

El present projecte d'investigació ha estat subvencionat per la Conselleria d'Agricultura i Pesca del Govern de les Illes Balears.

La part experimental s'ha realitzat en els laboratoris del Departament de Química i dels Serveis Científicotècnics de la Universitat de les Illes Balears.

Col·laboradors del projecte:

Dr. Jaume Cañellas Mut

Sr. Francisco D. Zapata Navarro

ÍNDIX

I.- OBJECTIUS.

II.- INTRODUCCIÓ

III.- COMPOSICIÓ I CARACTERÍSTIQUES DE LES MOSTRES.

IV.- ANTIOXIDANTS.

V.- ESTUDI DEL PREMSAT DE *MANTO NEGRO*.

VI.- ESTUDI DE LA RAPA DE *MANTO NEGRO*.

VII.- CONCLUSIONS.

VIII.- BIBLIOGRAFIA.

II.- INTRODUCCIÓ

Mallorca és una illa que des de sempre ha donat molta rellevància al cultiu de la vinya. Aquesta importància s'ha vista fortament incrementada aquests darrers anys amb la creació de dues denominacions d'origen: DO Binissalem-Mallorca i DO Pla i Llevant.

Els factors més importants considerats a l'hora de planificar el present projecte d'investigació són els següents:

La producció total de raïm a Balears és de l'ordre de les 5.000 tones (any 2001). En el procés de vinificació queda com a residu aproximadament un 5% de rapa i un 25% de pasta de premsat, la qual cosa dóna una quantitat total de subproducte d'unes 1.500 tones. Aquest volum és significatiu, està concentrat a les bodegues i, a hores d'ara, no té cap valor comercial ni aplicació de cap tipus a les nostres Illes.

La bibliografia indica que aquest tipus de subproductes poden tenir propietats antioxidants.

Pot resultar d'interès aprofitar aquests subproductes, que fins i tot poden generar problemes de contaminació, per obtenir productes diferenciats amb propietats antioxidants.

D'aquesta forma s'aconseguirien rendibilitats addicionals del procés de vinificació que repercutirien directament en la renda dels que ho elaboren i, indirectament, possibilitaria que els productors de raïm obtinguessin uns preus més elevats.

La tipologia del procés permetria fer produccions industrials a escales petites (química fina, productes d'alt valor afegit,...) que són el tipus d'indústria òptima a les que una illa ha d'optar perquè suposen: per una banda, una minimització de l'impacte ambiental i, per l'altra, una baixa repercussió econòmica de la insularitat.

Per la gran varietat de raïm que existeixen i la pròpia durada d'aquest projecte (inferior a un any) s'ha considerat estudiar els residus d'una única varietat, optant-se per la *Manto Negro* perquè és la varietat autòctona majoritària, en diferència, a l'Illa.

III.- COMPOSICIÓ I CARACTERÍSTIQUES DE LES MOSTRES.

Els productes de partida d'aquest estudi són els residus de la vinificació del raïm autòcton *Manto Negro*: **premsat** (pells i llavors) i **rapes**. Les mostres d'aquests residus han estat gentilment aportades per la bodega Antonio Nadal de les vinyes de Son Roig de Binissalem.

Seguidament, es va procedir a l'assecat de les mostres a temperatures baixes perquè no perdessin activitat biològica. Posteriorment es va procedir al seu triturat per tal d'obtenir-ne partícules petites i homogènies. Es varen guardar a baixes temperatures fins el seu posterior estudi.

Les característiques de les mostres obtingudes per aquests dos subproductes del procés de vinificació del raïm autòcton *Manto Negro* són diferents ja que venen de dues parts del raïm completament diferenciades: una prové del gra que és comestible (premsat) i l'altra de la rapa que no es menja.

Aquesta diferència fa que la composició presenti diferències d'una certa importància com es pot veure a la Taula 1 de composició general mitjana obtinguda dels dos residus estudiats.

Taula 1. *Valors obtinguts per a les mostres representatives de premsat i de rapa de Manto Negro.*

	Premsat	Rapa
	(g/100 g de producte sec)	
Proteïna	12,20	8,45
Sucres solubles	2,73	11,25
Lípids	13,56	1,79
Cendres	4,57	5,74
Pectines solubles	5,59	1,06
NDF (fibra)	61,23	67,32



Els flavonoids estan dividits en distintes classes segons la seva estructura i, dins cada classe, segons el seu grau d'oxidació, de substitució i talla molecular (polimerització). Es poden distingir varies estructures, així podem trobar: calcones, flavones, isoflavones, auronas, antocianidines, flavonols, flavandiols, flavan-3-ols (catequines), "proantocianidines" (oligòmers de flavan-3-ols).

