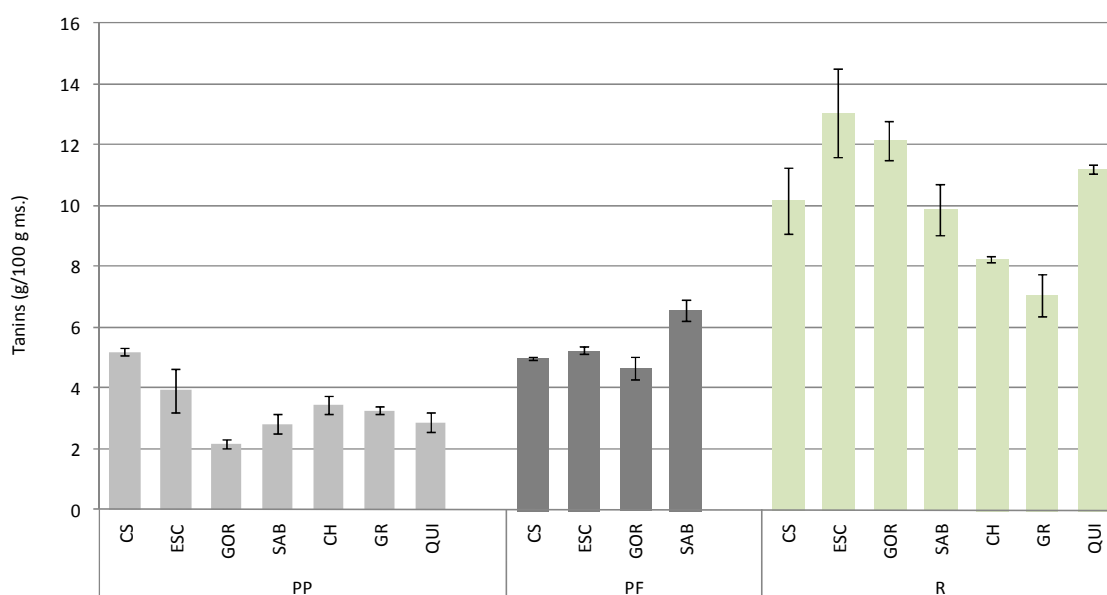


Figura 20. Contingut total en tanins condensats dels subproductes diferents de varietats de vinya minoritàries i de referència. Els valors són mitjanes ($n = 3$) $\pm$ errors estàndards.

Les pastes fermentades van presentar valors de tanins lleugerament més alts que les pastes premsades, a excepció de les mostres de Cabernet sauvignon que van exhibir concentracions similars en els dos tipus de pastes. Els valors de contingut en tanins dels subproductes de pastes premsades i fermentades són similars als exposats per Negro *et al.* (2003) de 2.23 g/100 g m.s., però notablement inferiors als presentats per Llobera i Cañellas (2008), que van mostrar unes concentracions de tanins de 16.83 g/100 g m.s.

L'elevat contingut en tanins (taula 10) presents a les rapes en comparació amb la resta de subproductes, està en concordança amb la major component groga (taula 8) de les rapes, ja que els compostos tànnics són els responsables de coloracions groguenques (Amendola *et al.*, 2010). Així, els valors obtinguts per a les rapes són similars als mostrats per González-Neves *et al.* (2004) i Llobera i Cañellas (2007 i 2008), que van obtenir un rang de concentracions de 7.90 a 10.30 g/100 g m.s. i sutilment inferiors als mostrats per Prozil *et al.* (2011) amb una concentració en tanins de 15.9 g/100 g m.s.

Pel que fa a la comparació entre varietats negres i blanques, les pastes premsades blanques van mostrar concentracions de tanins (2.87-3.45 g/100 g m.s.) dins l'interval comprès per les pastes premsades de varietats negres (2.19-5.20 g/100 g m.s.), sense poder determinar-ne diferències significatives entre elles ($p < 0.05$). En diversos estudis publicats a la bibliografia tampoc es trobaren diferències entre el contingut en tanins de pastes premsades de raïm de varietats blanques i negres (Deng *et al.*, 2011).

Les rapes de les varietats blanques Giró ros i Chardonnay van evidenciar valors més baixos (7.08-8.25 g/100 g m.s.) que la resta de rapes de varietats negres (9.89-13.05 g/100 g), però aquesta disminució no es va observar a les rapes de Quigat (11.21 g/100 g m.s.), que no va presentar diferències significatives amb la resta de varietats negres.

En definitiva, si s'observa la figura 20, podem comprovar que en general, l'elevat contingut en tanins condensats depèn més del subproducte a considerar que no pas de la varietat de raïm.

Els valors més alts de cada subproducte es van aconseguir amb Cabernet sauvignon, Sabater i Escursac als subproductes de pasta premsada, fermentada i rapa, respectivament.

4.3. Avaluació de la capacitat antioxidant

Per tenir un bon reflex del potencial antioxidant d'una mostra és necessària la determinació de varis mètodes. Així, l'objectiu de la utilització de vàries metodologies a l'estudi va ser incloure els múltiples mecanismes involucrats als diferents assajos i una gran varietat de substàncies amb propietats antioxidants diferents presents a les mostres (Rivero-Pérez *et al.*, 2008).

4.3.1. Vins

Els resultats de l'activitat antioxidant dels vins minoritaris i de referència obtinguts per diferents mètodes (ABTS, DPPH, FRAP i CUPRAC) es presenten a la taula 11, juntament amb la seva anàlisi estadística. A tots els assajos els resultats d'antioxidants s'expressen com a equivalents de Trolox (mmol/L).

S'ha d'assenyalar que tots els vins analitzats es van realitzar en condicions experimentals similars, seguint els protocols estàndards de vinificació per vins negres i blancs. Per tant, els índexs de capacitat antioxidant no s'haurien de veure afectats per la variable de vinificació, reflectint únicament les diferències entre varietats.

Taula 11. Potencial antioxidant avaluat mitjançant els mètodes ABTS, DPPH, FRAP i CUPRAC dels vins de varietats minoritàries i de referència. Els valors són mitjanes ($n = 6$) $\pm$ errors estàndards.

Varietat		ABTS (mmol Trolox/L)	DPPH (mmol Trolox/L)	FRAP (mmol Trolox/L)	CUPRAC (mmol Trolox/L)
Negres	Cabernet s.*	11.52 $\pm$ 0.29 A	5.06 $\pm$ 0.37 A	7.24 $\pm$ 0.30 A	14.12 $\pm$ 0.56 A
	Escursac	7.39 $\pm$ 0.11 C	4.37 $\pm$ 0.29 B	3.74 $\pm$ 0.12 B	7.98 $\pm$ 0.13 C
	Gorgollassa	8.97 $\pm$ 0.15 B	2.63 $\pm$ 0.04 D	3.08 $\pm$ 0.16 C	7.79 $\pm$ 0.28 C
	Sabater	7.66 $\pm$ 0.59 C	3.30 $\pm$ 0.12 C	4.11 $\pm$ 0.18 B	8.97 $\pm$ 0.30 B
Blanques	Chardonnay*	0.60 $\pm$ 0.02 D	0.20 $\pm$ 0.01 E	0.48 $\pm$ 0.10 D	1.32 $\pm$ 0.04 D
	Giró ros	0.61 $\pm$ 0.02 D	0.16 $\pm$ 0.01 E	0.52 $\pm$ 0.02 D	0.99 $\pm$ 0.02 D
	Quigat	0.59 $\pm$ 0.02 D	0.25 $\pm$ 0.01 E	0.73 $\pm$ 0.02 D	1.19 $\pm$ 0.05 D

*varietats de referència

A, B, C, D, E representen diferències significatives ($p < 0.05$) entre varietats

Com era d'esperar, per a qualsevol dels mètodes estudiats, els vins negres van mostrar un potencial antioxidant significativament superior al dels vins blancs, comportament que coincideix amb la tendència observada en el contingut en polifenols. Per això, pareix ésser que la quantitat de polifenols està relacionada amb la capacitat antioxidant de la mostra.

En general, respecte als vins negres minoritaris, l'elaborat amb la varietat Sabater va assolir els valors significativament més alts de capacitat antioxidant amb els mètodes FRAP i CUPRAC, però amb els mètodes ABTS i DPPH van resultar ser les varietats Gorgollassa i Escursac, respectivament, les que van presentar majors valors de capacitat antioxidant. En tot cas, per a qualsevol metodologia considerada, els resultats dels vins minoritaris van tornar a ser inferiors als del vi de referència, Cabernet sauvignon. Els valors de potencial dels vins blancs foren significativament inferiors als dels negres i no van presentar diferències significatives ($p < 0.05$) entre varietats.

El potencial antioxidant del vi Cabernet sauvignon també ha estat estudiat per Villaño *et al.* (2006) i Kondrashov *et al.* (2009), mostrant resultats similars als d'aquest estudi. La baixa capacitat antioxidant dels vins blancs de Chardonnay també ha estat publicada per altres autors (Li *et al.*, 2009; Minussi *et al.*, 2003).

4.3.1.1. Assaig ABTS

Els valors d'ABTS determinats a l'estudi (figura 21) oscil·laren entre 7.39 i 11.52 mmol Trolox/L per als vins negres, i inferiors a 0.61 mmol Trolox/L per als blancs.

El valor d'ABTS en vins negres va ser superior per al vi de Cabernet sauvignon, seguit per Gorgollassa, Sabater i Escursac, mostrant diferències significatives entre varietats. Aquests resultats del potencial d'ABTS són similars als aportats per Kondrashov *et al.* (2009) per als vins de Cabernet sauvignon (7.70-16.60 mmol/L) i lleugerament

superiors als publicats per Fernández-Pachón *et al.* (2006) (3.10-11.20 mmol/L); Villaño *et al.* (2004) (2.30 a 7.80 mmol/L); així com els de Villaño *et al.* (2006) (3.10 a 9.80 mmol/L).

