

SAGAR BARIETATEAREN ETA POLIFENOLEN ERAGINA EUSKAL HERRIKO SAGARDOAREN EZAUGARRIETAN



eman ta zabal zazu



Universidad
del País Vasco

Euskal Herriko
Unibertsitatea

Andoni Zuriarrain Ocio

Donostia 2017

eman ta zabal zazu



Universidad del País Vasco Euskal Herriko Unibertsitatea

Kimika Zientzien Fakultatea

Kimika Aplikatua Saila

**Sagar barietatearen eta polifenolen eragina
Euskal Herriko sagardoaren ezaugarrietan**

izena duen txostena

Zientzia Kimikoetan Doktore-maila eskuratzeko

**Andoni Zuriarrain Ocio
Donostia 2017**

Dedicado a mis padres y a mi familia

Gurasoei eta familiari dedikatua

Esker onak

Doktoratu aurreko beka jaso nuenean, 2012. urtean, doktoregoa Donostiako Kimika Fakultatean egiteko, ez neukan ideiarik zer suposatzen duen tesi bat idazteak. Ni, pozez gainezka nengoen garai hartan, hain zoriontsu izan naizen lekuan 3 urtez jarraitzeko aukera neure aurrean neukalako, ezagutzen nuen jendeaz inguratutik.

Gaur, eta oraintxe bertan, neure tesia idazten bukatzeaz nagoela, hain zuzen ere lerro hauekin, bost urte geroago eta nire ilean eta bizarrean zenbait ile urdin ditudala jada, ulertzen dut zer suposatzen duen doktorego batek. Aitortu behar dut, dudarik gabe, lehenengo urtea hoberena izan zela, neure ilusioa laborategian berriro sartzean eta gailu eta teknika berriak ikustean, ume bati bere lehenengo *Super Nintendo*-a oparitzen dioten bezainbestekoa. Doneztebera egindako lehenengo bidaia sagarrak prentsatzera, anaia, nagusia eta hirurok, lehenengo laginketak eta laborategitik lehenengo ateraldia gaueko 12:00tan. Neure bizitzan, lehenengo aldiz zientzialari sentitu nintzen osotasunean, neure bokaziora entregatua, eta, hori dela eta, zoriontsua nintzen.

Haatik, bigarren eta hirugarren urteetan, beharbada emaitza txarrak eduki genituelako, tesian zehar hartutako zenbait erabakirekin desadostasuna agertarazi nuelako, edota, besterik gabe, errutinaren morroia bilakatu nintzelako, neure ilusioa pikutara joan zen, eta neure zuzendariarekin hartutako konpromisoa besterik ez zen geratu; lan hau nola edo hala bukatu behar zen, hori zen garrantzia zuen gauza bakarra.

Are okerragoa izan da azken urte luze hau, non tesia idazten egon naizen. Itzuliturik gabe esango dut: tesi bat idaztea oinaze latza da, izugarria gainera. Laborategian sartu eta ez da ezer ateratzen. Eta horrela, egunez egun, burua hausten duzu bi edo hiru orri triste idazteko, ezer hoberik egin ezin duzula, erremediorik gabe, frustrazioak hartuta. Eta okerrera da denbora aurrera doala eta zu, bien bitartean, tratatuta. Zuzenketa luzeak egiten dituzu, lehen ikusi ez dituzun akatsak agertzen dira, eta berriro erortzen zara gurpil zoro honetan.

Tesi honen idazketa bukatu egin da, ezinbestez bukatu behar zelako. Lehenago edo beranduago gertatu beharreko gauza zen, halabeharrezkoa. Ez, tesi honen idazketaren atzean ez dago gainditze istorio epikorik, non norbaitek ezbeharrei aurre egiten ikasten duen, non irabazten duen eta eskerturik sentitzen den mundu orekin. Ez da, behintzat, hau idazten ari denaren ikuspuntua. Hemen, sufrimenduz, bakardadez, beldurrez, ezintasunez eta tristuraz betetako istorioa da, dagoena. Aurrera jarraitzeko arrazoi on bat bilatu, idazten jarraitzeko, eta ahaleginean huts egiteak, frustrazio sentimendu sakona eragiten du, buru baikorra ere lermatu egiten duena.

Esan bezala, tesia idazten bukatu egin dut, ezinbestez gertatu beharreko gauza zelako, eta horrela da, bere momentuan, horrela gertatu behar zelako konpromisoa hartu nuelako. Eta, zintzoa izanik, uste dut amore eman ez badut, edo bidean txoro bukatu ez badut, bidean zehar zenbait pertsona neure alboan izan ditudalako dela, pertsonak, zeintzuk neure zorionerako aguantatu izan nauten. Noizean behin denok entzun behar ditugun hitz horiek esaten jakin izan duten pertsonak, bultzadatxo txikiak ematen dizkizutenak, egunerokoak zein aldizkakoak, jarraitzen laguntzen zaituztenak, okerrenari aurre egin diezaiozun, amore eman ez dezazun. Bizitzako garai hau ixtear dagoela, emozioak ponderatzea dagokit, ondo tratatu nautenekin zuzena izatea dagokit, eta benetan neure esker ona merezi dutenei eskertzea dagokit.

Lehenik eta behin, Euskal Herriko Unibertsitateari Zabalduz 2012 deialdia eskertu behar diot, bertan eskaini zelako neuri egokitutako doktoratu aurreko beka. Zentzu honetan, neure zuzendaria izan den Iñaki Berregik egindako lana eskertzeko hitzik ez dago. Tesiari amaiera emateko arrazoirik nagusia izan bada ere, bera gabe ezinezkoa zatekeen. Bere zuzentzaile behar nekaezinaz gain, aparteko humore-sena dauka, momentu zailtan benetan eskertzen dena, momentu akademikotan nahiz pertsonaletan.

Era berean, eta formalki tesi honen zuzendarikidea izan arren, anaia Juanek beste kapitulu bat aparte merezi du. Bera gabe ere, ezingo genuen lanari amaiera eman. Bere parte-hartze altruista ezinbestekoa izan dugu hiru urte hauetan; bera izan da neure zaintzailea, gidaria, hau idazten duena kimikaren munduan sartu izanaren azkeneko arrazoia.

Hurrengo pertsonak sagardoaren munduarekin lotuta daude, eta neure eskerrak adierazi nahi dizkiet; Gipuzkoako Sagardogileen Elkarteari, eta bereziki Unai Agirreri, haien koordinatzailea dena, proiektu hau bultzatzeagatik, sagardogile askorekin elkar-lanean ibiltzeko aukera eman zenigulako, eta lan hau ere ekonomikoki bultzatu zenuelako. Horretaz gain, hainbat ekitaldi herrikoiak antolatzeagatik, non gure ikerketaren sagardo monobarietalak erakusteko aukera izan genuen. Esker on hau zabal daiteke probintziako sagardogile orori, adierazitako borondate onagatik eta gure proiektuarekiko erakutsitako interesagatik. Haatik, bi sagardogile aipatu nahiko nituzke bereziki: Iñaki Bengoetxea (*Ola Sagardotegia*) eta Ignacio Ollokiegi (*Mina Sagardotegia*). Lehenengoari proiektu osoan zehar erakutsitako baldintzarik gabeko laguntza eskertzen diot, bai eta bere lursaileko sagarra Merabi eta berak ekoiztutako Errezila sagardoa emateagatik ere. Bigarrenari, eskertzen diot bere furgoneta utzi izana, gure sagarrak kutxetan gorde eta gero bertan garraiatu ahal izan genituelako. Era berean, ezin dut ahaztu Juan Zapirain, Bordaxar Baserrikoa, Aritza sagarra eman ziguna, eta berak aitortu zigun bezalaxe, gure sagarren 300 kg jasotzeko jardunaldi oso bat propio xahutu behar izan zuena.

Neure esker ona ere adierazi nahi diot Domingo Merinori, Fraisoroko zuzendaria dena, lan honetan era aktiboan parte hartu duelako, bai logistikoki bai ekonomikoki, eta Agurtzane Anduezari, Fraisoron beti eman digun harrera onagatik. Era berean, eskertu nahi diot Pedrori, Zubietako lursailaren langileburua dena, sagar kutxak furgonetan kargatzen laguntzeagatik, eta sagardoen prentsaketetan ere parte hartzeagatik. Ezin dut ahaztu ere Jose Diego, Nafarroako Foru Aldundiko *Juansenea Etxeko* lursailaren langileburua, bi urteetan zehar bere lursailean gure sagardoak ekoizten utzi zigulako. Eta jakina, neure esker onenak Domingo Arina enologoari, sagarren polifenolen ikerkuntzan aitzindaria, hiru urte luze hauetan haren aholkuengatik izan ez balitz, ezingo genituelako gure sagardoak era onean bukatu.

Donostiako Analitikako talde osoari neure esker onak adierazi nahi dizkiot, sortutako lan giro apartagatik. Goraipatu nahiko nuke Miren Ostra eta Maider Vidal doktoreek egindako lana. Lehenengoari, kimimetriarekin zerikusia duen edozein arazoari aurre egiten laguntzeko beti libre egoteagatik, eta bigarrenari, bere kalibraketa anizkoitzeko klaseetan ikasle bezala parte hartzen uzteagatik, eta bereziki laguntzeagatik tesi honetako bosgarren kapituluarekin. Hemen ere, beragatik izan ez balitz, lanak izango nituen aurrera ateratzeko.

Neure laborategiko lagunei dagokienez, asko izan zarete hemendik pasa zaretenok, gutxi gelditu zaretenak eta asko, ia gehienak, alde egin behar izan duzuenak. Mila esker Ane, beti prest egoteagatik edozein galderari erantzuteko, eskerrik asko Josu, zure adimen analitikoagatik eta hain pertsonala duzun umore-sena horrengatik. Eskerrik asko Ane Egaña, Nerea, Itxaso, Jonathan (neure aspaldiko *gamer* nortasun galduarekin birkonektatzeagatik) eta, bereziki, eskerrik asko Jessica, momentu zailenetan zure adiskidetasuna eskaintzeagatik; dudarik gabe zu ere izan zara konstante zientifikoaren neure bizitzan. Neure laborategian lan egin ez duen arren, Ana Puertasi ere eskertu nahi diot HPLC kromatografoarekin emandako laguntza, eta noiz edo noiz berarekin edukitako solasaldi ez zientifikoak, bizitza beste ikuspuntu batetik ikusteko laguntzen dutenak. Eta ezin ahaztu Jose Ignacio Miranda eta Iñaki Santos, behar izan zaituztedanean beti prest egon zaretelako ¹H NMR-ari buruzko edozein duda argitzeko.

Era berean, denbora honetan nire alboan izan diren karrerako zenbait kideri ere eskertu nahi diet. Eskerrik asko Bea, neure unibertsitateko ikuspuntu berezia zurekin konpartitzen uzteagatik. Eta zuri ere, Ander, beti umore onean egoteagatik. Mila esker Gorka eta Alicia, momentu zailenetan behin eta berriro heltzeagatik, entzuteagatik, ulertzeagatik, aholkua emateagatik, neure lagunak izateagatik. Eskerrik asko Erik, aspaldi irakatsi zenidalako bizitza ez dela unibertsitatean bukatzen, eta neure adiskidea izan zarelako karreraren zehar eta karrera ondoren. Eta azkenik, mila esker Mónica, zure ezinegonak nirekin konpartitzeagatik, eta nireak zurekin konpartitzen uzteagatik.

Azken urte luze honetan, bidelagunak izan zaituztet: Enaitz eta Ainara, Andoni eta Aitzol, eskerrik asko. Darabilzuen euskara mailarekin, ez dut beste aukerarik izan

egokitzen saiatzea baino. Badakit neure euskarak, hitz xeble batzuk bereziki, algara sortu izan dizuetela behin baino gehiagotan. Baina hala eta guztiz ere, jakin ezazue ez dizuedala inolako gorrotorik, ez baitut inoiz gaizki hartu. Izan ere, guztiz kontrakoa da, dizuedan begirunearen adinakoa da zuenganako miresmena. Zin dagizuet zuekin euskaraz hitz egin behar izatea izugarri baliagarria izan zaidala, ez bakarrik tesiarekin, zentzu guztietan neure euskara hobetzeko balio izan zait eta.

Amaitzen joateko, neure familia osoari neure esker onik beroena adierazi nahi diot. Neure gurasoei eta anaiei, egoteagatik, nigan sinesteagatik, aguantatzeagatik eta jasateagatik, eta bizitzan gidatzeagatik. Izeba Pauli, 2013ko azaroan joan zinen gure albotik, bat-batean; zauden lekuan zaudela, eskerrik asko, sufrimenduaren eredia izan zarelako, bai eta nigan sinetsi zenuelako ere.

Mila esker neure lagun-taldeari, *Mundaiztarrak*, tesian zehar bizi izandako momentu onengatik. Eskerrik asko Álvaro, zure erara bada ere, ni entzuten jakiteagatik, eta hain momentu dibertigarriak emateagatik. Eskerrik asko Aintzane, urrunetik animoak emateagatik, eta mila esker Imanol, zaren bezalakoa izategatik.

Eskerrik asko Egoitz, bide luze honetan neure sostengu nagusia izateagatik. Zuri zor dizut, batik bat, tesi hau euskaraz idatzi izana. Hasiera-hasieratik konbentzitu ninduzun amore ez emateko, momentu zailenean beti izan zaitut neure lagun fidela, energia positiboz josia, beti jakin izan duzu zer esan eta nola. Mundu honetan ez dago behar adina hitz zuri eskertzeko ni aguantatu izana. Benetan, eskerrik asko.

Eta azkenik, eskerrak zuri ere Javi, neure laguna izategatik, ni aguantatzeagatik, aholkua emateagatik, barrea eragiteagatik, berriro ere neure laguna izategatik, eta, besterik gabe, existitzeagatik. Mila esker. Ah, eta bidenabar, mila esker zure *Overloud* taldeko kide guztiei, haien baitan behin baino gehiagotan hartzeagatik eta hain *rollo* ona emateagatik.

Esker onak beti dira bidegabekoak, eskertu behar dituzun pertsona guztiak gogoratzea oso zaila delako, eta ahazten ez dituzun pertsonak ez dutelako jasotzen emandakoaren adinako ordainsaririk. Lerro hauetan agertzen diren pertsona guztiei, eta agertzen ez diren baina agertu beharko liratekeen pertsonen, bihotzez eskerrik asko.

Erabiltzen ez bada
hil egiten da euskara.
Ez da ezergatik, baina
aipatu egiten dizut
badaezpada.

Bitoriano Gandiaga

Agradecimientos

Cuando en 2012 me concedieron una beca predoctoral para realizar mi doctorado en la Facultad de Química de San Sebastián, no tenía ni idea de lo que supone escribir una tesis. Yo rebosaba felicidad, porque veía ante mí la posibilidad de seguir 3 años más en el sitio donde había sido tan feliz en los últimos años y rodeado de gente a la que ya conocía.

Hoy, ahora mismo, cuándo estoy a punto de terminar la escritura de mi tesis precisamente, con estas líneas, 5 años después y con algunas canas en mi pelo y en mi barba, entiendo lo que supone realizar un doctorado. Tengo que confesar que el primer año fue sin duda, el mejor: mi ilusión al entrar otra vez en el laboratorio y al aprender a utilizar nuevos aparatos, nuevas técnicas, era comparable a la de un niño a la que los reyes le traen su primera *Super Nintendo*. El primer viaje a Santesteban a pensar las manzanas con mi jefe y mi hermano. Los primeros muestreos y la primera salida del laboratorio a las 12 de la noche. Me sentía verdaderamente un científico entregado a mi vocación, y por eso, era feliz.

Sin embargo, el segundo y tercer año, quizá por una mezcla de malos resultados experimentales, desacuerdo con ciertas decisiones tomadas a lo largo de la tesis, o, simplemente, por caer en la rutina, mi ilusión se fue al garete, y quedó única y exclusivamente el compromiso adquirido con mi director; había que llevar este trabajo a un buen puerto sea como fuere, y nada más importaba.

Peor aun ha sido este último año largo de escritura. Lo digo sin rodeos: escribir una tesis es un auténtico suplicio, es horrible. Te metes en el laboratorio a escribir y no sale nada. Y así, día tras día, rebanándote el coco para escribir dos o tres míseras páginas, sin que nada puedas hacer, sin remedio. Y te sientes frustrado, porque piensas que no vales nada, y lo peor de todo es que ves que el tiempo pasa y tú sigues atascado. Largos días de correcciones, errores que no habías visto antes aparecen y vuelta a empezar.

La escritura de esta tesis ha llegado a su fin porque era lo que tenía que pasar. Era algo que tarde o temprano tenía que ocurrir, indefectiblemente. No, detrás de la escritura de esta tesis no hay una historia épica de superación, en la que alguien aprende a luchar contra un montón de adversidades y vence y se siente agradecido al mundo. No es al menos la visión del que la escribe. Lo que hay aquí es una historia de mucho sufrimiento, soledad, miedo, impotencia, tristeza... Buscar una buena razón para seguir adelante, para seguir escribiendo, y fallar en el intento, produce un profundo sentimiento de vacío que merma la más optimista de las mentes.

Como decía, he terminado de escribir esta tesis porque era algo que tenía que ocurrir, y es así porque en su día adquirí el compromiso de que tenía que ser así. Y siendo sincero,

creo que si no he tirado la toalla, si no me he vuelto loco, ha sido porque durante el camino, he tenido a ciertas personas a mi lado que, para mi fortuna, han sabido aguantarme, y han acertado a decir esas palabras que muchas veces necesitamos oír, pequeños empujoncitos, diarios o puntuales, que te ayudan a seguir y a no bajar los brazos, a no rendirte. Ahora que se cierra esta etapa, toca ponderar las emociones, toca ser justo con quién te ha tratado bien, y toca agradecer a quién realmente merece ser agradecido.

En primer lugar, tengo que agradecer la Universidad del País Vasco la convocatoria Zabalduz 2012, ya que en la misma se ofertó la beca predoctoral de la cual fui beneficiario. En este sentido, no hay palabras para agradecer la labor de mi director Iñaki Berregi. Si bien ha sido la principal razón por la que concluir, sin él habría sido imposible. A su incansable labor correctora, se une un genial sentido del humor, que siempre se agradece en los momentos difíciles, tanto académicos como personales.

Así mismo, y aunque formalmente codirector de esta tesis, mi hermano Juan merece un capítulo aparte. Sin él, tampoco habríamos podido terminar este trabajo. Su implicación altruista en el mismo durante los tres años, ha resultado clave; ha sido mi mentor, mi guía, la razón última de que éste que escribe entrara en el mundo de la química.

Las siguientes personas están íntimamente relacionadas con el mundo de la sidra, y me gustaría agradecerles también su labor en éste trabajo; a la Asociación de Sidra Natural de Gipuzkoa, y en especial a Unai Agirre, su coordinador, por impulsar este proyecto, por darnos la oportunidad de trabajar mano a mano con muchos sidreros y por apoyar también económicamente ésta empresa, además de organizar varios eventos populares en donde dar a probar nuestras sidras. Este agradecimiento es extensible a todos los sidreros de la provincia, por su buena voluntad y el interés demostrado hacia este proyecto. No obstante, me gustaría destacar a los sidreros Iñaki Bengoetxea (Sidrería *Ola*) e Ignacio Ollokiegi (Sidrería *Mina*), al primero por la ayuda incondicional recibida durante todo el proyecto, además de facilitarnos la manzana de su finca Merabi, y su sidra Errezila. Al segundo, por dejarnos su furgoneta para cargar los cajones de manzana monovarietal. No puedo olvidarme de Juan Zapirain, que nos facilitó la manzana Aritza, ya que como él nos confesó, tuvo que dedicarse específicamente a recoger 300 kg de una manzana, descuadrando toda una jornada laboral.

Quiero también expresar mi agradecimiento a Domingo Merino, director del laboratorio de Fraisoro, por colaborar activamente en este trabajo, tanto logísticamente como económicamente, y a Agurtzane Andueza, por la buena acogida que nos ha dado siempre en Fraisoro. También quiero agradecer a Pedro, capataz de la finca Zubieta, por ayudarnos a cargar los cajones de manzana en la furgoneta, y por ayudarnos a prensar nuestras manzanas. Tampoco puedo olvidarme de Jose Diego, capataz de la finca *Juansenea Etxea* de la Diputación Foral de Navarra, por dejarnos elaborar dos años seguidos nuestras sidras monovarietales en su finca, y lo que ello conlleva. Y por

supuesto, no me olvido de Domingo Arina, enólogo pionero del estudio de los polifenoles en las manzanas, sin cuyos consejos durante estos tres años nuestras sidras no hubiesen llegado a buen puerto.

Mi más sincero agradecimiento a todo el grupo de Analítica de San Sebastián, por el fantástico ambiente de trabajo. Quisiera, destacar la labor de las doctoras Miren Ostra y Maider Vidal. A la primera por su disponibilidad para cualquier problema relacionado con la quimiometría, y a la segunda, por dejarme asistir a sus clases sobre calibración multivariante, y por ayudarme especialmente con el quinto capítulo de esta tesis doctoral. Aquí también, sin su ayuda, difícilmente habría salido adelante.

Respecto a mis compañeros y compañeras de laboratorio, han sido muchas las personas que por él han pasado, pocas se han quedado y la mayoría se han tenido que ir. Gracias Ane por tener siempre la mano tendida para resolver cualquier duda, gracias Josu, por tu mente analítica y por tu personalísimo sentido del humor. Gracias también Ane Egaña, Nerea, Itxaso, Jonathan (por reconectarme con mi antiguo yo *gamer*) y sobre todo gracias Jessica, por ofrecerme tu amistad en los momentos más duros; tú también has sido una constante científica en mi vida, desde luego. Aunque no es de mi laboratorio, también quiero agradecer a Ana Puertas su ayuda con el cromatógrafo HPLC, y alguna que otra charla no científica, de las que ayudan a ver la vida en perspectiva. Y no puedo olvidarme de Jose Ignacio Miranda e Iñaki Santos, pues siempre que os necesitado para resolver alguna duda de ^1H NMR habéis estado dispuestos a ayudarme.

Igualmente, quiero agradecer también a ciertos compañeros de carrera que han permanecido a mi lado durante este tiempo. Gracias Bea, por dejarme compartir contigo mi particular visión de la Universidad. Y a ti también, Ander, por estar siempre de buen humor. Gracias Gorka y Alicia, por aguantarme una y otra vez en los momentos malos, por escucharme, por entenderme, por aconsejarme, por ser mis amigos. Gracias Erik, por enseñarme antaño que la vida no acaba en la universidad, y por ser mi compañero durante y después de la universidad. Finalmente, gracias Mónica, por compartir conmigo tus inquietudes y dejarme a mí también compartir las mías.

En este último largo año, habéis sido mis compañeros de viaje: Enaitz y Ainara, Andoni y Aitzol, muchas gracias. Con el nivel de euskera que maneáis, no me ha quedado más remedio que intentar amoldarme. Sé que mi euskera, ciertas palabras graciosas especialmente, os han hecho reír más de una vez. Pero de todos modos, sabed que no os guardo ningún rencor, pues jamás me lo he tomado a mal. De hecho, es todo lo contrario, os respeto tanto como os admiro. Os prometo, que el haber tenido que hablar con vosotros en euskera me ha sido tremendamente útil, no solo para la tesis, pues me ha valido para mejorar en todos los sentidos mi euskera.

Para ir concluyendo, quiero expresar mi más sincero agradecimiento a toda mi familia, a mis padres y hermanos, por estar, por creer en mí, por quererme, por aguantarme y

soportarme, por guiarme en la vida. Tía Pauli, te nos fuiste en noviembre de 2013, de forma inesperada; dondequiera que estés, gracias por ser un ejemplo de sacrificio, y también por creer en mí.

Gracias a toda mi cuadrilla de amigos, los *Mundaiztarras*, por los buenos momentos vividos durante la tesis. Gracias Álvaro por, a tu manera, saber escucharme y darme tan divertidos momentos. Gracias Aintzane por darme ánimos en la distancia, y gracias Imanol, por ser como eres.

Muchas gracias Egoitz, por ser mi principal apoyo en este largo camino. A ti te debo, principalmente, el haber escrito esta tesis en euskera. Desde el principio, me convenciste para no tirar la toalla, en los momentos difíciles has sido siempre mi fiel compañero, lleno de energía positiva, siempre has sabido qué decir y cómo. No hay suficientes palabras en este mundo para agradecerte que me hayas aguantado. De verdad, muchas gracias

Y finalmente, gracias a ti también Javi, por ser mi amigo, por aguantarme, por aconsejarme, por hacerme reír, por ser mi amigo otra vez, por animarme, y simplemente, por existir. Muchas gracias. Ah y gracias también a todos los componentes de tu grupo *Overloud*, por acogerme más de una vez y darme tan buen rollito.

Los agradecimientos siempre son injustos, pues es muy difícil acordarse de todas y cada una de las personas a las que se los debes, y las que no son olvidadas nunca reciben ecuánime recompensa a su labor prestada. A todos las personas que aparecen en estas líneas, y a las que no aparecen y debieran aparecer, de corazón, muchísimas gracias.

La barriga se sacia rápido, el
espíritu no se sacia nunca.

Francisco Sánchez Gómez
Paco de Lucía

Gracias por tu música

Aurkibidea

1 Sarrera	1
1.1 Proiektuaren aurrekariak, testuingurua eta helburuak.....	3
1.2 Sagardoaren osagai lurrinkorrak	5
1.2.2 Etanola	5
1.2.2 Metanola.....	6
1.2.3 Azetaldehidoa	6
1.2.4 Akroleina	6
1.2.5 Etil azetatoa	7
1.3 Gas Kromatografia	8
1.3.1 Ezaugarri orokorrak	8
1.3.2 Gar ionizazioko detektorea.....	8
1.4 Polifenolak	9
1.4.1 Ezaugarri orokorrak	9
1.4.2 Polifenolak: antioxidatzaile naturalak	10
1.4.3 Polifenolak eta familiak	12
1.4.3.1 Azido hidroxizinamikoaren eratorriak	12
1.4.3.2 Flaban-3-olak	12
1.4.3.3 Dihidrokalkonak	13
1.4.3.4 Flabonolak.....	14
1.4.3.5 Azido bentzoikoaren eratorriak eta bestelako polifenolak .	15
1.4.4 Brett izaera	16
1.4.4.1 Ezaugarri orokorrak	16
1.4.4.2 Mikroorganismoak eta substratuak:	
<i>Brettanomyces/Dekkera</i>	17
1.4.4.3 <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	17
1.4.4.4 <i>Dekkera anomala</i> legamiak eta <i>Lactobacillus collinoides</i> bakterioak	18
1.4.4.5 Fenol lurrinkorren pertzepzio-atariak.....	19
1.5 Bereizmen Handiko Likido Kromatografia.....	19
1.6 Absorbantzia neurketak.....	20
1.6.1 Absorbantzia 280 eta 320 nm-tan	20

1.6.2	Absorbantzia 420 nm-tan: Iluntzea	20
1.7	Parametro enologiko eta fisikokimikoak	21
1.7.1	Glukosa, fruktosa eta sakarosa	22
1.7.2	Azido malikoa	22
1.7.3	Azido laktikoa	23
1.7.4	Azido azetikoa	24
1.7.5	Glizerola	24
1.7.6	Folin-Ciocalteu indizea	25
1.8	Gaitasun antioxidatzaile totala	26
1.8.1	FRAP saioa	26
1.8.2	ABTS saioa	26
1.9	Proteinekin hauspeatzeko gaitasuna	27
1.10	Diseinu esperimentalak	28
1.10.1	Erantzun gainazalak	28
1.10.2	Modelo matematikoak	29
1.10.3	ANOVA taulak	30
1.10.4	Nahaste diseinuak	31
1.10.4.1	Nahaste espazioa	31
1.10.4.2	<i>Simplex</i> zentroide diseinuak	32
1.10.5	Desiragarritasun funtzioa	33
1.11	Aldagai anitzeko kalibraketa	34
1.11.1	Kimiometria tresna analitiko bezala	34
1.11.2	Datu matrizea	35
1.11.3	Datuen aurretratamendua	35
1.11.4	Osagai Nagusien Analisia	35
1.11.5	Osagai nagusiak eraikitzen	36
1.11.6	Karratu minimo partzialen erregresioa	38
1.11.6.1	Prozedura matematikoa	38
1.11.6.2	Kalibraketa eta balidazioa	39
1.12	Konglomeratuen analisisa	40
1.12.1	Dendograma bat eraikitzen: adibidea	42
1.12.2	Taldeen arteko lotura	44
1.13	Erresonantzia Magnetiko Nuklearraren Espektroskopia	45

1.13.1 Laginaren prestaketa	46
1.13.2 Espektroak erregistratzeko baldintza optimoak.....	47
1.13.3 Uraren seinalearen eliminazioa.....	47
1.13.4 Sagardo laginen ¹ H NMR espektroak.....	47
1.14 Erreferentziak	49
2 Metodo analitikoak	61
2.1 Muztio eta sagardo laginak. Prozedura orokorra	63
2.1.1 Muztioa edo sagardoa	63
2.1.2 Muztio edo sagardo gasgabetua.....	63
2.1.3 Muztio edo sagardo gasgabetua eta zentrifugatua.....	64
2.2 Parametro fisikokimikoak.....	64
2.2.1 Brix graduak	64
2.2.2 Dentsitatea	65
2.2.3 Uhertasuna	66
2.2.4 Azidotasun totala, pH-a eta erredox potentziala	66
2.2.5 Absorbantzia neurketak, 280, 320 eta 420 nm-tan.....	67
2.2.6 Proteinekin hauspeatzeko gaitasuna.....	67
2.3 Azukreak, azidoak eta glizerola	68
2.3.1 Analizatzaile automatikoa	68
2.3.2 Glukosa, fruktosa eta sakarosa.....	69
2.3.3 Azido L-malikoak.....	70
2.3.4 Azido laktiko totala	70
2.3.5 Azido azetikoak.....	71
2.3.6 Glizerola	71
2.3.7 Kalibraketan ezaugarriak	72
2.4 Indar antioxidatzailea	72
2.4.1 Folin-Ciocalteu indizea.....	72
2.4.2 FRAP saioa.....	73
2.4.3 ABTS saioa.....	74
2.4.4 Kalibraketan ezaugarriak	74
2.5 Konposatu lurrinkorrak.....	75
2.5.1 Gas kromatografoa	75
2.5.2 Zutabe kromatografikoa	75

2.5.3 Injektorea.....	75
2.5.4 Gar ionizazioko detektorea.....	75
2.5.5 Labea.....	76
2.5.6 Kalibraketen ezaugarriak	76
2.6 Polifenolak	79
2.6.1 Likido kromatografoa.....	79
2.6.2 Zutabe kromatografikoa	79
2.6.3 Injekzioa eta eluzio programa.....	80
2.6.4 Polifenolen kuantifikazioa	80
2.7 Emaitzak.....	84
2.8 Erreferentziak	85
3 Sagardo kanpainak	87
3.1 Lehenengo uzta: 2012	89
3.1.1 Sagar bilketa.....	89
3.1.2 Hasierako neurketak	90
3.1.3 Sagarren prentsaketa.....	90
3.1.4 Laginketak	92
3.1.5 Muztioen hasierako ezaugarriak	93
3.1.6 Hartzidura alkoholiko eta malolaktikoaren bilakaera	93
3.1.6.1 Urtebi Haundi muztioaren bilakaera	94
3.1.6.2 Moko muztioaren bilakaera.....	95
3.1.7 Sagardoan ontzi-aldaketa	98
3.1.8 Konposatu lurrinkorren bilakaera.....	99
3.1.9 Azido askorbiko eta sufre dioxidoaren gehitzea.....	100
3.1.10 Sagardoan botilaratzea.....	100
3.1.11 Sagardoan ezaugarri orokorrak	102
3.2 Bigarren uzta: 2013.....	103
3.2.1 Sagar bilketa.....	104
3.2.2 Hasierako neurketak	104
3.2.3 Sagarren prentsaketa.....	104
3.2.4 Laginketak	106
3.2.5 Muztioen hasierako ezaugarriak	106
3.2.6 Muztioen bilakaera: sarrera.....	107

3.2.6.1 Hartzidura alkoholikoa.....	107
3.2.6.2 Hartzidura malolaktikoa.....	107
3.2.6.3 Akats organoleptikoak: akroleina	109
3.2.6.4 Akats organoleptikoak: Brett izaera	110
3.2.7 Sagardoen ontzi-aldaketa	110
3.2.8 Konposatu lurrinkorren bilakaera.....	111
3.2.9 Azido askorbikoaren gehitzea.....	112
3.2.10 Sagardoen botilaratzea	112
3.2.11 Sagardoen ezaugarri orokorrak	113
3.3 Hirugarren uzta: 2014.....	115
3.3.1 Sagar bilketa.....	116
3.3.2 Hasierako neurketak.....	116
3.3.3 Sagarren prentsaketa.....	116
3.3.4 Laginketak	117
3.3.5 Muztioen hasierako ezaugarriak	118
3.3.6 Muztioen bilakaera: sarrera.....	118
3.3.6.1 Hartzidura alkoholiko eta malolaktikoaren bilakaera.....	118
3.3.6.2 Akats organoleptikoak: akroleina	119
3.3.6.3 Akats organoleptikoak: Brett izaera	119
3.3.7 Sagardoen ontzi-aldaketa	120
3.3.8 Konposatu lurrinkorren bilakaera.....	120
3.3.9 Azido askorbikoaren gehitzea.....	121
3.3.10 Sagardoen botilaratzea.....	121
3.3.11 Sagardoen ezaugarri orokorrak	122
3.4 Ondorioak	122
3.5 Erreferentziak	124
4 Sagardo nahasketa kontrolatuak	125
4.1 Sarrera	127
4.2 Dastatze-taldea eta erantzun gainazalak	127
4.2.1 Testuingurua	127
4.2.2 Dastatzeak egiteko prozedura	127
4.2.3 Erantzun gainazalak eta hauen maximoak lortzeko metodologia..	128
4.3 Lehenengo kanpaina: 2012ko nahasketak	128

4.3.1 Diseinu esperimentalak	128
4.3.2 Emaizak.....	129
4.3.2.1 Gezamina-Goikoetxea-Moko sagardoaren nahasketa.....	130
4.3.2.2 Goikoetxea-Txalaka-Urtebi Txiki sagardoaren nahasketa.....	132
4.4 Bigarren kanpaina: 2013ko nahasketak	134
4.4.1 Diseinu esperimentalak	134
4.4.2 Emaizak.....	136
4.4.2.1 Merabi-Urdin-Urtebi Txiki sagardoaren nahasketa	136
4.4.2.2 NARBATE-URDIN-URTEBI TXIKI SAGARDOAREN NAHASKETA	138
4.5 Hirugarren kanpaina: 2014ko nahasketak.....	140
4.5.1 Diseinu esperimentalak	140
4.5.2 Ohar garrantzitsua	141
4.5.3 Emaizak.....	142
4.5.3.1 Aritza-Errezila-Manttoni sagardoaren nahasketa	142
4.5.3.2 Aritza-Manttoni-Udare Marroi sagardoaren nahasketa	144
4.5.3.3 Errezila-Frantzes Sagarra-Manttoni sagardoaren nahasketa	146
4.6 Ondorioak	148
4.7 Erreferentziak	149
5 Sagardoak eta parametroak.....	151
5.1 Sarrera	153
5.2 Sagardo monobariatuen indar antioxidatzailea	153
5.3 Kalibraketa anizkoitza: parametroen PLS modeloak	154
5.3.1 PLS modeloak lortzen	155
5.3.2 PLS modeloak balidatzen	156
5.4 PLS modeloen emaitzak.....	156
5.4.1 Indar antioxidatzailearen parametroak	156
5.4.2 Proteinekin hauspeatzeko gaitasuna.....	158
5.4.3 Iluntzea	160
5.4.4 Uhertasuna eta erreodox potentziala.....	162
5.4.5 Emaizak.....	162
5.5 Sagardo monobariatuen sailkapena	163
5.6 Ondorioak	168
5.7 Erreferentziak	170

6 ¹H NMR metodo berriak	171
6.1 Sarrera	173
6.2 Prozedura esperimentalta	173
6.2.1 Barne patroia disoluzioaren prestaketa: TSP-D ₂ O	173
6.2.2 ¹ H NMR-ko espektroak erregistratzeko metodo orokorra	173
6.2.3 Luzerako erlaxazio denboraren (T ₁) determinazioa	173
6.2.4 Stock eta patroia disoluzioaren prestaketa	174
6.2.5 Laginen prestaketa.....	174
6.2.6 Analitoen determinazioa ¹ H NMR-ren bidez	174
6.2.7 Etanolaren determinazioa gas kromatografiaren bidez	175
6.2.8 Azidoen determinazioa metodo entzimatikoen bidez	175
6.3 Emaitzak.....	176
6.3.1 Laginen ¹ H NMR espektroak	176
6.3.2 Analitoen luzerako erlaxazio denborak	177
6.3.3 Kalibraketak eta detekzio mugak.....	178
6.3.4 Doitasuna	178
6.3.5 Metodoaren aplikazioa sagardo komertzialetan eta muztioetan ..	179
6.4 Ondorioak	181
6.5 Erreferentziak	182
7 Ondorio orokorrak.....	183
Ezagutzaren transferentzia	187
Akronimoak eta laburdurak.....	191
Eranskina	195

1. Kapitulu Sarrera

1.1 Proiektuaren aurrekariak, testuingurua eta helburuak

Sagardoa, sagar zukuaren hartziduratik lortutako edaria da. Sagar zukuaren osagai nagusiak dira, uraz gain, azukreak (glukosa, fruktosa eta sakarosa) eta azido malikoa. Hauek dira, hurrenez hurren, zapore gozoaren eta azidoaren erantzuleak. Konposatu fenolikoak ere badaude, baina askoz kontzentrazio txikiagoan.