La Taula 2 conté un resum d'alguns antioxidants naturals i el seu origen dins les plantes.

Taula 2

Antioxidants naturals	Exemple de procedència
Vitamina E (tocoferols i tocotrienols)	Oli de llavors, nous, oli de palma, ous, vegetals, cereals, margarina, etc.
Vitamina C	Fruites i verdures, patates, cítrics, etc.
Carotenoids	Vegetals obscurs, cítrics, pastanagues, tomàquets, albercocs, oli de palma, etc.
Flavonoids/ Isoflavones	grans de cafè, oli de llavors, fruites i vegetals, cebes, tomàquets, albergínies, moniatos, etc.
Àcids fenòlics /Derivats	oli de llavors, cereals, grans, certs olis, etc.
Catequines	Te verd, grans de cafè, certs olis de llavors, etc.
Extractes	Extractes de te verd, romaní, orenga, sàlvia, closca de cacau, segó d'arròs, civada, farigola, etc.

Els antioxidants naturals millor coneguts i que tenen més importància dins la indústria alimentària i respecte a la salut humana són els tocoferols (relacionats amb la vitamina E), la vitamina C i els carotenoids. Però en els darrers anys l'estudi dels antioxidants polifenòlics naturals està agafant una gran importància.

V.- ESTUDI DEL PREMSAT DE MANTO NEGRO.

v.1). Extracció de la fracció polifenòlica i determinació dels polifenols totals del premsat.

El premsat inicial de les característiques descrites anteriorment, es va sotmetre a una sèrie d'extraccions per tal d'aconseguir concentrats polifenòlics.

D'entre totes les experiències fetes, a la Taula 3 es troben els resultats dels concentrats obtinguts del premsat del raïm *Manto Negro*, segons els dos millors sistemes d'extracció optimitzats i que anomenarem PREMVIT i PREMNAT.

Taula 3.- *Concentrats i polifenols totals del premsat del raïm Manto Negro.*

Nom del producte	Pes del concentrat (mg/g premsat sec)	Polifenols totals concentrat (mg-equivalents àc. gàl·lic/ g concentrat)	Polifenols totals premsat (mg-equivalent àc. gàl·lic/ g premsat sec)
PREMVIT	119,8	219,7	26,3
PREMNAT	100,5	194,6	19,6

Valors mitjos

Dels resultats experimentals de la Taula 3 s'observa que el concentrat PREMVIT és millor que el PREMNAT.

Donat el fet que per altres productes naturals existeix una relació directa entre la quantitat de polifenols totals presents en el mateix i la seva activitat antioxidant, la presència de quantitats importants de polifenols en els concentrats del premsat del raïm *Manto Negro* fa que aquests resultats siguin molt prometedors cap a la possible capacitat antioxidant dels mateixos.

v.3). Determinació de l'activitat antioxidant dels concentrats del premsat del raïm *Manto Negro*.

Donat l'elevat contingut de polifenols totals i de flavan-3-ols dels millors concentrats del premsat del raïm *Manto Negro* obtinguts, es va considerar oportú fer l'estudi de l'activitat antioxidant no tant sols del millor (PREMVIT) si no també de l'altre (PREMNAT).

Els resultats obtinguts estan recollits a la Taula 5. Els valors de l'activitat antioxidant, donats com a EC_{50} (g/L), estan referits al concentrat i al premsat inicial sec. A *menor* valor de EC_{50} *major* és la seva capacitat antioxidant.

Així mateix, a la Taula 5 es dona l'equivalència d'un gram de concentrat i d'un gram de premsat inicial sec en mil·ligrams de vitamina E, es a dir, a *major* quantitat –equivalent de vitamina E *major* és l'activitat antioxidant del producte

Taula 5.- *Activitat antioxidant dels concentrats del premsat de Manto Negro.*

Nom del producte	Activitat antioxidant concentrat EC ₅₀ (g/L)	Activitat antioxidant premsat EC ₅₀ (g/L)	Equivalència activitat antioxidant Vitamina E (mg/g concentrat)	Equivalència activitat antioxidant Vitamina E (mg/g premsat)
PREMVIT	0,150	1,238	1334	162
PREMNAT	0,170	1,710	1176	117

Valors mitjos

De les dades s'observa que, d'una banda, el residu inicial obtingut del premsat presenta una bona activitat antioxidant (recordar que és ric en fibra dietètica), i que els seus concentrats presenten encara una activitat antioxidant més elevada ja que ambdós tenen valors de EC_{50} inferiors al de la vitamina E pura ($EC_{50}= 0,20$ g/L). És a dir, ambdós concentrats presenten millor activitat antioxidant, com a captadors de radicals lliures, que la vitamina E, compost de reconeguda activitat antioxidant (Figura 1).