Aquestes discrepàncies entre els resultats trobats a la bibliografia podrien atribuir-se a les diferències que es poden trobar entre les varietats o a entre els mètodes aplicats, com és la lectura de l'absorbància en el temps.

Respecte als vins blancs, no hi va haver diferències significatives entre les distintes varietats minoritàries ni amb el vi de referència. Els valors d'ABTS per als blancs estan d'acord amb els estudiats per Fernández-Pachón *et al.* (2006), Li *et al.* (2009) i Stasko *et al.* (2008).

4.3.1.2. Assaig DPPH

La captació de radicals lliures trobada a l'assaig DPPH als vins de varietats negres i blanques difereixen significativament, la qual cosa està d'acord amb estudis recents (Li *et al.*, 2009; Stasko *et al.*, 2008). Els valors de DPPH (figura 21) van variar des de 2.63 fins a 5.06 mmol Trolox/L per vins negres i menors de 0.25 mmol Trolox/L per a blancs.

Pels vins negres, la varietat Cabernet sauvignon és la que presenta un major potencial, seguida pels vins Escursac, Sabater i, finalment, Gorgollassa.

Els valors obtinguts per als vins negres són similars als presentats per Alén-Ruiz *et al.* (2009), que van obtenir una capacitat antioxidant d'entre 3.20 i 6.70 mmol/L. No obstant això, són valors lleugerament inferiors als obtinguts per Villaño *et al.* (2006) en vins de Cabernet sauvignon (2.50 a 12.30 mmol/L) i Fernández-Pachón *et al.* (2006) en 16 vins negres (4.70 a 17.00 mmol/L).

En el cas dels vins blancs, els valors de DPPH estan d'acord amb els resultats publicats a la bibliografia (Fernández-Pachón *et al.*, 2006; Stasko *et al.*, 2008).

4.3.1.3. Assaig FRAP

Els valors de FRAP (figura 21) van variar des de 3.08 a 7.24 mmol/L per als vins negres i per davall de 0.73 mmol/L per als vins blancs.

El vi Cabernet sauvignon tornà a presentar valors superiors a la capacitat antioxidant dels vins de varietats autòctones. El vi Sabater va ser la varietat minoritària que va aconseguir la millor capacitat per reduir l'ió fèrric, mentre que respecte a les varietats blanques, aquestes van presentar valors baixos molt similars, sense presentar-ne diferències significatives ($p < 0.05$).

Els resultats del FRAP van ésser consistents amb els valors reportats a la bibliografia per als vins negres, tal i com demostren Kondrashov *et al.* (2009) per al Cabernet sauvignon i Merlot (3.2 a 10.0 mmol/L) i Rupasinghe i Clegg (2007) que van obtenir valors de 9.0 mmol/L a vins de Cabernet sauvignon.

4.3.1.4. Assaig CUPRAC

Pels vins negres, els valors de CUPRAC (figura 21) van variar des de 7.79 a 14.12 mmol/L, i en el cas dels vins blancs, van mostrar valors per davall de 1.32 mmol/L.

Fent referència a les varietats, el vi Sabater va presentar el potencial antioxidant més alt pels vins de varietats minoritàries analitzats. Però en tots els casos, els resultats dels vins minoritaris fou inferior al de Cabernet sauvignon, tal i com també indiquen la resta de mètodes avaluats (ABTS, DPPH i FRAP).

Els resultats del mètode CUPRAC del present estudi van ser més baixos que els presentats per Li *et al.* (2009), que comprenen un rang d'entre 16.10 i 31.90 mmol/L pels vins negres i des de 2.10 fins a 3.40 mmol/L per als vins blancs.

D'acord amb els resultats mostrats a la figura 21, independentment de la varietat, la capacitat antioxidant dels vins negres va resultar ser major amb els mètodes CUPRAC i ABTS, i menor pels assajos DPPH i FRAP. Per altra banda, per als vins blancs, els valors de CUPRAC foren superiors a la resta d'assajos ABTS, FRAP i DPPH.

Per tant, si analitzam les mostres per separat, es pot comprovar que la magnitud de les diferències entre els vins depèn principalment del mètode considerat (Fernández-Pachón *et al.*, 2004; Rivero-Pérez *et al.*, 2008; Kondrashov *et al.*, 2009; Li *et al.*, 2009).

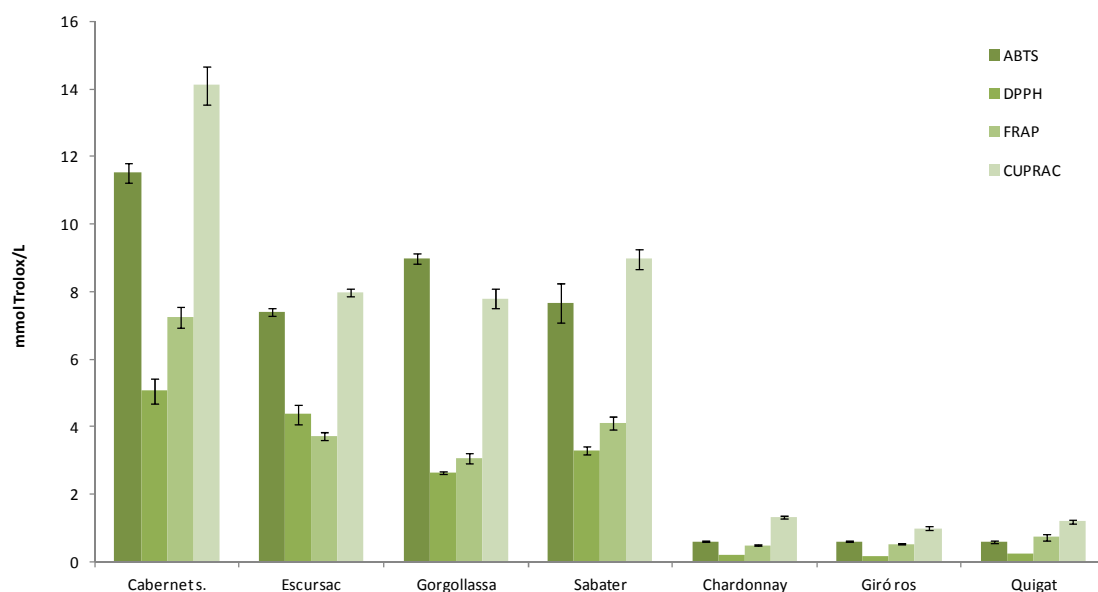


Figura 21. Capacitat antioxidant dels vins de varietats minoritàries i de referència avaluada pels mètodes ABTS, DPPH, FRAP i CUPRAC. Els valors són mitjanes ($n=6$) $\pm$ errors estàndards.

4.3.1. Subproductes

Encara que hi ha nombrosos estudis sobre la revisió de l'activitat antioxidant de diferents subproductes, els diferents mètodes de determinació, les diferents unitats equivalents d'activitat antioxidant emprades i l'expressió d'aquests resultats sobre

diferents unitats de la mostra (extracte, matèria seca, matèria fresca, etc.) fan que hi hagi dificultats per establir comparacions quantitatives (Llobera i Cañellas, 2007). A més, la recerca bibliogràfica sobre l'estudi del potencial antioxidant de subproductes de la indústria vitivinícola és ben escassa.

Els resultats de l'activitat antioxidant dels diferents subproductes de vinificació (pasta premsada, pasta fermentada i rapa) de les 5 varietats minoritàries, així com de les de referència, analitzades mitjançant els mètodes ABTS, DPPH, FRAP i CUPRAC, es presenten a la taula 12, juntament amb la seva anàlisi estadística.

Taula 12. Potencial antioxidant avaluat mitjançant els mètodes ABTS, DPPH, FRAP i CUPRAC dels subproductes de diferents varietats de vinya minoritàries i de referència. Els valors són les mitjanes ($n = 6$) $\pm$ errors estàndards.

Varietat	Sub-producte	ABTS (mmol Trolox/g m.s.)	DPPH (mmol Trolox/g m.s.)	FRAP (mmol Trolox/g m.s.)	CUPRAC (mmol Trolox/g m.s.)
Negres	Cabernet s.*	PP	b 26.37 $\pm$ 1.02 A	c 7.06 $\pm$ 0.85 AB	c 17.56 $\pm$ 0.49 A
		PF	b 21.06 $\pm$ 0.85 B	b 11.08 $\pm$ 0.94 B	b 34.75 $\pm$ 0.59 B
		R	a 29.44 $\pm$ 0.28 F	a 24.63 $\pm$ 1.27 B	a 52.39 $\pm$ 1.39 A
	Escursac	PP	b 22.90 $\pm$ 1.35 AB	c 8.11 $\pm$ 0.35 A	c 12.54 $\pm$ 0.86 C
		PF	b 12.64 $\pm$ 0.75 BC	b 8.90 $\pm$ 0.24 C	b 36.71 $\pm$ 1.22 B
		R	a 39.74 $\pm$ 1.52 B	a 30.58 $\pm$ 1.04 A	a 52.54 $\pm$ 2.57 CD
	Gorgollassa	PP	b 19.86 $\pm$ 2.55 B	c 7.71 $\pm$ 0.37 A	c 16.13 $\pm$ 0.61 A
		PF	b 17.34 $\pm$ 0.35 C	b 8.83 $\pm$ 0.47 C	b 27.94 $\pm$ 1.65 C
		R	a 36.11 $\pm$ 1.19 CD	a 26.38 $\pm$ 0.87 B	a 47.02 $\pm$ 2.24 AB
	Sabater	PP	b 19.76 $\pm$ 0.76 B	c 6.73 $\pm$ 0.37 AB	c 12.06 $\pm$ 0.35 C
		PF	b 23.62 $\pm$ 1.17 A	b 13.71 $\pm$ 0.14 A	b 41.52 $\pm$ 0.14 A
		R	a 37.67 $\pm$ 0.79 BC	a 25.66 $\pm$ 1.15 B	a 43.36 $\pm$ 2.34 BCD
Blanques	Chardonnay*	PP	b 13.63 $\pm$ 0.32 C	c 5.99 $\pm$ 0.36 B	c 14.44 $\pm$ 0.42 B
		R	a 49.27 $\pm$ 2.01 A	a 27.35 $\pm$ 1.27 AB	a 46.51 $\pm$ 1.06 ABC
	Giró ros	PP	b 15.44 $\pm$ 0.82 C	c 6.98 $\pm$ 0.30 AB	c 13.02 $\pm$ 0.52 BC
		R	a 33.57 $\pm$ 0.98 DE	a 24.20 $\pm$ 1.41 B	a 38.83 $\pm$ 0.79 D
	Quigat	PP	b 15.05 $\pm$ 0.49 C	c 5.89 $\pm$ 0.67 B	c 11.54 $\pm$ 0.59 C
		R	a 32.55 $\pm$ 1.06 EF	a 26.24 $\pm$ 0.85 B	a 43.62 $\pm$ 0.89 BCD