Euskal Herrian, sagardoa egiteko metodo tradizionala erabiltzen da. **Sagar mota ezberdinak nahasten** dira eta lortutako muztioa modu espontaneoan fermentatzen da. Legamiek hartzidura alkoholikoa egiten dute, hau da, azukreen bilakaera etanolean, eta bakterio laktikoek hartzidura malolaktikoa, non azido malikoa azido laktiko bilakatzen den.

Polifenolak, azukreak eta azido malikoa baino kontzentrazio txikiagoan egonagatik, garrantzi handiko konposatuak dira, haien ezaugarriak direla eta. Ezaguna da polifenolen kantitatea asko aldatzen dela sagar mota batetik bestera, eta aldagai honek garrantzi handia duela lortutako sagardoan. Izan ere, konposatu hauek sagar eta sagardoan **mikaztasun** eta **astringentziarekin** lotuta daude. Era berean, gaitasun **antioxidatzailea** dute, ezaugarri onuragarria, sagardoak dituen beste konposatuak baino lehenago oxidatzen baitira, sagardoaren kontserbazioan lagunduz. Bestalde, sagardoan gertatzen diren **iluntze prozesuekin** dute erlazioa, eta **uhertasunaren** eta **hauspeakinen** sorreraren eragileak dira.

Orain arte, Euskal Herriko sagarren konposizioaren informazio asko dago bilduta, azukre, azido eta polifenolei dagokienez. Era berean, sagar bakoitzaren produktibitatearen eta izurriteen aurkako erresistentziaren datu agronomikoak badaude. Gipuzkoako Foru Aldundiak bilerak izan zituen Gipuzkoako Sagardogileen Elkartearekin eta "*Fruitel*" Frutazainen Elkartearekin, argitzeko, **bertako sagarren artean** zeintzuk diren sagardogintzarako egokienak. Eskuragarri dauden datu guztiekin, lehenengo hautaketa bat egin zen, **hamalau sagar mota** aukeratuz potentzialki egokienak bezala: Aritza, Errezila, Frantzes Sagarra, Gezamina, Goikoetxea, Manttoni, Moko, Mozoloa, Patzuloa, Txalaka, Udare Marroi, Urdin, Urtebi Haundi eta Urtebi Txiki.

Haatik, Euskal Herriko sagarren konposizioa ezaguna bada ere, ezezaguna da sagar mota bakoitzak banan-banan duen jarrera, sagardoa egiterakoan beti nahasten direlako hainbat mota. **Sagar mota bakarreko** muztioetatik abiatuta, ordea, ezagutu ahal izango da mota bakoitzaren kontribuzioa sagardoaren konposizio eta ezaugarrietan. Era berean, oraindik ere ezezaguna da **polifenol bakoitzaren** eragina sagardoetan. Sagarrak, polifenol kantitate totala bakarrik kontuan edukita hautatzen dira. Alabaina, aurretik egindako lanetan konprobatu ahal izan da, kantitate hori asko aldatzen dela sagarretik sagarrera, eta eragin handia duela lortutako sagardoan. Are gehiago, polifenol guztiak ez dira onuragarriak sagardoarentzat.

Bestalde, interes handia dago sagarrondo **landaketa berriak** egin daitezzen. Izan ere, Euskal Herrian erabiltzen diren sagarren artean, asko kanpotik ekarriak dira, eta horrek suposatzen du ezaugarri fisikokimikoen eta sanitarioen kontrol gutxiago edukitzea. Zentzu honetan, Gipuzkoako Foru Aldundiak dekretu bat argitaratu zuen (**2008ko uztailaren 29ko 66/2008 Foru Dekretua**) sagarrondo autoktonoak diru-laguntzen bidez sustatzeko.

Testuinguru honetan kokatzen da proiektu hau. **Sagar mota bakarreko** sagardoetz egindako lehen ikerketa 2010. urtekoa da. Bertan, Goikoetxea, Manttoni, Moko, Patzuloa eta Txalaka erabili ziren. Honekin batera, sagar mota hauen profil polifenolikoa ere determinatu zen, eta honek duen eragina hurrengo parametroetan aztertu: indar antioxidatzailea, proteinekin hauspeatzeko gaitasuna, uhertasuna, iluntzea eta erredox potentziala. Ikerketa honek balio izan zuen, batez ere, metodologia egokia garatzeko (**Zuriarrain et al., 2015b**). Oraingo ikerketan, hiru urteko proiektua izanda, erabaki dugu lehen aipaturako hamalau sagar motak gutxienez behin aztertzea, nahiz eta horrela 2010. urtean erabilitako mota batzuk berrerabiliko diren. Aldi berean, **polifenolen eragina sagardoaren ezaugarrietan** modu sakonagoan aztertuko dugu.

Aurrekoarekin batera eta lehen egindako lan batzuekin jarraitu nahian, protoi erresonantzia magnetiko nuklearra (^1H NMR) erabili dugu **analisi metodo berriak** sortzeko. Teknika hau gero eta gehiago erabiltzen da elikagaietan, izan ere, aukera ematen du esperimentu bakar batean eta denbora gutxian hainbat konposatu determinatzeko: azukreak, azidoak, alkoholak, aminoazidoak eta polifenolak, besteak beste (**del Campo et al., 2016**).

Orain arte, martxan jarri dira gure laborategian azido klorogeniko, (-)-epikatekina, azido malikoa, azido zitrikoa, eta azido formikoa determinatzeko metodoak, sagar eta beste fruitu zukuetan. Gure asmoa da etanola, azido laktikoa eta azido azetikoa determinatzeko metodoak garatea. Etanola, hartidura alkoholikoaren produktu nagusia da, azido laktikoa, hartidura malolaktikoarena, eta azido azetikoa sagardoaren kalitatearen adierazgarri garrantzitsua. Horrela, jarraitu ahal izango lirateke ^1H NMR-ren bitartez, sagar muztio baten bi hartidura nagusiak, eta honekin batera lehen aipaturako analitoak.

Laburbilduz, proiektu honen **helburuak** honako hauek dira:

1. Bertako zenbait sagar motak sagardoaren konposizioan eta ezaugarrietan duten eragina determinatzea.
2. Polifenol bakoitzaren eragina honako parametroetan determinatzea: indar antioxidatzaile totala, iluntzea, proteinekin hauspeatzeko gaitasuna, uhertasuna eta erredox potentziala.

3. Informazio gehiago eman, aukeratu ahal izateko sagardogintzarako sagar egokienak.
4. Prest jarri etanola, azido laktikoa eta azido azetikoa determinatzeko metodoa, protoi erresonantzia magnetiko nuklearraren espektroskopia erabiliz.

Hurrengo ataletan, sagardoaren osagaien ezaugarriak azalduko dira, eta hauek aztertzeke erabilitako metodo analitiko eta estatistikoak.

1.2 Sagardoaren osagai lurrinkorrak

Konposatu lurrinkorrak muztioaren hartiduran sortzen dira, eta oso garrantzitsuak dira sagardoaren zaporean zein aroman (**Medina et al., 1996**). Lan honetan determinatu dira etanola, konposatu lurrinkor nagusia dena, eta metanol, azetaldehido, akroleina eta etil azetatoa. Sagar muztioek transformazio biokimiko ezberdinak pairatzen dituzte sagardo bihurtzeko bidean. Prozesu honetan parte hartzen duten organismoak natura ezberdinekoak dira, bertan, legamiek nahiz bakterioek parte hartzen dutelako. Horrela, sagardoa produktu konplexua da, non konposatu kimiko ezberdinak kontzentrazio ezberdinetan aurki daitezkeen.

Gertatutako bi prozesu nagusiak, edo behintzat sagardogintzan garrantzi handiena dutenak, **hartidura alkoholikoa** eta **hartidura malolaktikoa** dira (**Herrero et al., 1999**). Legamiek, fermentazio alkoholikoaren bidez, azukreen gehiengoa (fruktosa, glukosa eta sakarosa) azido pirubiko bihurtzen dute (glikolisia) eta gero hau, etanol eta CO₂ (**Hidalgo Togores, 2011**). Halaber, hartidura malolaktikoan, azido malikoa, azido laktiko bihurtzen dute zenbait bakterioek. Bi hartidura hauek era espontaneoan gertatu ohi dira, sagarretan dagoen mikroflora indigenak egina (**del Campo et al., 2006a**).

Bi prozesu nagusi hauetatik gain, beste zenbait erreakzio ezberdin gertatzen dira muztioetan, hala nola sortutako produktu batzuen oxidazioak, beste motatako hartidurak, lisiak...etab.

Oro har, erreakzio hauei **erreakzio sekundarioak** deritze, non etanol edo azido laktikoaz aparte konposatu ezberdinak sortzen diren. Produktu hauek, organoleptikoki interesgarriak dira zenbait kasutan, nahiz eta kontzentrazio muga batzuk gainditzean kontrako eragina duten. Beste kasuetan, sortutako produktuak saihestu beharrekoak dira, ez baitiote inolako onurarik egiten sagardoaren kalitateari.

1.2.1 Etanola

Etanolaren determinazioak garrantzi handia dauka edari alkoholodunetan. Alde batetik, etanolak, edariak ahoan eragiten duen sentazioan eta edariaren zaporean duelako eragina. Eta bestetik, edari alkoholodunei zergak ezartzen zaizkielako (**Wang et al.,**

2003). Sagardoaren kasuan, Estatuko Aldizkari Ofizialean (BOE) arautzen da, sagardo baten etanol ehunekoa gutxienez % 4 izan behar dela (**BOE, 1979**).

1.2.2 Metanola

Metanola, sagardoetan nahiz beste zenbait edari alkoholdunetan eta destilakinetan aurki daitekeen konposatua da. Hartziduran sortzen den produktua da, sagarren pektinaren hidrolisiaren ondorioz, pektina metilesterasa entzimaren eraginez (**Hang eta Woodams, 2010**). Honako hau, 1.1 ekuazio orokorrean ikus daiteke:



Metanolaren determinazioa ere garrantzitsua da. Izan ere, ondorio kaltegarriak izan ditzake giza osasunean (**United States Environmental Protection, 2000**). Estatuko Aldizkari Ofizialean, sagardoetan 200 mg/L-ko kontzentrazio maximoa arautzen da konposatu honetarako (**BOE, 1979**).

1.2.3 Azetaldehidoa

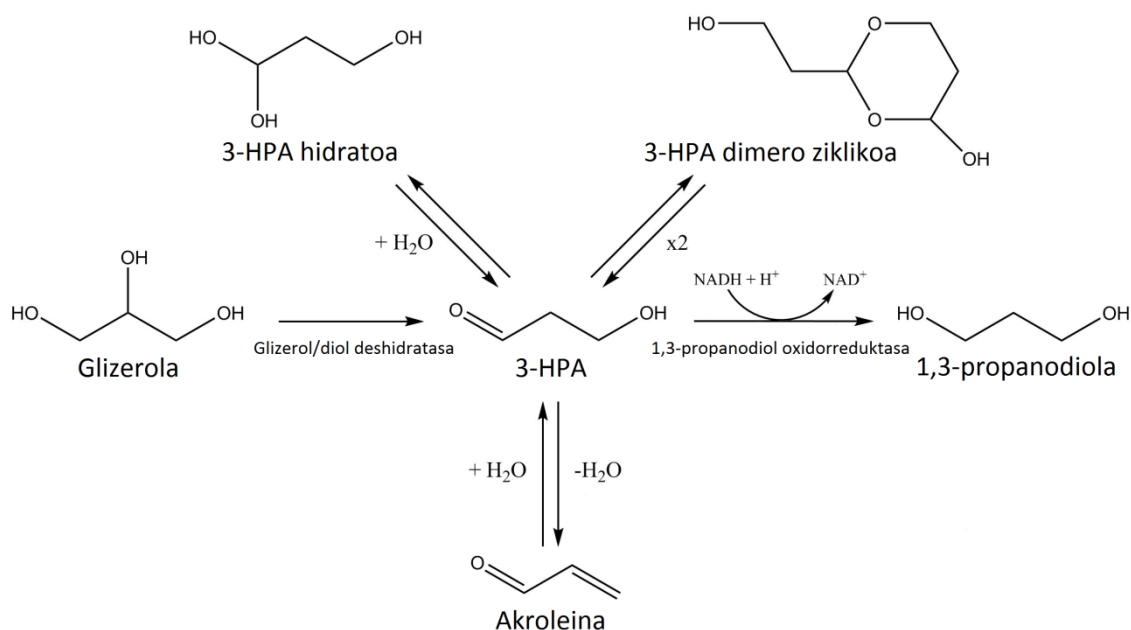
Azetaldehidoa legamiek, besteak beste, hartzidura alkoholikoan sortzen duten hondakintzat hartzen da. Produktu honen sorreraren substratu nagusia azukreak dira; etanolaren oxidazioaren ondorioz sortzen da azetaldehidoa, gainazaleko legamiek eraginda (**Geroyiannaki et al., 2007**). Iraitzi egiten dute hazkuntzan zehar (**Amerine eta Ough, 1964**) eta berriro metabolizatu egin daiteke (**Farris et al., 1983**). Legamiez aparte, azido azetikoaren bakterioek ere sortu dezakete azetaldehidoa, etanolaren oxidazioaren bidez.

Edonola ere, konposatu honen pertzepzio-ataria gainditzeak, edariaren kalitate organoleptikoan du eragina. Muga hori 100-125 mg/L da ardoan (**Geroyiannaki et al., 2007**) eta kontzentrazio altuagoetan usain narritagarria eta pikantea ematen du, nahiz eta kontzentrazio baxuagoetan fruta usain atsegina ematen duen (**Liu eta Pilone, 2000**). Sagardoaren kasuan, azetaldehidoaren kontzentrazio altuek (150-400 mg/L) zapore ezatsegina ematen dute, banana azala, limoi ustela edo mugurdi bezala deskribatu dena, eta horregatik akats honi “*framboisé*” deitzen diote frantsesez (**Coton eta Coton, 2003**). Era berean, konposatu toxikoa da gizakientzat, batez ere bihotz-muskuluan eta biriketako zeluletan (**Kulkarni, 1992**). Estatuko Aldizkari Ofizialean, sagardoetan 150 mg/L-ko kontzentrazio maximoa arautzen da konposatu honetarako (**BOE, 1979**).

1.2.4 Akroleina

Akroleinaren sorrera glizerol konposatu kimikoarekin hasten da. Glizerola, etanolarekin batera, legamiek sortutako produktu nagusietako bat da (**del Campo et al., 2003**). Hau, glizerol/diol deshidratasa entzima batek 3-hidroxiopropionaldehido (3-HPA) bilaka dezake. Zenbait mikroorganismo gai dira bilakaera hau aurrera eramateko, hartzidura

anaerobikoan zehar. Hauen artean, *Bacillus*, *Klebsiella*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Clostridium* eta *Lactobacillus* generoko mikroorganismoak daude (**Vollenweider eta Lacroix, 2004**). Gero, glukosaren presentzian, 3-HPA-a 1,3-propanodiolera erreduzitu daiteke 1,3-propanodiol oxidorreduktasa entzima baten bitartez. Hau da, hain zuzen ere, normalean gertatzen dena. Baina batzuetan, inolako mikroorganismorik parte hartu gabe, 3-HPA akroleina bilakatu daiteke, pH baxu edota bero baldintzetan (**Bauer et al., 2010**). Hau guztia, **1.1 irudian** erakusten da eskematikoki:



1.1 Irudia. Akroleinaren sorrera glizeroletik abiatuta.

Akroleinak, batik bat, sagardoaren polifenolekin erreakzionatzen du, eta sortutako konposatuek usain txarra eta zapore mingotsa eta desatsegina ematen dute, sagardoaren kalitate organoleptikoa erabat zapuztuz. Akroleinaren pertzepzio-ataria, ardoetan, 10 mg/L inguruan dago (**Avizcuri, 2014**).

1.2.5 Etil azetatoa

Sagardoan, eragin organoleptiko handiko konposatuak dira esterrak, batez ere usainean. Ester gehienak hartxiduraren hastapenetan sortzen dira, eta hauen kontzentrazioa jaitsi edo konstante mantentzen da hartxiduraren amaiera arte (**de la Roza et al., 2003**). Sortutako esterren artean, etil azetatoa da nagusia (**Williams, 1974**). Pisu molekular handiagoko beste zenbait esterrek ez bezala, etil azetatoak usain desatsegina ematen dio sagardoari. Honen kontzentrazioa 200 mg/L baino altuagoa denean, eragin kaltegarria du ardoaren kalitatean (**de la Roza et al., 2003**). Honekin batera, konposatu honen kontzentrazio altua duten sagardoetan, azido azetikoaren usaina eta zaporea indartu egiten da, eta honek ez dio mesederik egiten sagardoaren kalitateari (**Williams, 1974**).

Esterren biosintesia faktore ezberdinen menpean dago, hala nola, muztioaren aireztapena, hartiduraren temperatura edota fruituaren heldutasuna (**de la Roza et al., 2003**).

1.3 Gas Kromatografia (GC)

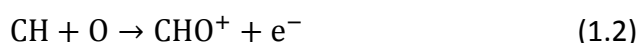
1.3.1 Ezaugarri orokorrak

Gas kromatografiak, bereizmen altuko teknika izanik, aplikazio ugari ditu. Horien artean, sagardoetan dauden zenbait osagai lurrinkor determinatzeko baliagarria da. Lan honetan, gar ionizazioko detektorea (FID = *Flame Ionization Detector*) erabili da gas kromatografiari lotuta, etanola, azetaldehidoa, akroleina, etil azetatoa eta metanola kuantifikatzeko, hau da, aurreko atalean aipatutako konposatu lurrinkorrak.

1.3.2 Gar ionizazioko detektorea

Gasak, temperatura eta presio normaletan, ez dira eroaleak. Haatik, gar batek eman dezakeen energiarekin, posiblea da gasaren osagaiak ionizatu eta gas horren eroletasuna aldatzea. Detektore honek, eroletasun horretan gertatzen den aldaketa neurtzen du analitoak kuantifikatzeko. Detektagailu honen kontzentrazio bitartea zabala izan arren, ez dauka, esate baterako, masa detektoreak duen detekzio muga txikia (**Harris, 2010a**).

1.2 Irudian adierazten da gar ionizazioko detektore baten eskema. Eluitzailea zutabe kromatografikotik atera eta detektagailuaren barruan sartzen da. Goraka egiten duen heinean, hidrogeno erregaiarekin nahasten da. Eluitzaile eta hidrogenoren nahasketak injektore buruarekin egiten du topo. Garrera ailegatzen denean, pirolizatu egiten da, ioi positiboak eta elektroioak sortuz, 1.2 ekuazio orokorraren arabera:



Injektore buruaren eta jasotzailearen artean potentzial-diferentzia ezartzen da. Sortutako katioiak jasotzailerantz (katodoa) zuzentzen dira, zirkuitua itxiz eta korrante txiki bat sortuz. Katodoa anperometro batera konektatuta dagoenez gero, seinalea erregistratu egiten da.

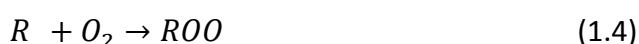
1.4.2 Polifenolak: antioxidatzaile naturalak

Demagun jaki baten lipido bat daukagula eta, hidrogeno baten lotura (R-H) hausten dela, dagokion espezie erradikala R^\bullet sortuz, non R kate organiko luze bat den (1.3 ekuazioa):



Lotura hori hautsi dezaketen eragileak ezberdinak dira: argiarekiko esposizioa, katalisi metalikoa, edota oxigeno molekularra egoera eszitatuan. Edonola ere, R^\bullet espeziea gai da espezie erradikal gehiago sortzeko, beste molekulekin erreakzionatzen duenean. Era berean, erradikalak bere buruarekin erreakziona dezake, lipidoaren R katean aldaketak eraginez, adibidez, lotura bikoitzak erreduzitu edo katearen luzera murriztu.

Bestalde, sortutako erradikalak oxigenoarekin ere erreakziona dezake, peroxi erradikal (ROO^\bullet) bat sortuz (1.4 ekuazioa):



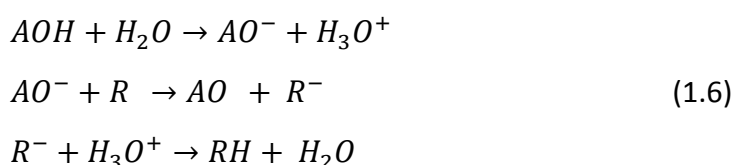
Erreakzio hauei guztiei, **hedapen** erreakzioak deritze. Azkenik, bi erradikal elkarrekin topo eginez gero, hedapena espontaneoki bukatu daiteke (**Shahidi et al., 1992**).

Edonola ere, hasierako lipido horren natura kimikoa guztiz aldatu da, sortutako erradikalek eragindako aldaketa kimikoak direla eta. Lipidoen oxidazioa kaltegarria da, zenbait konposatu lurrinkor sortzen dituelako, usain eta zapore kerratuak ematen dituztenak. Era berean, gantz-azido asegabeen eta bitaminen erredukzioa eragiten du, baita konposatu toxikoak sortu ere (**Iglesias et al., 2012**).

Zentzu honetan, polifenolek gaitasun **antioxidatzailea** dute, espezie erradikalen hedapen erreakzioak moztu baititzakete. Ahalmen hau, espezie **erradikalak harrapatzeko gaitasun** bezala ezagutzen da (**radical scavenging**) (**Robbins, 2003**). Bi mekanismo ezberdinak proposatu dira ahalmen hau azaltzeko (**Wright et al., 2001**). Lehenengoa, **hidrogeno atomoaren transferentzia** da (1.5 ekuazioa). Hau, polifenolaren hidroxilo (AOH) taldeen bidez lortzen da; erradikalari protoi bat transferituz moztu egiten dira honen hedapen erreakzioak.



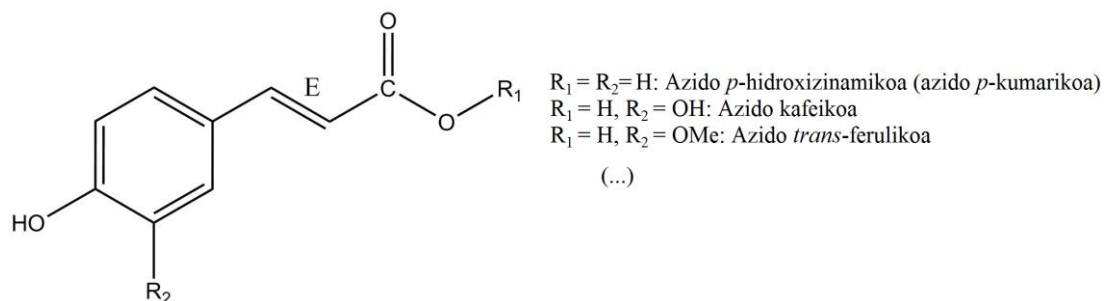
Bigarren mekanismoa, **elektroiaren transferentzia** da. Hemen, fenol taldeak elektroio bat transferitzen dio erradikal libreari. Azken erreakzio hau bi bide jarraituta azaldu daiteke; lehenengoa, fenol taldea desprotonatu egiten da eta, segituan, elektroioa transferitzen dio erradikal libreari (1.6 ekuazio multzoa):



1.4.3 Polifenolak eta familiak

1.4.3.1 Azido hidroxizanamikoaren eratorriak

Talde honetako kideek azido hidroxizanamikoaren egitura dute komunean (**1.4 irudia**).



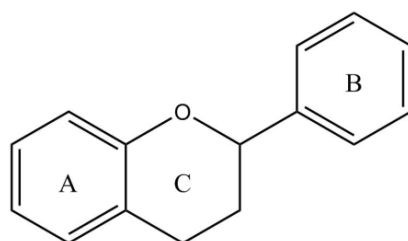
1.4 irudia. Azido hidroxizanamikoaren eta honen zenbait eratorriren egitura.

Zehazki, nukleo fenolikoa dute, eta honi atxikita, lotura bikoitzadun kate konjugatua, luzera ezberdinekoa deribatuaren arabera. Eta egitura hau da, hain zuzen ere, talde honi gaitasun antioxidatzailea ematen diona (**Abramovič, 2014**).

Azido hidroxizanamikoaren eratorrien artean, azido klorogenikoa da sagardoetan kontzentrazio altuenean aurki daitekeena (**Berregi et al., 2003a**). Honek, ikerketa ezberdinetan aktibitate farmakologiko hauek erakutsi ditu: hipertentsioren aurkako aktibitatea (**Suzuki et al., 2006**), aktibitate antiinflamatorioa (**Feng et al., 2005; Xu et al., 2010**), antioxidatzailea (**Kono et al., 1997**) tumoreen aurkako (**Liu et al., 2013**) eta histamina produkzioaren inhibitzailea epidermisan (**Inami et al., 2013**).

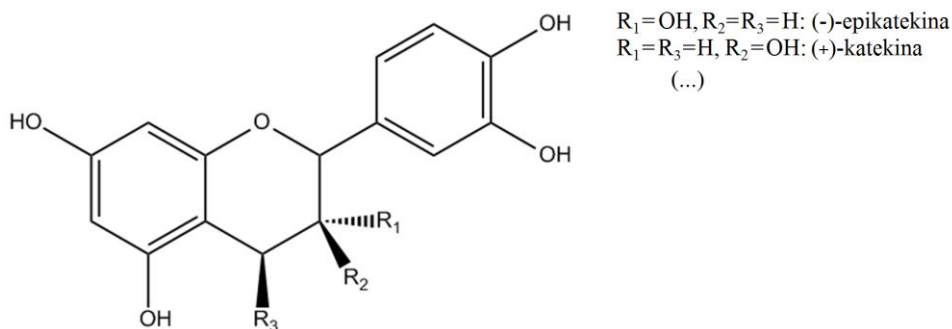
1.4.3.2 Flaban-3-olak

Polifenol hauek Flaban izeneko nukleoa dute (**1.5 irudia**)



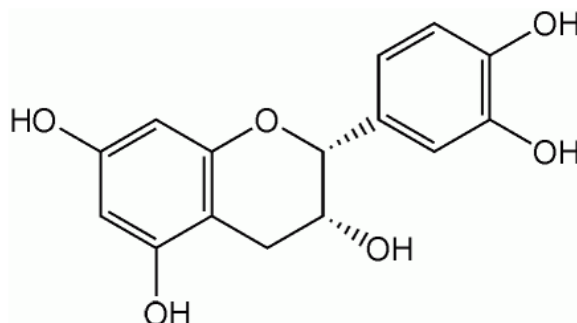
1.5 irudia. Flaban nukleoa.

Nukleo honetatik abiatuta, talde honetako polifenolek honako egitura dute komunean (**1.6 irudia**):



1.6 Irudia. Flaban-3-olen egitura komuna.

Kakaoaren flaban-3-olek zainak zabaltzeko gaitasuna erakutsi dute, odol-fluxua hobetuz (**Faridi et al., 2008**). Familia honetako polifenolak monomeroak edo polimeroak izan daitezke. Kontzentrazio altuenean aurki dezakegun monomeroa, (-)-epikatekina da (**1.7 irudia**):

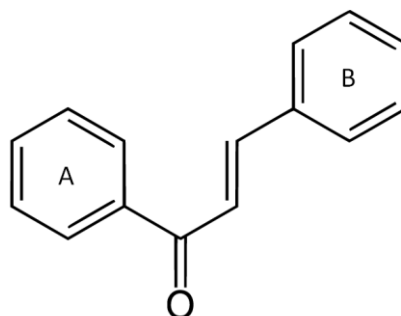


1.7 Irudia. (-)-epikatekinaren egitura.

Era berean, polimero kontzentratuenak prozianidinak ditugu. Hauek, sagardoaren iluntzearen eta sedimentu sorreraren errudunak dira. Izan ere, proteinekin elkartzen dira, hauspeakinak emanez, eta hidrolizatu egiten dira partzialki, berriro polimerizatuz eta polimero handi eta ezegonkorak emanez (**Spanos eta Wrolstad, 1992; Siebert et al., 1996**).

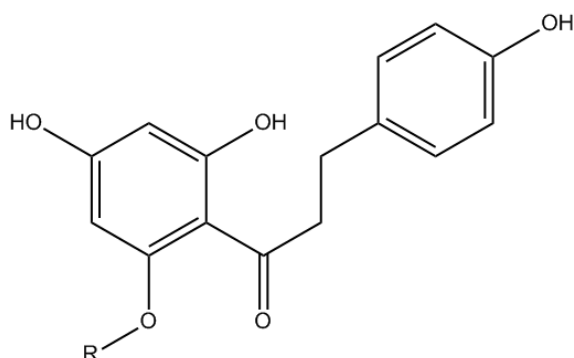
1.4.3.3 Dihidrokalonak

Polifenol hauek kalkonen eratorriak dira. Kalkonak, kate irekiko flavonoidetzat jo daitezke, non bi eratzun aromatikoak lotuta dauden hiru karbono atomoko sistema baten bidez, karbonilo eta alkeno taldeak barne (**1.8 irudia**):



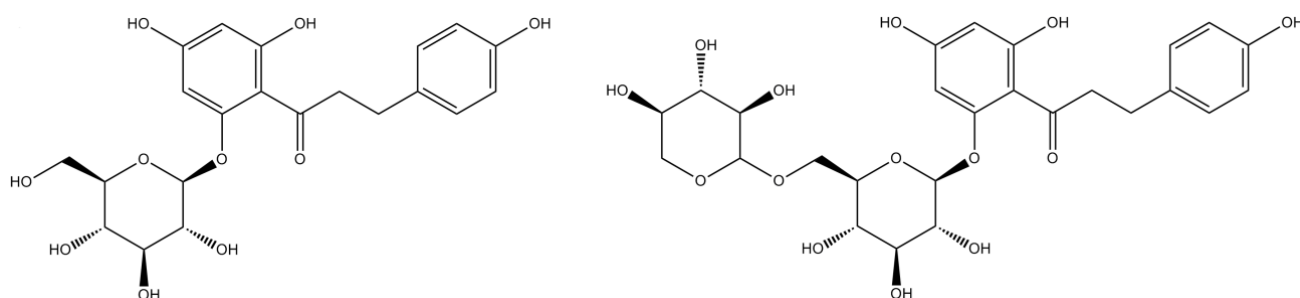
1.8 Irudia. Kalkonen egitura orokorra.

Horrela, dihidrokalkonek, lotura bikoitza erreduzituta daukate, baina zetona taldea mantentzen dute (**1.9 irudia**). Era berean, beste flabonoideak bezala, glukosatuak agertzen dira, nahiz eta ordezkatzaila "A" eraztuneko fenoletik lotuta dagoen.



1.9 irudia. Dihidrokalkonen egitura orokorra.

Ordezkatzaila protoi bat denean, orduan floretinaren egitura kimikoa lortzen da, hau izanik dihidrokalkonarik sinpleena. Halere, sagar eta sagardoetan, floretinaren honako bi deribatuak aurkitzen dira: floridzina eta floretin-2'-O-xiloglukosidoa (**1.10 irudia**). Gainera, bi hauek berezkoak dira sagarretan (**Mangas et al., 1999**).

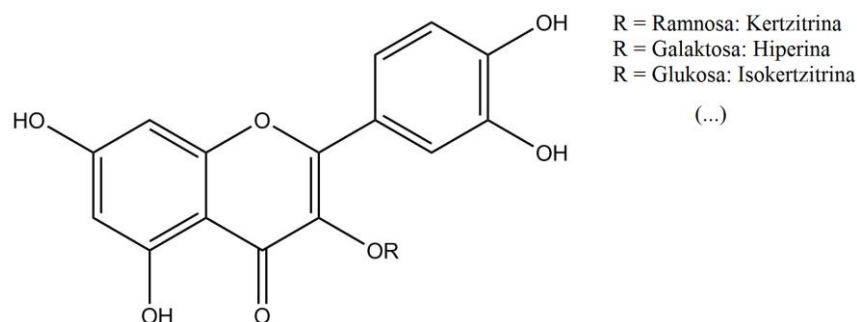


1.10 irudia. Floridzina (ezkerrean) eta floretin 2'-O-xiloglukosidoa (eskuinean).

Floridzinak zenbait funtzio biologiko ditu, hala nola, aktibitate antioxidatzailea, glukosa garraiatzaileen erregulazioa eta apoptosia eragiteko gaitasuna minbiziaren zeluletan (**Ehrenkranz et al., 2005; Dugé de Bernonville et al., 2010; Vasantha Rupasinghe eta Yasmin, 2010**).

1.4.3.4 Flabonolak

Talde honetako polifenolek, **1.11 irudian** agertutako egitura dute. Flabonoletan aberatsak diren zenbait elikagaik, giza osasuna gaixotasun degeneratiboetatik babesteko baliagarriak direla frogatu da, minbizia, diabetesa edo eritasun kardiobaskularrak bezalakoak, adibidez (**Jacob et al., 2008; Lampila et al. 2009**).

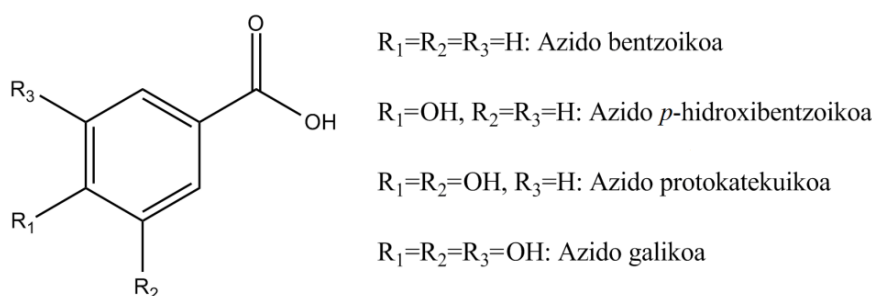


1.11 Irudia. Flabonolen egitura orokorra.

Flabonolen minbiziaren aurkako potentziala ondo ezaguna da (**Rao, et al., 2005; Murakami et al., 2008; Howells et al., 2010**), zehazki koloneko minbiziaren aurkako (**Cabrera et al., 2007; Hyun et al., 2012**). Gaitasun hau, minbiziaren progresiorako garrantzitsuak diren zenbait diana molekularrekin interakzionatzeko duten gaitasunetik dator. Flabonolen adibidea den kertzitina, esate baterako, aski ikertuta izan da, daukan gaitasun antioxidatzailea kontuan hartuta (**Kim et al., 2010**).

1.4.3.5 Azido bentzoikoaren eratorriak eta bestelako polifenolak

Aipatutako lau polifenol familia nagusiez gain, badaude beste polifenol batzuk interesgarriak izan daitezkeenak. Horien artean, azido bentzoikoaren eratorriak ditugu. Hauek, azido bentzoikoaren egituratik hasita (**1.12 irudia**) eraztun aromatikoan hidroxilo taldeak sartuz, edota beste talde funtzionalak (metoxiloak, adibidez) jarriz, sortu daitezke.