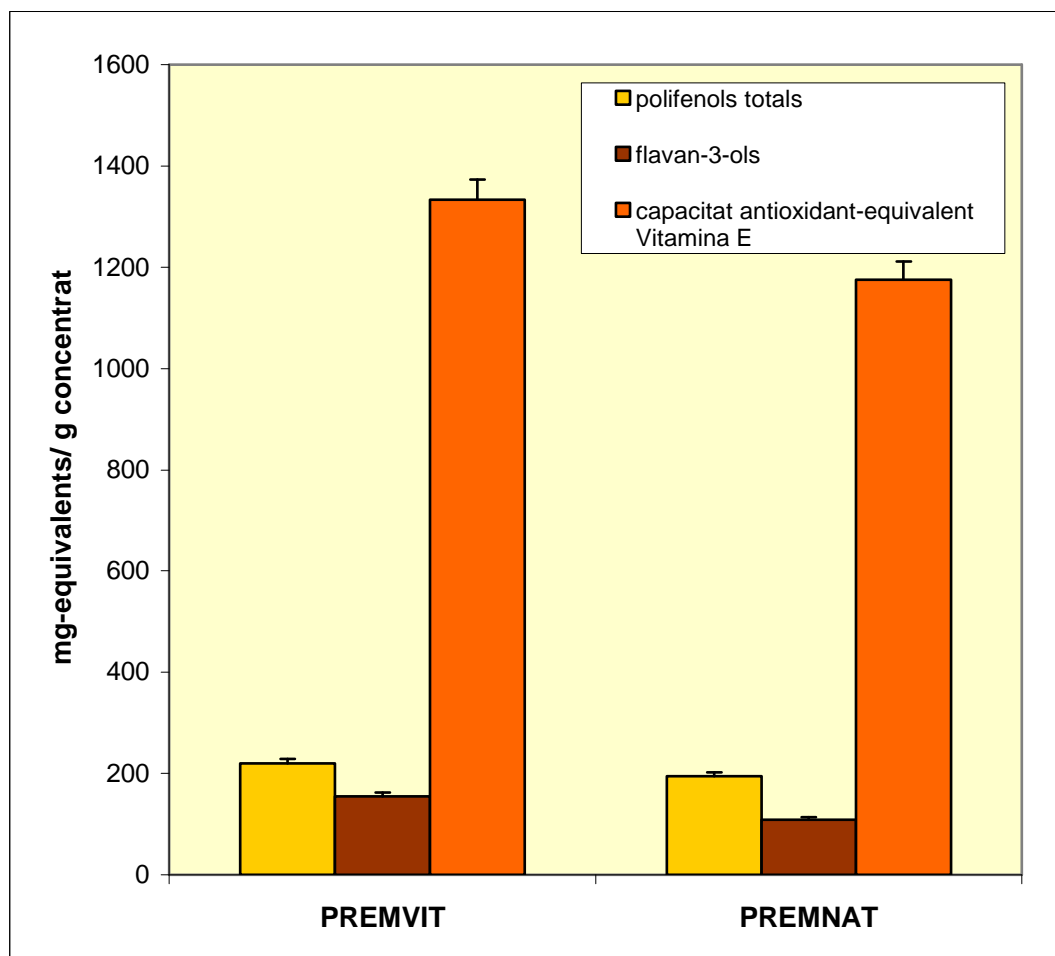


Figura 2.- Comparació dels millors concentrats del premsat de la vinificació de *Manto Negro*.

v.4). Anàlisi del concentrats del premsat del raïm *Manto Negro* per HPLC.

Els extractes polifenòlics de productes naturals solen contenir un nombre de components molt elevat i normalment el seu anàlisi sempre ha estat molt complicat per la necessitat de separar-los prèviament en les seves distintes classes químiques. Els anàlisis que requereixen unes purificacions preliminars molt tedioses no són bons per fer *screenings* de mescleres complexes.

La cromatografia líquida d'alta resolució, HPLC, en fase reversa és una tècnica molt usada per analitzar la composició fenòlica de diversos productes que provenen de vegetals, cereals i fruites.