*varietats de referència

a, b, c representen diferències significatives ($p < 0.05$) entre tipus de subproducte (PP, PF i R)

A, B, C, D, E, F representen diferències significatives ($p < 0.05$) entre varietats

Com s'observa en els resultats de la taula 12, independentment de la metodologia utilitzada per avaluar la capacitat antioxidant total dels extractes dels subproductes, les rapes van mostrar un potencial significativament superior en totes les varietats, tant negres com blanques, superant la capacitat antioxidant tant de les pastes premsades com de les fermentades.

El major potencial de les rapes front a les pastes també ha estat observat en diversos estudis de Llobera i Cañellas en varietats blanques i negres, avaluats mitjançant el mètode DPPH, en subproductes de Manto negro amb valors de 495 mg eq. vit. E/g en les rapes i de 162 mg eq. vit. E/g en les pastes fermentades (Llobera i Cañellas, 2007); així com en subproductes de vinificació de la varietat Prensall blanc obtenint valors de capacitat antioxidant superiors en les rapes, 290 mg eq. vit. E/g, que en la pasta premsada de 173 mg eq. vit. E/g (Llobera i Cañellas, 2008).

Les pastes fermentades van presentar potencials antioxidants significativament superiors que les pastes premsades fresques a tots els mètodes excepte a l'assaig ABTS, que no va mostrar diferències significatives entre les pastes premsades i les fermentades ($p < 0.05$).

El major potencial antioxidant observat en les rapes, seguit de les pastes fermentades i finalment de les premsades, coincideix amb els resultats obtinguts en el contingut de polifenols determinats amb el mètode FC i l'IPT i amb el contingut en tanins condensats totals.

Les pastes premsades i rapes de les varietats blanques presentaren un potencial antioxidant dins el mateix rang que les varietats negres, excepte en el cas de l'assaig ABTS de les pastes premsades, en el qual les varietats blanques foren significativament inferiors.

4.3.2.1. Assaig ABTS

Els resultats de l'assaig d'ABTS determinats per als diferents subproductes (taula 12) oscil·laren entre 13.63 i 26.37 mmol Trolox/g m.s. en les pastes premsades; entre 12.64 i 23.62 mmol Trolox/g m.s. en les fermentades; i finalment, entre 29.44 i 49.27 mmol Trolox/g m.s. en les rapes.

Entre les pastes premsades (figura 22), la varietat de referència negra (PP CS) presentà una capacitat antioxidant superior a la resta de pastes procedents de varietats minoritàries, seguida per la pasta premsada de la varietat Escursac (PP ESC). En aquest cas, les pastes procedents de varietats blanques foren significativament inferiors a les negres.

Els resultats del potencial avaluat per la tècnica ABTS en les pastes fermentades (figura 23) mostraren un potencial no significativament superior a les premsades ($p < 0.05$). Sabater fou la pasta fermentada que presentà major capacitat per reduir el complex ABTS, per sobre la varietat de referència, mentre que Gorgollassa i Escursac les que menys.

Respecte les rapes (figura 24), en aquest cas, Chardonnay aconseguí el major potencial, seguida de la rapa Escursac, i en canvi, Quigat i Cabernet sauvignon foren les dues rapes amb menors resultats. De fet, en les rapes no s'observà cap tendència entre les varietats blanques i les negres, però en qualsevol cas, foren significativament superiors a les seves pastes tant premsades com fermentades.

4.3.2.2. Assaig DPPH

El potencial antioxidant mesurat mitjançant l'assaig DPPH (taula 10) va comprendre valors entre 5.89 i 8.11 mmol Trolox/g m.s. en les pastes premsades; entre 8.83 i 13.71 mmol Trolox/g m.s. en les fermentades; i per últim, entre 24.20 i 30.58 mmol Trolox/g m.s. en les rapes.

Les pastes premsades (figura 22) no presentaren diferències significatives entre les diferents varietats, tant minoritàries com de referència. En tots els casos, els valors de les pastes premsades foren significativament inferiors a les fermentades ($p < 0.05$).

En les pastes fermentades de les varietats negres (figura 23), a l'igual que l'assaig ABTS, Sabater presentà una major activitat antioxidant per sobre la varietat de referència, i Escursac i Gorgollassa (PF ESC i PF GOR) presentaren valors significativament inferiors.

Les rapes de totes les varietats (figura 24) presentaren una activitat antioxidant significativament superior a les pastes premsades i fermentades. Entre aquestes, la rapa d'Escursac manifestà un potencial superior a la resta de varietats (figura 24). Per a la resta de varietats, l'assaig DPPH no reflectí diferències significatives entre les varietats blanques i negres ni amb les varietats de referència.

4.3.2.3. Assaig FRAP

L'interval d'activitat antioxidant determinada amb l'assaig de FRAP (taula 12) oscil·là entre 11.54 i 17.56 mmol Trolox/g m.s. en les pastes premsades; entre 27.94 i 41.52 mmol Trolox/g m.s. en les fermentades; i entre 38.83 i 52.54 mmol Trolox/g m.s. en les rapes. Aquests resultats revelaren, com als anteriors assajos, un major potencial de les rapes enfront a les pastes ($p < 0.05$), així com la major capacitat antioxidant de les pastes fermentades, en relació a les premsades.

En aquest cas, el major potencial en les pastes premsades (figura 22) de la varietat de referència només pogué ésser igualat per la de Gorgollassa, mentre les varietats amb menor potencial a les pastes premsades foren Escursac, Sabater i Quigat (PP ESC, PP SAB i PP QUI). No s'observà tampoc amb aquest mètode diferències significatives entre les pastes premsades de varietats blanques i negres.

La pasta fermentada de Sabater avaluada amb el mètode FRAP (figura 23) tornà a ser la que obtingué un millor potencial, i altra vegada, la varietat Gorgollassa (PF GOR), la que menys.

En quant a les rapes, la varietat de referència, juntament amb Gorgollassa i Chardonnay (R GOR i R CH) presentaren una elevada activitat antioxidant (figura 24), i no s'observà cap diferència entre les rapes de varietats blanques i negres.

4.3.2.4. Assaig CUPRAC

Els valors de l'assaig CUPRAC analitzats per a tots els subproductes (taula 12) variaren entre 25.11 i 36.85 mmol Trolox/g m.s. en les pastes premsades; entre 73.58 i 89.63 mmol Trolox/g m.s. en les fermentades; mentre que en les rapes, van presentar valors d'entre 88.43 i 124.98 mmol Trolox/g m.s.

Entre les pastes premsades (figura 22), la mostra de referència (PP CS) presentà un potencial antioxidant significativament superior a la resta de pastes premsades minoritàries, i en aquest cas, les varietats Escursac i Sabater (PP ESC i PP SAB) presentaren els valors menors. A l'igual que els resultats dels mètodes DPPH i FRAP, no s'observà cap tipus de correlació entre les pastes procedents de varietats blanques i les negres.

L'activitat antioxidant de les pastes fermentades (figura 23) fou significativament superior a les premsades ($p < 0.05$). Com en els casos anteriors, Sabater fou la pasta fermentada que presentà major potencial, tot i que les diferències amb la resta de varietats no foren significatives.

Respecte les rapes (figura 24), Escursac assolí la major activitat antioxidant, juntament amb Cabernet sauvignon i Gorgollassa, mentre que Giró ros va ser la rapa de menor potencial. No es detectaren diferències significatives entre les rapes blanques i les negres. Una vegada més, les rapes foren significativament superiors a les seves pastes tant premsades com fermentades.