1.12 Irudia. Azido bentzoikoaren eta zenbait eratorriren egitura kimikoa.

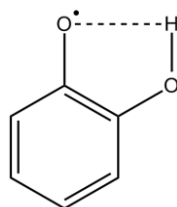
Gehienetan, landare jatorrizko elikagaiei buruz hitz egiten denean, flabonoideek bereganatzen dute arreta guztia. Izan ere, gizakien dietan hartzen den polifenol kopuruaren bi heren, flabonoideak dira (**Scalbert eta Williamson, 2000**). Halere, beste herena ia azido bentzoikoek soilik osatzen dute (**Robbins, 2003**). Hori dela eta, gero eta interes handiagoa dago fenol sinple hauengan, alde batetik bere gaitasun antioxidatzaileagatik, eta bestetik, osasunarentzat potentzialki onuragarriak direla pentsatzen delako.

Bestalde, estrukturaliki azido bentoikoen antzekoak diren **katekola** eta **tirosola** ditugu (**1.13 irudia**):



1.13 irudia. Ezkerrean katekola, eskuinean, tirosola.

Katekola, polifenolik sinpleena dugu. Alabaina, fenolaren orto posizioan beste hidroxilo izateak gaitasun antioxidatzaile berezia ematen dio. Fenoxi erradikala sortzean (AO[•]) erresonantziaren bidez lortutako egonkortasunari gehituta, hidrogeno zubi intermolekularrak gehiago egonkortzen du erradikala (**1.14 irudia**):



1.14 irudia. Zubi intermolekularraren irudikapena.

Katekola gai da O₂-arekin erreakzionatzeko, hidrogeno peroxidoa emateko. Azken honek, sagardoan dagoen etanolarekin erreakziona dezake azetaldehidoa sortzeko (**Boulton et al., 1996**). Hori dela eta, polifenol honen presentzia sagardoetan ez da desiragarria.

Tirosola, bestalde, hartziduraren produktua da, tiraminatik eratorria, eta honen aitzindari zuzena tirosina da (**Zhang et al., 2011**). Ardo zurian (**Samson Mathews et al., 2008**) edo oliba olioan (**Miró-Casas et al., 2003**) aurkitu daitekeen polifenola da. Miokardioko iskemiak eragindako estresaren aurka babesteko gai da tirosola, era nabarmenean gutxituz miokardioko infartuaren tamaina (**Samson Mathews et al., 2008**). Era berean, dentsitate baxuko lipoproteinen oxidazioa ekiditeko eraginkorra dela ikusi da (**Caruso et al., 1999**).

1.4.4 Brett izaera

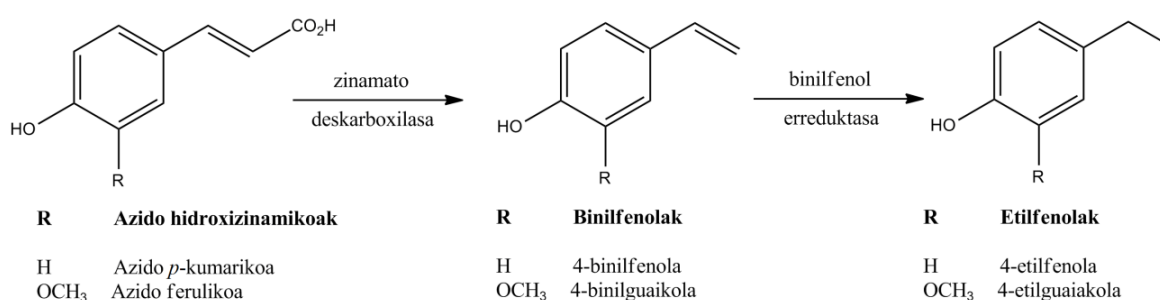
1.4.4.1 Ezaugarri orokorrak

Edari alkoholdunak ekoiztean ager daitekeen arazo nagusietako bat, zapore txar fenolikoa da, Brett izaera bezala ezagutzen dena, edo ingelesez, *phenolic off-flavour*. Ardoan, garagardoan edo sagardoan aurki daitekeen akats organoleptikoa da, eta zerikusia du agertutako zenbait **fenol lurrinkorrekin**. Arazoak sortzen dituztenak bi taldetan bana daitezke, **binilfenoletan** eta **etilfenoletan**, hain zuzen ere. Organismo ezberdinek sortuak dira, eta eragin handia dute edariaren usainean eta zaporean, ukitu negatiboak emanez kontzentrazio altuetan agertzen direnean. Honako deskribatzaile

aromatiko hauekin lotzen dira fenol lurrinkorrak: “medizinala”, “pikantea”, “ketsua”, “animalia”, “zaldia”, etab (**Chatonnet et al., 1995**).

1.4.4.2 Mikroorganismoak eta substratuak: *Brettanomyces/Dekkera*

Legamia hauek gai dira, ardo beltzean, azido fenolikoak fenol lurrinkor bihurtzeko (**Chanonnet et al., 1995**). Hori lortzeko, **1.15 irudian** agertzen den sistema entzimatikoa erabiltzen dute, eta horrela, azido *p*-kumarikoa eta azido ferulikoa metabolizatzen dira. Lehenengo urratsean, azido hidroxizanamikoaren deskarboxilazio ez-oxidatiboa gertatzen da, eta, bigarreanean, sortutako binilfenolaren erredukzioa.



1.15 Irudia. *Brettanomyces/Dekkera*-ren 4-etilfenol eta 4-etilguaiakolaren sorrera.

Ardo beltzean, hartzidura alkoholikoaren ondoren garatzen dira legamia hauek, eta, hori dela eta, ardoen ontzean sortu ohi dituzte arazoak. Karbono iturri gisa, hartzitu ez diren azukreak erabiltzen dituzte. Ardo zurietan, ordea, gai dira fenol lurrinkorrak sortzeko fermentazio alkoholikoan zehar (**Chatonnet et al., 1992**).

Brettanomyces/Dekkera mikroorganismoa nonahi aurkitzen da. Populazio txikitik baina leku askotan aurkitu daiteke, hala nola lurrian, zuhaitzen azalean edo substratu azukredunetan (fruituetan, ez-tian). Mahatsetan edo hauen muztioetan zaila bada detektatzea, fokuak aurkitu dira mahatsondo jakin batzuetan. Ohikoa da, bestalde, legamia hauek isolatzea ardogintzan erabiltzen diren hainbat tresnatan, batez ere kupeletan eta zurezko tinetan (**Navascués Lopez-Cordón, 2009**).

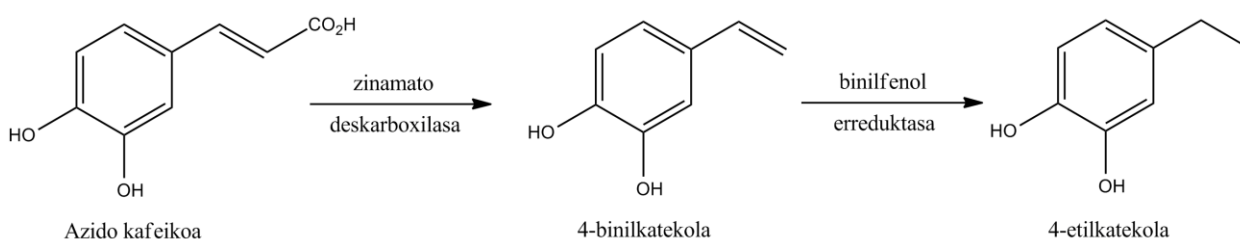
1.4.4.3 *Saccharomyces cerevisiae*

Legamia hau ere gai da, ardoetan, azido *p*-kumarikoa eta azido ferulikoa, bakoitzari dagokion binilfenol bihurtzeko, ez ordea, etilfenol. Hau da, zinamato deskarboxilasaren etapa ematen dute, baina ez binilfenol erreduktasarena. Haatik, gaitasun hau mugatuta dago hartzidura alkoholikora, eta desagertu egiten da bukatzen denean. Era berean, deskarboxilasa aktibitatea inhibitu egiten da zenbait polifenolen presentzian. Bereziki, katekinak eta polimerizazio gutxiko prozianidina dira eragin inhibitzaile handiena dutenak, antoziano eta tanino-antoziano konbinazioekin batera. Azken honek azalduko luke zergatik ardo beltzek ardo zuriek baino azido zinamiko kontzentrazio handiagoa edukita, binilfenol kontzentrazio txikiagoa duten hartzidura

alkoholikoaren amaieran. Ardo beltzen katekinen kontzentrazioa zenbait g/L-koa izan daiteke, ardo zuriena, berriz, 10-200 mg/L izan ohi da (**Chatonnet, et al., 1993**).

1.4.4.4 Dekkera anomala legamiak eta Lactobacillus collinoides bakterioak

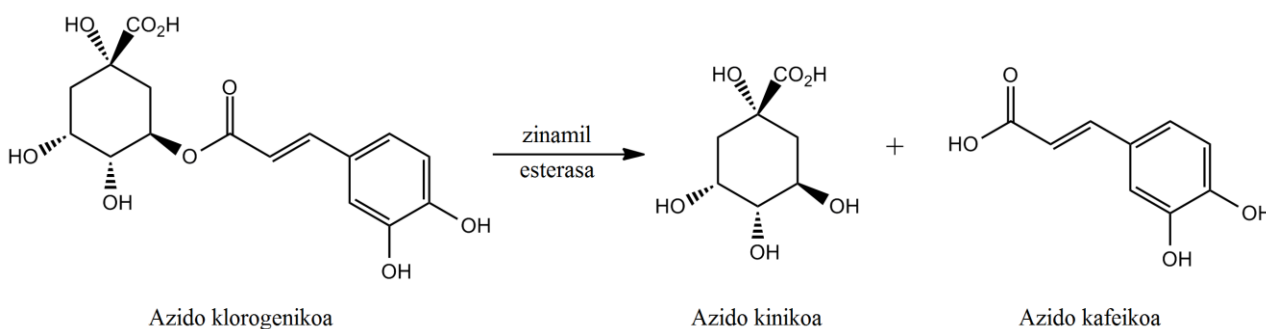
Sagardoetako bi mikroorganismo hauek gai dira azido *p*-kumarikoa, azido ferulikoa eta azido kafeikoa, hurrengo konposatu bihurtzeko, hurrenez hurren: 4-etilfenol, 4-etilguaiakol eta 4-etilkatekol bihurtzeko (**Buron et al., 2012**). Adibide bezala, **1.16 irudian** adierazten da nola bihurtzen den azido kafeikoa 4-etilkatekol.



1.16 Irudia. 4-Etilkatekolean eraketa azido kafeikotik abiatuta.

Datu bezala, Frantziako sagardoetan fenol lurrinkor kontzentratuena 4-etilkatekola dela aurkitu da (**Buron et al., 2011**).

Honi gehituta, *L. collinoides*-ek zinamil esterasa aktibitatea erakutsi du. Honek esan nahi du gauza dela azido hidroxizinamikoaren esterrak hidrolizatzeko, dagozkien azido hidroxizinamikoak askatuz. Adibidez, azido klorogenikoa apurtu dezake, azido kafeikoa eta azido kinikoa sortzeko (**1.17 irudia**):



1.17 Irudia. Azido klorogenikoaren hidrolisia eta produktuak.

Horrela, bakterio hauek azido hidroxizinamikoaren kontzentrazioa handitzeko gaitasuna dute. Kontuan hartuta azido hauek direla gero 4-etilfenolak sortzen dituztenak, bakterio hauek Brett izaera indartu dezakete.

1.4.4.5 Fenol lurrinkorren pertzepzio-atariak

Konposatu hauen pertzepzio-atariak ezberdinak dira, matrizearen arabera. **1.1 Taulan** laburbiltzen dira fenol lurrinkor nagusien pertzepzio-atariak, matrize ezberdinetan:

1.1 Taula. Brett konposatu nagusien pertzepzio-ataria hainbat matrizean

Fenol lurrinkorra	Pertzepzio-ataria, mg/L	Matrizea	Erreferentzia
4-Binilfenola	1.5	Ardo beltza	(Boidron, <i>et al.</i> , 1988)
4-Binilguaiakola	1.1	Ardo beltza	(Ferreira <i>et al.</i> , 2000)
4-Etilfenola	1.5-2.0	Sagardoa	(Buron <i>et al.</i> , 2012)
4-Etilguaiakola	0.033	Ardo beltza	(Ferreira <i>et al.</i> , 2000)
4-Etilkatekola	20-25	Sagardoa	(Buron <i>et al.</i> , 2012)
4-Binilkatekola*	-	-	

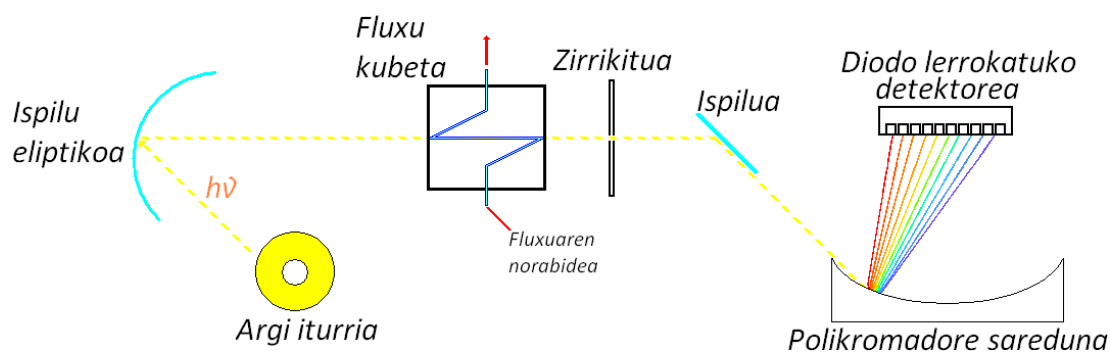
*Ez dago Brett konposatu bezala onartuta (Hisomoto *et al.*, 2009)

1.5 Bereizmen Handiko Likido Kromatografia (HPLC)

Polifenolen analisia, sagar muztio eta sagardoetan, bereizmen handiko kromatografia likidoaren bidez burutu ohi da. Honekin batera, alderantzizko fasea erabiltzen da, ultramore-ikuskorreko diodo lerrokatuko detektagailuarekin (DAD = *Diode-Array Detector*). Halere, determinazioa egin ahal izateko, alde zuzenetik zenbait eragiketa egin behar ohi dira, hala nola laginaren erauzketa, purifikazioa edo kontzentrazioa, analisiaren konplexutasuna dela kausa. Horrek suposatzen du **laginaren prestaketa** etapa garrantzitsua dela denboraren aldetik, totalaren bi heren izanik (Suárez *et al.*, 2005). Hori gehituta, laborategi ezberdinetan egindako analisien errore iturri nagusia da. Bestalde, polifenolak erreaktibotasun handiko konposatuak dira, eta aipatutako prozeduretan aldaketa estrukturalak paira ditzakete.

Hori dela eta, lan honetan HPLC-DAD teknika erabili da polifenolak kuantifikatzeko eta sagardoaren hartziduran zehar jarraitzeko. Honekin batera, **injekzio zuzena** erabiltzea erabaki dugu, horrela laginak ez baitu, iragazpen soil batez aparte, inolako tratamendurik behar (Suarez *et al.*, 2005).

Erabilitako detektoreari dagokionez, aukera ematen du aldi berean uhin luzera tarte zabala erregistratzeko, eskuratzeko denbora txikiarekin eta seinale-zarata erlazio handiarekin (Harris, 2010b). DAD baten eskema **1.18 irudian** adierazten da.



1.18 Irudia. Diodo lerrokatuko detektorea, fluxu kubetarekin batera, HPLC-rako.

Honi esker, polifenolak determinatzeko aproposenak diren uhin luzerak aukeratzeko parada izan dugu, metodoaren sentsibilitatea maximizatuz. Aurrekoaz gain, muztioak eta sagardoak lagin konplexuak dira, eta funtsezkoa da gailur kromatografiko bakoitzari dagokion polifenola esleitu ahal izatea. DAD detektagailuarekin espeketro osoa erregistratzen denez gero, esleipena errazten da.

Horrela, hartiduraren momentu ezberdinetan hartutako laginak analizatuz, eta hauen profil polifenolkoa determinatuz, polifenolen eboluzioa jarraitu egin da. Kontuan hartu behar da lan honetako helburu nagusietako bat dela korrelazioak bilatzea polifenolen eta hurrengo **parametro fisikokimikoen** artean: uhertasuna, erredox potentziala, iluntzea, polifenol hauspeakorrak eta indar antioxidatzailea.

1.6 Absorbantzia neurketak

1.6.1 Absorbantzia 280 eta 320 nm-tan

Sagar zuku edo sagardo baten ultramore-ikuskorreko espeketroak interesgarria den informazioa eman dezake, izan ere, absortzio banda bat erakusten du 280 nm-tan (A_{280}). Absorbantzia hau laginak dituen eraztun aromatikodun konposatuek sortua da, nagusiki (**Ribéreau-Gayon et al., 2008**). Ardo beltzean, uhin luzera honetako absorbantzia erabiltzen da polifenol totalen edukiaren balioespen bezala (**Ribéreau-Gayon et al., 1982**). Era berean, sagar zukuetan 280 nm-tan neurtutako absorbantzia konposatu polifenolikoen edukia neurtzeko erabili daiteke (**del Campo et al., 2006b**). Gaur egun absorbantzia hau modu zabalean erabiltzen da **polifenol totalen indize** moduan, baita sagardogintzan ere (**Zuriarrain et al., 2015b**). Halaber, 320 nm-tan neurtutako absorbantzia azido hidroxiznamikoaren eratorriak neurtzeko erabili daiteke. Uhin luzera hau espezifikoa da konposatu hauentzat (**Gómez-Alonso et al., 2007**).

1.6.2 Absorbantzia 420 nm-tan: Iluntzea

Iluntzea, edo ingeleseko *Browning* terminoa, zatitutako hainbat fruituk pairatzen duen fenomeno da. Honen adibidea da erdibitu eta airean uzten den sagar bati gertatzen zaiona; denborarekin, sagar horren mamiak kolore marroi edo arretua garatuko du.

Fenomeno honek garrantzi handia dauka fruituz zein barazkiz eginiko produktuen kontserbaziorako. Zentzu honetan, sagardogintzan ere faktore nagusia da. Sagarrak birrintzen direnean, zelula begetalak puskatu eta entzimak ehunetatik askatzen dira. Iluntzearen kasuan eragin gehien duen entzima polifenol oxidasa da (EC 1.14.18.1 eta EC 1.10.3.1 entzimen nahasketa). Oxigenoaren presentzian, entzima honek katalizatzen du fenolen konbertsioa kinonetan, zeintzuk azkar polimerizatzen diren, bai beraien artean, bai aminoazido edo proteinekin, kolore marroiko produktuak emateko (**Labuza et al., 1992**).

Prozesu honi **iluntze entzimatikoa** deritzo, erreakzio entzimati­koek parte hartzen dutelako fenomenoan. Haatik, iluntzea sor dezaketen beste erreakzioak ere badaude, hala nola Maillard-en erreakzioa. Azken hau, azukre erreduktore baten eta aminoazido baten artean gertatzen da. Temperatura altuek eta pH basikoek erreakzioa errazten dute. Bestalde, karamelizazioa ere beste iluntze mota bezala har daiteke. Azken hau, azukreen artean gertatzen da, aminoazidoek parte hartu gabe, eta Maillard-en erreakzioak ematen dituen antzeko produktuak eman ditzake. Karamelizazioari eta Maillard-en erreakzioari **iluntze ez-entzimatikoa** deritze, entzimek ez baitute parte hartzen iluntze prozesuan.

Sagar muztioen eta sagardo­en iluntzea 420 nm-ko absorbantzia bezala adierazten da. Izan ere, lehen aipatutako erreakzioen ondorioz sortutako produktuek uhin luzera horretan dute absortzio maximoa (**Burdurlu eta Karadeniz, 2003; García et al., 2005**).

Tratamendu fisiko eta kimiko ezberdinak erabiltzen dira iluntze entzimatikoa saihesteko. Adibidez, iluntze entzimati­ko zein ez-entzimati­koari aurre egiteko, sulfitoak gehitzen zaizkie jakiei. Beste tratamendu bat da, azido askorbikoa gehitzea. Haatik, azken honek, nahiz eta iluntze entzimati­koa saihestu dezakeen, iluntze ez-entzimati­koa eragin dezake, azido askorbikoaren oxidazioak ematen duelako azido dehidroaskorbikoa, zein gai den aminoazidoekin erreakzionatzeko kolore marro­idun produktuak emanez (**Kacem et al., 1987**). Zentzu honetan, sagardogintzan ohikoa da, sagardoa bukatuta eta botilaratu aurretik, azido askorbikoa eta sulfito dosia jartzea. Dena dela, sulfitoen gehitzeak osasunean izan ditzakeen kontrako eraginak direla kausa, honen erabilera mugatua dago, eta sagardo­en kasuan, SO₂ 200 mg/L-ko kontzentrazio **totala** (SO₂ aske eta konbinatuaren batura) onartzen da (**Official Journal of the European Union, 2011**).

1.7 Parametro enologiko eta fisikokimikoak

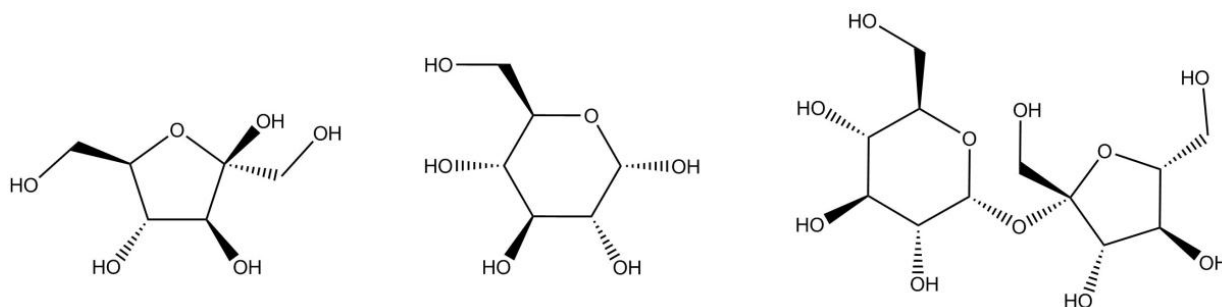
Sagar muztioaren hartidura prozesu mikrobiologiko konplexua da, hainbat mikroorganismok parte hartzen dutelako. Behar energetikoak asetzeko bidean, azukreak zein muztioaren beste osagaiak metabolizatu egiten dituzte hamaika produktu emateko. Transformazio hauek eta sortutako produktuak dira, neurri handian, sagardoaren ezaugarri organoleptikoen eragileak.

Interesgarria da muztioaren osagai nagusien bilakaera eta sortutako produktuen sorrera jarraitu eta kontrolatu ahal izatea. Horretarako, eskuragarri daude hainbat metodo entzimati­ko, glukosa, fruktosa, sakarosa edo azido laktikoa bezalako konposatuak determinatzeko, besteak beste.

1.7.1 Glukosa, fruktosa eta sakarosa

Sagarren konposizio kimikoa, barietatearen eta heldutasun mailaren arabera da. Dena dela, kontzentrazio handiengan dauden solido disolagarriak azukreak ditugu, mono eta polisakaridoak.

Monosakaridoen artean, D-fruktosa eta D-glukosa dira kontzentrazio handiengan daudenak. Disoluzioan daudenez gero, dagokien egitura ziklikoa hartzen dute: D-fruktofuranosa eta D-glukopiranosia. Polisakaridoetan, ordea, sakarosa dugu kontzentratuena. Hau, aurreko bi azukreen dimeroa dugu: alfa-D-glukopiranosil-(1→2)-beta-D-fruktofuranosida da bere izen kimikoa (**1.19 irudia**).



1.19 irudia. Fruktosa, glukosa eta sakarosaren forma ziklikoak.

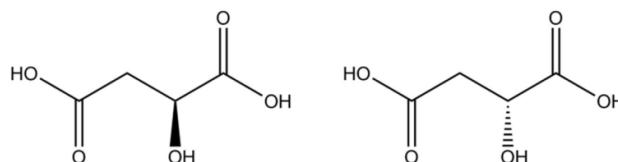
Barietatearen arabera, sakarosaren kontzentrazioa glukosarena baino handiagoa izan daiteke, baina sagarrak prentsaturakoan, ingurunearen baldintza azidoak direla kausa, hidrolizatu egiten da bere osagaietan, glukosa eta fruktosa, hurrenez hurren (**Santos González, 2005**).

Edozelan ere, bai glukosa, bai fruktosa eta bai sakarosa, azukre hartzigarriak dira, eta hauetaz baliatzen dira *Saccharomyces cerevisiae* bezalako legamiak, hartzidura alkoholikoaren bidez etanola eta CO₂-a emateko.

Beraz, muztioak fermentatu heinean, azukreen kontzentrazioa jaitsi egiten da, eta segitu beharreko parametroak dira, hartzidura bide onean burutzen ari dela ziurtatzeko. Era berean, hartziduraren ondoren, zenbait kasutan, hartzitu gabeko hondar-azukreak gera daitezke, eta hauen kontzentrazioa jakitea ere garrantzitsua da, arazoak eman baititzakete.

1.7.2 Azido malikoa

Azido malikoa, sagarretan dagoen azido nagusia da. Bi isomero edo enantiomero egon arren, naturan L isomeroa aurki daiteke bakarrik, D isomeroa sintetikoa izanik (**1.20 irudia**).



1.20 Irudia. Ezkerrean, azido L-malikoak, eskuinean, azido D-malikoak.

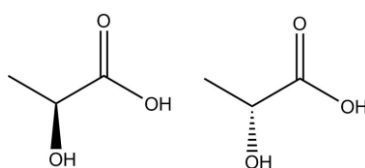
Azido L-malikoak azido L-laktikoak eta CO_2 bilakatzen da hartzidura malolaktikoaren bidez. Sagardoaren kasuan, *Oenococcus oeni* bakterioek egiten dute ia esklusiboki (**Blanco Gomis eta Mangas Alonso, 2010**). Organismo azidofiloa da, etanol eta sulfitoen presentzian bizi daitekeena, pH 3.5 baino gutxiagoko inguruetan (**Zhang eta Lovitt, 2006**). Azido malikoaren deskarboxilazio zuzena burutzen du mikroorganismoak, azido L-laktikoak izanik produktu nagusia, bitarteko azido pirubikorik detektatu gabe.

Azido L-malikoak garrantzitsua da sagardoaren ezaugarri organoleptikoetan. Izan ere, gustu berde edo ondugabea ematen du desagertzen ez denean. Horretaz gain, azido L-laktiko bilakatzen denean, edariaren azidotasuna jaisten da, zaporea leunduz. Hori dela eta, azido L-malikoaren determinazioa parametro inportantea da. Metodo ezberdinak daude azido malikoak determinatzeko, likido kromatografian (**Fuleki et al., 1995**), metodo entzimatikoa (**OIV, 2015a**) edota $^1\text{H-NMR}$ -an oinarrituta daudenak (**del Campo et al., 2006a**).

1.7.3 Azido laktikoak

Aipatu bezala, azido L-laktikoak hartzidura malolaktikoaren produktua da, *Oenococcus oeni* bakterioek sortua, azido L-malikoetik abiatuta. Metabolismo hau, konposatu honen iturri nagusia da, zenbait gramo litroko kontzentrazioak emanez. Prozesu hau ezinbestekoa da sagardoetan, leuntzen baitu azido malikoak emandako pertzepzio azido gogorra.

Haatik, badaude beste bakterio batzuk, azukreen metabolismoaren bidez, azido laktikoak sortzen dutenak. Talde honetako genero adierazgarriak dira *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* eta *Oenococcus* (**Blanco Gomis eta Mangas Alonso, 2010**). Bakterio hauek, azido laktikoaren bakterioak edo **bakterio laktikoak** bezala ezagutzen dira. Batzuetan, azidoak bakarrik sortzen dute (homofermentazioa), eta bestean, honi gehituta, beste metabolitoak (heterofermentazioa). Batzuk, L isomeroa bakarrik sortzen dute, eta beste batzuk, D isomeroa (**1.21 irudia**). Era berean, badaude bakterioak azido laktikoaren bi isomeroak sortzeko gai direnak. Horretarako, bi laktato deshidrogenasa entzima motak dituzte eta, honen ondorioz, azidoaren nahaste errazemikoa sortzen dute.



1.21 Irudia. Azido L-laktikoak ezkerrean eta azido D-laktikoak eskuinean.

Honekin batera, *Lactobacillus* eta *Leuconostoc* generoko zenbait bakterio gai dira, metabolismo heterofermentatiboaren bidez eta oxigenoaren presentzian, **azido azetiko** sortzeko azido laktikoaz gain. Gaixotasun honi “**ozpintze laktikoa**” deritzo, zeinek ardoaren nahiz sagardoaren kalitate organoleptikoa zapuzten duen. Azido D-laktikoaren kontzentrazioa 0.3 g/L-koa baino altuagoa denean, ozpintze laktikoa egon delako seinalea izan daiteke.

Bestalde, azido laktikoa **hartzidura alkoholikoaren** produktu sekundarioa ere izan daiteke. Legamiek, glikolisian sortutako azido pirubikotik abiatuta, gai dira konposatu honen bi isomeroak sortzeko (**Blanco Gomis eta Mangas Alonso, 2010**). Honi esker, NAD^+ -a birsortzen dute azukreen glikolisiak aurrera jarrai dezan.

Azido laktikoa determinatzeko teknika ezberdinak erabiltzen dira, hala nola likido kromatografia (**Zhang et al., 2008**), kit entzimatiakoak (**OIV, 2015b**) edota $^1\text{H-NMR}$ -a (**Zuriarrain et al., 2015a**).

1.7.4 Azido azetiko

Azido azetikoari dagokionez, sagardoetan dagoen azido lurrinkor nagusia da. Sortzen da, funtsean, bakterio laktiko eta azetikoaren eta *Saccharomyces* ez diren legamien metabolismoaren ondorioz, azken hauek, beste mikroorganismoekin alderatuta, gutxi sortzen duten arren.

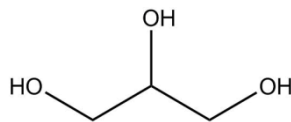
Lehen aipatu bezala, bakterio laktikoak gai dira azukreak metabolizatzeko, azidotasun finkoa eta azido azetikoaren kontzentrazioa areagotuz. Azido azetikoaren kontzentrazioa "azidotasun lurrinkorra" bezala ere ezagutzen da. Mikroorganismo hauen gehiegizko garapenak, azido azetiko eta laktikoaren kontzentrazioaren igoera ekar dezake, ozpintze laktikoa sortuz. Legediak, azido azetiko 2.2 g/L-ko kontzentrazio maximoa ezartzen du sagardoetan (**BOE, 1979**).

Azidotasun lurrinkorra determinatzeko teknika ezberdinak erabiltzen dira, esate baterako likido kromatografia (**Zhang et al., 2008**), metodo ofiziala distilazioan oinarritzen dena (**OIV, 2015c**) edota $^1\text{H-NMR}$ -a (**Zuriarrain et al., 2015a**). Halaber, bodegetan oso erabilia da García-Tena metodoa, sagardoaren distilazioan eta lortutako frakzioen balorazioan oinarritzen dena (**Jolicoeur, 2013**).

1.7.5 Glizerola

Glizerola sagardoetan dauden konposatu nagusietako bat da (**1.22 irudia**). Bere presentziak leuntasuna eta borobiltasuna ematen dizkio sagardoari. Honen sorrera glikolisiarekin dago lotuta, erredox balantzearekin, hain zuzen ere. Glikolisian, NAD^+ kofaktorea erabiltzen da, NADH bilakatuz (forma erreduzitua). Hori dela eta, beharrezkoa da NAD^+ gehiago sortzea, glikolisiak aurrera jarrai dezan. Hau, hartzidura glizero-pirubikoaren bidez lortzen da. Hemen, glikolisian sortzen den fruktosa-1,6-

bifosfato-tik abiatuz, glizerola eta pirubato sintetizatzen dira, eta NADH kofaktore erreduzitua berroxidatu egiten da, NAD^+ sortuz. Honengatik, hartzidura alkoholikoarekin batera, beti sortzen da glizerola. Honen kontzentrazioa 3-6 g/L-koa izan daiteke (**Garai-Ibabe et al., 2008**).



1.22 Irudia. Glizerolaren egitura kimikoa.

Haatik, sagardo naturalak mikrobiologikoki egonkortuta ez daudenez gero, *Lactobacillus* generoko bakterio laktiko batzuk gai dira glizerola erabiltzeko karbono iturri gisa, desiragarriak ez diren aldaketak eraginez, hala nola, azido azetiko edo akroleina sortu (ozpintze akroleikoa).

Beraz, bai bere presentziak organoleptikoki laguntzen duelako, bai haren desagerpena arazoaren seinale izan daitekeelako, glizerolaren determinazioa sagardoetan garrantzi handikoa da. Honetarako, kromatografia eta kolorimetria konbinatzen dituen metodoa badago (**OIV-MA-AS312-04**), baita metodo entzimatikoa (**OIV-MA-AS312-05**) ere.

1.7.6 Folin-Ciocalteu indizea (FC)

Neurketa honek lagin baten polifenol kantitatearen ideia ematen du. Izen berbera duen errektibo batekin burutzen da, hots, Folin-Ciocalteu errektiboa. Hau, azido fosfotungstikoz, $\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$, eta azido fosfomolibdikoz, $\text{H}_3\text{PMo}_{12}\text{O}_{40}$, osatutako nahastea da. Konposatu **erreduktoreen** presentzian, eta pH basikoan, erreduzitu egiten da tungsteno oxidoez, W_8O_{23} , eta molibdeno oxidoez, Mo_8O_{23} , osatutako nahastera. Honek, kolore urdina ematen du, absorbantzia maximoa 750 nm inguruan egonik (**OIV-MA-AS2-10**).

Noski, Folin-Ciocalteu errektiboa erreduzitu dezaketen konposatuak ez dira soilik polifenolak. Aitzitik, erreduktoreak diren konposatu asko, hala nola C bitamina, Cu (I), sulfuro oxidoa, zenbait proteina eta aminoazido edo azukre erreduktore kontzentrazio altuak, gai dira, printzipioz, Folin-Ciocalteu errektiboarekin erreakzionatzeko. Honek, interferituko luke polifenol edukiaren determinazioan (**Singleton et al., 1999**). Dena dela, sagar muztioen (**del Campo et al., 2006b**) eta sagardoaren kasuan, korrelazio handia ikusi da Folin-Ciocalteu indizearen eta **280 nm-tan** neurtutako absorbantziaren artean. Honek adierazten du, Folin-Ciocalteu metodoaren bidez ondo estima daitekeela konposatu polifenolikoen kantitatea.

Neurketa honen bidez lortutako emaitzak, azido galiko edo azido taniko g/L unitateetan adierazi ohi dira.

1.8 Gaitasun antioxidatzaile totala

Garrantziko parametroa da sagardo baten gaitasun edo indar antioxidatzailea. Honek kuantifikatzen du norainokoa den lagin baten indarra oxidazioaren aurka.

Alabaina, ez dago lagin baten indar antioxidatzailea guztiz azter dezakeen adostutako metodorik (**Pellegrini, et al., 2003**). Hau horrela da, osagai antioxidatzaileek *in vivo* edo *in vitro* jardun dezaketelako, eta honi gehituta, gaitasun antioxidatzailea mekanismo ezberdinez erakuts dezaketelako (hidrogeno edo elektro transferentziaren bidez).

Eskuragarri dauden metodoen artean, FRAP eta ABTS saioak aukeratu ditugu, non FRAP laburdurak *ferric ion reducing antioxidant power* esan nahi duen (ioi ferrikoa erreduzitzeko indar antioxidatzailea) eta ABTS laburdurak, 2,2'-azino-bis-(azido 3-etilbenzotiazolin-6-sulfonikoa). Biak, *in vitro* metodoak dira, eta lagin batek beste konposatu bati elektro bat transferitzeko duen gaitasuna neurtzen dute.