De tot això, la tècnica de HPLC en fase reversa aplicada als concentrats del premsat de la vinificació del raïm *Manto Negro*, PREMVI i PREMNAT, ens permet dir que contenen a més dels flavan-3-ols (monomèrics i oligomèrics), quantificats anteriorment, també altres tipus de compostos polifenòlics com són àcids i flavonols, compostos descrits a la bibliografia com a que tenen també una elevada activitat antioxidant.

Taula 7.- Flavan-3-ols dels concentrats de la rapa de Manto Negro.

Nom del producte	Flavan-3-ols concentrat (mg-equivalent (+)-catequina/ g concentrat sec)	Flavan-3-ols (mg-equivalent (+)-catequina/ g rapa seca)	% Flavan-3-ols (respecte als polifenols totals)
RPAVIT	270,3	81,2	70
RAPANAT	216,7	63,9	73

Valors mitjos

Cal notar que els dos concentrats de la rapa de *Manto Negro* presenten un elevat contingut de flavan-3-ols que és de l'ordre del 70%.

La comparació de les característiques dels dos concentrats RPAVIT i RAPANAT de la rapa del raïm Manto Negro indica que el concentrat RPAVIT és millor a l'altre.

vi.3). Determinació de l'activitat antioxidant dels concentrats de la rapa del raïm *Manto Negro*.

En el cas de la rapa del raïm *Manto Negro*, i de manera paral·lela al premsat, es va fer l'estudi de l'activitat antioxidant dels dos millors concentrats obtinguts, RPAVIT i RAPANAT.

Els resultats obtinguts es donen a la Taula 8 i corresponen als valors mitjos d'un mínim de 5 determinacions. Els valors de l'activitat antioxidant, donats com a EC₅₀ (g/L), estan referits al concentrat i a la rapa inicial seca. A *menor* valor de EC₅₀ *major* és la seva capacitat antioxidant.

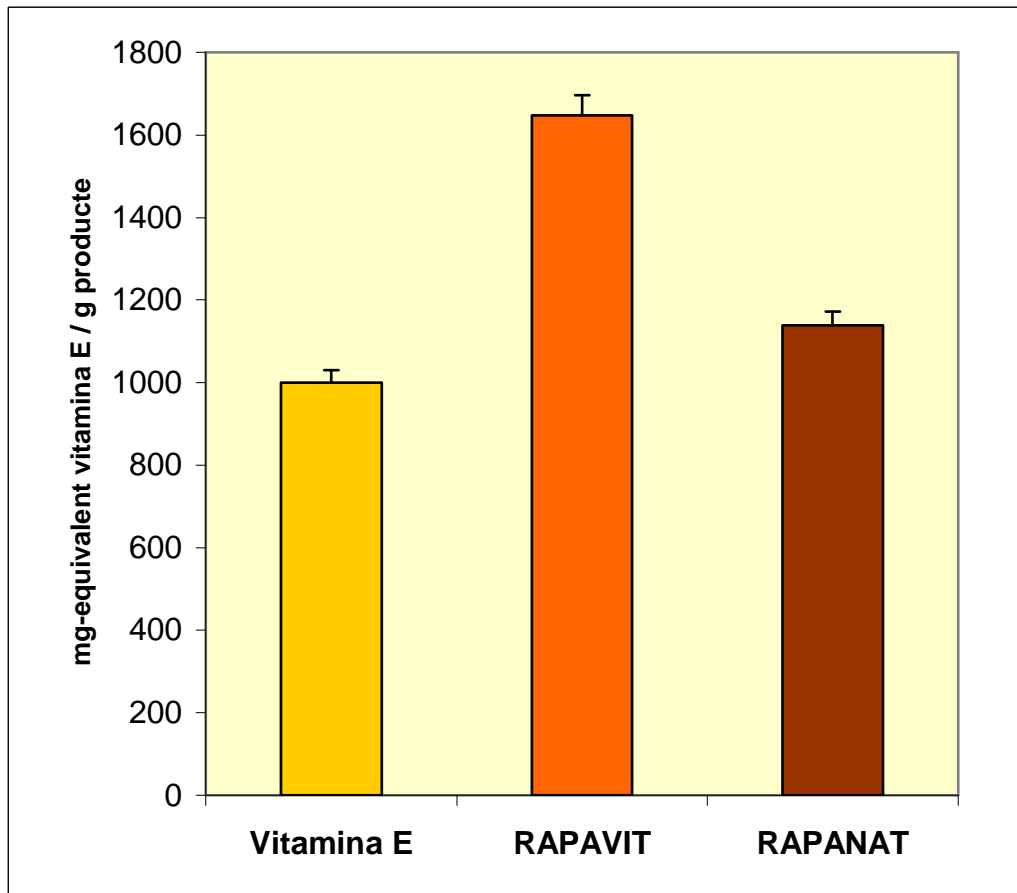


Figura 3.- Comparació de l'activitat antioxidant dels millors concentrats de la rapa del raïm *Manto Negro* amb la vitamina E.