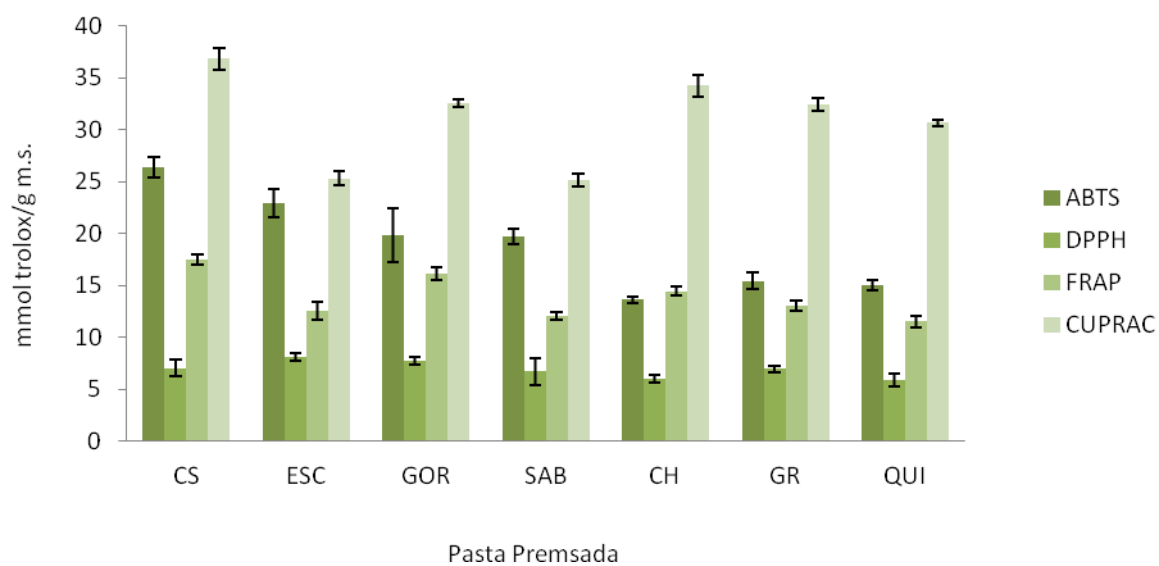


Figura 22. Avaluació de la capacitat antioxidant total de les pastes prensades obtingudes de diferents varietats. Els valors són mitjanes ($n = 6$) $\pm$ errors estàndards.

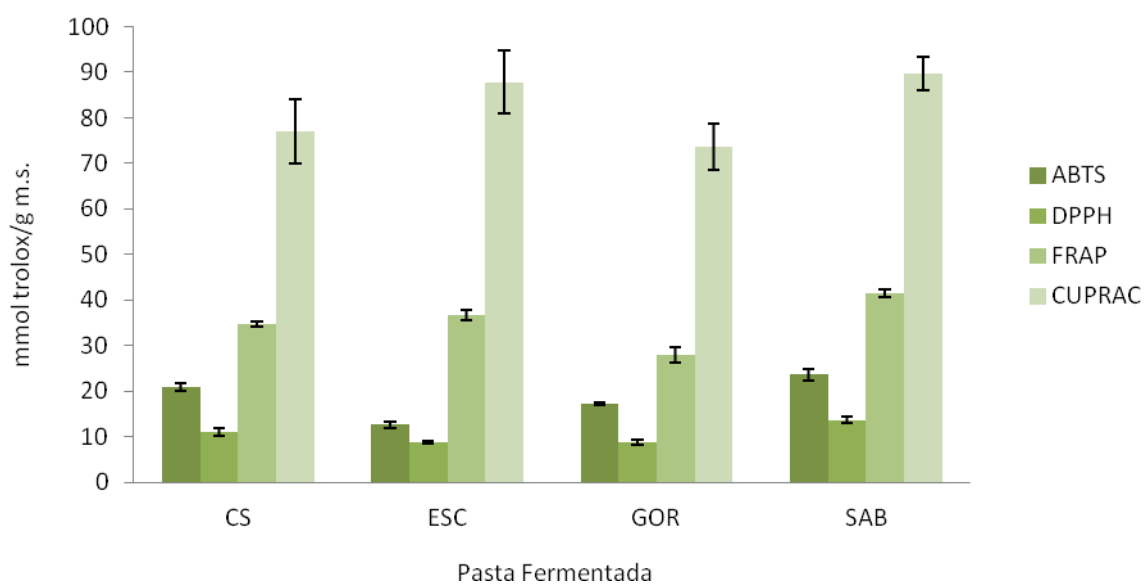


Figura 23. Avaluació de la capacitat antioxidant total de les pastes fermentades obtingudes de diferents varietats. Els valors són mitjanes ($n = 6$) $\pm$ errors estàndards.

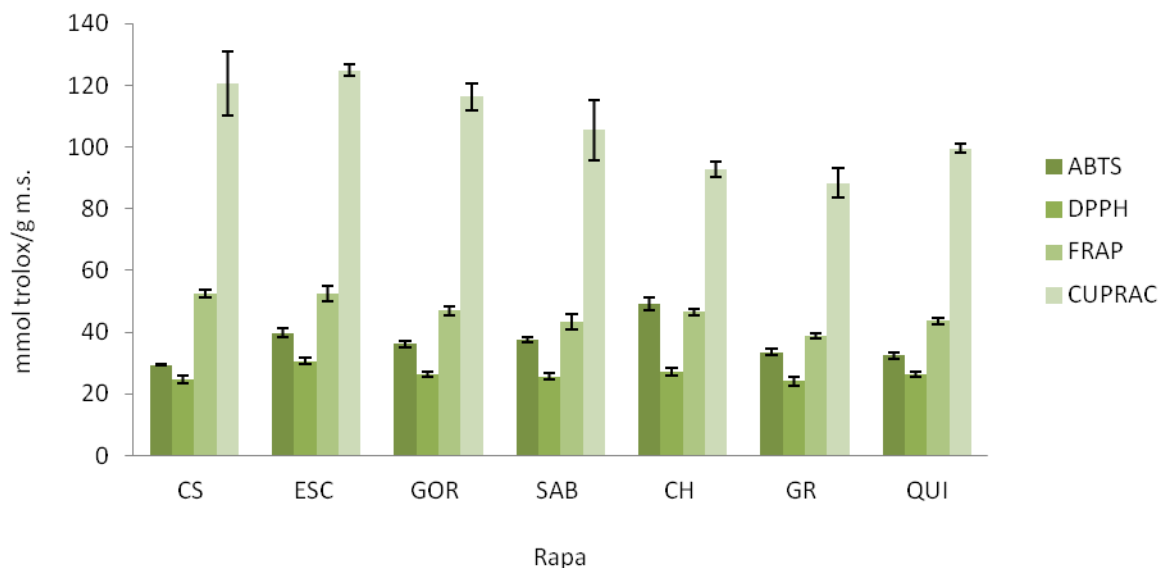


Figura 24. Avaluació de la capacitat antioxidant total de les rapes obtingudes de diferents varietats. Els valors són mitjanes ($n = 6$) $\pm$ errors estàndards.

El potencial antioxidant de les pastes premades de varietats blanques avaluades amb els distints mètodes és del mateix ordre de magnitud que el de les varietats negres estudiades, i només en l'assaig ABTS pogueren detectar-se diferències significatives. Makris *et al.*, (2007) també observaren una activitat antioxidant similar quan compararen pastes de les varietats Roditis (blanca) i de Agiorgitiko (negra). Llobera i Cañellas (2008) compararen els resultats de la pasta premada de Prensal (blanca) amb els obtinguts en el seu estudi anterior (Llobera i Cañellas, 2007) en pastes de Manto negro (negra) obtenint resultats similars. Malgrat això, altres autors han publicat resultats de l'activitat antioxidant diferents en funció de color blanc o negre de les varietats analitzades (González-Paramás *et al.*, 2004).

A l'hora de comparar les pastes premades es pot apreciar que tots els mètodes, excepte el DPPH, van assenyalar la varietat de referència Cabernet sauvignon com la mostra que va presentar major potencial antioxidant, mentre que les varietats minoritàries que exhibiren major potencial variaren en funció del mètode utilitzat,

encara que sembla ser, que la varietat Gorgollassa és la pasta premsada minoritària amb major activitat antioxidant.

No obstant això, a les pastes fermentades, Sabater va ser la varietat amb un major potencial per a tots els mètodes, superant els resultats de la varietat de referència (Cabernet sauvignon). A les rapes no hi va haver una tendència clara entre les varietats, essent la majoria de les diferències no significatives. Per tant, si analitzam les mostres per separat, s'observa que les diferències entre les mostres de subproductes depèn principalment del mètode considerat, a l'igual que en els vins (Fernández-Pachón *et al.*, 2004; Rivero-Pérez *et al.*, 2008; Kondrashov *et al.*, 2009; Li *et al.*, 2009).

Tal i com ocorre amb els vins, a l'hora de comparar els distints mètodes emprats, independentment de la varietat, la capacitat antioxidant de les mostres va resultar ser significativament major amb l'assaig CUPRAC. El mètode que va presentar menors concentracions de mmol Trolox/g de matèria seca va ser el DPPH.

4.4. Relacions entre els paràmetres avaluats

D'acord amb els resultats obtinguts per altres autors (Li *et al.*, 2009, Alén-Ruiz *et al.*, 2009; Villaño *et al.*, 2006, Rodríguez-Rodríguez *et al.*, 2009b), l'activitat antioxidant presenta una elevada correlació amb el contingut total de composts fenòlics, de manera que conforme augmenta la concentració d'aquests composts s'haurien d'obtenir majors valors en la capacitat antioxidant de la mostra.

Per comprovar aquesta afirmació es van realitzar regressions lineals per determinar com afectaven els composts fenòlics a la capacitat antioxidant. Així mateix, també es va establir la regressió entre els distints mètodes antioxidants estudiats tant en les mostres de vi com dels seus subproductes.

4.4.1. Relació entre components fenòlics i capacitat antioxidant

4.4.1.1. Vins

Diferents autors han demostrat que existeix una correlació entre els components fenòlics del vi i el contingut total en antioxidants (Stasko *et al.*, 2008; Kondrashov *et al.*, 2009; Li *et al.*, 2009). En aquest estudi es va determinar la relació lineal entre el contingut en polifenols (FC), IPT, antocians i tanins, i la capacitat antioxidant avaluada pels diferents mètodes antioxidants. La taula 13 mostra els resultats obtinguts en la regressió entre el contingut en antioxidants i totes les dades analitzades.

Taula 13. Coeficient de correlació lineal (r) i recta de regressió lineal ($y=ax+b$) entre la composició polifenòlica i la capacitat antioxidant avaluada per diferents mètodes dels vins de varietats minoritàries i de referència.