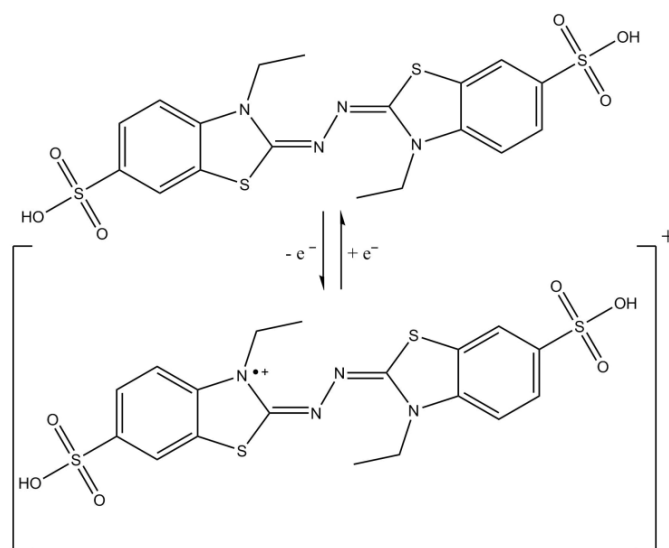
1.8.1 FRAP saioa

Metodo honetan, burdin konplexu baten erredukzioa erabiltzen da lagin baten gaitasun antioxidatzailea neurtzeko (**Benzie eta Strain, 1996**).

Tripiridiltriagina konplexu ferrikoa (Fe^{III} -TPTZ) erreduzitzen da forma ferrosora, pH baxuan. Sortutako konplexu ferrosoak 593 nm-tan sendo absorbitzen duenez gero, erredukzioa monitorizatu egin daiteke. Metodoa ez da espezifikoa; lan baldintzetan $\text{Fe}^{\text{III}}/\text{Fe}^{\text{II}}$ -TPTZ erredox sistemak baino potentzial baxuago duen edozein erredox sistemak eman dezake ioi ferrosoaren sorrera. Beraz, neurtutako absorbantzia igoera zuzenki erlazionatuta egongo da laginean dauden antioxidatzaile guztiekin.

1.8.2 ABTS saioa

Metodo honetan, kolorerik gabeko ABTS-a oxidatu egiten da, dagokion katioi erradikala ($\text{ABTS}^{\bullet+}$) sortzeko (**Erel, 2004**). Sortutako katioia (**1.23 irudia**) kromoforoa da eta 420, 660 eta 740 nm-tan absorbitzen du.



1.23 Irudia. ABTS-aren forma neutroa eta katioi erradikalaren sorrera.

Erradikal hau, antioxidatzaile baten aurrean, kolorerik gabeko formara bueltatzen da eta, honen ondorioz, kolorea desagertu egiten da (1.8 ekuazioa).



Beraz, determinazioa kolorearen desagerpenean oinarrituta dago. Erreduktoreek, elektroiti bat eman diezaioke ABTS-aren forma erradikal egonkortuari, honen erredukzioa eraginez. FRAP saioan gertatzen zen moduan, hemen ere edozein espezie antioxidatzailek eragin dezake ABTS-aren erredukzioa, eta, hori dela eta, neurtutakoa laginaren gaitasun antioxidatzaile totala izango da.

1.9 Proteinekin hauspeatzeko gaitasuna (PPC)

Polifenolek proteinekin interakzionatu dezakete, konplexu disolbagarriak edo disolbaezinak sortuz (**Calderon et al., 1968; Baxter, et al., 1997; Shahidi eta Naczki, 2004**). Gaitasun honek zerikusia dauka astringentzia sentsazioarekin. Izan ere, polifenolek ahoan dauden listu-proteinekin topo egiten dutenean, hauspeatu egiten diren konplexuak sor ditzakete. Konplexu hauen hauspeatzea gai da estimulatzeko trigemino nerbioarekin konektaturiko mekanoerrezeptoreak, burmuinera astringentziaren pertzepzioa bidaliz. Listuari labaingarritasuna ematen dioten proteinak hauspeatzen direnean sortzen da astringentzia ukipen-sentsazioa (**Breslin, et al., 1993**).

Polifenolek proteinekin hauspeatzeko duten gaitasuna, proteina estandar bat erabiliz kuantifikatzen da: BSA edo behi-serum albumina (BSA = *Bovine Serum Albumin*) (**Hagerman eta Butler, 1978**). Muztio edo sagar lagina, proteina duen disoluzioarekin nahasten da, eta denbora jakin batean, hauspeakina sortzen da hainbat polifenolekin. Hauspeakina birdisolbatu egiten da pH altuan eta detergente baten presentzian. Detergentea, sodio dodezilsulfatoz (SDS) eta trietanolaminaz (TEA) osaturiko nahastea da. Ondoren, Fe (III) ioia duen disoluzioa gehitzen zaio, eta burdin-fenolato konplexua sortzen da, zeinek absorbitu egiten duen 510 nm-tan. Azken hau, espektrofotometro baten bidez determinatu egiten da.

Metodo sendoa da, eta ondo funtzionatzen du hainbat polifenoldun laginekin. Haatik, metodoa oso sentikorra da azetonaren presentziarekiko. Azetona aztarnek ere galarazten dute hauspeakinaren sorrera. Beraz, laginketaren pausoren batean azetona erabiliz gero, ziurtatu behar da guztiz desagertu egin dela.

1.10 Diseinu esperimental

1.10.1 Erantzun gainazalak

Lan honetan, erantzun gainazalen metodologia erabili da sagardoen arteko nahasketarik interesgarrienak aurkitzeko.

Askotan, esperimentu bat egin aurretik, baliagarria da optimizatzea prozesu horretan parte hartzen duten aldagaiak. Hau da, lortu nahi den erantzunean eragina duten faktoreen balore optimoak aurkitzea, erantzuna ahalik eta handiena izan dadin.

Erantzun gainazalen metodologiak bere baitan hartzen ditu diseinu esperimentaleko teknikak, erregresio metodoak eta optimizazio prozesuak. Aldagaiak banaka aztertu beharrean, diseinu esperimentalean saio kopuru jakin bat finkatzen da, eta saio horietan aldagai ezberdinen mailak (*levels*) aukeratu dira. Horrela, aldagai horiek erantzunean duten eragina aztertzen da. Ondoren, datuetara hobekien egokitzen den modelo matematikoa aurkitzen da. Horrela, aldagaiek erantzunean duten eragina aztertzeaz gain, aldagaiek beraien artean dituzten interakzioak ere aztertzen dira.

Diseinu esperimental erabili daitezkeen alorrak asko dira. Kimika analitikoan oso tresna erabilia da, metodo berri bat garatu nahi denean, non intereseko erantzunean hainbat aldagaik duten eragina.

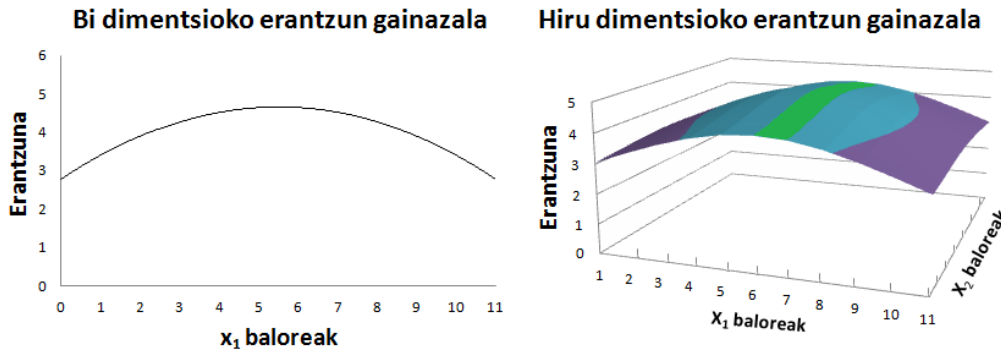
Jarraian, diseinu esperimentalean ohikoak diren zenbait termino azalduko dira (**Bezerra et al., 2008**):

- Faktoreak edo aldagai independenteak: finkatu beharreko aldagaiak, elkarrekiko independenteak direnak. Ohiko aldagai independenteak izan daitezke: tenperatura, pH-a, osagai baten kontzentrazioa nahaste batean, eta abar. Faktoreak kuantitatiboak izan daitezke, hots, aldagai jarraitu edo zenbakizkoak, edo kualitatiboak, aldagai kategoriko edo diskretuak.
- Aldagaien mailak: optimizazioa egiten den tarte. Normalean, balore hauek kodifikatuak egoten dira. Horretarako, 1 balorea esleitzen zaio balore maximoari, -1 minimoari eta 0 erdiko baloreari. Bestalde, faktore kualitatiboetan, 1 ematen zaio aukera bati eta -1 besteari.
- Erantzuna edo menpeko aldagaia: Optimizatu nahi den aldagaia. Hau izan daiteke, besteak beste: gailur kromatografiko baten azalera, absorbantzia, sintesi baten etekina, eta abar.
- Erantzun funtzioa: Menpeko aldagaiaren eta aldagai independenteen arteko erlazio matematikoa. Oro har, horrela adierazten da (1.9 ekuazioa):

$$Y = f(x_1 \dots x_k) \quad (1.9)$$

non erantzuna Y den, eta x_1, x_2, \dots, x_k , k faktoreak. Menpeko aldagai baten faktoreei baloreak emanez gero, eta hauek irudikatuz gero, erantzun gainazal

bat osatzen da. k faktore kopuruarekin, $k+1$ dimentsioko gainazala osatzen da. Adibidez, $Y = f(x_1)$ erlazioa edukita, bi dimentsioko gainazala osatzen da, eta $Y = f(x_1, x_2)$ erlazioarekin, 3 dimentsiokoa. Bi adibide hauek, **1.24 irudian** ikusi daitezke.



1.24 Irudia. Adibideak: Bi eta hiru dimentsioko erantzun gainazalak.

1.10.2 Modelo matematikoak

Lehen aipatu bezala, faktore edo aldagai independenteek eragina dute erantzunean, eta hori da, hain zuzen ere, erantzun gainazalekin metodologiarekin modelatzen saiatzen dena. Baina horretaz gain, aldagai independenteek elkarri eragin diezaizkete, eta horrela, erantzuna baldintzatuta egon daiteke sistema osatzen duten hainbat aldagairen elkarrekiko interakzioetara. Horregatik, faktoreen eragina erantzunean aztertzeaz gain, inportantea da faktoreen arteko interakzioak aztertzea.

Matematikoki, Y edo menpeko aldagaia koefizienteen bidez erlazionatzen da faktoreekin. Azter dezagun hurrengo kasua: bi faktoreentzako ekuazioa, non kontuan izango diren faktoreen arteko elkarrekintzak (1.10 ekuazioa) (**Breton, 2003**).

$$\hat{y} = b_0 + b_1x_1 + b_2x_2 + b_{12}x_1x_2 + b_{11}x_1^2 + b_{22}x_2^2 \quad (1.10)$$

Hemen, b_0 terminoa jatorrizko ordenatua da, non eragin dezaketen oinarriko lerroak, espektrometroak, disolbatzailearen absortzioak, eta abarrek. Sistemaren lehenengo faktorearen koefizientea, b_1 da, eta erantzunarekiko erlazio zuzenaren adierazlea da. Era berean, b_2 , bigarren faktoreari dagokio. Lehenengo eta bigarren faktoreen arteko elkarrekintza, b_{12} koefizientearen bidez adierazten da. Azkenik, bi faktoreentzako termino koadratikoak ere adierazten dira, b_{11} eta b_{22} terminoen bidez. Egoera askotan inportanteak dira termino koadratikoak, kurbadura suposatzen baitute, eta maximo edo minimo bat aurkitzeko balio dezakete.

Modelo orokorra k faktoreentzat 1.11 ekuazioan (**Dejaegher eta Vander Heyden, 2011**): adierazten da.

$$\hat{y} = b_0 + \sum_{i=1}^k b_i x_i + \sum_{1 \leq k \leq j} b_{ij} x_i x_j + \sum_{i=1}^k b_{ii} x_i^2 \quad (1.11)$$

Sistema matematikoki deskribatu ondoren, determinatu behar da modeloaren eta modelo osatzen duten terminoen adierazgarritasuna. Hau da, estatistikoki norainokoa den hauen inportantzia. Hau, bariantzaren analisisa (ANOVA= *Analysis Of Variance*) eginez lortzen da.

1.10.3 ANOVA taulak

Programa estatistikoek ANOVA taulak ematen dituzte, non modelo jakin batentzat garrantzizko parametro estatistikoak agertzen diren. Ikusi ahal da, modelo sinple batetik beste konplikatu batera "jauzi" egiteak zer nolako hobekuntza dakarren. Hau, F eta p estatistiko bidez erabaki daiteke. Horretarako, faktore bakoitzak modeloaren barruan eta kanpoan egonda, erantzunean duen eragina aztertzen da, eta konparatzen da neurketen erreplikak egitean egindako errorearekin. Beraz, F -a kalkulatu da doiketa faltaren (*lack of fit*) eta errore esperimenteraren (*pure error*) zatiketa eginez. Ondoren, konparatzen da $F_{kritiko}$ balioarekin, sistemaren askatasun graduen arabera dena. Kalkulatutako F -a, $F_{kritiko}$ -a baino txikiagoa bada, orduan aztertutako faktorea ez da estatistikoki adierazgarria, eta modelotik kendu daiteke.

Bestalde, p estatistikoak aldaera bat ausazkoa izan den ala ez adierazten du. Normalean, programa estatistikoekin lan egitean, p balioarentzako muga (oro har $p=0.05$) ezartzen da, bai modelo osoen, bai faktoreen adierazgarritasuna aztertzeko. Horrela, ANOVA taulan agertutako p balioa modelo batentzat, muga baino txikiagoa bada, orduan modelo hori adierazgarria izango da.

ANOVA tauletaz aparte, *Pareto* irudikapenei esker, argitu ahal da faktoreen adierazgarritasuna modelo baten barruan. Grafiko honetan, faktoreen eta faktoreen arteko elkarrekintzen p balioak adierazten dira, eta $p=0.05$ balioaren goitik egoteak, adierazgarriak direla esan nahi du (**Bordagaray, 2015**).

Diseinu bat planteatu baino lehen, garrantzitsua da jakitea nolako gaitasuna izango dugun, aztertzeko, zenbat doitzen diren datuak modelora. Hau, **askatasun graduen** bidez ikusten da (**Brereton, 2003**). Oro har, askatasun graduak honako espresio honen bidez kalkulatu dira (1.12 ekuazioa):

$$= N - P - R \tag{1.12}$$

non:

D= Askatasun graduak

N= Esperimentu kopurua

P= Koefiziente edo parametro kopurua

R= Erreplika kopurua

Esperimentuen erreplikak egiteak askatasun gradu gehiago ematen ditu errore experimentalak kalkulatu ahal izateko, eta esperimentu berriak egiteak, doiketa faltarako.

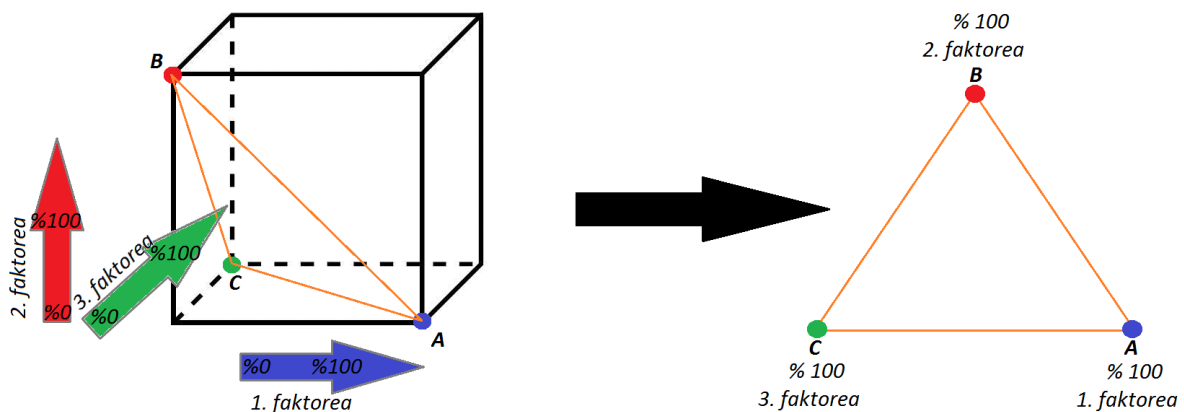
1.10.4 Nahaste diseinuak

Kimika arloan, nahaste bat, hainbat osagaien konbinazioa da. Haatik, estatistika arloan, nahaste bat, hainbat faktoreren konbinazioa da, non guztien batura konstantea den (**Brereton, 2003**). Propietate hau, askotan, "itxiera" (*closure*) bezala adierazten da, eta propietate hau daukaten diseinuak, itxiak edo mugatuak bezala ezagutzen dira.

Horrela, adibide bat izan daiteke HPLC kromatografoaren fase mugikorraren konposizioa: hiru osagai badaude eta biren kontzentrazioa ezaguna bada, segituan kalkulatu da hirugarrenaren kontzentrazioa. Izan ere, hiru osagai egonda ere, bi faktore soilik dira independenteak. Horrelako sistemen erantzuna izan daiteke, esate baterako, kromatograma bateko azalera, janari baten zaporea, manufakturazko material baten ezaugarri fisikoak, eta abar.

1.10.4.1 Nahaste espazioa

Kimikariek, baldintza esperimentalak nahaste espazio batean adierazten dituzte, non irudikatzen diren % 100 batzen duten onartutako osagaien proportzio guztiak. Hiru osagaien nahasketa triangelu baten bidez adierazten da. Hau, kubo batek osatzen duen hiru dimentsioko espazioaren zeharkako ebaketa da, **1.25 irudian** adierazten den bezala.



1.25 Irudia. Hiru osagaien nahaste espazioa.

Honako hauek dira nahaste espazio honen ezaugarriak:

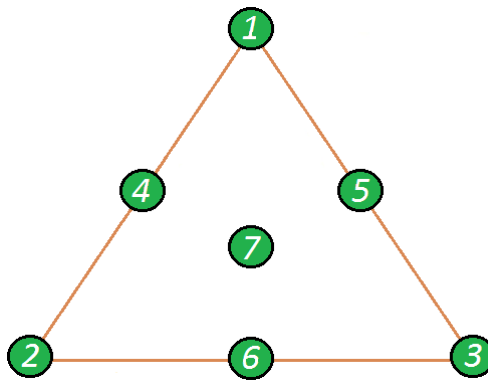
- Triangeluaren erpinak osagai puruei dagozkie
- Aldeetan kokatutako edozein puntu, nahaste bitar bati dagokio.
- Triangeluaren barruan kokatutako edozein puntu, nahaste hirukoitz bati dagokio, eta denak dira fisikoki nahaste posibleak.
- Triangeluaren zentroa proportzio berdinetan egindako nahaste hirukoitzari dagokio.

Zenbat eta osagai gehiago izan, orduan eta dimentsio gehiago ditu nahaste espazioak. Adibidez, bi osagaien nahastea, lerro zuzen baten bidez adierazi daiteke, hiru osagaiena triangelu baten bidez (ikus den bezala), eta lau osagaien nahastea, tetraedro baten bidez irudikatu daiteke. Aipatutako objektu bakoitzari (lerroa, triangelua, tetraedroa) *simplex* deritzo, nahaste horien dimentsionaltasuna adierazteko objekturik sinpleenak baitira.

Diseinu ezberdinak daude, esperimentu gehiegi egin gabe, nahasteak aztertu ahal izateko. Diseinu hauek kontuan hartzen dituzte *simplex*-en puntu esanguratsuenak.

1.10.4.2 Simplex zentroide diseinuak

Diseinu hauek nahiko zabaldua daude. Faktore kopurua k bada, 2^k-1 esperimentu egiten dira. Honek eskatzen du, 1, 1/2, eta 1/k proportzioetan posibleak diren nahaste guztiak egitea. Esate baterako, hiru faktoreen diseinua egin nahi izanez gero, **1.26 irudiko** nahaste espazioan adierazten diren nahasteak egin beharko lirateke.



1.26 Irudia. Hiru faktoreetako *simplex* zentroide diseinua.

Honako hauek dira egin beharreko nahasteak:

- **1,2,3**: Triangeluaren erpinak. Osagai puruak.
- **4,5,6**: Triangeluaren aldeetako zentroa. Nahaste bitarra, bi osagaien nahastea 1/2 proportzioan.
- **7**: Triangeluaren zentroa. Nahaste hirukoitza, hiru osagaiaren nahastea 1/3 proportzioan.

Beraz, gutxienez, **zazpi** esperimentu egin beharko lirateke honako nahaste diseinu honetan. Haatik, diseinu irekietan ez bezala, hemen, ezinezkoa da modelo matematiko bat egitea hiru osagaien terminoak eta jatorrizko ordenatua batera dituenak. Izan ere, bi faktore independenteak bakarrik daudenez gero, ezinezkoa da halako modelorik kalkulatzeko (**Brereton, 2003**). Beraz, aukeratu behar da jatorrizko ordenatua duen modelo baten edota jatorrizko ordenaturik ez duen beste modelo baten artean. Lehenengoak, jatorrizko ordenatua modeloaren barruan sartzen dutenak, *Cox* modelo bezala ezagutzen direnak. Bigarrenak, jatorrizko ordenaturik ez dutenak, *Sheffé* modelo bezala ezagutzen dira. Erabateko *Sheffé* modelo batek (**modelo**

kubiko berezia) goi mailako elkarrekintzak kontuan hartzen ditu, eta matematikoki, 1.13 ekuazioak deskribatzen du.

$$\hat{y} = b_1x_1 + b_2x_2 + b_3x_3 + b_{12}x_1x_2 + b_{13}x_1x_3 + b_{23}x_2x_3 + b_{123}x_1x_2x_3 \quad (1.13)$$

Hiru osagaietako *simplex zentroide* diseinuak, zazpi esperimentu aztertzen dituen bezala, posiblea da ekuazioaren zazpi koefizienteak kalkulatzeko. Alabaina, aipatu bezala, hausnartu behar da esperimentuen erreplikak egitea, edota nahaste espazioan dauden beste zenbait nahasketak egitea. Horrela, askatasun gradu gehiago egongo dira doiketa falta eta errore esperimentalak kalkulatzeko eta aztertzeko.

1.10.5 Desiragarritasun funtzioa

Sistema baten erantzuna modelo matematiko batera era egokian doitu denean, hurrengo pausua da erantzuna optimizatzea. Hau da, aldagai independenteek erantzunean nolako eragina duten behin argitu dela, hurrengo pausua da, bilatzea, erantzuna maximizatzen duten aldagai independenteen baloreak. Azken batean, erantzun gainazalen metodologiaren azkeneko helburua da, behin modelo matematikoa lortuta, erantzuna maximizatzea. Hau, interes handikoa izan daiteke, esate baterako, industria-elikagaietan, non elikagai jakin baten hainbat osagaik behin betiko eragina izango duten produktuaren kalitatean eta ezaugarri organoleptikoetan.

Horretarako, desiragarritasun funtzioa erabiltzen da. Hemen, modeloak iragarritako erantzuna, \hat{y} , transformatu egiten da desiragarritasun funtzio, d , eta bilakatzearekin batera, optimizatu egingo da (maximizatu edo minimizatu, kasuak kasu) (**Costa et al., 2011**). Derringer eta Suich-ek (**Derringer eta Suich, 1980**), hurrengo desiragarritasun funtzioa definitu zuten (1.14 ekuazioa):

$$d = \begin{cases} 0 & , \hat{y} \leq U \\ \left(\frac{\hat{y}-U}{T-U}\right)^s & , U < \hat{y} < T \\ 1 & , T \leq \hat{y} \end{cases} \quad (1.14)$$

Hemen, sistemaren erantzuna transformatzen da, eta 0 eta 1 arteko desiragarritasun balio bati egokitzen zaio ($0 < d < 1$), non 1 balioa desiragarriena den. T helburu-balioa izango da (1), U onargarria den balio minimoa (0) eta s , erabiltzaileak aukeratutako parametroa ($s > 0$). Hortaz, d funtzioak 1 balioa hartuko du, erantzuna $\hat{y} = T$ denean.

Software estatistikoek, desiragarritasun funtzioaren irudikapen grafikoa ikusteko aukera ematen dute, eta hauei esker, erraza da aurkitzea nahaste diseinu batentzat erantzuna maximizatzen duten osagaien proportzioak.

1.11 Aldagai anitzeko kalibraketa

Lan honetan, **aldagai anitzeko kalibraketa** erabili da polifenolen eta parametro hauen arteko erlazioak bilatzeko: FRAP saioa, ABTS saioa, Folin-Ciocalteu indizea (FC), proteinekin hauspeatzeko gaitasuna (PPC), iluntzea, uhertasuna eta erreodox potentziala. Honetarako PLS edo karratu minimo partzialez baliatu gara.

1.11.1 Kimiometria tresna analitiko bezala

Kimiometria, tresna matematiko eta estatistiko sorta bezala definitu daiteke. Arrakasta handiz erabili da hainbat sistema kimikok sortutako seinale instrumentaletan, helburu nagusi batekin: laginen konposizioari buruzko edota prozesuan parte hartutako erreakzioei buruzko informazioa lortzea. Kimiometriak seinaleetan dagoen zarata murriztea edota balore anomaloak (*outliers*) eta interferentziak kudeatzea ahalbidetzen du (**Bro, 2003**). Erabilpen eremua zabala da: diseinu esperimentalean, kalibraketa eta sailkapen anizkoitzean, datuen miaketan, seinale prozesatzean, etab.

Kimika analitikoaren arloan kimiometria kalibratzeko erabiltzen da kasu askotan. Honek suposatzen du erlazio matematiko bat bilatzea seinale instrumentalen eta analitoen artean. Horretarako, analitoen kontzentrazio ezaguna duten hainbat laginen neurketak egiten dira. Haatik, aldagai bakarreko kalibraketan ez bezala, non erantzun instrumental bakar bat erabiltzen den, aldagai anitzeko kalibraketan aldagai asko **batera** erabili daitezke. Eta honek, lortu daitekeen informazio kantitatea handitu egiten du (**Keithley et al., 2009**).

Kimiometriari emandako behin betiko bultzakada, mikroordenagailuen garapenari esker izan zen, 80. eta 90. hamarkaden bitartean jazo zena. Teknologia honen sarrera tresna zientifikoetan, data bolumen handiak sortu, prozesatu eta garatzeko aukera eman zuen (**Ramis Ramos eta García Álvarez-Coque, 2001a**).

Azken hamarkadotan, metodo ezberdinak garatu dira kalibraketa modeloak eraikitzeko. Oso ezagunak dira karratu minimo klasikoak (CLS = *Classical Least Squares*), osagai nagusien kalibraketa (PCR = *Principal Component Regression*) eta karratu minimo partzialen erregresioa (PLS-R = *Partial Least Squares Regression*). Azken honek jarraitzen du kimika analitikoan ospetsuena izaten (**Kalivas, 2005**). PCR eta PLS aldagaien murrizketan oinarrituta daude, Osagai Nagusien Analisiaren (PCA = *Principal Component Analysis*) bidez (**Esbensen, 2004a**).

Honekin lotuta, 70. hamarkadatik aurrera, hainbat artikulu eta liburu plazaratu dira, aldagai anitzeko kalibraketa garatzen dutenak, kimika analitikoaren arloan (**Martens eta Naes, 1989; Martens eta Martens, 2001; Bakeev, 2005**). Honi gehituta, programa asko agertu dira aldagai anitzeko tratamendua era ulerkorrean egiteko, *Unscrambler* (www.camo.com) eta *MatLab* (www.eigenvector.com), besteak beste.

1.11.2 Datu matrizea

Datu matrizea, lagin sorta bati egindako hainbat neurketaren baloreak adierazteko modurik hoberena da. Hemen, laginak eta neurtutako aldagaien baloreak zutabeetan ordenatzen dira (**1.2 taula**).

1.2 Taula. Datu matrize orokorra

		ALDAGAIK				
		1. aldagaia	2. aldagaia	3. aldagaia	j. aldagaia	m. aldagaia
LAGINAK	1. lagina	x_{11}	x_{12}	x_{13}	x_{1j}	x_{1m}
	2. lagina	x_{21}	x_{22}	x_{23}	x_{2j}	x_{2m}
	3. lagina	x_{31}	x_{32}	x_{33}	x_{3j}	x_{3m}
	i. lagina	x_{i1}	x_{i2}	x_{i3}	x_{ij}	x_{im}

	n. lagina	x_{n1}	x_{n2}	x_{n3}	x_{nj}	x_{nm}

Normalean, lehenengo zutabea, laginen izenak jartzeko erabiltzen da. Bigarren eta hurrengo zutabeak aldagaien baloreak adierazteko erabiltzen dira. Honako hau da datu matrizea osatzeko modurik aproposena, geroago tratamendu anizkoitza burutzeko.

1.11.3 Datuen aurretratamendua

Askotan, aukeratutako kalibraketa egiten hasi baino lehen, komenigarria da zenbait eragiketa egitea datu matrizean. Hau, datuak oso orden ezberdinekoak direnean egin behar da, edota bariantza nahiko ezberdinak dituztenean. Bestela, orden txikieneko aldagaiak, modeloan benetako eragina izan zezaketenak, oharkabean pasa litezke.

Egin daitezkeen aurretratamenduen artean, ohikoa da autoeskalatua egitea. Hemen, x_{ij} aldagaia, aldagai z_{ij} tipifikatu bihurtu daiteke, 1.15 ekuazioaren arabera.

$$z_{ij} = x'_{ij} = \frac{x_{ij} - \bar{x}_j}{s_j} \quad (1.15)$$

Tratamendua zutabea zentratzean eta eskalatzean datza. Zutabe bakoitzeko balore bakoitzari, x_{ij} , zutabearen batez bestekoa, \bar{x}_j , kentzen zaio (zentratzea), eta emaitza, zutabearen desbideratze estandararekin, s_j , zatitzen da (eskalatzea). Horrela, koordinatuen jatorria datuen zentroidean geratzen da, eta aldagai bakoitza bere desbideratze estandar propioaren unitateetan adierazita geratzen da, hau da, desbideratze estandar handikoak konprimituta, eta txikikoak zabalduta.

1.11.4 Osagai Nagusien Analisia, PCA

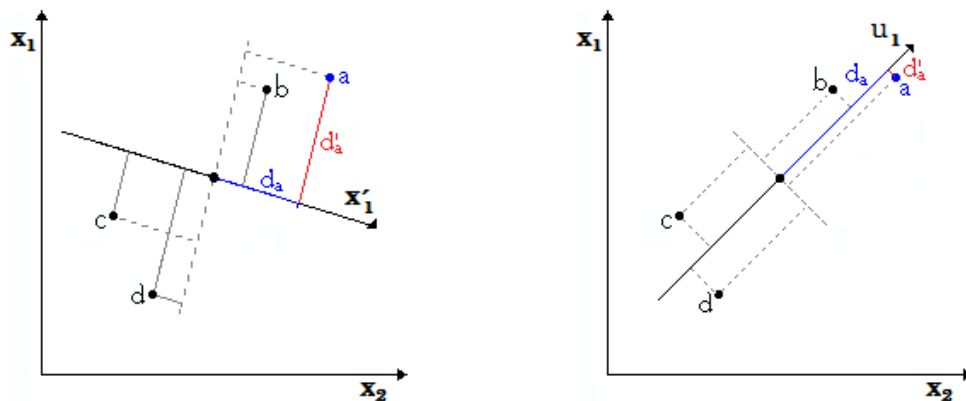
PCA datuak murrizteko teknika da. Teknika honek, korrelazioa duten hasierako aldagaiak, **korrelaziorik ez** duten beste aldagai bihurtzen ditu. Modu honetan, hasierako aldagai kopurua murriztu egiten da, eta sortutako aldagai berriak **osagai nagusiak** (PC = *Principal Components*) edo aldagai latenteak deitzen dira. Hauek,

jatorrizko aldagaien konbinazio linealak dira eta elkarrekiko ortogonalak. Kalkulua era iteratibo batean egiten da: lehenengo osagai nagusiak, PC1-ek, bariantza gehiena azaltzen du; bigarrenak, PC2-k, lehenengoarekiko ortogonalak, lehenengoak azaldu ez duen bariantza gehiena esplikatzeko, eta abar.

Transformazio honek ahalbidetzen du datuen informazioaren miaketa era simple batean, izan ere, datuak multzokatzean patrioiak detektatu daitezke eta datuetan dagoen informazio baliagarria kuantifikatu.

1.11.5 Osagai nagusiak eraikitzen

Demagun lau datuko ($n=4$) multzo edo hodei bat dugula, a, b, c eta d izendatuak, x_1 eta x_2 aldagaiek definitutako espazioan, eta x'_1 eta u_1 bektoreak marrazten ditugula, datu hauen joera deskribatu nahian (1.27 irudia).



1.27 Irudia. Puntu hodeia x'_1 bektorearekin eta hodei berbera, u_1 bektorearekin.

Bektore batek ondo deskribatuko du datuen joera, puntuak nagusiki bektorearen norabidean hedatuta daudenean, espazioko beste norabideekin konparatuta. Aurreko irudian, argi dago u_1 bektoreak askoz hobeto deskribatzen duela datuen joera x'_1 bektoreak baino. Hau, matematikoki bariantzaren bitartez azaltzen da. Irudi hauetan, a puntua urdinez adierazi da, adibide bezala, eta hortik, d_a puntu horren distantzia zentroidera bektorean proiektatua da. Bektoreak azaldutako bariantza, s^2_{exp} , da puntuek zentroidera duten distantzien karratuen batura, n puntu kopuruarekin zatituta. Adibide hau 1.16 ekuazioan adierazten da:

$$s^2_{exp} = \frac{d_a^2 + d_b^2 + d_c^2 + d_d^2}{n} \quad (1.16)$$

Bestalde, bektoreak azaldu ez duen bariantza, hondar-bariantza deitua, s^2_{res} , kalkulatu da puntuek bektorera duten distantzien karratuen baturarekin, n puntu kopuruarekin zatituta (1.17 ekuazioa):

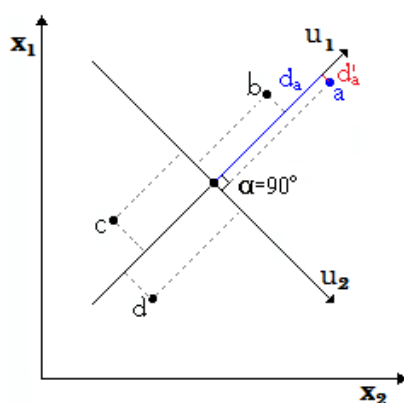
$$s^2_{res} = \frac{d'_a{}^2 + d'_b{}^2 + d'_c{}^2 + d'_d{}^2}{n} \quad (1.17)$$

Datuen **bariantza totala**, s_T^2 , aurreko bien batura da (1.18 ekuazioa):

$$s_T^2 = s_{exp}^2 + s_{res}^2 \quad (1.18)$$

Helburua da bektoreak ahalik eta bariantza gehien azaltzea, hau da, s_{exp}^2 ahalik eta handiena izatea eta s_{res}^2 ahalik eta txikiena. Argi ikusten da u_1 bektorea helburu horretara askoz gehiago hurbiltzen dela x_1 bektorea baino.

Idei hau da, hain zuzen ere, **osagai nagusiak** aurkitzeko jarraitutako irizpidea: aldagai kopurua murriztea, azaldutako bariantza maximizatuz eta hondarrekoa minimizatuz. Kasu honetan, u_1 bektorea lehenengo osagai nagusia litzateke. Bigarren osagai nagusi bat, u_2 , eraikitzeko, definizioz lehenengoarekiko ortogonalak izan beharko du. Hurrengo irudian (**1.28 irudia**) erakusten da bigarren osagai nagusia izan litekeena:



1.28 irudia. Hodei puntua u_1 eta u_2 bektoreekin.

Nabaritu bedi bi bektoreek 90° -ko angelua dutela, hau da, ortogonalak direla. Orain, lehenengo osagai nagusiak azaldu ez duen bariantza, bigarrena saiaturiko da azaltzen. Eta berriro ere, honek azaldu gabe uzten duen bariantzari hondar-bariantza deritzo. Hirugarren osagai nagusi bat eraikitzeko, lehenengoak eta bigarrenak osatzen duten planoarekiko ortogonalak izan beharko du.

Aldagai kopuru original adina osagai nagusi eraiki daitezke, eta horrela, azaldutako bariantza % 100 litzateke, eta hondarra, zero. Halere, osagai nagusien analisisan, helburua da ahalik eta informazio gehien lortzea ahalik eta aldagai gutxirekin, beraz, beti aukeratuko da osagai nagusien kopuru txikiago bat. Osagai nagusietan laginek dituzten koordenada berriak puntuazioak edo *scores* deitzen dira, eta aldagai zaharrek osagai nagusietan duten kontribuzioa, kargak edo *loadings*.