La comparació relativa de les característiques estudiades d'ambdós concentrats de la rapa mostra que el RAPAVIT és el millor. Aquí, com en el cas del premsat, també es dona una relació directa entre les quantitats de polifenols totals i de flavan-3-ols i la seva activitat antioxidant (Figura 4).

VII. CONCLUSIONS.

Segons els objectius fixats en aquesta investigació aplicada i d'acord amb els resultats obtinguts es poden presentar les següents conclusions:

- 1). Els dos residus obtinguts del procés de vinificació del raïm autòcton *Manto Negro*, premsat i rapa, són molt rics en fibra dietètica, tenen un elevat contingut en polifenols i també presenten una bona activitat antioxidant. La rapa inicial és tres vegades més activa que el premsat de la vinificació. Aquesta diferència està directament relacionada amb el seu contingut en polifenols totals i també en flavan-3-ols.
- 2). S'han obtingut en condicions suaus extractes concentrats del premsat i de la rapa inicials més rics en polifenols totals que ells. Aquests suposen un 12% i un 30% del pes del residu inicial sec, pel premsat i la rapa, respectivament.
- 3). Les capacitats antioxidants dels concentrats són superiors a les dels residus inicials per ambdós casos. Existeix una clara relació directa entre la quantitat de polifenols totals i de flavan-3-ols i l'activitat antioxidant dels concentrats. Dels subproductes estudiats, el concentrat que presenta més activitat antioxidant és l'anomenat PREMVIIT pel premsat i el RAPAVID per a la rapa, respectivament.
- 4). La rapa de *Manto Negro* proporciona millors concentrats que el premsat -part dels seus polifenols han passat prèviament al vi-. Però, pel mateix contingut de polifenols, l'activitat antioxidant relativa del PREMVIIT és superior a la del RAPAVID.
- 5). D'ambdós residus -premsat i rapa- s'han obtingut uns concentrats que presenten un poder antioxidant -captador de radicals lliures- superior al de la vitamina E pura. Així, el concentrat PREMVIIT té una capacitat captadora de radicals lliures un 33% superior a la vitamina E i el concentrat RAPAVID la supera en un 64%. Per la qual cosa, es pot considerar que en aquest projecte d'investigació aplicada s'han obtingut uns concentrats naturals amb molt bones propietats antioxidants.

VIII.- BIBLIOGRAFIA

Borod, M.. (2001). "Integrated comprehensive hemorrhoid treatment compositions and regimen". US Patent 6228387 B1, May 8; 5 pp.

Cincotta, A. (2001). "Pharmaceutical composition for reducing plasma triglycerides, platelet aggregation, and oxidative capacity". Int. Patent Appl. WO 2001051088 A1; July 19; 18 pp.

Garewall, A.S.,Ed., "*Antioxidants and disease prevention*" CRC Press: Boca Raton FL, (1997).

Goupy, P., Hugues, M., Boivin, P. and Amiot, M.J. (1999). "Antioxidant composition and activity of barley and malt extracts and of isolated phenolic compounds". J. Sci. Food Agric. 79, 1625-1634.

Henry, F; Pauly, G.; Moser, P. (2001). "Extracts from residues left in the production of wine and usage in cosmetic and pharmaceutical compositions". Int. Patent Appl. WO 2001058412 A2, August 16, 28 pp.

Ho, Ch.T. et all, (1992) "Phenolic compounds in food and their effects in health" ACS Symposium Series 507, American Chem. Soc., Washington D.C.

Jadhav, S.J., Nimbalkar, S.S., Kulkarni, A.D. and Madhavi, D.L. (1996). "In Food Antioxidants: Technological and Health Perspectives", ed. Madhavi, D.L., Deshpande, S.S. and Salunkhe, D.K.. Marcel Dekker, New York, 5-64.

MacManus, S.M. (1999). "The handbook of natural flavonoids. Volumes 1 and 2" Harborne, J.M. and Baxter, H. (editors), Wiley, Chichester.

Mikamo, E., Okada, Y., Semma, M., Ito, Y., Morimoto, T. and Nakamura, M. (2000). "Studies on structural-correlation with antioxidant activity of flavonoids". Nippon Shokuhin Kagaku Gakkaishi, 7 (2), 97-101.