	ABTS	DPPH	FRAP	CUPRAC
IPT	0.925 ^{***} $y=0.003x+4.55$	0.936 ^{***} $y=0.007x+5.57$	0.975 ^{***} $y=0.005x+4.76$	0.957 ^{***} $y=0.003x+3.91$
FOLIN (FC)	0.953 ^{***} $y=0.12x+107.33$	0.933 ^{***} $y=0.25x+157.11$	0.968 ^{***} $y=0.21x+129.13$	0.972 ^{***} $y=0.10x+78.62$
ANTOCIANS	0.913 ^{***} $y=0.04x-40.59$	0.881 ^{***} $y=0.08x-25.63$	0.947 ^{***} $y=0.07x-41.52$	0.927 ^{***} $y=0.03x-53.58$
TANINS	0.871 ^{***} $y=0.10x+334.71$	0.865 ^{***} $y=0.23x+307.33$	0.899 ^{***} $y=0.19x+274.39$	0.896 ^{***} $y=0.09x+245.55$

*, **, ***: significació $p<0.05$, $p<0.01$ i $p<0.001$ mitjançant el test ANOVA, respectivament

ns: no significatiu

Com es desprèn de l'anàlisi estadística de les regressions (taula 13), tots els valors entre els paràmetres analitzats i els potencials antioxidants determinats amb els diferents mètodes foren significatius ($p<0.001$), tot i que la importància d'aquesta regressió lineal fou diferent en cada cas.

La capacitat antioxidant total va mostrar una elevada regressió lineal positiva amb l'índex de polifenols totals (IPT) i el contingut total en polifenols (FC) per a tots els mètodes definits. En tots els casos els coeficients de correlació lineal (r) van ser molt alts, per sobre de 0.92 pels assajos ABTS i DPPH i superiors a 0.96 pels assajos FRAP i CUPRAC (taula 13).

De la mateixa manera, Villaño *et al.* (2006) van obtenir un coeficient de correlació molt alt ($r = 0.995$) entre els valors de potencial antioxidant i el FC en vins negres de Cabernet sauvignon, Ull de llebre i Syrah. Menys ajustada, va ser la regressió presentada per Kondrashov *et al.* (2009) per als vins de Cabernet Sauvignon i Merlot, tant per l'assaig FRAP ($r = 0.797$) com per l'assaig de ABTS ($r = 0.782$).

La regressió amb antocians va ser igualment important, ja que va presentar valors de correlació molt alts. En el cas dels tanins, també existeix una bona correlació significativa per a tots els mètodes antioxidants, tot i que aquesta va ser, en general, lleugerament menys precisa que la resta de paràmetres. Els tests FRAP i CUPRAC mostraren els majors coeficients de correlació, mentre que DPPH i ABTS van presentar els coeficients més baixos. Per tant, l'eficàcia antioxidant de les varietats va estar influenciada principalment pel contingut en polifenols totals (FC, IPT) i antocians i, en menor rellevància, pels tanins. Aquests resultats estan d'acord amb els presentats per Li *et al.* (2009) i Fernández-Pachón *et al.* (2006).

4.4.1.2. Subproductes

Les referències trobades a la bibliografia que incideixin en la correlació entre composts fenòlics i capacitat antioxidant són escasses. Deng *et al.* (2011) van mostrar que hi havia una bona relació lineal entre l'assaig DPPH i el contingut en polifenols (FC) ($r = 0.989$), mentre que aquesta era inferior si es comparava la capacitat antioxidant amb

els tanins condensats totals ($r = 0.667$). Valors semblants han estat presents en altres autors com Dunonne *et al.* (2009) i Bozan *et al.* (2008).

A totes les mostres de subproductes (pasta premsada, pasta fermentada i rapa) es va establir la relació lineal entre IPT, el contingut en polifenols (FC), antocians i tanins, i la capacitat antioxidant avaluada pels diferents mètodes antioxidants. La taula 14 mostra els coeficients de correlació obtinguts entre els paràmetres analitzats i el potencial antioxidant del conjunt de subproductes.

Taula 14. Coeficient de correlació lineal (r) i recta de regressió lineal ($y=ax+b$) entre la composició polifenòlica i la capacitat antioxidant dels subproductes de diferents varietats minoritàries i de referència.

	ABTS	DPPH	FRAP	CUPRAC
IPT	0.592*** $y=9.92x+13.91$	0.708*** $y=12.59x+1.37$	0.819*** $y=22.28x+5.08$	0.871*** $y=62.57x+2.42$
FOLIN (FC)	0.672*** $y=3.41x+12.06$	0.824*** $y=4.31x-1.32$	0.775*** $y=6.23x+5.85$	0.873*** $y=17.93x+2.38$
ANTOCIANIS	-0.236* $y=-10.31x+26.99$	-0.432*** $y=-19.48x+18.84$	-0.193 ns $y=-13.47x+32.54$	-0.209 ns $y=-37.65x+79.17$
TANINS	0.819*** $y=1.95x+13.86$	0.879*** $y=2.27x+0.17$	0.779*** $y=3.13x+9.39$	0.781*** $y=8.22x+19.03$

*, **, ***: significació $p<0.05$, $p<0.01$ i $p<0.001$ mitjançant el test ANOVA, respectivament

ns: no significatiu

En general, la capacitat antioxidant total va mostrar una alta relació lineal positiva amb el contingut en polifenols (FC), IPT i tanins per a tots els mètodes definits. En la majoria de casos, els coeficients de correlació lineal (r) van ser superiors a 0.70, exceptuant l'assaig ABTS, que tot i presentar un nivell de significació <0.001 , va mostrar un valor de correlació mitjà en relació al contingut en polifenols ($r = 0.592$ en el cas de l'IPT i $r = 0.672$ en el cas del FC).

En el cas dels antocians, no es va trobar correlació lineal positiva amb la capacitat antioxidant total, donant valors negatius per a totes el mètodes determinats. A pesar de que el test ANOVA obtingué resultats significatius ($p < 0.05$) en els assajos ABTS i DPPH, els valors de $r < 0.4$ ens indiquen que el grau d'ajustament de la regressió és baix. Gómez-Plaza *et al.* (2006) també van observar la baixa correlació entre la capacitat antioxidant i el contingut en antocians. Encara que diversos autors (Kahkonen i Heinonen, 2003; Stintzing *et al.*, 2002) han assenyalat les propietats antioxidants dels antocians, en el present estudi no s'observa que aquests compostos aportin un efecte positiu sobre la capacitat antioxidant de les mostres avaluades. Pareix ésser, que la capacitat antioxidant de les pastes premsades i fermentades estaria atribuïda principalment a altres components fenòlics, com podrien ser els tanins. Això explicaria la manca de diferències trobades entre la capacitat antioxidant de pastes premsades de varietats blanques (amb contingut antociànic molt baix) i negres (amb major contingut antociànic).

4.4.2. Relació entre la capacitat antioxidant avaluada per diferents mètodes

4.4.2.1. Vins

La taula 15 es centra en la relació establerta entre els distints mètodes considerats en aquest estudi per avaluar el potencial antioxidant dels vins de varietats minoritàries i de referència. Com es pot observar en aquesta taula, hi va haver una correlació lineal alta en tots els mètodes (ABTS, DPPH, FRAP i CUPRAC), amb un coeficient de correlació lineal (r) superior a 0.75 en tots els assajos. Aquests resultats indiquen que tots els mètodes antioxidants estudiats aporten resultats comparables per a la quantificació del potencial antioxidant dels vins. Cal destacar, l'estreta relació existent entre els mètodes CUPRAC i FRAP, i entre CUPRAC i ABTS ($r = 0.959$), mentre que va ser més dèbil però igualment important entre ABTS i FRAP ($r = 0.922$) i entre ABTS i DPPH ($r = 0.916$).

Taula 15. Coeficient de correlació lineal (r) i recta de regressió lineal ($y=ax+b$) entre els diferents mètodes emprats per la quantificació de la capacitat antioxidant en vins de varietats minoritàries i de referència.

	ABTS	DPPH	FRAP	CUPRAC
ABTS	1	0.916 ^{***} $y=0.42x+44.12$	0.922 ^{***} $y=0.50x+206.45$	0.959 ^{***} $y=1.08x+392.25$
DPPH		1	0.754 ^{***} $y=0.69x+957.98$	0.816 ^{***} $y=1.64x+1886.58$
FRAP			1	0.959 ^{***} $y=1.99x+503.42$
CUPRAC				1

*, **, ***: significació $p<0.05$, $p<0.01$ i $p<0.001$ mitjançant el test ANOVA, respectivament

ns: no significatiu

L'elevada correlació lineal entre els mètodes estudiats en l'avaluació del potencial antioxidant de vins també ha estat estudiada per Stasko *et al.*, (2008) entre els mètodes DPPH i ABTS ($r = 0.98$) en l'estudi de 16 vins austríacs, així com Villaño *et al.*, (2006) en vins procedents de diferents varietats ($r > 0.99$). Així mateix, Li *et al.*, (2009) obtingueren també una forta regressió lineal ($r > 0.88$) entre tots els mètodes estudiats (CUPRAC, DPPH i ABTS) en vins de diferents varietats i anyades.

4.4.2.2. Subproductes

A la taula 16 es presenten els resultats dels coeficients de correlació identificats entre els mètodes avaluats per a la determinació del potencial antioxidant dels subproductes de vinificació. Com es desprèn d'aquesta taula, es va aconseguir una correlació lineal alta en la majoria de mètodes, amb un coeficient de correlació lineal (r) superior a 0.79 en tots els assajos, a excepció de la mostrada entre els assajos ABTS i FRAP ($r = 0.689$) i

ABTS i CUPRAC ($r = 0.656$) que va ser mitjana, tot i que en qualsevol cas, van presentar una correlació significativa ($p < 0.001$).