Adibide honetan, hasieran x_1 eta x_2 aldagaiek azaldutako bariantza gehiena, u_1 osagai nagusiak azaltzen du orain, u_2 -k ezer gutxi azaltzen du eta. Aldagaien kopurua, beraz, bitik batera murriztu da. Aldagaiak murrizteko metodo hau ez da, normalean, datu matrizean zuzenean aplikatzen. Gehienetan, X aldagai matrizea aldeztu aurretik autoeskalatu egiten da, eta ondoren, transformazioa egiten da.

1.11.6 Karratu minimo partzialen erregresioa (PLS-R edo PLS)

Hasteko, esan beharra dago PLS-R-ren deskribapenarekin jarraitzeko, notazio matritziala erabiliko dela. PLS-R-an menpeko aldagaien matrizeari Y deritzo, eta, aldagai independenteen matrizeari, X (Esbensen, 2004b).

Karratu minimo partzialak H. Wold-ek garatu zituen, ekonometria arloan, 1960. urtearen amaieran. Geroago, S. Wold eta H. Martens buru zituen talde batek hedatu egin zuen aplikazioa kimika arloan (Gemperline, 2006).

Bi PLS metodo daude, PLS1 eta PLS2 deitzen direnak. Lehenengoan, kalibraketa bat egiten da Y matrizearen zutabe bakoitzarekin, eta bigarreanean, kalibraketa bat egiten da Y matrizearen zutabe ororekin. Kasu gehienetan, emaitza hobekien lortzen dira PLS1 metodoarekin (Ramis Ramos eta García Álvarez-Coque, 2001b).

1.11.6.1 Prozedura matematikoa

PLS-n, aldagai independenteen matrizea, X , beste bi matrizeen biderkaduran deskonposatzen da: puntuazio edo *score* matrizea, T , eta karga edo *loading* matrizea, P . Menpeko aldagaien matrizean, Y -an, gauza bera egiten da, hots, *score*, U , eta *loading*, Q , matrizeen biderkaduran deskonposatzen da. Bi deskonposizioei dagokien hondar-matrizea ere gehitu behar zaie, E eta F , hurrenez hurren. Horrela, PLS-ren algoritmoaren ekuazio orokorrak honako hauek dira (1.19 eta 1.20 ekuazioak) (Gemperline, 2006) :

$$X = TP^T + E \quad (1.19)$$

$$Y = UQ^T + F \quad (1.20)$$

PLS-en osagai nagusiak kalkulatzeko, algoritmo ezberdinak daude, hauen artean, *NIPALS (Nonlinear Iterative Partial Least Squares)*. PLS-en helburu nagusia da X eta Y matrizeen datuak modelatzea, E eta F matrizeen hondarrak zerotik ahalik eta gertuen egoteko. Barneko erlazio bat ere eraikitzen da X eta Y matrizeen *score*-en artean (1.21 ekuazioa).

$$U = TW \quad (1.21)$$

Goiko modeloa hobetzeko garatzen da aipatutako barne erlazioa. Horretarako, T eta U *score*-ak elkarrekin trukatu egiten dira, kalkulu iteratibo baten bitartez. Honek, ahalbidetzen du matrize bateko informazioa erabiltzea beste matrizeko osagai nagusien norabidea doitzeko, eta alderantziz. Modelo osoa behin lortuta, goiko ekuazioak konbinatu daitezke erregresio koefizienteen matrizea, \hat{B} , emateko (1.22 ekuazioa).

$$\hat{B} = P(P^T P)^{-1} W Q^T \quad (1.22)$$

Eta azkenik, menpeko aldagaien matrizea \hat{Y} , 1.23 ekuazioarekin kalkulatu daiteke.

$$\hat{Y} = X\hat{B} \quad (1.23)$$

Hau da bilatzen ari ginen PLS modeloa. E , F eta B matrizeen baloreak, aukeratutako osagai nagusien kopuruaren arabera izango da.

1.11.6.2 Kalibraketa eta balidazioa

Lehendabizi, laginak **bi multzotan** banatzen dira, **kalibraketa multzoa** eta iragarpen edo **balidazio multzoa**. Lehenengo multzoarekin, PLS modeloa eraikitzen da. Honen sendotasuna aztertzeko, bi gauza egiten dira. Alde batetik, kalibraketa multzoko laginen iragarpena egiten da PLS modeloarekin. Bestetik, barne-balidazioa egiten zaio modeloari erabateko balidazio gurutzatua (*full cross-validation*) erabiliz. Azken honetan, kalibraketa multzotik lagin bat ateratzen da, eta PLS azpi-modelo bat eraikitzen da gainontzekoekin. Ondoren, modelo honekin, ateratako lagina iragartzen da. Gero, kalibraketa multzo osoa berriro hartu eta, beste lagin bat aukeratzen da kanpoan uzteko. Prozesua errepikatzen da lagin guztiak era honetan iragarri arte. Guztira, lagin adina azpi-modelo eraikitzen dira.

PLS modeloarekin eta azpi-modeloekin iragarritako baloreak neurtutakoekin konparatzen dira. Zentzu honetan, iragarpen batean egindako errorea, batez besteko errore karratuaren erroa ($RMSE = \text{Root Mean Square Error}$) erabiliz aztertzen da (1.24 ekuazioa).

$$RMSE = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (\hat{y}_i - y_i)^2}{n}} \quad (1.24)$$

non:

\hat{y}_i = iragarritako balorea i laginean

y_i = neurtutako balorea i laginean

n = lagin kopurua

PLS kalibraketarekin iragarpena egitean, kalibraketako batez besteko errore karratuaren erroa lortzen da, hots, $RMSE_C$ -a ($RMSE_C = \text{Root Mean Square Error of Calibration}$), eta erabateko balidazio gurutzatuarekin egitean, balidazio gurutzatuko batez besteko errore karratuaren erroa ($RMSE_{CV} = \text{Root Mean Square Error of Cross-Validation}$). Kalibraketa modeloa sendoa denean, normalean bi errore hauek konparagarriak dira.

PLS modeloaren barne-balidazioa egin ostean, aztertu behar da bere gaitasuna **lagin berriak** iragartzeko. Helburu horrekin erabiltzen da hasieran osatutako **balidazio multzoa**. PLS modeloa erabiltzen da multzo horretako laginak iragartzeko. Oraingoan, iragarpeneko batez besteko errore karratuaren erroa ($RMSE_P = \text{Root Mean Square Error of Prediction}$) lortzen da. Iragarpena ontzat hartuko da $RMSE_C$, $RMSE_{CV}$ eta $RMSE_P$ konparagarriak badira.

Dena dela, hobe da egindako errore erlatiboa ematea ($RE = Relative Error$), askoz ere adierazgarriagoa baita. Hori kalkulatzeko, 1.25 ekuazioa erabiltzen da.

$$RE(\%) = 100 \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (\hat{y}_i - y_i)^2}{\sum_{i=1}^n y_i^2}} \quad (1.25)$$

Horrela, hobeto ikusten da iragarpen batean egindako errorearen dimentsioa.

Aurrekoaz gain, konparatu daitezke iragarritako (\hat{y}_i) eta neurtutako (y_i) baloreak **lagin bakoitzean**, hurrengo espresioa (1.26 ekuazioa) erabiliz (**Picinelli-Lobo et al., 2009**):

$$Estimazioa (\%) = \frac{\hat{y}_i}{y_i} \times 100 \quad (1.26)$$

Gero, horrela lortutako estimazio guztien batez bestekoa eta desbideratze estandarra kalkulatu da, parametro bakoitzean. Estimazio hau beste irizpide bat da modeloaren egokitasuna aztertzeko.

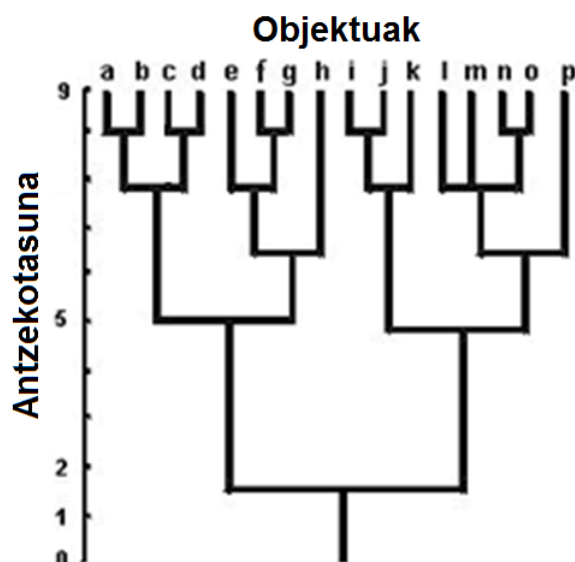
Azkenik, modelo batekin iragarpen ona egiteko, ezinbestekoa da osagai nagusien kopuru optimoa aurkitzea. Osagai gehiegi erabiltzen badira, X matrizeko zarata eta erredundantzia erabiliko dira, eta ondorioz, iragarpen gaindoitua lortuko da. Eta osagai gutxiegi erabiltzen badira, modeloak iragarpen txarra egingo du (azpidoiketa), ez duelako sisteman dagoen aldagarritasun guztia erabiliko (**Esbensen, 2004b**). Normalean, zenbat eta osagai nagusi gehiago hartu, orduan eta iragarpen hobea egiten da, kopuru optimoa lortu arte. Hortik aurrera, osagai nagusi gehiago hartzeak gaindoiketa ekarriko du. Badaude finkatutako metodoak osagai nagusien kopuru aproposa aurkitzeko (**Haaland eta Thomas, 1988**). Era berean, programa estatistikoek aukera ematen dute ikusteko nola aldatzen den $RMSE_p$ osagai nagusien kopuruarekin.

1.12 Konglomeratuen analisia (*Cluster analysis*)

Lan honetan, konglomeratuen analisia erabili da sagardoak multzo desberdinetan banatzeko. Helburua da, bereiztea, indar antioxidatzaile, PPC eta iluntzeari dagokienez, zeintzuk diren balore altuko eta baxuko sagardoak.

Aldagai anitzeko teknika da konglomeratuen analisia. Honen helburua da, elementu sorta baten aleak multzokatzea, multzo homogeenak sortuz. Hau da, multzokatutako elementuak beraien arteko antzekotasun maximoa edukiko dute, irizpide jakin baten arabera. Multzokatzen diren elementuak objektuak edo aldagaiak izan daitezke, baina beti elkartuko dira modu hierarkikoan (antzekotasun maximotik minimora). Gero, multzoen arteko antzekotasuna ere aztertuko da, eta lotu egingo dira honen arabera.

Prozesu honen emaitzaren irudikapen grafikoari **dendograma** deitzen zaio. Honetan, elementuak zuhaitz baten antza duen diagrama batean adierazten dira; antzekotasun minimotik abiatuta (enborra), taldeak osatzen dira (adarrak) antzekotasunak gora egiten duen heinean (**Ramis Ramos eta García Álvarez-Coque, 2001c**). Honen irudikapen grafikoa **1.29 irudian** ikus daiteke.



1.29 Irudia. Dendograma adibidea. Elementuak era generikoan daude izendatuak.

Dendograma bat eraikitzeko lehenengo pausua, objektu edo aldagaiekin lan egingo den aukeratzea da. Gero, lehen aipatutako antzekotasun irizpidea hautatu behar da. Zentzu honetan, elementuen distantzia edo Pearsonen korrelazioa erabili daitezke irizpide bezala.

Distantziari dagokionez, normalean **distantzia euklidearra** erabiltzen da. Bi dimentsioko espazio batean, k eta l puntuentzat, zeintzuk K eta L koordenadak dituzten, distantzia euklidearra 1.27 ekuazioaren arabera definitu daiteke:

$$= (k_1, k_2, \dots, k_n), L = (l_1, l_2, \dots, l_n) \in R^n$$

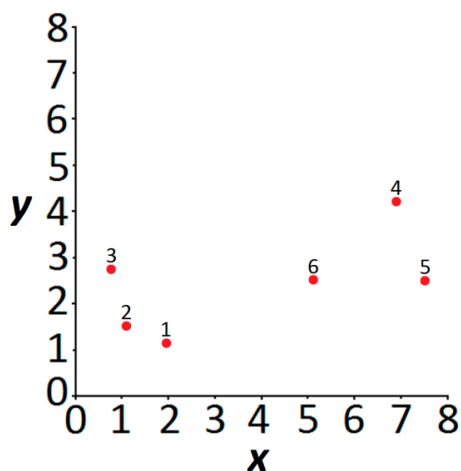
$$d_E(K, L) = \sqrt{(k_1 - l_1)^2 + (k_2 - l_2)^2 + \dots + (k_n - l_n)^2} \quad (1.27)$$

Dena dela, **distantzia euklidear karratua** ere erabiltzen da distantzia irizpide bezala, eta beste motako distantziak ere, esate baterako, **Minkowski-ren** distantzia, 1.28 ekuazioan adierazita.

$$\left(\sum_{i=1}^n |k_i - l_i|^r \right)^{\frac{1}{r}} \quad (1.28)$$

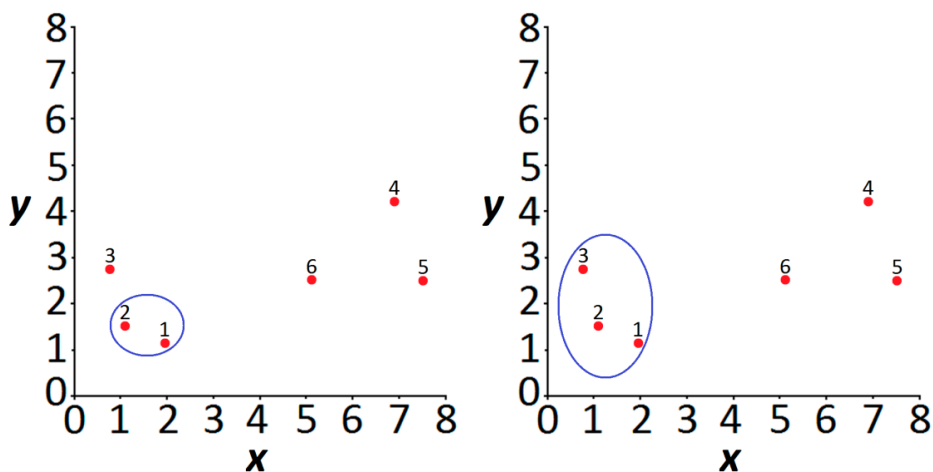
1.12.1 Dendograma bat eraikitzen: adibidea

Demagun 6 objektu ditugula, X eta Y aldagaiek definitutako espazioan (1.30 irudia).



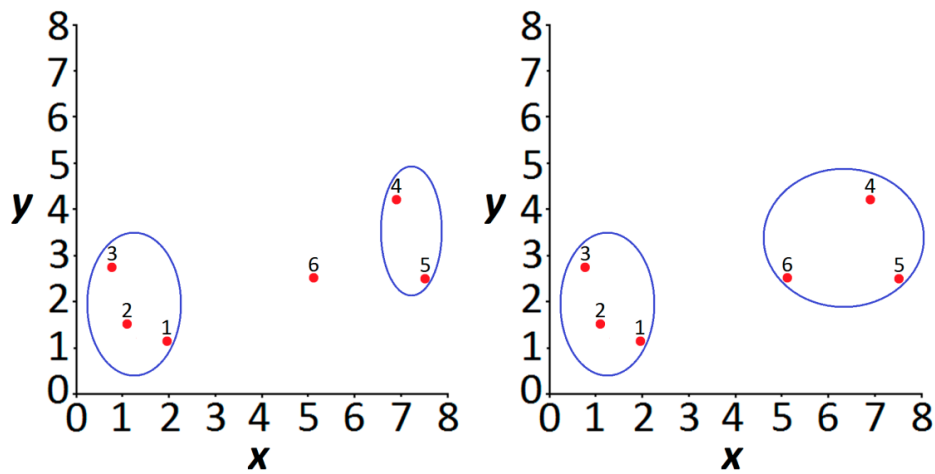
1.30 Irudia. 6 Objektu Y eta X aldagaien espazioan.

Distantzia euklidearra hartuko da antzekotasun irizpide bezala adibide honetan. Hortaz, honen arabera, 1 eta 2 objektuek talde bat osatuko dute, adibidez, 1-2 talde izendatuko dena, bi objektu hauen arteko distantzia txikiena baita. Ondoren, talde honekiko gertuen dagoen objektua 3a da. Hortaz, aurrekoekin lotuko da 1-2-3 taldea sortzeko (1.31 irudia).



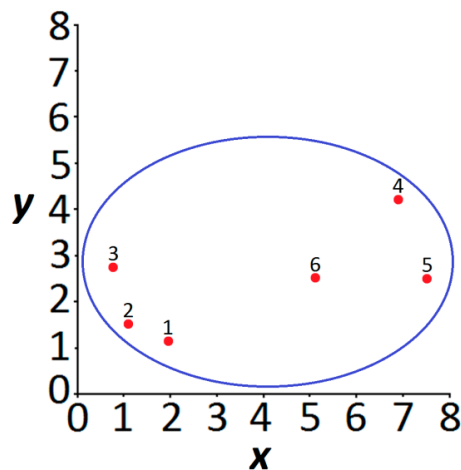
1.31 Irudia. Dendograma eraikitzeko lehengo pausuak. Ezkerrean, 1-2 taldea osatu da, eta eskuinean, 1-2-3 taldea.

Jarraian, irudikapena begiratuta, 4 eta 5 objektuek 4-5 taldea osatu dezakete, eta talde honetatik gertuen dagoen objektua 6a da. (**1.32 irudia**).



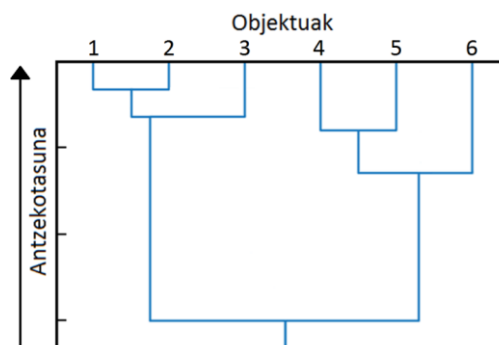
1.32 irudia. Irizpide berbera jarraituta, ezkerrean 4-5 taldea osatu da, eta eskuinean, 4-5-6 taldea.

Azkenik, distantziarik handiena 1-2-3 eta 4-5-6 taldeen artean dagoena da, eta hauek izango dira lotutako azkenak (**1.33 irudia**).



1.33 irudia. Azkeneko lotura, distantziarik handienara dauden elementuen artekoa izan da.

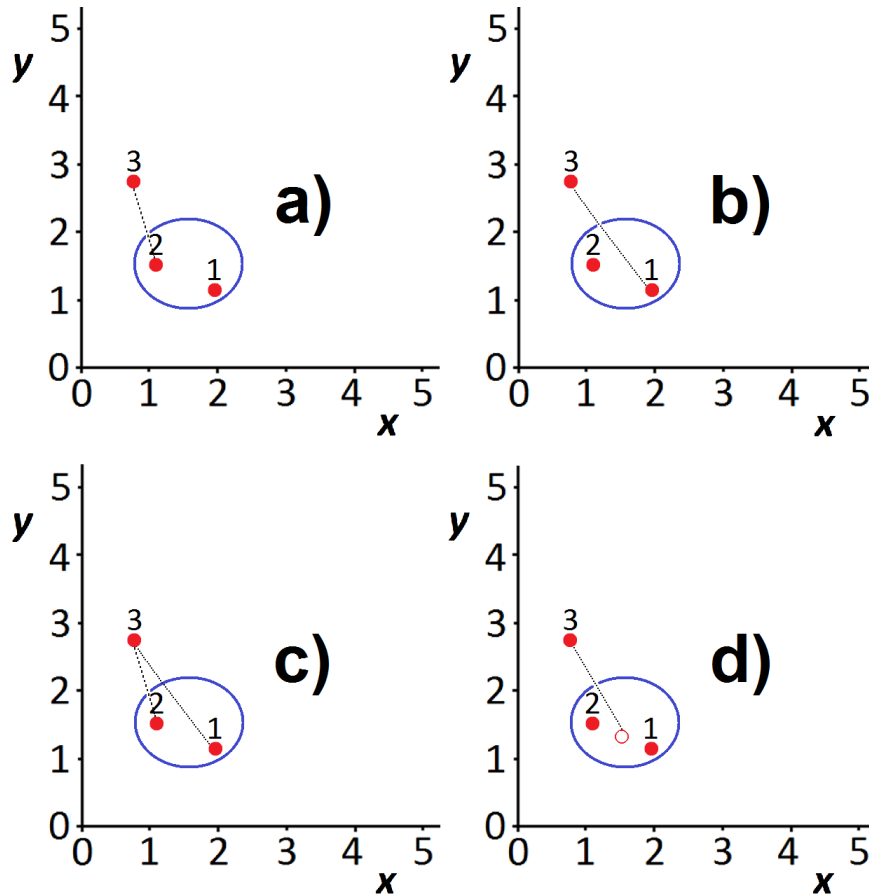
Objektu guztiak hartu eta lotu egin dira, distantzia euklidearra izanik antzekotasun irizpidea. Modu hierarkikoan egin da prozesua, distantzia txikienetik handienara dauden elementuak lotu direlako beti. Deskribatutako prozesuak emango lukeen dendograma **1.34 irudian** adierazten da.



1.34 irudia. Adibidearen 6 objektuek emango luketen dendograma.

1.12.2 Taldeen arteko lotura

Dendogramak eraikitzean, esan den bezala, multzoak sortzen dira. Multzo jakin bat hurrengo elementuarekin lotu nahi denean (objektu edo taldea), multzoaren ordezkari bat hautatu behar da, eta horretarako, irizpide ezberdinak erabili daitezke (1.35 irudia):



1.35 irudia. Taldeen arteko lotura egiteko lau irizpide. a) Lotura sinplea; b) lotura osoa; c) batez besteko lotura; d) zentroidearen lotura.

- **Lotura sinplea** (bizilagun hurbilena): Bi taldeetako elementuen artean distantziarik motzena duten bi elementuak hautatzen dira, multzoen ordezkariak izateko eta, multzoak lotzeko.
- **Lotura osoa** (bizilagun urrunena): Bi taldeetako elementuen artean distantziarik handiena duten bi elementuak hautatzen dira, multzoen ordezkariak izateko eta, multzoak lotzeko. Aurreko irizpidearen kontrakoa har daiteke honako hau.
- **Batez besteko lotura.** Bi taldeetako elementuak binaka hartuz, distantzia posible guztien batez bestekoa hartzen da bi taldeak lotuko duen distantzia bezala.
- **Zentroidearen lotura.** Lehenik eta behin, talde bakoitzeko zentroidea kalkulatu da, hau izanik taldearen ordezkaria. Ondoren, zentroideak lotzen dira.

1.13 Erresonantzia Magnetiko Nuklearraren Espektroskopia (NMR)

Teknika hau erabili dugu analisi metodo berri bat garatzeko. Bertan, etanola, azido azetiko eta azido laktikoa determinatzen dira sagar muztio eta sagardoetan.

Erresonantzia magnetiko nuklearraren espektroskopia (NMR = *Nuclear Magnetic Resonance*), erradiazio elektromagnetikoaren absortzioaren neurketan dago oinarrituta. Erradiazio elektromagnetiko hau, irrati-frekuentzietan dago kokatuta, gutxi gorabehera 4 eta 900 MHz-en artean. Absortzio prozesuan atomoen nukleoek parte hartzen dute, eta gertatzeko, ezinbestekoa da energia egoera ezberdinak ager daitezen. Horretarako, lagina B_0 intentsitateko eremu magnetikoan jartzen da. Neurtutako seinalearen intentsitatea $B_0^{3/2}$ faktorearekin handitzen da. Beraz, teknikaren sentsibilitatea handitzeko modurik nabarmenena eremu magnetikoaren indarra handitzea da. Hori lortzeko, iman super-eroaleak erabiltzen dira, zeintzuk jarduten duten 400, 500 edo 600 MHz-eko frekuentzietan (**Günter, 2013**).

Lehenengo NMR espektrometroak uhin zuzenekoak (CW = *Continuous Wave*) ziren. Hauek, 1953ko urtean merkaturatu ziren. Espektrometro hauetan, absortzio seinalea monitorizatzen da, iturriaren frekuentzia eskaneatzen den bitartean. Zenbait gailutan, frekuentzia konstante mantentzen da, eta eremu magnetikoaren intentsitatea da aldatzen dena. Lagin diluituetan, laginaren kantitate gutxi dagoenean, edota sentikortasun gutxiko nukleoak dituenen, analisiaren faktore mugatzailea seinale/zarata (S/N) erlazioa da. Hirurogeigarren hamarkadan, seinaleen batez bestekoa egiten hasi zen NMR espektroskopian. Hemen, n espektro erregistratu eta gorde egiten dira memoria digitalean, eta gero gehitu egiten dira era koherentean. Horrela, lortutako seinalea n aldiz handiagoa da erregistro bakarra eginez lortutako seinalearekin konparatuta. Zarata aleatorioa, ordea, $n^{1/2}$ aldiz handitzen da, eta honen ondorioz seinale/zarata erlazioa $n^{1/2}$ aldiz handitzen da (*Felgett-en* abantaila). Alabaina, uhin zuzeneko metodoek desabantaila bat dute: frekuentziak abiadura motelean eskaneatu behar dira, marra espektralaren distortsioa saihesteko. Prozesu hau ez da eraginkorra, izan ere, aldi bakoitzean espektroaren zona estu bat besterik ez da aztertzen.

Beraz, beharrezkoa zen metodo bat espektro osoa aldi berean eszitzatu ahal izateko. Hau, irrati-frekuentziazko pultsu motzak aplikatuz lortu zen (**Becker, 1993**). Atomoen nukleoak, eremu magnetiko sendo batean kokatuta, aldizkako irrati-frekuentziazko pultsu sendo eta motzen azpian jartzen dira. Pultsuen iraupena, oro har, 10 μ s baino txikiagoa da, eta erradiazioaren frekuentzia 100 eta 1000 MHz artekoa. Pultsuen arteko denbora, normalean, segundo batzuetakoa da. Tarte honetan, eszitatutako nukleoak erlaxatu egiten dira, eta irrati-frekuentziazko seinalea igortzen dute. Seinale hau **indukzioaren erorketa askeko** seinalea edo FID bezala ezagutzen da (FID = *Free Induction Decay*). FID seinalea, haril irrati-hargailu baten bidez detektatu daiteke; hargailu elektronikoa honek eremu magnetiko estatikoarekiko zut jarrita egon behar du.

FID seinalea digitalizatu eta gorde egiten da ordenagailu batean. Orokorrean, seinale/zarata erlazioa hobetzeko, segidako hainbat pultsuren erorketa seinaleak gehitzen dira. Ondoren, FID seinaleari Fourieren transformazioa aplikatzen zaio. Honekin lortzen den espektroa formalki analogoa da uhin zuzenarekin lortutakoarekiko. Pultsuen edo Fourieren transformazioaren espektroskopiaren garapenak NMR-aren aplikazioak ugaritu egin zituen.

NMR espektro batean, marra espektrala da ikusten den oinarritzko informazioa. Marra espektralaren ezaugarriak posizioa, intentsitatea, zabalera eta anizkoiztasuna dira **(Deleanu eta Paré, 1997)**:

- Marraren posizioa, **desplazamendu kimiko** (δ) bezala ezagutzen dena. Ezaugarri hau, normalean, ppm unitateetan ematen da, eta kalkulatu da hurrengo ekuazioaren bidez (1.29 ekuazioa):

$$\delta \text{ (ppm)} = \frac{10^6 [\text{laginaren frekuentzia} - \text{erreferentziaren frekuentzia}]}{\text{eramailearen frekuentzia (espektrometroa jarduten duena)}} \quad (1.29)$$

Desplazamendu kimikoa, unitate hauetan neurtuta, espektrometroak jarduten duen frekuentziarekiko independentea da.

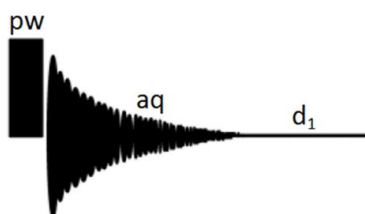
- Marraren intentsitatea. Marraren azpiko azalera bezala neurtzen da, eta inguru horretan marra sortzen duten nukleo kopuruaren menpean dago.
- Marraren zabalera. Oro har, seinalearen erdi-altueran neurtzen da, eta prozesuaren abiaduraren informazioa ematen du, baita mugimendu molekularren abiadurari buruzkoa ere.
- Marraren anizkoiztasuna. Nukleo batek inguruko nukleoekin dituen elkarrekintzen ondorioz, marra espektralak banatu daitezke, bi edo marra gehiagotan. Banaketaren magnitudeari **akoplamendu konstantea** deritzo (J).

1.13.1 Laginaren prestaketa

NMR-aren bidez, uretan edo disolbatzaile organikoan disolbaturik dauden laginak aztertu daitezke. Dena dela, disolbatzaile deuteratuak ere gehitu behar dira, eremu magnetikoaren egonkortze eta homogeneotasuna baieztatzeko. Honek, lagin bakoitzaren bereizmena optimizatzea ahalbidetzen du. Era berean, intentsitatearen eta desplazamendu kimikoaren erreferentzia bezala balio duten konposatu batzuk gehitu ohi dira. Gainera, konposatu hauek **barne patrioiak** bezala erabili daitezke analisi kuantitatiboan. Gehitutako konposatua aztertutako nukleoaren eta disolbatzailearen arabera da. Protoia aztertzeko ohiko konposatuak dira, tetrametilsilanoa (TMS) disolbatzaile organikoekin, eta azido 3-(trimetilsilil)-2,2,3,3-d₄ propionikoaren sodio gatza (TSP) edo sodio 2,2-dimetil-2-silapentano-5-sulfonatoa (DSS), ur-disoluzioekin.

1.13.2 Espektraok erregistratzeko baldintza optimoak

^1H NMR espektrao lortzeko oinarriko pultsu sekuentziak hiru parametro ditu, eta hiruak erabiltzailearen kontrolpean daude. Hauek, **1.36 irudian** adierazten dira eskematikoki: pultsuaren luzera ($p_w = \text{Pulse Width}$), datuen eskuratze denbora ($a_q = \text{Acquisition Time}$) eta itxarote edo atzerapen denbora ($d_1 = \text{Delay Time}$). Sekuentzia hau hainbat aldiz errepikatuz, S/N erlazioa handitu egiten da (*Felgett-en* abantaila), eta honekin batera, metodoaren detekzio muga gutxitu.



1.36 irudia. ^1H NMR espektrao lortzeko pulsu sekuentzia.

Itxarote denborak (d_1) adierazten du zenbat segundo behar diren nukleoak berriro erlaxatzeko, pulsu bakoitzaren ondoren. Denbora honen luzera, eszitatutako nukleoen erlaxazio propietateen arabera da (**Pauli et al., 2005**). Gomendatzen da d_1 gutxienez T_1 baino 3–5 aldiz handiagoa izatea, non T_1 laginaren protoien arteko erlaxazio denborarik luzeena den. Itxarote denbora motzagoek txikiagotzen dute doitasuna baina onargarriak izan daitezke (**Cookson eta Smith, 1982**).

1.13.3 Uraren seinalearen eliminazioa

Uraren seinalea kentzea ezinbestekoa da ^1H NMR-an ur-laginekin lan egiten denean. Izan ere, uraren seinalea beste seinaleak baino askoz ere handiagoa da. Metodori erabili aurreasetzea da. Hemen, irrati-frekuentziaz selektiboki irradiatzen da uraren frekuentzia, seinalearen erortze denboran zehar. Irradiazioa moztu egiten da eszitzazio pulsu berri bat justu eman baino lehen. Prozedura honek uraren seinalea murriztu egiten du. Uraren seinalearen eliminazio desegokiak banda irregularrak edota oinarriko lerroaren deriba eragin ditzake.

1.13.4 Sagardo laginen ^1H NMR espektraok

^1H NMR-ak seinale kopuru handia ematen du molekula ezberdinentzako. Honek esan nahi du, espektra bakoitzean posible dela analito ezberdinak determinatzea. Era berean, laginaren prestakuntzari dagokionez, abiadura eta erraztasuna eskaintzen ditu (**Košir eta Kidrič, 2002**).

Sagarretan eta beste fruituetan agertzen diren zenbait analitorentzat ^1H NMR-aren bidezko determinazio metodoak garatuta daude, dagoeneko. Analito hauek dira, azido klorogenikoa (**Berregi et al., 2003b**), (-)-epikatekina (**Berregi et al., 2003a**), azido maliko eta zitrikoa (**del Campo et al., 2006a**) eta azido formikoa (**Berregi et al., 2007**), besteak beste.

Aurrerago azalduko den **6. kapitulu**an, ^1H NMR-an oinarritutako analisi metodo bat garatuko da. Hau, bi artikulutan publikatu da: lehenengoan etanola determinatzen da (**Zuriarrain *et al.*, 2015c**), eta bigarreanean, azido azetiko eta laktikoa (**Zuriarrain, *et al.*, 2015a**). Metodoa, lehen aipatutako azido maliko eta zitrikoaren determinaziorako baldintza berberetan garatuta dago, eta hortaz, sagar muztio baten bi hartidura nagusiak jarraitzeko aukera ematen du, ^1H NMR-aren bidez. Honekin batera, azidotasun lurrinkorraren bilakaera ere jarraitu ahal izango da.

1.14 Erreferentziak

Abramovič, H. (2014). Coffee in Health and Disease Prevention. Victor R. Preedy. Academic Press, London (UK). Chapter 93: Antioxidant Properties of Hydroxycinnamic Acid Derivatives: A Focus on Biochemistry, Physicochemical Parameters, Reactive Species, and Biomolecular Interactions, 843-851.

Amerine, M. A., Ough, C. S. (1964). Studies with controlled fermentation. VIII. Factors affecting aldehyde accumulation. American Journal of Enology and Viticulture 15, 23-33.

Avizcuri, J. M. (2014). Avances en el conocimiento de la percepción sensorial de vinos tintos y su relación con la composición química no volátil. Evolución químico-sensorial en la etapa de embotellado. PhD Thesis. Universidad de La Rioja, La Rioja (Spain). Chapter 1: Introducción general. Revisión bibliográfica, 1-38.

Bakeev, K. A. (2005). Process Analytical Technology. Blackwell Publishing Ltd, Oxford (UK). Chapter 8: Chemometrics in Process Analytical Chemistry, 226-328.

Bauer, R., Cowan, D. A., Crouch, A. (2010). Acrolein in wine: importance of 3-hydroxypropionaldehyde and derivatives in production and detection. Journal of Agricultural and Food Chemistry 58, 3243-3250.

Baxter, N. J., Lilley, T. H., Haslam, E., Williamson, M. P. (1997). Multiple interactions between polyphenols and a salivary proline-rich protein repeat result in complexation and precipitation. Biochemistry 36, 5566-5577.

Becker, E. D. (1993). A brief history of nuclear magnetic resonance. Analytical Chemistry 65, 295A-302A.

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.

Berregi, I., del Campo, G., Caracena, R., Miranda, J. I. (2007). Quantitative determination of formic acid in apple juices by ^1H NMR spectrometry. Talanta 72, 1049-1053.

Berregi, I., Santos, J. I., del Campo, G., Miranda, J. I. (2003a). Quantitative determination of (-)-epicatechin in cider apple juices by ^1H NMR. Talanta. 61, 139-145.

Berregi, I., Santos, J. I., del Campo, G., Miranda, J. I., Aizpurua, J. M. (2003b). Quantitative determination of chlorogenic acid in cider apple juices by ^1H NMR spectrometry. Analytica Chimica Acta 486, 269-274.

Bezerra, M. A., Santelli, R. E., Oliveira, E. P., Villar, L. S., Escaleira, L. A. (2008). Response surface methodology (RSM) as a tool for optimization in analytical chemistry. *Talanta*, 76, 965-977.

Blanco Gomis, D., Mangas Alonso, J. J. (2010). La manzana y la sidra: bioprocesos, tecnologías de elaboración y control. Servicio Regional de Investigación y Desarrollo Agroalimentario (SERIDA), Villaviciosa (Spain). Chapter 3: Bioquímica de los procesos de transformación del mosto de manzana en sidra, 59-104.

BOE (Boletín Oficial del Estado). (1979). Orden del 28 agosto (Vol. 206, 20172-20176).

Boidron, J. N., Chatonnet, P., Pons, M. (1988). Influence du bois sur certaines substances odorantes des vins. *Connaissance de la Vigne et du Vin* 22, 275-294.

Bordagaray, A. (2015). Development of procedures for the triazole fungicides determination in fruits and liquid samples using microextraction techniques and chromatographic separation. PhD Thesis. Universidad del País Vasco/Euskal Herriko Unibertsitatea, Donostia-San Sebastián (Spain). Chapter 1: Introduction , 1-60.

Boulton, R. B., Singleton, V. L., Bisson, L. F., Kunkee, R. E. (1996). Principles and practices of winemaking. Chapman & Hall, New York (USA). Chapter 10: The Maturation and Aging of Wines, 382-424.

Brereton, R. G. (2003). Data Analysis for the Laboratory and Chemical Plant. John Wiley & Sons, Chichester (UK). Chapter 2: Experimental Design, 15-118.

Breslin, P. A. S, Gilmore, M. M., Beauchamp, G. K., Green, B. G. (1993). Psychophysical evidence that oral astringency is a tactile sensation. *Chemical Senses* 18, 405-417.

Bro, R. (2003). Multivariate calibration. What is in chemometrics for the analytical chemist?. *Analitica Chimica Acta*. 500, 185-194.

Burdurlu, H. S., Karadeniz, F. (2003). Effect of storage on nonenzymatic browning of apple juice concentrates. *Food Chemistry* 80, 91-97.

Buron, N., Coton, M., Legendre, P., Ledauphin, J., Kientz-Bouchart, V., Guichard, H., Barillier, D., Coton, E. (2012). Implications of *Lactobacillus collinoides* and *Brettanomyces/Dekkera anomala* in phenolic off-flavour defects of ciders. *International Journal of Food Microbiology* 153, 159-165.

Buron, N., Guichard, H., Coton, E., Ledauphin, J., Barillier, D. (2011). Evidence of 4-ethylcatechol as one of the main phenolic off-flavour markers in French ciders. *Food Chemistry* 125, 542-548.

Cabrera, M., Simoens, M., Falchi, G., Lavaggi, M. L., Piro, O. E, Castellano, E. E, Vidal, A., Azqueta, A., Monge, A., de Ceráin, A. L, Sagrera, G., Seoane, G., Cerecetto, H.,

- González, M. (2007). Synthetic chalcones, flavanones, and flavones as antitumoral agents: biological evaluation and structure-activity relationships. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 15, 3356-3367.
- Calderon, P., Van Buren, J., Robinson, W. B. (1968). Factors influencing the formation of precipitates and hazes by gelatin and condensed and hydrolyzable tannins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 16, 479-482.
- Caruso, D., Berra, B., Giavarini, F., Cortesi, N., Fedeli, E., Galli, G. (1999). Effect of virgin olive oil compounds on in vitro oxidation of human low density lipoproteins. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases* 9, 102-107.
- Chatonnet, P., Dubourdieu, D., Boidron, J. N. (1995) The influence of *Brettanomyces/Dekkera* sp yeasts and lactic acid bacteria on the ethylphenol content of red wines. *American Journal of Enology and Viticulture* 46, 463-468.
- Chatonnet, P., Dubourdieu, D., Boidron, J. N., Lavigne, V. (1993). Synthesis of volatile phenols by *Saccharomyces cerevisiae* in wines. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 62, 191-202.
- Chatonnet, P., Dubourdieu, D., Boidron, J. N., Pons, M. (1992). The origin of ethylphenols in Wines. *Journal of science and food agriculture* 60, 165-178.
- Cookson, D. J. Smith, B. E. (1982). Optimal experimental parameters for quantitative pulse Fourier transform proton nuclear magnetic resonance spectrometry. *Analytical Chemistry* 54, 2591-2593.
- Costa, N. R., Lourenço, J., Pereira, Z. L. (2011). Desirability function approach: A review and performance evaluation in adverse conditions. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems* 107, 234-244.
- Coton, E., Coton, M. (2003). Microbiological origin of "framboisé" in French ciders. *Journal of the Institute of Brewing* 109, 299-304.
- de la Roza, C., Laca, A., García, L. A., Díaz, M. (2003). Ethanol and ethyl acetate production during the cider fermentation from laboratory to industrial scale. *Process Biochemistry* 38, 1451-1456.
- Dejaegher, B., Vander Heyden, Y. (2011). Experimental designs and their recent advances in set-up, data interpretation, and analytical applications. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis* 56, 141-158.
- del Campo, G., Berregi, I., Caracena, R., Santos, J. I. (2006a). Quantitative analysis of malic and citric acids in fruit juices using proton nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Analytica Chimica Acta* 556, 462-468.

del Campo, G., Berregi, I., Iturriza, N., Santos, J. I. (2006b). Ripening and changes in chemical composition of seven cider apple varieties. *Food Science and Technology International* 12, 477-487.

del Campo, G., Santos, J. I., Berregi, I., Velasco, S., Ibarburu, I., Dueñas, M. T., Irastorza, A. (2003). Ciders produced by two types of presses and fermented in stainless steel and wooden vats. *Journal of the Institute of Brewing* 109, 342-348.

del Campo, G., Zuriarrain, J., Zuriarrain, A., Berregi, I. (2016). Quantitative determination of carboxylic acids, amino acids, carbohydrates, ethanol and hydroxymethylfurfural in honey by ¹H NMR. *Food Chemistry* 196, 1031-1039

Deleanu, C., Paré, J. R. (1997). Nuclear magnetic resonance spectroscopy (NMR): Principles and applications. *Instrumental Methods in Food Analysis* 18, 179-237.

Derringer, G., Suich, R. (1980). Simultaneous optimization of several response variables. *Journal of Quality Technology* 12, 214-219.

Dugé de Bernonville, T., Guyot, S., Paulin, J. P., Gaucher, M., Loufrani, L., Henrion, D., Derbré, S., Guilet, D., Richomme, P., Dat, J. F., Brisset, M. N. (2010). Dihydrochalcones: Implication in resistance to oxidative stress and bioactivities against advanced glycation end-products and vasoconstriction. *Phytochemistry* 71, 443-452.

Ehrenkranz, J. R., Lewis, N. G., Kahn, C. R., Roth, J. (2005). Phlorizin: A review. *Diabetes/Metabolism Research and Reviews* 21, 31-38.

Erel, O. (2004). A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. *Clinical Biochemistry* 37, 277-285.

Esbensen, K. H. (2004a). *Multivariate data analysis – in practice* (5th edition). Camo AS, Trondheim (Norway). Chapter 3: Principal Component Analysis (PCA) – Introduction, 19-74.

Esbensen, K. H. (2004b). *Multivariate data analysis – in practice* (5th edition). Camo AS, Trondheim (Norway). Chapter 6: Multivariate Calibration (PCR/PLS), 115-154.

Faridi, Z., Njike, V. Y., Dutta, S., Ali, A., Katz, D. L. (2008). Acute dark chocolate and cocoa ingestion and endothelial function: a randomized controlled crossover trial. *American Journal of Clinical Nutrition* 88, 58-63.

Farris, G. A., Fatichenti, F., Deiana, P., Madau, G. (1983). Functional selection of low sulfur dioxide-acceptor producers among 30 *Saccharomyces cerevisiae* strains. *Journal of Fermentation Technology* 61, 201-204.

- Feng, R., Lu, Y, Bowman, L. L., Qian, Y, Castranova, V., Ding, M. (2005). Inhibition of activator protein-1, NF-kappa B, and MAPKs and induction of phase 2 detoxifying enzyme activity by chlorogenic acid. *The Journal of Biological Chemistry* 280, 27888-27895.
- Ferreira, V., Lopez, R., Cacho, J.F. (2000). Quantitative determination of the odorants of young red wines from different grape varieties. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 80, 1659-1667.
- Fuleki, T., Pelayo, E., Palabay, R. (1995). Carboxylic acid composition of varietal juices produced from fresh and stored apples. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 43, 598-607.
- Garai-Ibabe, G., Ibarburu, I., Berregi, I., Claisse, O., Lonvaud-Funel, A., Irastorza, A., Dueñas, M.T. (2008). Glycerol metabolism and bitterness producing lactic acid bacteria in cidermaking. *International Journal of Food Microbiology* 121, 253-261.
- García, J., Xirau, M., Azorín, R. (2005). Técnicas usuales de análisis en enología. Panreac Química S.A, Barcelona (Spain). Chapter 13: Características Cromáticas, 45-46.
- Gemperline, P. (2006). Practical guide to chemometrics (2th edition). CRC Press, Boca Ratón (USA). Chapter 5: Calibration, 105-165.
- Geroyiannaki, M., Komaitis, M. E., Stavarakas, D. E., Polysioub, M. Athanasopoulos, P. E., Spanos, M. (2007). Evaluation of acetaldehyde and methanol in greek traditional alcoholic beverages from varietal fermented grape pomaces (*Vitis vinifera* L.). *Food Control* 18, 988-995.
- Gómez-Alonso, S., García-Romero, E., Hermosín-Gutiérrez, I. (2007). HPLC analysis of diverse grape and wine phenolics using direct injection and multidetection by DAD and fluorescence. *Journal of Food Composition and Analysis* 20,618-626.
- Günter, H. (2013). NMR spectroscopy. Basic Principles, Concepts, and Applications in Chemistry (3rd edition). Wiley-VCH, Weinheim (Germany). Chapter 6: The Analysis of High-Resolution Nuclear Magnetic Resonance Spectra, 149-210.
- Guyot, S., Marnet, N., Laraba, D., Sanoner, P., Drilleau J. F. (1998). Reversed-phase HPLC following thiolysis for quantitative estimation and characterization of the four main classes of phenolic compounds in different tissue zones of a French cider apple variety (*Malus domestica* var. Kermerrien). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 46, 1698-1705.
- Haaland, D. M., Thomas, E. V. (1988). Partial least-squares methods for spectra analyses. 1. Relation to other quantitative calibration methods and the extraction of qualitative information. *Analitical Chemistry* 60, 1193-1202.

Hagerman, A. E., Butler, L. G. (1978). Protein precipitation method for the quantitative determination of tannins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 26, 809-812.

Hang, Y. D., Woodams, E. E. (2010). Influence of apple cultivar and juice pasteurization on hard cider and eau-de-vie methanol content. *Bioresource Technology* 101, 1396-1398.

Harris, D. C. (2010a). *Quantitative Chemical Analysis* (8th edition). W. H. Freeman and Company, New York (USA). Chapter 23: Gas Chromatography, 565-594.

Harris, D. C. (2010b). *Quantitative Chemical Analysis* (8th edition). W. H. Freeman and Company, New York (USA). Chapter 19: Spectrophotometers, 445-478.

He, Y., Shahidi, F. (1997). Antioxidant activity of green tea and its catechins in a fish meat model system. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 45, 4262-4266.

Herrero, M., Roza, C., García, L. A, Díaz, M. (1999). Simultaneous and sequential fermentations with yeast and lactic acid bacteria in apple juice. *Journal of Industrial and Microbiology and Biotechnology* 22, 48-51.

Hidalgo Togoies, J. (2011). *Tratado de enología* (2nd Edition). Ediciones Mundi-Prensa, Madrid (Spain). Chapter 8: Transformaciones microbianas. Levaduras, bacterias y virus, 545-661.

Hisomoto, M., Okuda, T., Nishimoto, S., Tani, K., Tachibana, M., Koizumi, H., Kiba, N. Yokotsuka, K. (2009). Determination of 4-vinylcatechol in wine by HPLC-DAD coupled with fluorescence detection. *American Journal of Enology and Viticulture*. 60, 402A (Abstracts from Presentations at the ASEV 60th Annual Meeting 23-26 June 2009, Napa, California).

Howells, L. M., Britton, R. G., Mazzeletti, M., Greaves, P., Broggin, M., Brown, K., Steward, W. P., Gescher, A. J., Sale, S. (2010). Preclinical colorectal cancer chemopreventive efficacy and p53-modulating activity of 3',4',5'-trimethoxyflavonol, a quercetin analogue. *Cancer Prevention Research* 3, 929-939.

Hyun, J., Shin, S. Y., So, K. M., Lee, Y. H., Lim, Y. (2012). Isoflavones inhibit the clonogenicity of human colon cancer cells. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 22, 2664-2669.

Iglesias, J., Pazos, M., Andersen, M. L., Skibsted, L. H., Medina, I. (2009). Caffeic acid as antioxidant in fish muscle: mechanism of synergism with endogenous ascorbic acid and alpha-tocopherol. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 57, 675-681.

Iglesias, J., Pazos, M., Torres, J. L, Medina, I. (2012). Antioxidant mechanism of grape procyanidins in muscle tissues: Redox interactions with endogenous ascorbic acid and α -tocopherol. *Food Chemistry* 134, 1767-1774.

- Inami, Y., Andoh, T., Kuraishi, Y. (2013). Prevention of topical surfactant-induced itch-related responses by chlorogenic acid through the inhibition of increased histamine production in the epidermis. *Journal of Pharmacological Sciences* 121, 242-245.
- Jacob, J. K., Hakimuddin, F., Paliyath, G., Fisher, H. (2008). Antioxidant and antiproliferative activity of polyphenols in novel high-polyphenol grape lines. *Food Research International* 41, 419-428.
- Jolicoeur, C. (2013). *The New Cider Maker's Handbook. A Comprehensive Guide for Craft Producers.* Chelsea Green Publishing, Vermont (USA). Chapter 16: Cider troubles and how to avoid them, 291-300.
- Kacem, B., Cornell, J. A., Marshall, M. R., Shireman, R. B., Matthews, B. E. (1987). Nonenzymatic browning in aseptically packaged orange drinks: Effect of ascorbic acid, amino acids and oxygen. *Journal of Food Science.* 52, 1666-1672.
- Kalivas, J. H. (2005). Multivariate calibration, an overview. *Analytical Letters* 38, 2259-2279.
- Keithley, R. B., Heien, M. L., Wightman, R. M. (2009). Multivariate concentration determination using principal component regression with residual analysis. *Trends in analytical Chemistry* 28, 1127-1136.
- Kim, H. J., Kim, S. K., Kim, B. S., Lee, S. H., Park, Y. S., Park, B. K., Kim, S. J., Kim, J., Choi, C., Kim, J. S., Cho, S. D., Jung, J. W., Roh, K. H., Kang, K. S., Jung, J. Y. (2010). Apoptotic effect of quercetin on HT-29 colon cancer cells via the AMPK signaling pathway. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 58, 8643-8650.
- Kono, Y., Kobayashi, K., Tagawa, S., Adachi, K., Ueda, A., Sawa, Y., Shibata, H. (1997). Antioxidant activity of polyphenolics in diets: Rate constants of reactions of chlorogenic acid and caffeic acid with reactive species of oxygen and nitrogen. *Biochimica et Biophysica Acta* 1335, 335-342.
- Košir, I. J., Kidrič, J. (2002). Use of modern nuclear magnetic resonance spectroscopy in wine analysis: determination of minor compounds. *Analytica Chimica Acta* 458, 77-84.
- Kulkarni, R. D. (1992). Alcoholic liver disease. *Journal of General Medicine* 3, 24-32.
- Labuza, T. P., Lillemo, J. H., Taoukis, P. S. (1992). Inhibition of polyphenol oxidase by proteolytic enzymes. *Fruit Process* 2, 9-13.
- Lampila, P., Lieshout, M., Gremmen, B., Lähteenmäki, L. (2009). Consumer attitudes towards enhanced flavonoid content in fruit. *Food Research International* 42, 122-129.

Liu, J. Y., Zhou, C. Y., Qiu, C. H., Lu, X. M., Wang, Y. T. (2013). Chlorogenic acid induced apoptosis and inhibition of proliferation in human acute promyelocytic leukemia HL-60 cells. *Molecular Medicine Reports* 8, 1106-1110.

Liu, S. Q., Pilone, G. J. (2000). An overview of formation and role of acetaldehyde in wine making with emphasis on microbiological implications. *International Journal of Food Science and Technology* 35, 49-61.

Lu, Y., Foo, L. Y. (2000). Antioxidant and radical scavenging activities of polyphenols from apple pomace. *Food Chemistry* 68, 81-85.

Mangas, J. J., Rodríguez, R., Suárez, B., Picinelli, A., Dapena, E. (1999). Study of the phenolic profile of cider apple cultivars at maturity by multivariate techniques. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 47, 4046-4052.

Martens, H., Martens, M. (2001). *Multivariate Analysis of Quality. An Introduction*. John Wiley & Sons, Chichester (UK).

Martens, H., Naes, T. (1989). *Multivariate Calibration*. John Wiley & Sons, Chichester (UK).

Medina, I., Martínez, J. L., Suárez, J. J., Bueno, J. L. (1996). El aroma de la sidra. *Alimentación, Equipos y Tecnología* 8, 91-97.

Miró-Casas, E., Covas, M. I., Fitó, M., Farré-Aldabalejo, M., Marrugat, J., de la Torre, R. (2003). Tyrosol and hydroxytyrosol are absorbed from moderate and sustained doses of virgin olive oil in humans. *European Journal of Clinical Nutrition* 57, 186-190.

Murakami, A., Ashida, H., Terao, J. (2008). Multitargeted cancer prevention by quercetin. *Cancer Letters* 269, 315-325.

Navascués Lopez-Cordón, E. (2009). *Brettanomyces/Dekkera*. Control y detección en bodegas. *Revista Enología* 1, 1-6.

Official Journal of the European Union. (2011). Commission Regulation (EU) No 1129/2011 of 11 November 2011 amending Annex II to Regulation (EC) No 1333/2008 of the European Parliament and of the Council by establishing a Union list of food additives (Vol. L295), 1-177.

OIV. (2015a). *Compendium of international methods of wine and must analysis. Vol 1*. International Organisation of Vine and Wine. Paris (France). OIV-MA-AS313-11.

OIV. (2015b). *Compendium of international methods of wine and must analysis. Vol 1*. International Organisation of Vine and Wine. Paris (France). OIV-MA-AS313-07.

- OIV. (2015c) - Compendium of international methods of wine and must analysis. Vol 1. International Organisation of Vine and Wine. Paris (France). OIV-MA-AS313-02.
- Pauli, G. F, Jaki, B. U, Lankin, D. C. (2005). Quantitative ^1H NMR: development and potential of a method for natural products analysis. *Journal of Natural Products* 68, 133-149.
- Pazos, M., Iglesias, J., Maestre, R., Medina, I. (2010). Structure–activity relationships of polyphenols to prevent lipid oxidation in pelagic fish muscle. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 58, 11067-11074.
- Pellegrini, N., Serafini, M., Colombi, B., Del Rio, D., Salvatore, S., Bianchi, M., Brighenti, F. (2003). Total antioxidant capacity of plant foods, beverages and oils consumed in Italy assessed by three different in vitro assays. *Journal of Nutrition* 133, 2812-2819.
- Picinelli-Lobo, A., Diñeiro-García, Y., Mangas-Sánchez, J., Rodríguez-Madrera, R., Suárez-Valles, B. (2009). Phenolic and antioxidant composition of cider. *Journal of Food and Analysis* 22, 644-648.
- Ramis Ramos, G., García Álvarez-Coque, M. C. (2001a). *Quimiometría*. Editorial Síntesis, Madrid (Spain). Chapter 1: Introducción, 19-28.
- Ramis Ramos, G., García Álvarez-Coque, M. C. (2001b). *Quimiometría*. Editorial Síntesis, Madrid (Spain). Chapter 9: Calibración y Regresión Múltiple y Multivariante, 199-228.
- Ramis Ramos, G., García Álvarez-Coque, M. C. (2001c). *Quimiometría*. Editorial Síntesis, Madrid (Spain). Chapter 6: Exploración de Datos, 133-156.
- Rao, Y. K., Fang, S. H., Tzeng, Y. M. (2005). Synthesis, growth inhibition, and cell cycle evaluations of novel flavonoid derivatives. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 13, 6850-6855.
- Ribéreau-Gayon, J., Peynaud, E., Sudraud, S., Ribéreau-Gayon, P. (1982). *Sciences et techniques du vin, Vol. 1, Analyse et contrôle des vins (2nd edition)*. Édition Dunod, Paris (France). Chapter 13 : Composés Phénoliques, 477-521.
- Ribéreau-Gayon, P., Glories, Y., Maujean, A., Dubourdieu, D. (2008). *Tratado de Enología. Vol 2. Química del Vino. Estabilización y tratamientos. Hemisferio Sur, Buenos aires (Argentina)*. Chapter 6: Compuestos fenólicos, 177-258.
- Robbins, R. J. (2003). Phenolic acids in foods: an overview of analytical methodology. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51, 2866-2887.

Samson Mathews, S., Mahesh, T., Suresh Varma, P., Debayon, P., Nilanjana, M. (2008). Akt/FOXO3a/SIRT1-mediated cardioprotection by *n*-tyrosol against ischemic stress in rat in vivo model of myocardial infarction: switching gears toward survival and longevity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56, 9692-9698.

Santos González, J. I. (2005). Caracterización de manzanas y sidras del País Vasco. Aplicaciones de la espectroscopía RMN. PhD Thesis. Universidad del País Vasco/Euskal Herriko Unibertsitatea, Donostia-San Sebastián (Spain). Chapter 1: Introducción, 5-106.

Scalbert, A., Williamson, G. (2000). Dietary intake and bioavailability of polyphenols. *The Journal of Nutrition* 130 (8S Supplement), 2073S-2085S.

Shahidi, F., Janitha, P. K., Wanasundara, P. D. (1992). Phenolic antioxidants. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 32, 67-103.

Shahidi, F., Naczk, M. (2004). Phenolics in food and nutraceuticals. CRC Press, Boca Ratón (USA). Chapter 5: Phenolic Compounds of Beverages, 238-308.

Siebert, K. J., Troukhanova, N. V., Lynn, P. Y. (1996). Nature of polyphenol-protein interactions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 44, 80-85.

Singleton, V. L., Orthofer, R., Lamuela-Raventós, R. M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology* 299, 152-178.

Spanos, G. A., Wrolstad, R. E. (1992). Phenolics of apple, pear, and white grape juices and their changes with processing and storage. A review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 40, 1478-1487.

Suárez, B., Palacios, N., Fraga, N., Rodríguez, R. (2005). Liquid chromatographic method for quantifying polyphenols in ciders by direct injection. *Journal of Chromatography A* 1066, 105-110.

Suzuki, A., Yamamoto, N., Jokura, H., Yamamoto, M., Fujii, A., Tokimitsu, I., Saito, I. (2006). Chlorogenic acid attenuates hypertension and improves endothelial function in spontaneously hypertensive rats. *Journal of Hypertension* 24, 1065-1073.

United States Environmental Protection Agency: Hazard Summary Created in April 1992; Revised in January 2000. <https://www3.epa.gov/airtoxics/hlthef/methanol.html>. (last access: 2016/09/22).

Vasanth Rupasinghe, H. P., Yasmin, A. (2010). Inhibition of oxidation of aqueous emulsions of omega-3 fatty acids and fish oil by phloretin and phloridzin. *Molecules* 15, 251-257.

- Vollenweider, S., Lacroix, C. (2004). 3-hydroxypropionaldehyde: applications and perspectives of biotechnological production. *Applied Microbiology and Biotechnology* 64, 16-27.
- Wang, M. L., Choong, Y. M., Su, N. W., Lee, M. H. (2003). A rapid method for determination of ethanol in alcoholic beverages using capillary gas chromatography. *Journal of Food and Drug Analysis* 11, 133-140.
- Williams, A. A. (1974). Flavour research and the cider industry. *Journal of the Institute of Brewing* 80, 455-470.
- Wright, J. S., Johnson, E. R., Dilabio, G. A. (2001). Predicting the activity of phenolic antioxidants: theoretical method, analysis of substituent effects, and application to major families of antioxidants. *Journal of the American Chemical Society* 123, 1173-1183.
- Xu, Y., Chen, J., Yu, X., Tao, W., Jiang, F., Yin, Z., Liu, C. (2010). Protective effects of chlorogenic acid on acute hepatotoxicity induced by lipopolysaccharide in mice. *Inflammation Research* 59, 871-877.
- Zhang, D., Lovitt, R. W. (2006). Strategies for enhanced malolactic fermentation in wine and cider maturation. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* 81, 1130-1140.
- Zhang, H., Zhou, F., Ji, B., Nout, R. M. J., Fang, Q., Yang, Z. (2008). Determination of organic acids evolution during apple cider fermentation using an improved HPLC analysis method. *European Food Research and Technology* 227, 1183-1190.
- Zhang, J. X., Ma, L. Q., Yu, H. S., Zhang, H., Wang, H. T., Qin, Y. F., Shi, G. L, Wang, Y. N. (2011). A tyrosine decarboxylase catalyzes the initial reaction of the salidroside biosynthesis pathway in *Rhodiola Sachalinensis*. *Plant Cell Reports*. 30, 1443-1453.
- Zuriarrain, A., Zuriarrain, J., Puertas, A. I., Dueñas, M. T., Berregi, I. (2015a). Quantitative determination of lactic and acetic acids in cider by ^1H NMR spectrometry. *Food Control* 52, 49-53.
- Zuriarrain, A., Zuriarrain, J., Puertas, A. I., Dueñas, M. T., Ostra, M., Berregi, I. (2015b). Polyphenolic profile in cider and antioxidant power. *Journal of the science of food and agriculture* 95, 2931-2943.
- Zuriarrain, A., Zuriarrain, J., Puertas, A. I., Villar, M., Berregi, I. (2015c). Quantitative determination of ethanol in cider by ^1H NMR spectrometry. *Food Control* 50, 758-762.

2. Kapitulua

Metodo analitikoak

2.1 Muztio eta sagardo laginak. Prozedura orokorra

Muztioak lortzeko sagarrak bildu eta prentsatu behar dira. Gero, sagardoa lortzeko, muztioak baldintza egokietan jarri behar dira hartzidurak gertatzeko. Hau guztia **3. kapitulu**an jorratuko da. Kapitulu honetan azalduko da, bakarrik, muztio eta sagardo laginekin **laborategian** egindako lana.

Prozedura ia berdina da muztio eta sagardoekin. Azalpena errazteko, sagardo bati egiten zaion prozedura azalduko da, muztio batekin dituen ezberdintasunak aipatuta.

2.1.1 Muztioa edo sagardoa

300 mL lagin hartzen dira kupeletik plastikozko ontzi batean. Behin laborategian, hartutako lagina gasgabetu egin behar da, CO₂-ak interferitu dezakeelako geroago egin behar diren zenbait neurketatan. Hasierako muztioen kasuan, ez da beharrezkoa honako pausoa egitea, ez dutelako gasik. Lagina gasgabetzeko, **2.1 irudian** agertzen den muntaia erabiltzen da.



2.1 Irudia. Sagardoak gasgabetzeko antolatutako sistema.

Irabiagailu magnetikoak CO₂-aren burbuilak likidotik askatzen laguntzen du, eta huts ponpak gasa atera egiten du. Horrela, 30-45 minutuz mantentzen da lagina, likidoaren azalean hasieran sortzen den aparra desagertu arte.

2.1.2 Muztio edo sagardo gasgabetua

Behin lagina gasgabetuta dagoela, dentsitatea neurtzen zaio. Ondoren, 50 mL hartu eta plastikozko ontzi batean izozkailuan gordetzen dira, geroago neurketaren bat errepikatu behar bada. Geratzen diren 250 mL-ekin Brix graduak eta uhertasuna neurtzen dira.

Jarraian, erredox potentziala, pH-a eta azidotasan totala neurtzen dira baloratzailerkin automatikoarekin. Honetarako, 100 mL lagin behar dira. Geratzen den lagina 50 mL-ko bi zentrifuga hoditan banatzen da. Hodi hauek zentrifugatzen dira 20 minutuz,

8200 rpm abiaduran, *Thermo Scientific™ Sorvall ST8* (Thermo Fisher Scientific, Waltham, AEB) zentrifugagailua erabiliz (**2.2 irudia**).



2.2 Irudia. Erabilitako zentrifugagailua.

2.1.3 Muztio edo sagardo gasgabetua eta zentrifugatua

Lortutako sagardo zentrifugatuarekin, 1.5 mL-ko plastikozko 5 ontzi betetzen dira (**2.3 irudia**), eta bete bezain pronto, izozkailuan gordetzen dira. Lagin hauekin, honako parametro/konposatuak neurtzen dira: Folin-Ciocalteu indizea, indar antioxidatzailea, azido malikoa, azido laktikoa, azido azetikoa, glizerola, glukosa, fruktosa eta sakarosa.



2.3 Irudia. 1.5 mL-ko biala eta tapa.

Era berean, lehen aipatutako beste 6 ontzi betetzen dira, baina oraingo honetan, sagardoa alde aurretik 0.45 μm -ko filtroekin iragazten da. Lortutako 6 ontziak izozkailuan gordetzen dira, geroago neurketa kromatografikoak egiteko. Alde batetik, sagardoaren profil polifenolikoa determinatzen da, HPLC-DAD teknikaren bidez, eta bestetik, etanola, azetaldehidoa, akroleina, etil azetatoa eta metanola, GC-FID teknikarekin.

Bestalde, sagardo zentrifugatuaren absorbantzia 280, 320 eta 420 nm-tan neurtzen da. Azkenik, sagardoak proteinekin hauspeatzeko duen gaitasuna neurtzen da.

2.2 Parametro fisikokimikoak

2.2.1 Brix graduak

Muztio edo sagardo jakin batean azukre totalaren estimazioa izateko, Brix graduak erabili daitezke. Parametro honek azukre totalaren edukia ematen du, sakarosa w/w

portzentajea bezala adierazita, eta **errefraktometro** deritzon tresnarekin neurtzen da. Neurketa errefrakzio indizean oinarrituta dago (**García et al., 2005a**) eta ZUZI (Auxilab S.L, Beriain, Espainia) errefraktometroarekin burutu da (**2.4 irudia**).



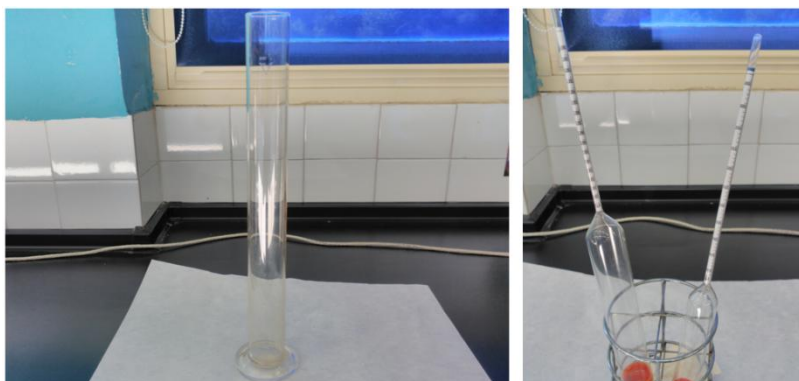
2.4 Irudia. Erabilitako errefraktometroa.

Neurketa egiteko, lagin tanta bat errefraktometroaren prismaren gainean jartzen da, tapa ixten da, tanta prisma osoan uniformeki zabal dadin, eta Brix graduak bisoretik irakurtzen dira.

Hasierako muztioek sagarren konposizioa islatzen dute. Horregatik, Brix graduek heldutasun mailaren ideia ematen dute: zenbat eta Brix graduazioa altuagoa izan, orduan eta helduagoak dira sagarrak. Gero, fermentazio alkoholikoaren bilakaera jarraitzeko ere erabili daitezke, azukreak desagertu heinean Brix graduazioa jaisten delako. Brix graduak bi aldiz neurtzen dira lagin bakoitzean.

2.2.2 Dentsitatea

Dentsitatea neurtzeko, **2.5 irudian** agertzen den probeta erabiltzen da, dentsimetro batekin batera. Likidoa probetan isuri eta dentsimetroa barruan sartzen da, dentsitatea neurtzeko. Halaber, muztioaren zein sagardoaren tenperatura ere neurtzen da, dentsitatea tenperaturarekin aldatzen baita. Geroago, kasu bakoitzari dagokion zuzenketa egiten zaio dentsitate guztiak 20 °C-tan emanak geratzeko (**Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, 1993**).



2.5 Irudia. Dentsitatea neurtzeko probeta eta dentsimetroak.

2.2.3 Uhertasuna

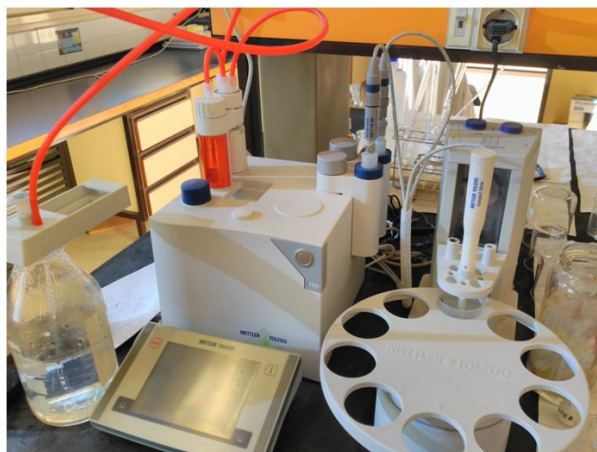
Laginen uhertasuna neurtzeko *HANNA HI 83749-02* (Hanna Instruments S.L., Eibar, Espainia) turbidimetroa erabiltzen da (**2.6 irudia**) eta 10 mL-ko kubeta zilindrikoak. Aparatuak neurtzen du, aldi berean, transmititutako argia 180° -tan, eta dispersatutakoa 90° -tan, eta uhertasuna NTU unitateetan ematen du (*nephelometric turbidity units* edo uhertasun unitate nefelometrikoak). Turbidimetroa kalibratzeko, aparatuarekin datozen lau patroi erabiltzen dira, 0.10, 15, 100 eta 500 NTU-koak. Muztio eta sagardo bakoitzaren uhertasuna bi aldiz neurtzen da.



2.6 Irudia. Uhertasuna neurtzeko turbidimetroa eta honen bialak.

2.2.4 Azidotasan totala, pH-a eta erredox potentziala

Hiru parametro hauek, *T50 METTLER Rondolino* (Mettler-Toledo GmbH, Gießen, Alemania) baloratzaille automatikoarekin neurtzen dira (**2.7 irudia**). Aparatu honek, bi elektrodo ezberdin ditu, bata pH elektrodoa eta bestea erredox elektrodoa. Horretaz gain, bureta ere badauka, balorazioak egiteko. Aparatua programagarria da eta behar diren hiru neurketa hauek era automatikoan egiten ditu. Gainera, karrusel/erretilu birakaria du, bederatzi laginentzako lekuarekin. Lagin bakoitza analizatzeko 50 mL-ko bi alikuota hartzen dira eta baloratzaille bezala NaOH 0.1 M-a erabiltzen da, aldeztatik potasio hidrogeno ftalato patroiarekin normalizatua.



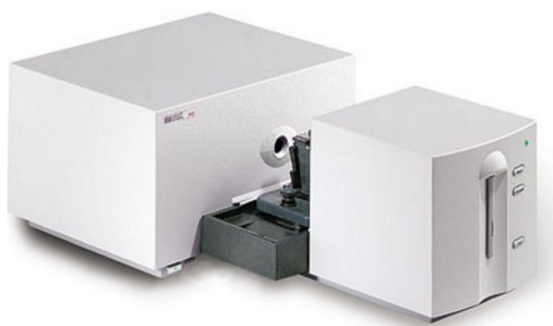
2.7 Irudia. Baloratzaille automatikoa.

2.2.5 Absorbantzia neurketak, 280, 320 eta 420 nm-tan

Absorbantzia hauek neurtzeko, *AGILENT 8453* (Agilent CA, Santa Clara, AEB) ultramore-ikuskorreko espektrofotometroa erabili da, diodo lerrokatuko detektorea duena (**2.8 irudia**). Neurketa bakoitza hiru aldiz egin da.

Absorbantziak 280 eta 320 nm-tan neurtzeko, 1 mL lagin hartu eta 50 mL-ra diluitzen da matrize bolumetrikoko batean. Ondoren, disoluzio honen absorbantzia neurtzen da 10 mm-ko bide optikoa duen kuartzoko kubetan (**García et al., 2005b**).