La millor regressió lineal es va establir entre els mètodes FRAP i CUPRAC ($r = 0.895$), seguida de ABTS i DPPH ($r = 0.878$). Això podria ser degut a la semblança entre els mètodes, ja que ABTS i DPPH actuen donant els radicals lliures a la mostra, i els mètodes FRAP i CUPRAC actuen com a receptors d'electrons per convertir-se en formes més estables.

En canvi, els menors coeficients de correlació es van establir entre els mètodes CUPRAC i ABTS ($r = 0.656$) i entre FRAP i ABTS ($r = 0.689$).

Taula 16. Coeficient de correlació lineal (r) i recta de regressió lineal ($y=ax+b$) entre els diferents mètodes emprats per la quantificació de la capacitat antioxidant en els subproductes de diferents varietats minoritàries i de referència.

	ABTS	DPPH	FRAP	CUPRAC
ABTS	1	0.878 ^{***} $y=0.91x+12.17$	0.689 ^{***} $y=0.44x+12.47$	0.656 ^{***} $y=0.17x+13.86$
DPPH		1	0.805 ^{***} $y=0.51x-0.22$	0.800 ^{***} $y=0.20x+0.77$
FRAP			1	0.895 ^{***} $y=0.35x+4.71$
CUPRAC				1

*, **, ***: significació $p < 0.05$, $p < 0.01$ i $p < 0.001$ mitjançant el test ANOVA, respectivament

ns: no significatiu

Si comparam els resultats d'aquesta correlació amb els obtinguts per a la determinació del potencial antioxidant de vins (taula 15), es pot comprovar que els coeficients de correlació són inferiors en tots els casos, per qualsevol de les comparacions establertes.

CONCLUSIONS

5. CONCLUSIONS

A partir dels resultats exposats anteriorment, es poden extreure una sèrie de conclusions, per tal de respondre als objectius plantejats en el present estudi.

— Fruit de les investigacions realitzades, s'ha contribuït en la millora del coneixement general dels vins procedents de 5 varietats minoritàries de vinya de les Illes Balears, a partir de la caracterització cromàtica, polifenòlica i de l'avaluació del seu potencial antioxidant, així com les relacions entre els diferents paràmetres:

1. Els vins negres presentaren una major intensitat de color i contingut de compostos fenòlics, antocians i tanins que els vins blancs ($p < 0.05$). La quantitat de cada paràmetre es va veure afectada per la varietat de raïm. El vi minoritari Escursac obtingué major intensitat de color (4.10), i el major contingut en polifenols totals (1044.25 mg/L), antocians (254.63 mg/L) i tanins (1053.49 mg/L). Els vins blancs van presentar valors més baixos i no van mostrar diferències significatives entre ells ($p < 0.05$). En cap cas, els vins minoritaris negres no van superar els valors obtinguts per la varietats de referència Cabernet sauvignon.
2. El potencial antioxidant dels vins de les varietats minoritàries avaluats per diversos mètodes (ABTS, DPPH, FRAP i CUPRAC) va mostrar la mateixa tendència que el contingut en polifenols, amb un potencial significativament més gran per als vins negres ($p < 0.05$) i inferior al de Cabernet sauvignon, però no va seguir el mateix patró en quant a l'ordre de varietats minoritàries, ja que la varietat més destacada va dependre del mètode emprat.
3. S'ha demostrat que existeix una estreta relació lineal entre el contingut en polifenols, antocians i tanins; i el potencial antioxidant per a tots els mètodes ($r > 0.86$), essent major per a les anàlisis de FRAP i CUPRAC ($r > 0.90$).

4. En comparar els diferents mètodes antioxidants, ABTS i CUPRAC presentaren una correlació més forta ($r > 0.96$) que DPPH i FRAP ($r > 0.92$), encara que en qualsevol cas també fou significativa ($p < 0.001$).
- Dels objectius plantejats en aquest treball, s'ha aconseguit impulsar l'escassa recerca existent sobre la caracterització cromàtica, polifenòlica i antioxidant dels subproductes vitivinícoles (pasta premsada, fermentada i rapa) de varietats minoritàries. A més, s'ha demostrat que aquests subproductes són de gran interès per a l'obtenció de compostos bioactius:
5. Els subproductes amb major intensitat de color varen ser les pastes fermentades i els que menor, les premsades ($p < 0.05$). En quant a contingut en polifenols, va ser la rapa de raïm el subproducte que va presentar majors valors en tots els casos (IPT, FC, tanins), excepte el contingut en antocians, que va ser superior a la pasta fermentada. Qualsevol dels subproductes estudiats van proporcionar un interessant contingut en compostos polifenòlics i, en termes generals, s'ha identificat a la rapa de raïm com el subproducte més adequat per obtenir un concentrat d'antioxidants naturals.
 6. S'ha provat que les varietats minoritàries més interessants foren, en el cas de les rapes, la varietat Escursac, que presentà el major contingut en compostos fenòlics, mentre que en les pastes fermentades, Sabater mostrà un contingut més alt d'IPT, FC i tanins. En el cas de les pastes premsades no es va trobar una tendència clara respecte a quina és la millor varietat, posant de manifest, fins i tot, que no hi ha diferències entre varietats blanques i negres ($p < 0.05$).
 7. Tots els subproductes de vinya exhibiren un important potencial antioxidant en tots els mètodes avaluats. Les rapes també demostraren el millor potencial antioxidant, superior a les pastes de raïm ($P < 0.05$). D'entre aquestes, les pastes fermentades presentaren major capacitat antioxidant que les

premsades, excepte en l'assaig ABTS, en el qual no es detectaren diferències significatives ($p < 0.05$).

8. L'anàlisi del potencial antioxidant ha verificat que no existeix cap tendència evident entre les diferents varietats, i s'ha constatat que els valors del potencial reductor es troben dins el mateix rang en blanques i negres, tant al comparar les rapes com les pastes. Pareix esser que la magnitud de les diferències està més lligada al mètode antioxidant avaluat que a les pròpies diferències entre varietats.
9. S'ha aconseguit una relació lineal bona entre el contingut en polifenols i tanins, i la capacitat antioxidant dels diferents subproductes ($r > 0.67$). La relació entre el contingut en antocians i la capacitat antioxidant va ser molt poc ajustada ($r < 0.43$), tot i ser significativa en els mètodes d'ABTS ($p < 0.05$) i DPPH ($p < 0.001$). Per tant, l'eficàcia antioxidant dels subproductes pareix estar influenciada principalment pel contingut en polifenols totals i tanins i, en menor rellevància, pels antocians.
10. La correlació entre els diferents mètodes antioxidants, mostrarà un coeficient de correlació lineal alt ($r > 0.80$), excepte entre ABTS i els mètodes FRAP i CUPRAC que va ser menys ajustat ($r < 0.69$). En qualsevol cas, les correlacions entre mètodes foren inferiors quan s'establiren en els subproductes que no pas quan ho feren en els vins.

BIBLIOGRAFIA

6. BIBLIOGRAFIA

Agro-waste stream minimization and reduction network (Awarenet) (2004). Handbook for the prevention and minimization of wastes and valorisation of by-products in the European agr-food industries, recurs en línia a <http://ew.eea.europa.eu/>.

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*, 113, 53-60.

Alonso, A.M., Domínguez, C., Guillén, D.A., Barroso, C.G. (2002). Determination of antioxidant power of red and white wines by a new electrochemical method and its correlation with polyphenolic content. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 50, 3112-3115.

Amendola, D., De Faveri, D. M., Spigno, G. (2010). Grape marc phenolics: Extraction kinetics, quality and stability of extracts. *Journal of Food Engineering*, 97, 384-392.

Amico, V., Chillemi, R., Mangiafico, S., Spatafora, C., Tringali, C. (2008). Polyphenol-enriched fractions from Sicilian grape pomace: HPLC–DAD analysis and antioxidant activity. *Bioresource Technology*, 99, 5960-5966.

Anastasiadi, M., Chorianopoulos, N. G., Nychas, G. J. E., Haroutounian, S. A. (2009). Antilisterial Activities of Polyphenol-Rich Extracts of Grapes and Vinification Byproducts. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 57, 457-463.

Apak, R., Guclu, K., Ozyurek, M., Karademir, S.E. (2004). Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(26), 7970-7981.

Aquino, R., Morelli, S., Lauro, M.R., Abdo, S., Saija, A., Tomaino, A. (2001). Phenolic Constituents and Antioxidant Activity of an Extract of *Anthurium versicolor* Leaves. *J. Nat. Prod.*, 64, 1019-1023.

Barceló, A.R., Calderón, A.A., Zapata, J.M., Muñoz, R. (1994). The histochemical localization of anthocyanins in seeded and seedless grapes (*Vitis vinífera*). *Scientia Horticulturae*, 57, 265.

Benzie, I.F.F., Strain, J.J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, 239, 70-76.

Besharati M., Taghizadeh, A. (2009). Evaluation of dried grape by-product as a tanniniferous tropical feedstuff. *Animal Feed Science and Technology*, 152 (3-4), 198-203.