Bestalde, 420 nm-ko absorbantzia laginarekin zuzenean neurtzen da, diluziorik egin gabe. Detektagailua asetzen bada, bide optiko motzagoko kubeta erabili behar da, diluziorik egin gabe (**Official Journal of the European Union, 1990**).



2.8 Irudia. Erabilitako espektrofotometroa.

2.2.6 Proteinekin hauspeatzeko gaitasuna

Neurketa egin aurretik, honako disoluzio hauek prestatu behar dira:

- **Buffer disoluzioa: azido azetiko 0.20 M/NaCl 0.17 M/pH 4.9.** Hauspeakin ontzi batean 5.7 mL azido azetiko anhidro eta 4.97 g NaCl jarri behar dira, eta ura gehitu, gatza disolba dadin. Ondoren, pH-a doitu egiten da, NaOH disoluzio batekin, 4.9 balorea lortu arte. Azkenik, lortutako disoluzioa 500 mL-ko matrize bolumetrikoko batera isuri eta neurrira eramaten da ur destilatuarekin.
- **Behi-serum albumina disoluzioa: BSA 1 mg/mL.** 250 mL-ko matrize bolumetrikoko batean 250.3 mg BSA jartzen dira, eta neurrira eramaten da buffer disoluzioarekin.
- **Detergentea: SDS % 1 (w/v)/TEA % 5 (v/v)** (SDS: sodio dodezilsulfatoa; TEA: trietanolamina). 5 g SDS eta 25 mL TEA 500 mL-ko matrize bolumetrikoko batean jartzen dira. Gatza disolbatu denean, neurrira eramaten da ur destilatuarekin.
- **Burdin kloruro disoluzio azidoa: FeCl₃ 0.01 M eta HCl 0.01 M.** Hauspeakin ontzi batean, 0.405 g FeCl₃ eta 207 µL HCl % 37 jartzen dira. Ura gehitzen da, gatza disolbatzeko. Ondoren, 250 mL-ko matrize bolumetrikoko batera eramaten da disoluzioa, eta diluitzen da neurriraino ur destilatuarekin. Azkenik, paperezko iragazki batekin filtratu egiten da disoluzioa, grabitatearen bidez.

Saio-hodi batean 1 mL lagin jartzen da eta 2 mL BSA disoluzio gehitzen zaizkio. Bi disoluzioak ongi nahasten dira, saio-hodia estali eta 24 orduz gordetzen da 4 °C-tan. Ondoren, saio-hodia zentrifugatu egiten da, 4200 rpm abiaduran 15 minutuz. Zentrifugatu eta gero, gainean dagoen likidoa baztertu eta, hauspeakinari, 4 mL detergente gehitzen zaizkio. Saio-hodia irabiatzen da, hauspeakina disolbatzeko, eta behin disolbaturik, 1 mL FeCl₃ disoluzio gehitzen zaio, burdin-fenolato konplexua sortzeko. Saio-hodia berriro irabiatu ondoren, 15 minutuz itxaroten da, kolorea guztiz garatu dadin, eta ondoren, absorbantzia 510 nm-tan neurtzen da.

Kuantifikazioa lortzeko, 10 puntuko kalibraketa egiten da, azido tanikoa erabiliz. Horretarako, azido taniko 12 g/L-ko *stock* disoluzioa prestatzen da, eta honetatik, 10 patroï prestatzen dira. Patroi bakoitzari azaldutako metodoa ezartzen zaio. Kalibraketa zuzena lortzeko e zenbakia ber absorbantzia (e^A) azido taniko kontzentrazioarekiko irudikatu behar da eta, minimo karratuen prozeduraren bidez, kalibraketa zuzena atera. Hurrengo taulan (**2.1 taula**) agertzen dira lortutako kalibraketaren ezaugarriak:

2.1 Taula. Azido tanikoko kalibraketaren emaitzak

Kalibraketa tartea, g/L	Malda	Jatorrizko ordenatua	R	N	$S_{y/x}$	LOD, g/L
0.24-2.40	1.187±0.067	(7.994±1.003)·10 ⁻¹	0.9976	10	6.365·10 ⁻²	0.16

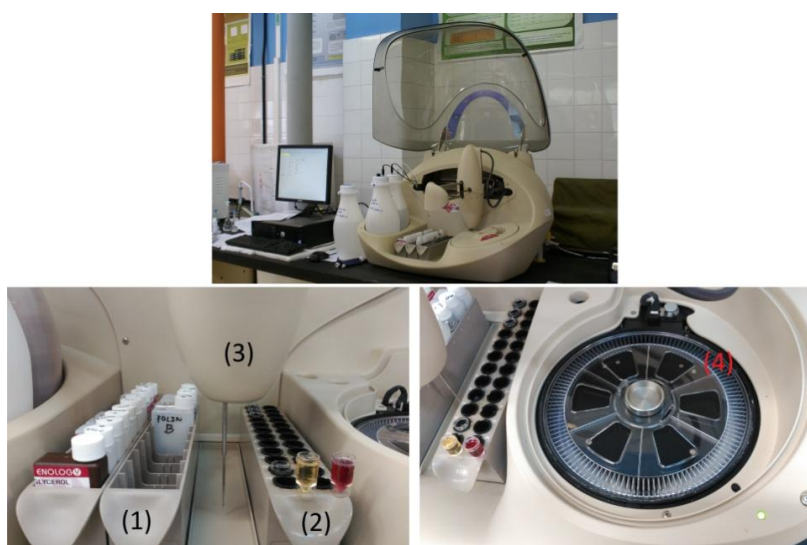
R: erregresio koefizientea N: puntu esperimentalen zenbakia $S_{y/x}$: desbideratze estandarra erregresioarentzat
LOD: detekzio muga

Oharra: jatorrizko metodoan, absorbantzia (A) irudikatzen dute kontzentrazioarekiko, baina guk emaitza hobek lortu ditugu e^A erabilita.

2.3 Azukreak, azidoak eta glizerola

2.3.1 Analizatzaile automatikoa

Atal honetako parametroak, *BioSystems Y-15* (BioSystems S.A, Bartzelona, Espainia) analizatzaile automatikoarekin neurtu dira (**2.9 irudia**).

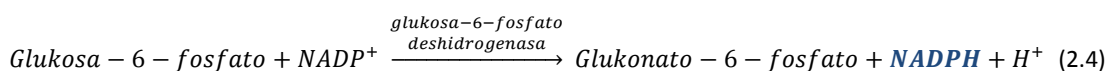
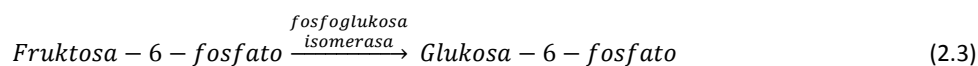
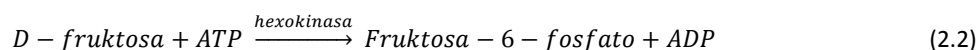
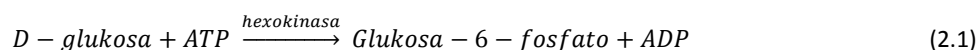


2.9 Irudia. *BioSystems Y15* autoanalizatzailea goian, eta parte adierazgarrienak behean.

Gailu honek, parametro entzimatico eta beste neurketa fisikokimikoak era automatikoan egiteko aukera ematen du. Horretarako, lau erretiluentzako lekua du, non errektiboak (1) edo laginak (2) jar daitezkeen, beharren arabera. Xiringa automatikoak (3) errektiboak eta laginak hartu eta kubetan (4) jartzen ditu, beti ere programa baten arabera. Kubeta hau plastikozkoa da, eta 120 neurketarako putzuak ditu. Denak bete ondoren, garbitu egin daiteke berriro erabiltzeko. Kasu guztietan, absorbantziak neurtzen ditu aparatuak, era batean edo bestean analitoarekiko proportzionalak direnak.

2.3.2 Glukosa, fruktosa eta sakarosa

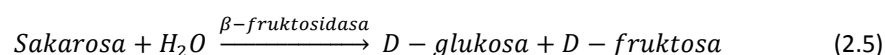
Glukosaren eta fruktosaren determinazioa metodo entzimatiokoaren bidez burutu da (**OIV, 2015a**), hurrengo erreakzioen arabera:



Glukosari edo fruktosari ATP-a (adenosina trifosfatoa) gehitzen zaie (2.1 eta 2.2 ekuazioak), hexokinasa entzimaren presentzian, hauen deribatu fosforilatuak emateko. Bestalde, fruktosa-6-fosfatoa, glukosa-6-fosfato bilakatzen da (2.3 ekuazioa), fosfoglukosa isomerasaren presentzian. Lortutako glukosa-6-fosfatoak, NADP⁺-a (nikotinamida adenina dinukleotido fosfatoa) erreduzitu egiten du NADPH-ra (2.4 ekuazioa), glukosa-6-fosfato deshidrogenasaren presentzian. Lortutako NADPH-ak 340 nm-tan absorbitu egiten du ($\epsilon = 6300 \text{ L}/(\text{mol}\cdot\text{cm})$).

Erabilitako kit entzimaticoa, prest dago analizatzaile automatikoarekin erabilia izateko. Erreakzio entzimatiokoetan erabiltzen diren errektibo edo entzimak, era eraginkorren banatuta daude glukosa soilik determinatzeko edo, aldiz, glukosaren eta fruktosaren batura. Glukosa bakarrik determinatu nahi izanez gero, lortutako NADPH molarki baliokidea izango da lagineko D-glukosarekiko. Alabaina, D-glukosaren eta D-fruktosaren batura determinatuz gero, lortutako NADPH molarki baliokidea izango da lagineko bi azukre hauekiko.

Sakarosaren determinazioari dagokionez, metodo entzimaticoa erabili da (**OIV, 2015b**). Sakarosa hidrolizatu egiten da, β -fruktosidasa entzimaren presentzian, D-glukosa eta D-fruktosa emateko (2.5 ekuazioa):

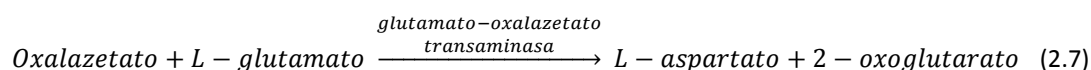
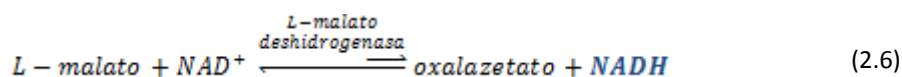


Gero, jarraitutako erreakzio entzimatiakoak aurreko metodoaren berdinak dira. Bukaeran, NADPH-ak ematen duen absorbantzia neurtzen da. Berrero ere, kita prest dago, nahiz izanez gero, sakarosa soilik determinatzeko, edo bestela, hiru azukre nagusien batura.

Prozedura izan da, kasu guztietan, hiru parametroak era independentean kalibratu eta determinatzea. Horretarako, kit bakoitzak kalibraketak egiteko prest dagoen patroia dakar. Alde batetik, D-glukosa soilik eta D-glukosa eta D-fruktosaren batura determinatu da, eta bestetik, sakarosa. Azukre totala hiru azukreen batura bezala determinatu da.

2.3.3 Azido L-maliko

Azido malikoaren determinaziorako, metodo entzimatiakoa aukeratu da **(OIV, 2015c)**. Honako hauek dira determinazioan parte hartzen duten erreakzioak:



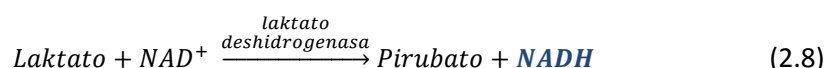
L-malato deshidrogenasa entzimak azido L-maliko oxalazetato bihurtzen du, NAD^+ -aren presentzian, oxalazetato eta NADH-a emateko (2.6 ekuazioa). Erreakzio honen oreka malatoaren aldera lerratuta dago. Haatik, glutamato-oxalazetato transaminasa entzimak, L-glutamatoaren presentzian, orekaren desplazamendua eragiten du, oxalazetatoa eliminatuz eta L-aspartato eta bi 2-oxoglutaratoa emanez (2.7 ekuazioa). Desagertutako L-malatoa molarki baliokidea izango da agertutako NADH-arekiko, zeinek absorbitu egiten duen 340 nm-tan ($\epsilon = 6220 \text{ L}/(\text{mol}\cdot\text{cm})$).

Metodoaren kalibraketa, kit entzimatiakoak dakarren azido L-maliko patroiarekin egiten da.

2.3.4 Azido laktiko totala

Determinazioa burutzeko metodo entzimatiakoa hautatua da **(OIV, 2015d)**, metodo honek bakarrik bereizi ditzakeelako azidoaren bi isomeroak; D isomeroaren presentzia arazoaren seinale izan ahal denez gero, ezinbestekoa da determinatzea.

Honako erreakzio hauetan oinarritzen da azido L eta D-laktikoaren determinazioa:

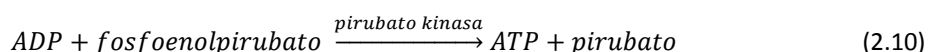
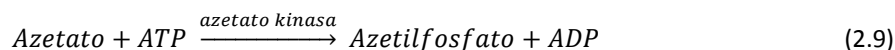


L edo D-laktatoak, dagokion L edo D-laktato deshidrogenasa entzimaren presentzian, NAD^+ -a erreduzitzen du NADH-ra (2.8 ekuazioa), zeinek absorbitu egiten duen 340 nm-tan.

Azido bakoitza determinatzeko, dagokion kit entzimatikoa erabili da. Kalibraketak kitek dakarten patroiekin egin dira. Azido laktiko totala bi isomeroen batura bezala adierazi da.

2.3.5 Azido azetiko

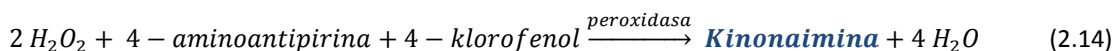
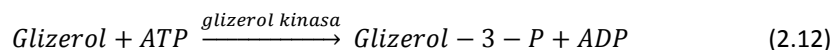
Azido azetiko determinatzeko, kit entzimatikoa erabili da (**BioSystems**), honen erraztasun eta azkartasunagatik. Kit entzimatikoa honetan parte hartzen duten erreakzioak honako hauek dira:



Laginean dagoen azetatoak NADH-a kontsumitzen du adierazitako erreakzioen arabera (2.9, 2.10 eta 2.11 ekuazioak). NADH-ak 340 nm-tan absorbitu egiten du, eta hortaz, honen desagerpena molarki proportzionala da laginaren azetato kontzentraziorekiko. Kalibraketa kit entzimatikoa dakarren patroiarekin egin da.

2.3.6 Glizerola

Glizerola determinatzeko metodo ofizialean oinarrituta dagoen beste metodo entzimatikoa bat erabili da (**BioSystems**). Metodoa, honako erreakzio hauetan oinarritzen da:



Glizerola fosforilatu egiten da, glizerol kinasa entzimaren presentzian, glizerol 3-fosfato eta ADP-a emateko (2.12 ekuazioa). Ondoren, Glizerol 3-fosfatoa oxidatzen da, glizerol 3-fosfato oxidasa entzimaren presentzian, dihidroxiacetona fosfato eta hidrogeno peroxidoa emateko (2.13 ekuazioa). Azkenik, sortutako hidrogeno peroxidoa kuantifikatu egiten da peroxidasa, 4-aminoantipirina eta 4-klorofenol sistema kromogenoarekin (2.14 ekuazioa). Sortutako kinonaimina tindagaiak absorbantzia sendoa du 520 nm-tan. Absorbantzia hau zuzenki proportzionala da laginaren glizerolarekiko. Erabilitako kit entzimatikoa glizerola patroia dakar, zein erabili den kalibraketa erabiltzeko.

2.3.7 Kalibraketen ezaugarriak

Atal honetan egindako neurketa guztiak, BioSystems etxe komertzialak eskuragarri dituen kiten bidez egin dira, zeintzuk prest dauden autoanalizatzailearekin erabiliak izateko. Kit hauek, bermatuta daukate, kasuak kasu, tarte lineala eta detekzio muga.

2.2 Taula adierazten dira talde honetan dauden metodoak, eta etxe komertzialak zehaztutako ezaugarriak:

2.2 Taula. Kit entzimatiakoen kalibraketen ezaugarriak

Parametroa	Muga lineala, g/L	Detekzio muga, g/L
Azido azetiko	1.30	0.03
Glizerola	20.00	0.24
Glukosa	8.00	0.02
Fruktosa	8.00	0.02
Glukosa+fruktosa	8.00	0.01
Sakarosa	4.00	0.08
Azido L (+) laktikoa	3.00	0.02
Azido D (-) laktikoa	1.00	0.02
Azido L (-) malikoa	4.00	0.03

Neurketa bakoitza bi aldiz egin da. Behar izan den kasuetan, laginaren diluzioa egin da. Emaitzetan, neurketen batez bestekoa eta honen desbideratze estandarra adierazten da.

2.4 Indar antioxidatzailea

Atal honetako parametroak ere *BioSystems Y-15* autoanalizatzailearekin neurtu dira. Esan bezala, gailu honek aukera ematen du metodo estandarrek egokitzeko eta era automatikoa neurtzeko.

2.4.1 Folin-Ciocalteu indizea

Parametro hau determinatzeko, metodo estandarra erabili da (**OIV, 2015f**). Eskuz prestatutako Folin-Ciocalteu errektiboa erabili da, *PanReac* (PanReac Química SLU, Castellar del Vallès, Espainia) etxe komertzialak salgai duena diluituz. Alde batetik, 7.5 mL Folin-Ciocalteu errektibo hartu eta 100 mL-ko matrize aforatuan diluitzen dira. Bestetik, 6 g Na₂CO₃ 50 mL-ko beste matrize aforatu batean diluitzen dira.

Autoanalizatzaileari honako programaketa ezartzen zaio: 4 µL lagin edo patroi 400 µL Folin-Ciocalteu errektiboaren disoluzioarekin nahasten dira, eta 200 µL Na₂CO₃ disoluzio gehitzen zaizkio. Hamar minutu itxaron ondoren, absorbantzia 750 nm-tan neurtzen da.

Emaitzak azido galiko eta azido taniko g/L unitateetan adierazi ohi direnez gero, bi konposatu hauen *stock* disoluzioak egin dira. Alde batetik, azido taniko *stock* disoluzioa prestatzen da, 5.020 g/L kontzentraziokoa, eta bestetik, azido galikoko *stock*

disoluzioa, 4.469 g/L-koa. Bi disoluzioak uretan prestatzen dira, 25 mL-ko matraze bolumetrikotan.

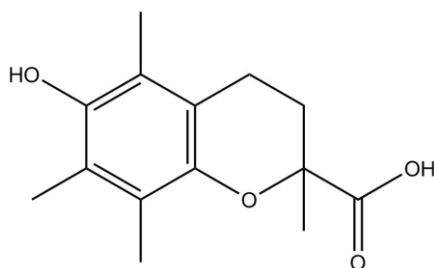
Stock disoluzioetatik abiatuz, 6 puntuko kalibraketa egin da konposatu bakoitzarekin lehen adierazitako prozedura jarraituz.

2.4.2 FRAP saioa

Neurketa burutzeko, honako disoluzioak prestatu dira:

- **a) Azetato tanpoia 300 mM/pH 3.6:** Sodio azetato trihidrato 3.1 g pisatu eta azido azetiko anhidro 16 mL gehitu zaizkio. Ondoren, litro bateko bolumenera eramanez, ur destilatuarekin.
- **b) TPTZ 10 mM/HCl 40 mM** (TPTZ: 2, 4, 6-tripiridil-s-triazina): Ehuneko 37 purutasuneko azido klorhidriko 331 μ L hartu eta 100 mL-tan diluitu dira ur destilatuarekin. Ondoren, TPTZ 0.1562 g pisatu eta 50 mL-tan diluitu dira, prestatu berri den azido klorhidriko disoluzioarekin. Solidoa disolbatzeko ultrasoinuak erabili dira.
- **c) FeCl₃ 20 mM/HCl 10 mM:** FeCl₃·6H₂O 0.2703 g pisatu, eta lehen prestatutako azido klorhidriko disoluzioaren 12.5 mL gehitu zaizkio. Ondoren, 50 mL-tan diluitu dira, ur destilatuarekin.

Lan erreaktiboa a, b eta c disoluzioak 10:1:1 proportzian nahasiz prestatu da. Egunero prestatu beharreko erreaktiboa da. Neurketak burutzeko, metodo originalaren zenbait aldagai egokitu behar izan dira (**Benzie eta Strain, 1996**). Hiru μ L patroia edo lagin eta 300 μ L erreaktibo nahasten dira, eta, lau minutu pasa ondoren, 600 nm-tan lortutako absorbantzia neurtzen da. Indar antioxidatzailea kuantifikatzeko Trolox deritzon konposatua erabili da patroia bezala (**2.10 irudia**).



2.10 Irudia. Trolox-aren egitura molekularra.

Trolox-a (azido 6-hidroxi-2, 5, 7, 8-tetrametilkroman-2-karboxilikoa) E bitaminaren analogoa da, eta konposatu antioxidatzaile estandar bezala erabiltzen da indar antioxidatzailea neurtzen duten hainbat metodotan. Horrela, balorea Trolox mmol/L unitateetan ematen da.

Trolox stock disoluzioa 9.980 mmol/L kontzentrazioan prestatzen da, % 50 etanol kontzentrazioarekin. Beharrezkoa da hasieran etanol purua gehitzea, Trolox-a disolbatu ahal izateko. Stock disoluzio honetatik, 6 patroia prestatzen dira metodoa kalibratzeko.

2.4.3 ABTS saioa

Saioa egiteko behar diren erreaktiboak *Rel Assay Diagnostics* (Gaziantep, Turkia) etxe komertzialari erosi zitzaizkion (**Rel Assay Diagnostics**). Kitak ABTS^{•+} disoluzioa eta neurketak egiteko beharrezkoa den tanpoi disoluzioa dakartza. Neurketak autoanalizatzailean egin ahal izateko honako prozedura erabili da: 4 µL patroia edo lagin 200 µL azetato tanpoi disoluzioarekin nahasten dira. Ondoren, ABTS^{•+} disoluzioaren 25 µL gehitzen dira, eta 5 minutu pasa ondoren, absorbantzia 670 nm-tan neurtzen da.

Metodoa kalibratzeko Trolox-a erabiltzen da, FRAP saioan bezala. Kit komertzialak erabiltzeko prest dagoen Trolox patroia dakarren arren, FRAP metodoa kalibratzeko lehen prestatutako patroiak erabili dira.

2.4.4 Kalibraketaren ezaugarriak

Hurrengo taulan (**2.3 taula**) adierazten dira lortutako kalibraketak eta hauen ezaugarriak.

2.3 Taula. Indar antioxidatzailearen parametroen kalibraketaren emaitzak

Analitoa	Kalibraketa tartea*	Malda	Jatorrizko-ordenatua	R	N	S _{y/x}	LOD*
Azido tanikoa	1.00-5.02	(4.39±0.34)·10 ⁻¹	(5.20±10.3)·10 ⁻²	0.9985	6	5.11·10 ⁻²	0.35
Azido galikoa	0.89-4.47	(5.28±0.52)·10 ⁻¹	(3.36±140)·10 ⁻³	0.9975	6	6.97·10 ⁻²	0.40
FRAP	0.60-3.00	(3.29±0.42)·10 ⁻¹	(1.58±0.76)·10 ⁻¹	0.9958	6	3.78·10 ⁻²	0.34
ABTS	0.60-3.00	(-3.60±0.49)·10 ⁻¹	2.02±0.09	0.9973	6	3.81·10 ⁻²	0.32

R: erregresio koefizientea N: puntu esperimentalen zenbakia S_{y/x}: desbideratze estandarra erregresioarentzat
LOD: detekzio muga *Azidoak g/L unitateetan adierazita; FRAP eta ABTS parametroak Trolox mmol/L unitateetan adierazita.

Neurketa bakoitza gutxienez **hiru aldiz** egin da, eta behar izan diren kasuetan laginen diluzioak egin dira. Emaitzetan, lagin bakoitzaren batez bestekoa eta desbideratze estandarra adierazten dira.

Detekzio mugak (LOD = *Limit Of Detection*) 2.15 ekuazioarekin kalkulatu dira.

$$LOD = \frac{3 \cdot S_{y/x}}{m} \quad (2.15)$$

Hemen, S_{y/x} erregresioaren errorea da, eta m, kalibraketa zuzenaren malda (**Miller eta Miller, 2010**).

2.5 Konposatu lurrinkorrek

Atal honetan, honako konposatu hauek determinatu dira gas kromatografiaren bitartez: akroleina, azetaldehidoa, etanola, etil azetatoa eta metanola.

2.5.1 Gas kromatografoa

Erabilitako kromatografoa, *Agilent HP 6890N*-a da, gar ionizazioko detektorea duena (**2.11 irudia**).



2.11 Irudia. Gas kromatografoa.

2.5.2 Zutabe kromatografikoa

Erabilitako zutabea *Restek-Stabilwax*® (Restek, Bellefonte, AEB) markakoa izan da, modelo zenbakia 10658. Luzera 60 m da, barruko diametroa 0.53 mm eta partikulen diametroa 1.00 μm . Fase egonkorra polietilenglikolekoa da (polarra). Gas eramaile bezala He-a erabili da, fluxu abiadura 7 mL/min-koa izanik (**Mangas et al., 1993**).

2.5.3 Injektorea

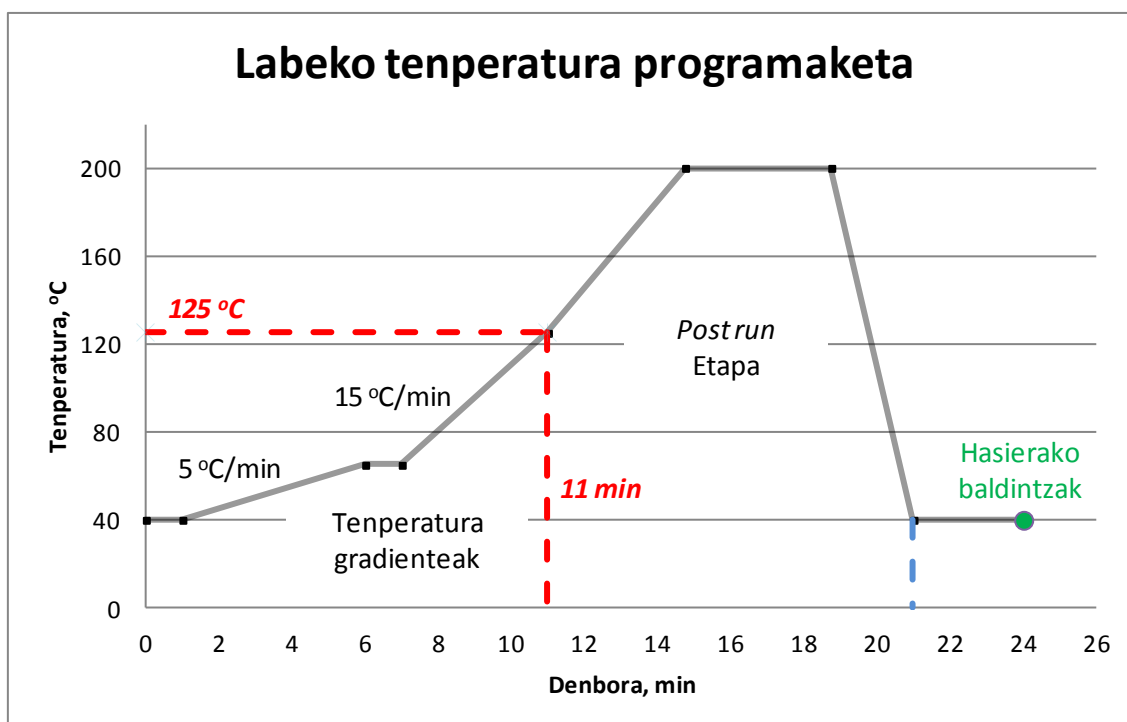
Kromatografoaren injektorea injekzio zatikatuan (*split injection*) programatu da. Temperatura, 200°C-tan jarri da. Presioa, 0.597 bar izan da eta gas fluxu totala, 115 mL/min. Zatiketa erlazioa 15:1 izan da. Bestalde, erabilitako hodi gidaria (*liner*) HP markakoa da, modelo zenbakia 5183-4771, injekzio zatikaturako aproposa.

2.5.4 Gar ionizazioko detektorea

Lan honetan, detektagailua 250 °C-ko tenperaturan jarri da. Hidrogeno erregaiaren fluxua 40 mL/min izan da eta, aire fluxua, 450 mL/min. Azkenik, gas laguntzailea bezala N₂-a erabili da, 20 mL/min fluxuarekin.

2.5.5 Labea

Labeko temperatura programaketa **2.12 irudian** adierazten da. Hasierako temperatura 40 °C-koa da. Temperatura hau minutu batez mantendu ondoren, 5 °C/min gradientearekin igotzen da 65 °C-tara ailegatu arte. Hemen, temperatura beste minutu batez mantentzen da. Ondoren, 15 °C/min gradientearekin 125 °C-tara igotzen da. Kromatogramak puntu honetaraino erregistratzen dira (lerro eten gorri batez adierazita). Beraz, 11 minutu ditu kromatograma bakoitzak.



2.12 Irudia. Gas kromatografoaren labeko programaketa.

Ondoren, "post run" deritzon etapa egiten da, non gainerako konposatuak, interesik ez dutenak, eluitu egiten diren. Labearen temperatura 200 °C-tara igotzen da, gailuak uzten duen abiadura azkarrean. Lau minutuz mantentzen da temperatura hau, eta ondoren, hasierako 40 °C-tara jaisten da, aparatuak temperatura jaisteko duen abiadurarik azkarrean. Behin hasierako temperatura lortuta (lerro eten urdina), 3 min-ko denbora uzten zaio labeari, temperatura homogeneizatzeko, eta kromatografoa berriro prest geratzen da hurrengo injekzioarako. Guztira, injekzio batetik bestera itxaron beharreko denbora 24 min dira.

2.5.6 Kalibraketan ezaugarriak

Analitoak identifikatzeko hauen atxikipen denbora erabili da. Hortaz, alde aurretik ezinbestekoa da etanol, azetaldehido, akroleina, etil azetato eta metanol patrioiak injektatzea, eta hauen atxikipen denbora determinatzea. Analitoak kuantifikatzeko, gailurren azalera erabili dira, eta **barne patrioiaren** metodoa. Helburu honetarako,

azetonitriloa hautatu da barne patroitzat, izan ere, edari alkoholdunetan ez dagoen konposatua da, eta hortaz, baliagarria da helburu honetarako (**Wang et al., 2003**).

Hurrengo taulan (**2.4 taula**) laburbiltzen dira erabilitako *stock* disoluzioen kontzentrazioak eta, metodoaren baldintzetan, lortutako atxikipen denborak.

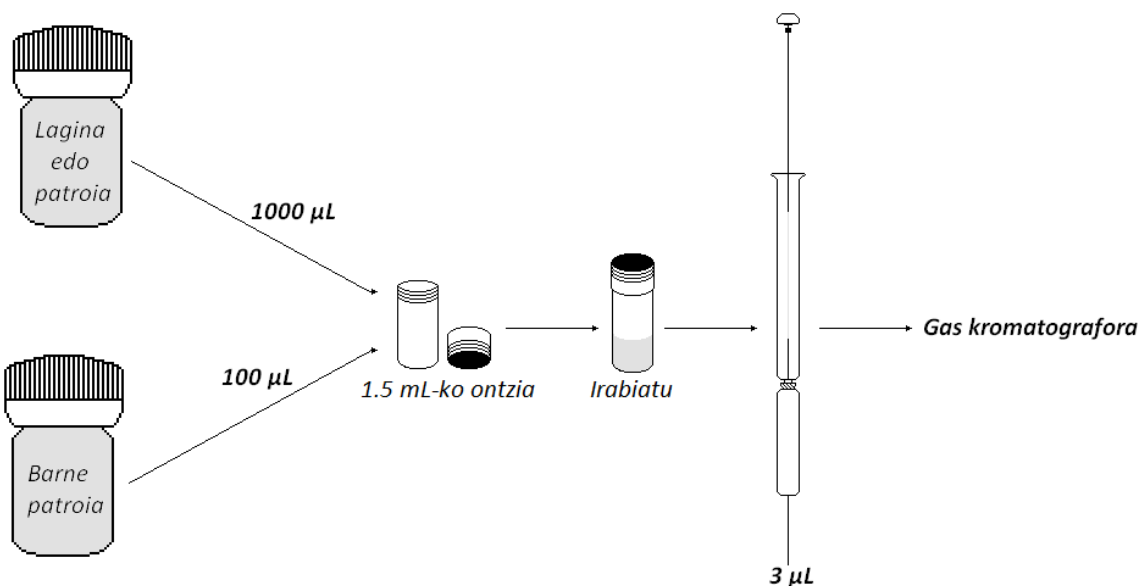
2.4 Taula. Gas kromatografiako *stock* disoluzioen ezaugarriak

Konposatua	Kontzentrazioa, mg/L	Atxikipen denbora, min
Azetaldehidoa	1710	3.554
Akroleina	1560	4.686
Etil azetatoa	3950	5.095
Metanola	4515	5.415
Etanola	50*	5.969
Azetonitriloa	781	7.482

*etanola, % (v/v) unitateetan.

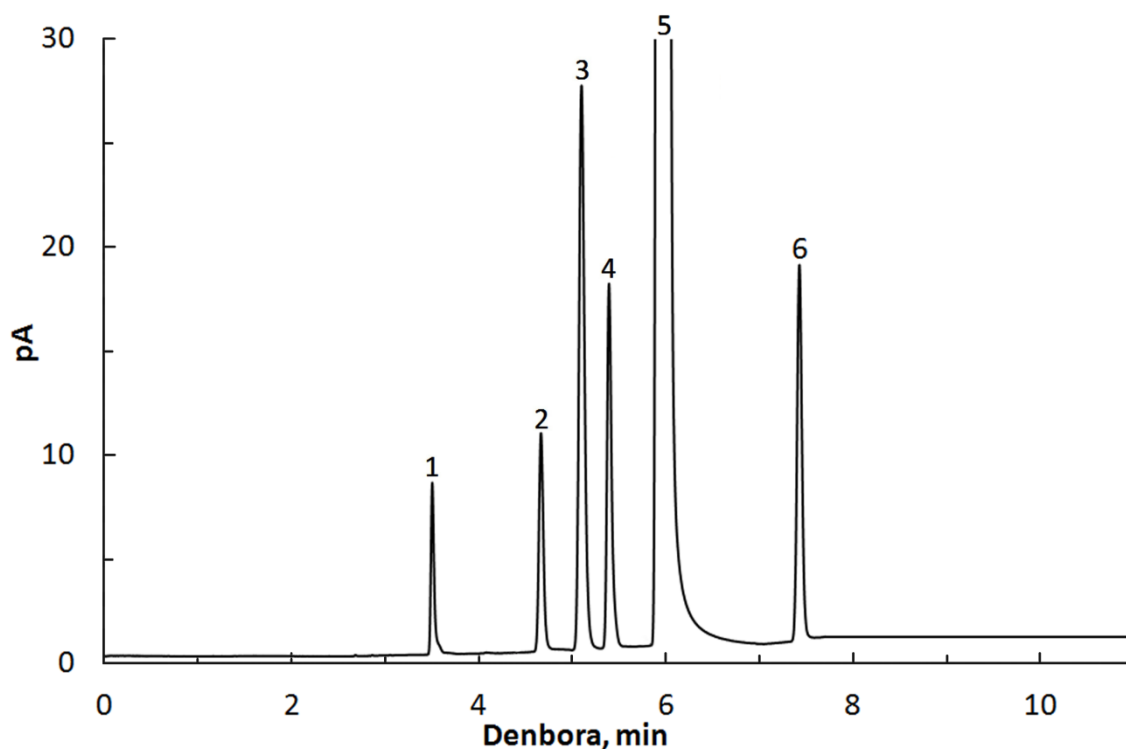
Stock disoluzioak injektatu ostean, analitoen kalibraketak egiten dira. Guztira, 8 patroi prestatu dira, aipatutako *stock* disoluzioen diluzioak eginez. Patroi bakoitzean, 5 analitoen kontzentrazio ezberdinak sartu dira, betiere era aleatorioan. Patroi guztiak hiru aldiz injektatu dira, kalibraketen sendotasuna handitzeko.