- Bozan, B., Tosun, G., Ozcan, D. (2008). Study of polyphenol content in the sedes of red grape (*Vitis vinifera* L.) varieties cultivated in Turkey and their antiradical activity. *Food Chemistry*, 109, 426-430.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Food Science and Technology*, 28(1), 25-30.
- Bravo, L., Saura-Calixto, F. (1998). Characterization of dietary fiber and the in vitro indigestible fraction of grape pomace. *American Journal of Enology and Viticulture*, 49, 135-141.
- Bucchetti, B., Matthews, M.A., Falginella, L., Peterlunger, E., Castellarin, S.D. (2011). Effect of water deficit on Merlot grape tannins and anthocyanins across four seasons. *Scientia Horticulturae*, 128, 297-305.
- Bustamante, M.A., Moral, R., Paredes, C., Pérez-Espinosa, A., Moreno-Cadelles, J., Pérez-Murcia, M.D. (2008). Agrochemical characterisation of the solid by-products and residues from the winery and distillery industry. *Waste Management*, 28, 372-380.
- Caragay, A.B. (1992). Cancer-preventive foods and ingredients. *Food Technol.*, 46, 65-68.
- Chipault, J.R. (1962). Antioxidants for food use. A: Lunderberg, W.O. (ed.). *Autoxidation and antioxidants*. Nova York: Wiley, 477-542.
- Deng, Q., Penner, M.H., Zhao, Y. (2011). Chemical composition of dietary fiber and polyphenols of five different varieties of wine grape pomace skins. *Food Research International*, 44(9), 2712.
- Desco, Y., Mas, Ll. (2011). Estadístiques bàsiques de l'agricultura, la ramaderia i la pesca a les Illes Balears 2010. Ed. Conselleria d'Agricultura, Medi Ambient i Territori (Govern de les Illes Balears).
- Dunonne, S., Vitrac, X., Coutière, P., Woillez, M., Mérillon, J. M., (2009). Comparative study of antioxidant properties and total phenolic content of 30 plant extracts of industrial interest using DPPH, ABTS, FRAP, SOD, and ORAC assays. *J. Agric. Food Chemistry*, 57, 1768-1774.
- Escalona, J.M., March, J., Luna, J.M., Martorell, A., Rallo, J. (2006). Caracterización y aptitud enológica de variedades minoritarias de vid de Baleares: Perfil aromático. *Proceedings in XXIX World Wine Forum*. Spain: Logroño.
- Escalona, J.M., Luna, J.M., Martorell, A. (2009). Aptitud enológica de las variedades locales de Baleares Giró y Gorgollassa. *Enólogos*, 62, 24-28.

- Femenia, A. (2007). High value co-products from plant foods: cosmetics and pharmaceuticals. A. Waldron, K.W. (ed.). *Handbook of waste management and co-product recovery in food processing*. Cambridge: Woodhead Publishing Limited.
- Fernández-Pachón, M.S., Villaño, D., García-Parrilla, M.C., Troncoso, A.M., Fernández-Pachón (2004). Antioxidant activity of wines and relation with their polyphenolic composition. *Analytica Chimica Acta*, 513(1), 113-118.
- 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*, 563(1-2), 101-108.
- Flanzy, C. (2000). Enología: Fundamentos científicos y tecnológicos. Ed. Mundi-Prensa, Madrid.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations. FAOSTAT, recurs en línia a <http://faostat.fao.org/>.
- Fukumoto L.R., Mazza, G. (2000). Assessing antioxidant and prooxidant activities of phenolic compounds. *J. Agric. Food Chemistry*, 48, 3597-3604.
- García de Luján, A.; Puertas, B.; Lara, M. (1991). Variedades de vid en Andalucía. Ed. Junta de Andalucía, Sevilla.
- García-Muñoz, S., Lacombe, T., Martorell, A., Cabello, F. (2011). Evidence of loss in cultivated grapevines diversity: The example of the Balearic Islands (Spain). *Journal for Nature Conservation*, in press.
- German B., Schiffrin E.J., Reniero, R., Mollet, B., Pfeifer, A., Neeser, J.R. (1999). The development of functional foods: lessons from the gut. *Trends in Biotechnology*, 17 (12), 492-499.
- Glories, Y. (1984). La couleur des vins rouges: 1^{re} partie "les équilibres des anthocyanes et des tannins". *Connaissance Vigne Vin*, 18, 195-217.
- Gómez-Plaza, E., Miñano, A., López-Roca, J.M. (2006). Comparison of chromatic properties, stability and antioxidant capacity of anthocyanin-based aqueous extracts from grape pomace obtained from different vinification methods. *Food Chemistry*, 97, 87-97.
- González-Centeno, M.R. (2010). Tesi de Màster: Influència de l'entorn geogràfic sobre les característiques dels vins de la terra. Estudi de zonificació. Universitat de les Illes Balears.
- González-Neves, G., Charamelo, D., Balado, J., Barreiro, L., Bochicchio, R., Gatto, G., Gil, G., Tessore, A., Carbonneau, A., Moutounet, M. (2004). Phenolic potential of Tannat, Cabernet-

- Sauvignon and Merlot grapes and their correspondence with wine composition. *Analytica Chimica Acta*, 513, 191-196.
- González-Paramás, A.M., Esteban-Ruano, S., Santos-Buelga, C., Pascual-Teresa, S., Rivas-Fonzalo, J.C. (2004). Flavanol content and antioxidant activity in winery by-products. *Journal of the Agricultural and Food Chemistry*, 52, 234-238.
- Gordon, M.H. (1990). The mechanism of antioxidant action *in vivo*. Food Antioxidants, Elsevier, London, 1-18.
- Halliwell, B. (1996). Antioxidants: The Basics-what they are and how to Evaluate them. *Advances in Pharmacology*, 38, 3-20.
- Hertog, M.G.L., Feskens, E.J.M., Kromhout, D., Hertog, M.G.L., Hollman, P.C.H., Hertog, M.G.L., Katan, M.B. (1993). Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease: the Zutphen Elderly Study. *The Lancet*, 342, 1007-1011.
- Hidalgo, J. (2002). Tratado de Enología. Ed. Mundi-Prensa, Madrid.
- Hrazdina, G., Moskowitz, A. (1980). Grape and Wine Centennial Symposium. Ed. D.A. Webb, Californian University.
- Kähkönen, M.P., Hopia, A.I., Vuorela, H.J., Rauha, J.P., Pihlaja, K., Kujala, T.S., Heinonen, M. (1999). Antioxidant Activity of Plant Extracts Containing Phenolic Compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, 3954-3962.
- Kammerer, D., Claus, A., Schieber, A., Carle, R. (2005a). A novel process for the recovery of polyphenols from grape (*Vitis vinifera* L.) pomace. *Journal of Food Science*, 70, 157-163.
- Kammerer, D., Gajdos Kljusuric, J., Carle, R., Schieber, A. (2005b). Recovery of anthocyanins from grape pomace extracts (*Vitis vinifera* L. cv. 'Cabernet Mitoš') using a polymeric adsorber resin. *European Food Research and Technology*, 220, 431-437.
- Keskin, N., Noyan, T. & Kunter, B. (2009). Health from Grape by Resveratrol: Review. *Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri Dergisi*, 29(5), 1273-1279.
- 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*, 4, 41-46.
- Kong, J. M., Chia, L. S., Goh, N. K., Chia, T. F., Brouillard, R. (2003). Analysis and biological activities of anthocyanins. *Phytochemistry*, 64, 923-933.

- Laufenberg, G., Kunz, B., Nystroem, M. (2003). Transformation of vegetable waste into value added products: (A) the upgrading concept; (B) practical implementations. *Bioresource Technology*, 87, 167-198.
- Li, H., Wang, X., Li, Y., Li, P., & Wang, H. (2009). Polyphenolic compounds and antioxidant properties of selected Chena wines. *Food Chemistry*, 112, 454-460.
- Llaudy, M.C. (2006). Tesi Doctoral: Contribució al estudi de los factores que afectan la astringencia del vino tinto. Departament de Bioquímica i Biotecnologia. Facultat d'Enologia. Universitat Rovira i Virgili.
- Llobera, A., Cañellas, J. (2007). Dietary fibre content and antioxidant activity of Manto Negro red grape (*Vitis vinifera*): Pomace and stem. *Food Chemistry*, 101, 659-666.
- Llobera, A., Cañellas, J. (2008). Antioxidant activity and dietary fibre of Prensall blanc white grape (*Vitis vinifera*) by-products. *International Journal of Food Science and Technology*, 43, 1953-1959.
- Louli, V., Ragoussis, N., Magoulas, K. (2004). Recovery of phenolic antioxidants from wine industry by-products. *Bioresource Technology*, 92, 201-208.
- Magalhaes, L., Segundo, M. A., Reis, S., & Lima, J. L. F. C. (2008). Methodological aspects about in vitro evaluation of antioxidant properties. *Analytica Chimica Acta*, 613, 1-19.
- Makris, P., Boskou, G., Nikolaos K. (2007). Polyphenolic content and in vitro antioxidant characteristics of wine industry and other agri-food solid waste extracts. *Journal of Food Composition and Analysis*, 20, 125-132.
- Marco G.J. (1968). A rapid method for evaluation of antioxidants. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 45, 594-598.
- Martorell, A. (2011). Tesi de Màster: Les varietats minoritàries de vinya de les Illes Balears. Universitat de les Illes Balears.
- Maslow, A H. (1970). Motivation and Personality. *Harper and Row, New York*.
- Menrad K., (2003). Market and marketing of functional food in Europe. *Journal of Food Engineering*, 56, 181-188.
- Ministerio de Agricultura, Medio Rural y Marino (2011). Anuario estadístico del Ministerio de Agricultura, Medio Rural y Marino. Ed. Ministerio de Agricultura, Medio Rural y Marino, Madrid.

- Minussi, R. C., Rossi, M., Bologna, L., Cordi, L., Rotilio, D., Pastore, G. M., & Durán, N. (2003). Phenolic compounds and total antioxidant potential of commercial wines. *Food Chemistry*, 82, 409-416.
- Moutounet, M., Rigaud, J., Souquet, J.M., Cheynier, V. (1996). Caractérisation structurale des tanins de la baie de raisin. Quelques exemples de l'incidence du cépage, du terroir et du mode de conduite de la vigne. *Bulletin OIV*, 433-443.
- Namiki M. (1990). Antioxidants/antimutagens in food. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 29, 273-300.
- Nassiri-Asl, M., Hosseinzadeh, H. (2009). Review of the pharmacological effects of *Vitis vinifera* (Grape) and its bioactive compounds. *Phytotherapy Reserach*, 23(9), 1197-1204.
- Negro, C., Tommasi, L., Miceli, A. (2003). Phenolic compound and antioxidant activity from red grape marc extracts. *Bioresource Technology*, 87, 41-44.
- Ojeda, H. (1999). Tesi Doctoral: Influence de la contrainte hydrique sur la croissance du péricarpe et sur l'évolution des phénols des baies de raisin (*Vitis vinifera* L.) cv. Syrah. Ecole Nationale Supérieure Agronomique de Montpellier.
- Organisation Internationale de la Vigne et du vin OIV (2000). Recueil des methods internationaux d'analyse des vins caractéristiques chromatiques. France: Paris.
- Özgen, M., Reese, R. N., Tulio J. R., Scheerens, J. C., & 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*, 54, 1151-1157.
- Paladino, S. (2010). Tesi de grau: Actividad antioxidante de los compuestos fenólicos contenidos en las semillas de la vid (*Vitis vinifera* L.). Facultad de Ciencias Agrarias-UNCuyo.
- Pérez-Jiménez, J., Serrano, J., Tabernero, M., Arranz, S., Díaz-Rubio, M. E., García-Diz, L., Goñi, I., Saura-Calixto, F. (2008). Effects of grape antioxidant dietary fiber in cardiovascular disease risk factors. *Nutrition*, 24(7-8), 646-653.
- Peynaud, E. (1984). Knowing and Making wine. John Wiley & Sons, New York.
- Pinelo, M., Arnous, A., Meyer, A. S. (2006). Upgrading of grape skins: Significance of plant cell-wall structural components and extraction techniques for phenol release. *Trends in Food Science & Technology*, 17, 579-590.

- Ping, L., Brosse, N., Sannigrahi, P., Ragauskas, A. (2011a). Evaluation of grape stalks as a bioresource. *Industrial Crops and Products*, 33, 200-204.
- Ping, L., Pizzi, A., Guo, Z. D., Brosse, N. (2011b). Condensed tannins extraction from grape pomace: Characterization and utilization as wood adhesives for wood particleboard. *Industrial Crops and Products*, 34, 907-914.
- Prozil, S.O., Evtuguin, D.V., Cruz-Lopez, L.P. (2011). Chemical composition of grape stalks of *Vitis vinifera* L. from red grape pomaces. *Industrial Crops and Products*, 35(1), 178-184.
- Puertas, B., Serrano, M.J., Cantos, E., Jiménez, M.J. (2009). Potencial de variedades blancas de vid autóctonas andaluzas para obtener vinos singulares. *Revista Acenología*, 111.
- Puertas, B.; Serrano, M. J.; Jiménez, M. J.; Jurado, M. S.; Cantos, E. (2008). Vinos tintos andaluces de variedades foráneas: una realidad. *Enólogos*, 55, 34-38.
- Puértolas, E., Hernández-Orte, P., Sladaña, G., Álvarez, I., Raso, J. (2010). Improvement of winemaking process using pulsed electric fields at pilot plant scale. Evolution of chromatic parameters and phenolic content of Cabernet Sauvignon red wines. *Food Research International*, 43, 761-766.
- Radovanovic, A., Radovanovic, B., Jovancevic, B. (2009). Free radical scavenging and antibacterial activities of southern Serbian red wines. *Food Chemistry*, 117(2), 326-331.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying and improve ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26, 1231-1237.
- Reynier, A., de la Iglesia-González, J. A. (2001). Manual de viticultura. Ediciones mundiprensa.
- Ribéreau-Gayon, P. (1970). Le dosage des composés phénoliques totaux dans les vins rouges. *Chimie Analytique*, 52(6), 627-631.
- Ribéreau-Gayon, P., Stonestreet, E. (1965). Le dosage des anthocyanes dans le vin rouge. *Bull de la Société Chimique de France*, 9, 2649-2652.
- Ribéreau-Gayon, P., Stonestreet, E. (1966). Dosage des tannins du vin rouge et détermination de leur structure. *Chimie Analytique*, 48 (4), 188-196.
- Ribéreau-Gayón, P., Sudraud, R., Milhé, J.C., Canbas, A. (1970). Reserches technologiques sur les composes phenoliques des vin rouges II. Les íactors de dissolution des composes phenoliques. *Conn. Vigne Vin*, 4, 133-144.

- Rice-Evans (1995). 3-Free Radicals and Antioxidants in Atherosclerosis. *Immunopharmacology of Free Radical Species*, 39-52.
- Rice-Evans, C., Miller, N., Paganga, G. (1997). Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends in Plant Science*, 2(4), 152-159.
- Rivero-Pérez, M.D., González-Sanjosé, M.L., Ortega-Herás, M., & Muñiz, P. (2008). Antioxidant potential of single-variety red wines aged in the barrel and in the bottle. *Food Chemistry*, 111(4), 957-964.
- Robbins, R. (2003). Phenolic acids in foods: an overview of analytical methodology. *J. Agric. Food Chemistry*, 51, 2866-2887.
- Rodríguez-Rodríguez, P., Rabion, P., Ros-Berruezo, G., Gómez-Plaza, E. (2009). DOes oak ageing improve the antioxidant activity of red wines?. A:O'Byrne (ed.). *Red wine and health*. Nova York: NovaScience Publisher Inc., 323-338.
- Romero, I. (2008). Tesis Doctoral: Extracción de compuestos fenólicos de la uva al vino. Papel de los enzimas de maceración. Departamento de Tecnología de Alimentos, Nutrición y Bromatología. Universidad de Murcia.
- Roussis, I. G., Lambropoulos, I., Tzimas, P., Gkouliti, A., Marinos, V., Tsoupeis, D., Boutaris, I. (2007). Antioxidant activities of some Greek wines and wine phenolic extracts. *Journal of Food Composition and Analysis*, 21, 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*, 20, 133-137.
- Sánchez Guerrero, M., Sineiro Torres, J., Nuñez, M. J. (2008). Extraction of polyphenols from white distilled grape pomace: Optimization and modeling. *Bioresource Technology*, 99, 1311-1318.
- Shahidi, F. (2009). Nutraceuticals and functional foods: Whole versus processed foods. *Trends in Food Science & Technology*, 20, 376-387.
- Silva M.M., Santos M.R., Caroco C., Rocha R., Justino C., Mira L. (2002). Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids. Re-examination. *Free Radical Res.* 36, 1219-1227.
- Singleton, V.I., Rossi, J. (1965). Colorimetry of total phenolic with phosphormolyb-dicphosphotungstic acids agents. *Am. J. Enol. Viticult.*, 16, 144-158.

- Soleas, G. J., Grass, L., Josephy, P. D., Goldberg, D. M., Diamandis, E. P. (2002). A comparison of the anticarcinogenic properties of four red wine polyphenols. *Clinical Biochemistry*, 35, 119-124.
- Stasko, A., Brezová, V., Mazúr, M., Certík, M., Kalinák, M., Gescheidt, G. (2008). A comparative study on the antioxidant properties of Slovakian and Austrian wines. *Food Science and Technology*, 41, 2126-2135.
- Stintzing, F.C., Schieber, A., Carle, R. (2002). Identification of betalains from yellow beet (*Beta vulgaris* L.) and cactus pear [*Opuntia ficus-indica* (L.) Mill.] by high-performance liquid chromatography–electrospray ionization mass spectroscopy. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 2302-2307.
- Torres, J.L., Lozano, C., Julia, L., Sánchez-Baeza, F.J., Anglada, J.M., Centelles, J.J., Cascantes, J.M. (2002). Cysteineyl-flavan-3-ol conjugates from grape procyanidins. Antioxidant and antiproliferative properties. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 10, 2497-2509.
- Tsao, R.; Deng, Z. (2004). Separation procedures for naturally occurring antioxidant phytochemicals. *J. Chromatogr. B.*, 812, 85-99.
- Vatai, T., Skerget, M., Kenz, Z. (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.
- Vera, M., Martín, F., Frau, M. A. (2010). Diagnosi de la producció i comercialització dels productes amb denominació de qualitat. Denominacions de qualitat i indicacions geogràfiques de les Illes balears 2010. Ed. Conselleria d'Agricultura, Medi Ambient i Territori (Govern de les Illes Balears).
- Vila, H. (2002). Tesi de Màster: Efecto del tiempo de maceración sobre el color, la composición tánica y la astringencia de los vinos de la variedad Cabernet sauvignon y Malbec. Universidad Nacional de Cuyo.
- Villaño, D., Fernández-Pachón, M. S., Troncoso, A. M., García-Parrilla, M.C. (2004). The antioxidant activity of wines determined by the ABTS method: influence of simple dilution and time. *Talanta*, 64, 501-509.
- 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*, 95, 394–404.
- Waldron, K.W. (2004). Plant residues. A: Waldron K.W., Faulds, C.B., Smith, A.C. (ed.). *Total Food 2004 – Exploiting Co-Products, Minimising Waste*. Proceedings volume, Institute of Food Research, 117-131.

Waldron, K.W. (2007). Handbook of waste minimization, management and co-product recovery in food processing: an introduction. Cambridge: Woodhead Publishing Limited.

Young, J.F., Nielsen, S.E., Haraldsdottir, J., Daneshvar, B., Lauridsen, S.T., Knuthsen, P., Corzier, A., Sandstrom, B., Dragsted, L.O. (1999). Effect of fruit juice on urinary quercetin excretion and biomarkers of antioxidant status. *American Journal of Clinical Nutrition*, 69, 87-94.

Yu Hwang, J., Shyu, Y. S., Hsu, C. K. (2009). Grape wine lees improves the rheological and adds antioxidant properties to ice cream. *LWT - Food Science and Technology*, 42, 312-318.

Zamora, F. (2003). Elaboración y crianza del vino tinto: aspectos científicos y prácticos. Ed. AMV, Madrid.

Zoecklein, B. (1991). An overview of maceration during red winemaking. *Australian and New Zeland Wine Ind. J.*, 6, 265-267.