Patroiak eta laginak gas kromatografoan injektatzeko jarraitutako prozedura **2.13 irudian** adierazten da.



2.13 Irudia. Gas kromatografoa injektatzeko jarraitutako prozeduraren eskema.

Mila µL lagin edo patroia hartzen dira, eta 1.5 mL-ko plastikozko ontzi batean isuri egiten dira. Jarraian, 100 µL barne patroia hartu eta isuritako lagin edo patroia gehitzen zaizkio. Tapa itxi eta ontzia irabiatu egiten da. Azkenik, 5 µL-ko xiringarekin 3 µL hartzen dira, sandwich moduan, eta gas kromatografoan injektatu dira. **2.14 Irudian** adierazten da, adibide bezala, patroia baten kromatograma, 5 analitoak eta barne patroia dituenak.



2.14 Irudia. Gas kromatografiako patroia baten kromatograma. 1, azetaldehidoa; 2, akroleina; 3, etil azetatoa; 4, metanola; 5, etanola; 6, azetonitriloa (barne patroia).

Lortutako kalibraketen ezaugarri nagusiak **2.5 taulan** jasotzen dira.

2.5 Taula. Gas kromatografiako parametroen kalibraketen emaitzak

Konposatua	Kalibraketa tarte, mg/L	Malda	Jatorri-ordenatua	R	N	$S_{y/x}$	LOD, mg/L
Azetaldehidoa	5.0-60.0	$(4.14 \pm 0.36) \cdot 10^{-3}$	$(1.53 \pm 0.52) \cdot 10^{-2}$	0.9976	8	$6.24 \cdot 10^{-3}$	4.52
Akroleina	8.0-80.0	$(1.28 \pm 0.06) \cdot 10^{-2}$	$(-1.53 \pm 2.38) \cdot 10^{-2}$	0.9969	8	$2.96 \cdot 10^{-2}$	6.97
Etil azetatoa	4.5-70.1	$(1.10 \pm 0.03) \cdot 10^{-2}$	$(-1.31 \pm 1.28) \cdot 10^{-2}$	0.9990	8	$1.29 \cdot 10^{-2}$	3.50
Metanola	8.0-199.9	$(9.98 \pm 0.48) \cdot 10^{-3}$	$(2.20 \pm 2.66) \cdot 10^{-2}$	0.9993	8	$2.50 \cdot 10^{-2}$	7.50
Etanola	0.5-7.0*	$(1.11 \pm 0.04) \cdot 10^2$	-2.01 ± 14.9	0.9982	8	$1.59 \cdot 10^1$	0.43*

R: erregresio koefizientea N: puntu esperimentalen zenbakia $S_{y/x}$: desbideratze estandarra erregresioarentzat

LOD: detekzio muga

*Etanolaren kontzentrazioa % (v/v) unitateetan dago

Detekzio mugak kalkulatzeko $3S_{y/x}/m$ formula erabili da berriro.

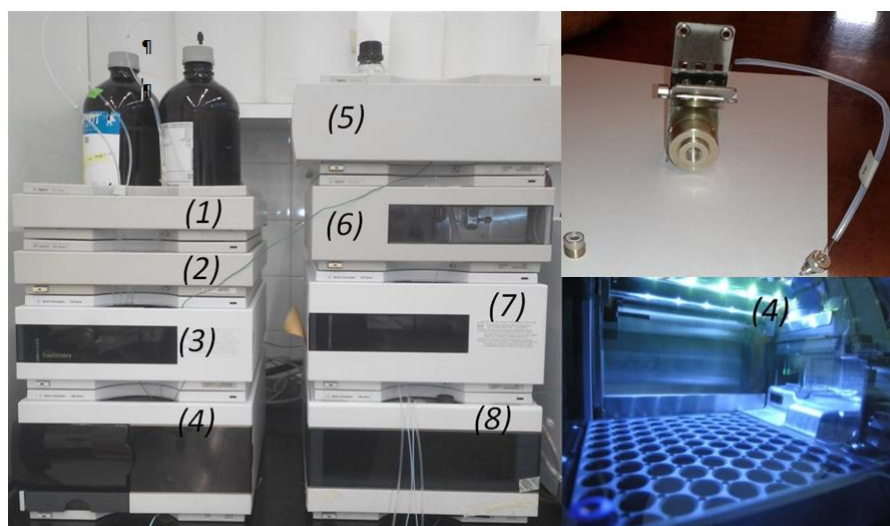
Kalibraketak osatu ondoren, muztio eta sagardo laginak sartzen dira gas kromatografoan. Patroiekin egin den legez, laginak ere era aleatorioan injektatu dira, inolako alborapenik ekiditeko. Lagin bakoitza **hiru aldiz** injektatu da, batez bestekoa eta desbideratze estandarra kalkulatu ahal izateko.

2.6 Polifenolak

Atal honetan 25 polifenol determinatu dira bereizmen handiko likido kromatografiaren (HPLC) bitartez.

2.6.1 Likido kromatografoa

Lan honetan erabilitako likido kromatografoa *Agilent 1100 Series* izan da (**2.15 irudia**).



2.15 Irudia. Likido kromatografoa. Goian, eskuinean, honen fluxuzko neurketa kubeta.

Honek, honako zati hauek ditu: (1) fase mugikorraren plataforma, (2) desgasifikadorea, (3) ponpa kuaternarioa, (4) lagin hartzaile automatikoa (*autosampler*), (5) zutabe kromatografikoaren gordelekua, (6) diodo lerrokatuen UV-ikuskor detektagailua, (7) errefrakzio indizearen detektagailua eta (8) frakzio biltzailea.

Lagin hartzaile automatikoak 100 laginentzako lekua du erretiluan, eta programatu daiteke denak segidan injektatzeko. Honek asko erraztu digu polifenolen analisia, kromatogramak ordu eta erdikoak zirelako eta aukera eman digulako gauzez ere lan egiteko.

Polifenolen bereizmena gauzatzeko (**Suárez et al., 2005**) artikuluan proposatutako metodoa jarraitu da.

2.6.2 Zutabe kromatografikoa

Polifenolak bereizteko erabilitako zutabea *Nucleosil*[®] (Macherey-Nagel, Düren, Alemania) markakoa izan da, 120-3 C_{18} modelo (**2.16 irudia**). Luzera 250 mm da, barruko diametroa 4.6 mm eta partikulen diametroa 3 μm . Fase egonkorra oktadeziloarekin funtzionalizatutako silizea da (apolarra). Zutabeari aurrezutabe bat ezarri zaio, eta biak kromatografoan kokatu egin dira. Konpartimendua 30°C-tan termostatizatu da.

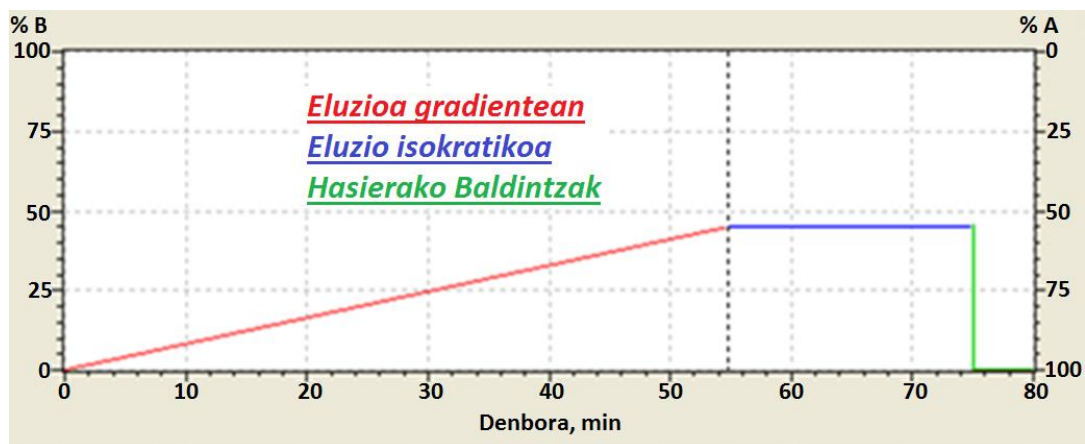


2.16 Irudia. Erabilitako zutabe kromatografikoa. Ezkerrean, aurrezuta-bea.

2.6.3 Injekzioa eta eluzio programa

Lagin edo patroi bakoitzetik 50 μL injektatzen dira kromatografoan. Injekzio batetik bestera, xiringaren punta urarekin garbitzen da modu automatikoan. Fase mugikor gisa bi eluitzaile erabili dira: A, azido azetiko disoluzioa % 2 (v/v) uretan, eta B, metanol purua (Suárez et al., 2005). Beraz, alderantzizko fasean egin dugu lan. Emaria 0.8 mL/min izan da.

Eluzioa 2.17 irudian agertzen den programaren arabera burutu da.



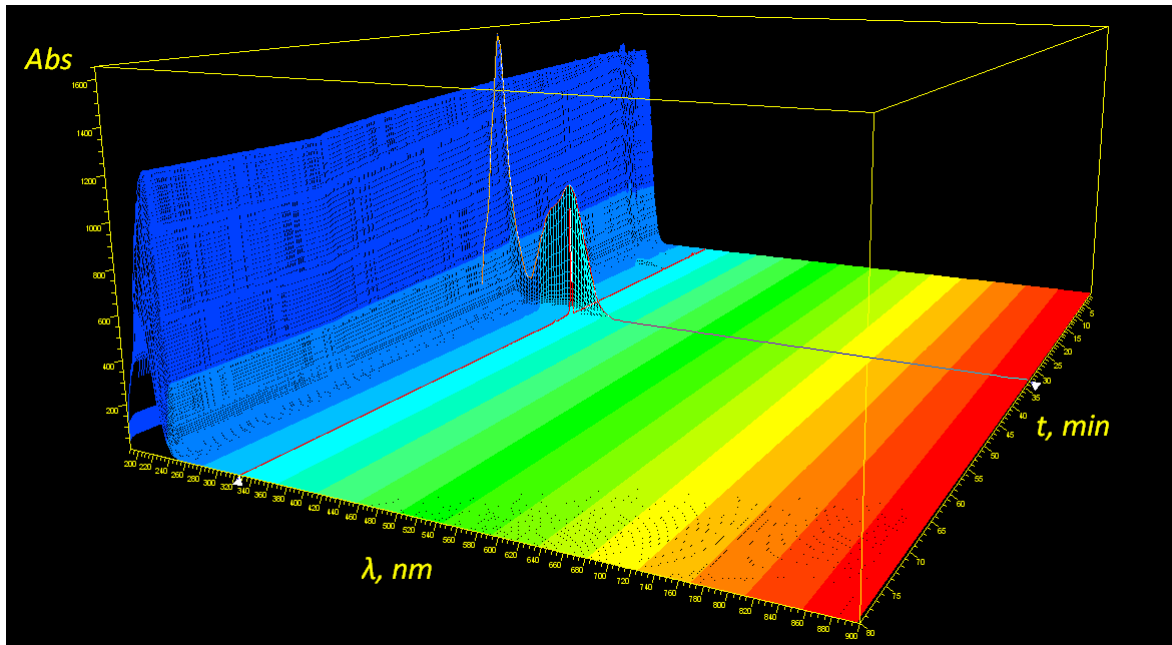
2.17 Irudia. Erabilitako eluzio programa.

Hasieran fase mugikorra A disoluzioaz osatuta dago. Ondoren, metanolean aberastu egiten da, linealki, % 0-tik % 45 arte (eluzioa gradientean). Lortutako fase mugikorraren konposizioa 20 minutuz mantentzen da (eluzio isokratikoa), eta azkenik, hasierako baldintzetara itzularazten da, hots, fase mugikorra azido azetiko disoluzioaz guztiz osatuta (hasierako baldintzak). 5 min-ko denbora uzten zaio kromatografoari, emaria homogeneizatzeko, eta kromatografoa berriro prest geratzen da hurrengo injekzioarako. Guztira, injekzio batetik bestera itxaron beharreko denbora 80 min dira.

2.6.4 Polifenolen kuantifikazioa

Polifenolen identifikazioa hauen atxikipen denborarekin eta ultramore-ikuskor espektroarekin lortu da. Horretarako, polifenolen stock disoluzioak prestatu egin dira, eta, banaka injektatu ondoren, atxikipen denbora lan baldintzetan determinatu da, espektroa erregistratzearekin batera. Aipatu behar da ama disoluzioak etanol % 90 (v/v) kontzentrazioan egin direla, ia gehienak, polifenolak ez baitira oro har nahiko disolbagarriak uretan. Honekin batera, disoluzio orori azido askorbikoa gehitu zaie, % 1 (w/v) kontzentrazioan, polifenolen oxidazioa ahalik eta gehien ekiditeko.

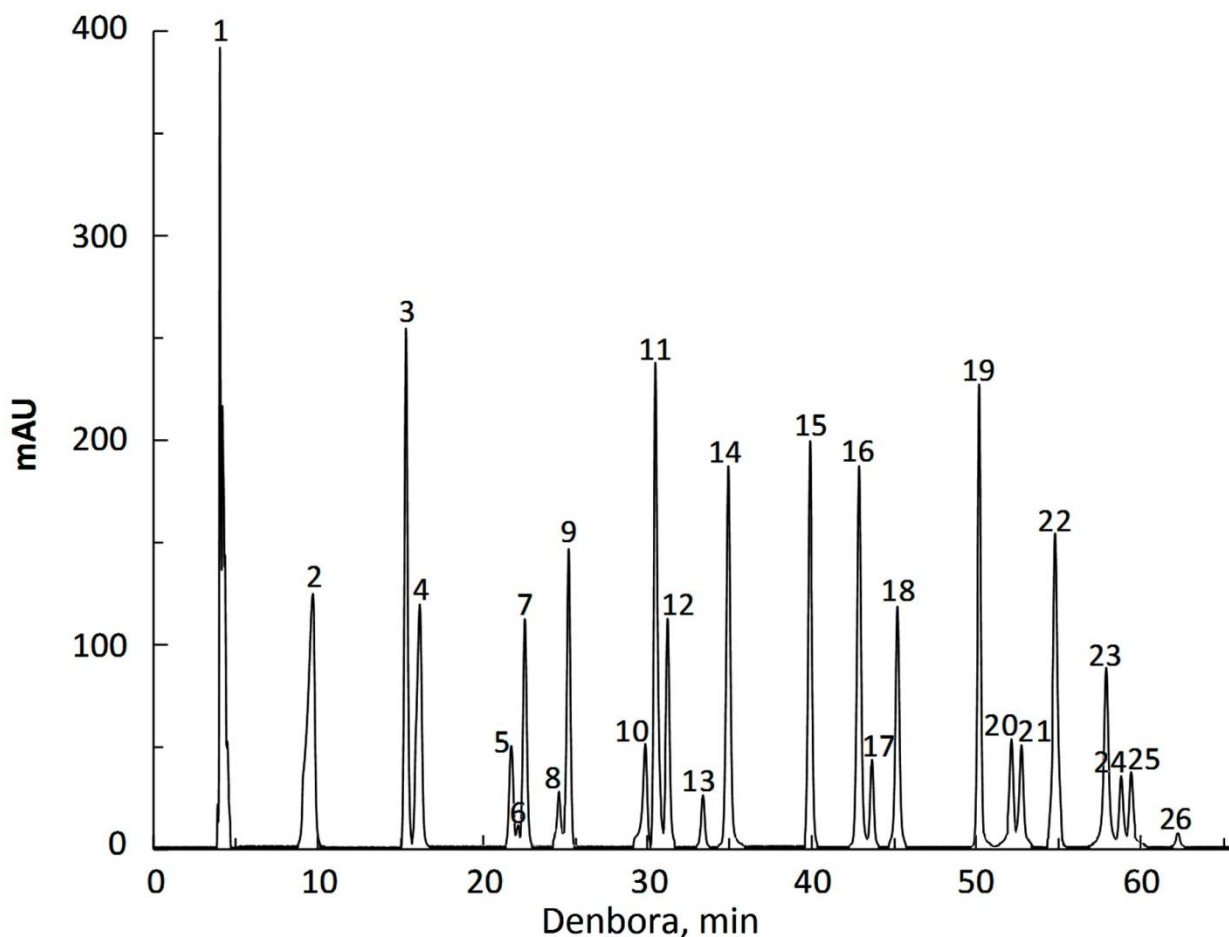
Erabilitako diodo lerrotatuko detektagailuak 100 nm-tik 900 nm-ra doan uhin luzera tartearen erregistra dezake, eta, hasiera batean, horrela egiten da polifenol disoluzio bakoitzarekin, ultramore-ikuskor espektroetako liburutegia osatuz. Adibide bezala, **2.18 irudian** adierazten da azido klorogenikoaren *stock* disoluzioarekin lortutako hiru dimentsioko kromatograma.



2.18 Irudia. Azido klorogenikoaren hiru dimentsioko kromatograma.

Kromatografoaren *softwarearekin*, *Agilent Technologies ChemStation for LC 3D Rev. B.04.02* [96], posiblea da polifenol bakoitzaren absorbantzia maximoa ikusita, uhin luzera horri dagokion kromatograma atera eta, horrekin, lan egitea. Hau da, polifenolaren kalibraketa eta kuantifikazioa sentsibilitate maximoarekin burutu. Haatik, polifenol guztiek, nahiz eta familia berdinekoa izan, absorbantzia maximo ezberdina dute. Beraz, prozedura honek suposatuko luke, lagin bakoitzeko hainbat kromatograma izatea, bat aukeratutako uhin luzera bakoitzeko. Kontuan izanda hogeit hamar polifenol baino gehiago determinatzea dugula xede, lana gehiegi konplikatu litzateke.

Hori saihesteko, polifenol guztien absorbantzia maximoa determinatu ondoren, hiru uhin luzera hauetan lan egitea erabaki da, hots, 280 nm, 313 nm eta 355 nm-tan. Beraz, lagin bakoitzeko hiru kromatograma erregistratu dira, bat uhin luzera bakoitzean. Adibide bezala, **2.18 irudian** kromatograma bat erakusten da, determinatutako polifenol guztiekin.



2.18 Irudia. Patroi guztiak banaka injektatuz eta seinaleak batuz lortutako kromatograma. Kasu honetan, erabilitako uhin luzera 280 nm-koa izan zen. 1 azido askorbikoa; 2, azido galikoa; 3, katekola; 4, azido protokatekuikoa; 5, tirosola; 6, prozianidina B1; 7, azido *p*-hidroxibentzoikoa; 8, azido hidrokafeikoa; 9, (+)-katekina; 10 prozianidina B2; 11 azido klorogenikoa; 12, azido kafeikoa; 13, (-)-epikatekina; 14 azido 4-*p*-kumaroilkinikoa; 15, azido *p*-kumarikoa; 16, 4-etilkatekola; 17, azido *trans*-ferulikoa, 18, prozianidina B5; 19 floretin 2'-*O*-xiloglukosidoa; 20, floridzina; 21, hiperina; 22, isokertzitrina; 23, abikularina; 24, 4-etilfenol; 25, kertzitrina; 26, 4-etilguaiakol.

2.6 Taulan adierazten dira determinatutako polifenolak, *stock* disoluzioen kontzentrazioa, lortutako atxikipen denbora lan baldintzetan eta uhin luzera analitiko. Dena dela, adierazitako atxikipen denborak *stock* disoluzioenak dira eta ez dira zertan berdinak izan patroi edo laginetan, etanol kontzentrazio ezberdinak dituztelako.

2.6 Taula. Injektatutako *stock* disoluzioen ezaugarriak

Polifenola	<i>Stock</i> disoluzioa, g/L	Etanola, % (v/v)	Atxikipen denbora, min	Uhin luzera, nm
Azido galikoa	6.696	90	9.287	280
Katekola	2.020	90	14.531	280
Azido protokatekuikoa	3.927	90	15.281	280
Tirosola	4.998	90	21.461	280
Prozianidina B1	0.056	6	22.484	280
Azido <i>p</i> -hidroxibentzoikoa	4.020	90	22.533	280
Azido hidrokafeikoa	7.526	90	23.244	280
(+)-katekina	5.010	90	24.559	280
Prozianidina B2	0.026	6	29.146	280
Azido klorogenikoa	12.274	90	30.198	280
Azido kafeikoa	5.018	90	30.549	313
(-)-epikatekina	9.936	90	33.336	280
Azido 4- <i>p</i> -kumaroilkinikoa	0.106	6	34.274	313
Azido <i>p</i> -kumarikoa	3.250	90	39.617	313
4-etilkatekola	1.976	90	42.926	280
Azido <i>trans</i> -felurikoa	1.497	90	43.671	313
Prozianidina B5	0.010	6	45.386	280
Floretin 2'- <i>O</i> -xiloglukosidoa	0.113	6	50.504	280
Floridzina	4.992	90	52.663	280
Hiperina (hiperosidoa)	0.501	90	53.860	355
Isokertzitrina	0.504	90	54.402	355
Abikularina	0.003	6	57.920	355
4-etilfenola	0.018	6	58.709	280
Kertzitrina	0.002	6	59.289	355
4-etilguaiakola	0.001	6	62.260	280

Behin atxikipen denbora eta ultramore-ikuskor espektroak erregistratuak, patrioiak prestatu dira, *stock* disoluzioetatik abiatuta, kalibraketak egiteko. Patrioetan ez dira polifenol guztiak nahastu gainezarpenak saihesteko, izan ere, bereizmena ez da behar bezalakoa kasu guztietan.

Horregatik, polifenolak hiru multzotan banatu dira, eta multzo bakoitzarekin bost puntuko kalibraketak egin dira. Kasu guztietan, patrioiek % 6 inguruko etanol kontzentrazioa dute, ohiko sagardo batek adinakoa, eta azido askorbikoa % 1 inguruko kontzentrazioan. Bestalde, urdinez markatutako polifenolak oso garestiak direnez, puntu bakar batera kalibratu dira, *stock* disoluzioa zuzenean hiru aldiz injektatuz. Kalibratuak osatzeko, polifenol bakoitzaren gailur kromatografikoaren azalera erabiltzen da.

Hurrengo taulan (2.7 taula) laburbiltzen dira lortutako kalibraketa guztien ezaugarriak.

2.7 Taula. Likido kromatografiako parametroen kalibraketen emaitzak

Konposatua	Kalibraketa tarte, mg/L	Malda	Jatorri-ordenatua	R	N	$S_{y/x}$	LOD, mg/L
Azido galikoa	1.34-9.37	158±1	-9±9	1.000	5	3.007	0.06
Katekola	0.81-6.46	60±2	-2±8	1.000	5	2.910	0.14
Azido protokatekuikoa	0.79-5.10	84±4	6±14	1.000	5	4.687	0.17
Tirosola	2.00-30.0	33.6±0.2	-2±3	1.000	5	1.350	0.12
Prozianidina B1	2.22-55.6	22.80	0.00	-	3	16.89	2.22
Azido <i>p</i> -hidroxibentzoikoa	0.10-6.03	90±2	0.3±7.0	1.000	5	2.971	0.10
Azido hidrokafeikoa	3.01-60.2	46.0±0.9	-17±33	1.000	5	12.92	0.84
(+)-katekina	4.01-30.1	39±1	-13±18	1.000	5	6.219	0.48
Prozianidina B2	0.21-26.6	23.52	0.00	-	3	1.678	0.21
Azido klorogenikoa	49.10-675	76±4	630±1825	0.999	5	690.6	27.2
Azido kafeikoa	4.01-60.2	272±3	-63±112	1.000	5	42.35	0.47
(-)-epikatekina	19.87-199	43±1	-77±133	1.000	5	49.52	3.48
Azido 4- <i>p</i> -kumaroilkinikoa	0.30-105.8	149.99	0.00	-	3	4.384	0.30
Azido <i>p</i> -kumarikoa	0.65-6.50	414±21	-42±86	1.000	5	31.24	0.23
4-etilkatekola	7.90-158	62.2±0.3	-38±27	1.000	5	11.39	0.55
Azido <i>trans</i> -felurikoa	0.60-5.99	270±8	-11±30	1.000	5	11.48	0.13
Prozianidina B5	0.18-10.2	33.52	0.00	-	3	2.062	0.18
Floretin 2'- <i>O</i> -xiloglukosidoa	0.93-112.6	47.45	0.00	-	3	14.75	0.93
Floridzina	3.99-49.9	111±2	-24±47	1.000	5	19.68	0.53
Hiperina (hiperosidoa)	0.20-2.00	100±2	-1±3	1.000	5	0.940	0.03
Isokertzitrina	0.20-2.02	99±7	-7±9	0.999	5	3.206	0.10
Abikularina	0.05-2.60	194.27	0.00	-	3	3.160	0.05
4-etilfenola	0.10-17.5	43.79	0.00	-	3	1.514	0.10
Kertzitrina	0.05-1.80	108.89	0.00	-	3	1.664	0.05
4-etilguaiakola	0.07-1.00	46.60	0.00	-	3	1.093	0.07

R: erregresio koefizientea N: puntu esperimentalen zenbakia $S_{y/x}$: desbideratze estandarra erregresioarentzat
LOD: detekzio muga

Kalibraketak amaitu ondoren, polifenolen determinazioari ekin zaio. Muztio eta sagardo lagin bakoitza bi aldiz injektatu da kromatografoan, beti ere era aleatorioan. Horrela, lagin bakoitzarentzat emaitzen batez bestekoa eta desbideratze estandarra adierazten dira.

2.7 Emaitzak

Atal honetan aipatutako parametro fisikokimikoen baloreak eta konposatuen kontzentrazioak bukaerako **eranskinean** jasotzen dira.

2.8 Erreferentziak

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.

BioSystems, Reagents & Instruments. Barcelona, Spain. Reagents enology/enzymatic. <http://www.biosystems.es>. (last access: 2016/10/25).

García, J., Xirau, M., Azorín, R. (2005a). Técnicas usuales de análisis en enología. Panreac Química S.A, Barcelona (Spain). Chapter 2: Grado Alcohólico Probable en Mosto, 9-14.

García, J., Xirau, M., Azorín, R. (2005b). Técnicas usuales de análisis en enología. Panreac Química S.A, Barcelona (Spain). Chapter 12: Polifenoles Totales, 42-44.

Mangas, J., González, M. P., Blanco, D. (1993). Influence of cider-making technology on low-boiling-point volatile compounds. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und –Forschung* 197, 522-524.

Miller, J. N., Miller, J. C. (2010). *Statistics and chemometrics for analytical chemistry* (6th ed.). Pearson Education, London (UK). Chapter 5: Calibration methods in instrumental analysis: regression and correlation, 110-153.

Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. (1993). *Métodos oficiales de análisis*. Tomo II. Vinos y Mostos, Anís, Sidras, Orujos, Heces y Lías, Vinagres, Whisky, Ginebra, Ron, Cerveza. Ed. Mapa, Madrid (Spain). Chapter 1: Masa volúmica a 20°C y densidad relativa 20°C/20°C.

Official Journal of the European Union. (1990). Commission Regulation (EEC) No 2676/90 of 17 September 1990 determining Community methods for the analysis of wines, 1-192

OIV. (2015a). *Compendium of international methods of wine and must analysis*. Vol 1. International Organisation of Vine and Wine. Paris (France). OIV-MA-AS311-02.

OIV. (2015b). *Compendium of international methods of wine and must analysis*. Vol 1. International Organisation of Vine and Wine. Paris (France). OIV-MA-AS311-03.

OIV. (2015c). *Compendium of international methods of wine and must analysis*. Vol 1. International Organisation of Vine and Wine. Paris (France). OIV-MA-AS313-11.

OIV. (2015d). *Compendium of international methods of wine and must analysis*. Vol 1. International Organisation of Vine and Wine. Paris (France). OIV-MA-AS313-07.

OIV. (2015e). *Compendium of international methods of wine and must analysis*. Vol 1. International Organisation of Vine and Wine. Paris (France). OIV-MA-AS312-05.

OIV. (2015f). Compendium of international methods of wine and must analysis. Vol 1. International Organisation of Vine and Wine. Paris (France). (OIV-MA-AS2-10).

Rel Assay Diagnostics®, clinical chemistry solutions. Gaziantep, Turkey. <http://relassay.com/?sf=3&M=4&IDetay35=25>. (last access: 2016/10/25).

Suárez, B., Palacios, N., Fraga, N., Rodríguez, R. (2005). Liquid chromatographic method for quantifying polyphenols in ciders by direct injection. *Journal of Chromatography A*, 1066, 105-110.

Wang, M. L., Choong, Y. M., Su, N. W., Lee, M. H. (2003). A rapid method for determination of ethanol in alcoholic beverages using capillary gas chromatography. *Journal of Food and Drug Analysis* 11, 133-140.

3. Kapitulua

Sagardo kanpainak

Kapitulu honetan, sagardoak ekoizteko egindako lana azalduko da, hots, sagar bilketa, prentsaketak, hartzidurak eta, oro har, sagardogintza lan guztia. Honekin batera, lortutako sagardo monobarietalen deskribapen organoleptiko laburra emango da.

3.1 Lehenengo uzta: 2012

3.1.1 Sagar bilketa

Kanpaina honetan, honako sagar hauek aztertzea erabaki zen: Gezamina, Goikoetxea, Moko, Txalaka, Urtebi Haundi eta Urtebi Txiki (**3.1 irudia**). Sagarrak, Gipuzkoako Foru Aldundiak daukan lursailean jaso ziren. Lursail honek Zubieta du izena, eta Hondarribian kokatuta dago (**3.2 irudia**).



Gezamina



Goikoetxea



Moko



Txalaka



Urtebi Haundi



Urtebi Txiki

3.1 Irudia. Lehenengo kanpainaren sagar aleak.



3.2 Irudia. Sagar bilketa Zubieta lursailean (Hondarribia, Gipuzkoa).

Lehenengo urte honetan, sagarrak lursail horretako langileek jaso eta plastikozko zakuetan gorde zizkiguten. Bertan, bi egunez gorde ziren prentsatu aurretik. Izan ere, ezinezkoa zitzaigun egun berean sagarrak jaso eta prentsatzea, erabili beharreko prentsa ez baitzegoen gure esku momentu horretan.

Sagar mota bakoitzetik 300 bat kg jaso ziren. Kontuan izanik prentsa bakoitzak errendimendu ezberdina duela eta, orokorrean, prentsa profesional batean % 60-80ko errendimendua lortzen dela (**Jolicoeur, 2013**), hartutako sagar kantitatearekin nahikoa izan behar zuen gure helbururako. Alde batetik, barietate bakoitzarekin, 150 L-ko altzairu oxidaezinezko kupelak bete nahi genituen, eta bestetik, 20 L-ko plastikozko ontziak. Azken hauek, beharrezkoak dira aurrerago egiten den ontzi-aldaketa prozesuan (*trasegua*), izan ere, eragiketa honetan muztioa galtzen da eta beharrezkoa da kupela berriro betetzea.

3.1.2 Hasierako neurketak

Sagarren prentsaketarekin hasi aurretik, aproposa da sagar horien heldutasun mailaren ideia orokorra izatea. Horretarako, sagar lagin batzuk hartu eta fruituen gogortasuna eta muztioen Brix graduak neurtu ziren. Honi gehituta, iodoaren froga burutu zen sagarretan.

3.1.3 Sagarren prentsaketa

Sagarren muztioak 2012ko irailaren 27an eta 28an lortu ziren. Horretarako, sagar zakuak Doneztebe herrira (Nafarroa) eraman behar izan genituen. Hemen, Nafarroako Foru Aldundiak duen *Juansenea Etxean*, eskuragarri zegoen gure beharretarako aproposa den prentsa. Zehazki, *Bucher Vaslin* (Chalonnnes-sur-Loire, Frantzia) markako prentsa horizontala zen, platerduna, 300 hL-ko edukiera zuena.

Prentsari erantsita, sagarrak urarekin garbitzeko eta zuzenean prentsara bideratzeko muntaia jarri zen (**3.3 irudia**). Sagarrak urez beteta dagoen ontzian jartzen dira (1). Hemen, pilatzen diren heinean, torloju amaigabe batek gorantz bultzatzen ditu (2). Sagarrak igo ahala, urarekin garbitzen dira (3) eta azkenik, prentsaren toberan erortzen dira (4). Bertan, matxakak (birringailuak) sagarrak txikitzen ditu eta zatitxoak prentsan erortzen dira (5), non prentsatu egiten diren.



3.3 Irudia. Sagar zukuak lortzeko antolatutako muntaia.

Sagar barietate bakoitza banaka prentsatu zen, eta prentsa zein muntaia osoa prentsaketa bakoitzean garbitu zen. Sagar muztioak lortu bezain pronto, bonba batekin altzairu oxidaezinezko kupeletan gorde ziren. Kupel hauek furgonetaz eraman ziren Donostiara eta han lokal batean gorde ziren, muztioen hartidura gerta zedin. Aukeratutako lekua, garai batean, ardo biltegia izan zen (**3.4 irudia**). Hortaz, lokalak zituen zenbait tresna erabiltzeko parada izan genuen.



3.4 Irudia. Kupelak eta plastikozko ontziak lokalean gordeta.

3.1.4 Laginketak

Hemendik aurrera, *muztio* hitzarekin adierazten da aldatzen ari den sagar zukua eta *sagardo* hitzarekin, bukatutako produktua.

Lehen kanpaina honetan, muztioen **bost** laginketa egitea erabaki genuen. **Lehenengoa**, muztio lortu berrietan egin zen. Laginketa hau ezinbestekoa da hasierako lehengai ondo ezagutzeko.

Bigarren laginketa, muztioen dentsitatea 1020 g/L inguruan dagoenean egin zen, hau da, hartidura alkoholikoaren erdian. Hartiduraren eta bertan gertatzen diren aldaketen berri ematen digu bigarren laginketa honek.

Hirugarren laginketa, dentsitatea 1000 g/L balorera ailegatu denean egin zen, hartidura alkoholikoa gutxi gorabehera burutu denean. Sagardogileek, hartidura alkoholikoaren amaieraren erreferentzia puntu bezala erabili ohi dute balore hau. Hortaz, lehenengo urte honetan, guk ere jarraibide hau erabili genuen. Laginketa hau egin ondoren, kupela itxi egiten da, sagardoa oxidazioaren kontra babesteko.

Laugarren laginketa, ontzi-aldaketa (*trasegua*) izeneko prozesuaren aurretik egin zen. Eragiketa hau egiteko momenturik aproposena da bi hartidura nagusiak burutu direnean, alkoholikoa eta malolaktikoa. Prozesu honetan, muztioa beste kupel batera mugitzen da. Bidean galdutako muztioa, plastikozko ontzian hartitu den muztioarekin osatzen da, kupelean ahalik eta aire gutxien geratu dadin. Hortaz, komenigarria da ezagutzea muztioen egoera eragiketa honen aurretik.

Azkenik, **bosgarren** laginketa, sagardoak botilaratu aurretik egin zen. Ontzi-aldaketen ondoren, muztioak denbora batean pausatzen uzten dira. Horrek laguntzen du muztioek ontzi-aldaketan galdutako CO₂-a berreskuratzen, hala nola uhertasuna jaisten. Ezinbestekoa da botilaratu aurretik lortutako produktuaren ezagutza oso izatea.

Laginketa hauetaz gain, dentsitatearen eta pH-aren noizbehinkako **kontrolak** egiten ziren, maizago hartiduraren hasieran eta tarteka hartiduraren azkeneko urratsetan. Dentsitatearen jaitsierarekin ikusten dugu, gutxi gorabehera, azukreen desagerpena, hau da, fermentazio alkoholikoa, eta pH-aren igoerarekin, azido malikoaren bilakaera azido laktikoan, hots fermentazio malolaktikoa. Zentzu honetan, pH-a 3.75 inguruan dagoenean, hartidura malolaktikoa amaitutzat eman ohi da sagardotegietan; guk, irizpide hau ere kontuan hartu dugu, lehenengo urte honetan.

Kontrol hauetan, dentsitatea altzairuzko kupelak zeuden lekuan bertan neurtzen zen, muztio lagina probeta batean isuriz eta dentsimetro bat erabiliz. Ondoren, erabilitako muztioa bota egiten zen, gehiegi aireztatzen zelako. Bestalde, pH-a neurtzeko, muztio lagin txikiagoa hartu eta laborategira eramaten zen. Aldakuntza handiak nabaritzen

gero, edota ezer berezirik sumatuz gero, lagin berria hartu eta laborategira eramaten zen, 2. kapituluaren aipatutako prozedura esperimental osoa egiteko.

Hartziduren amaierari buruz, bada puntu bat argitu beharrekoa. Esan bezala, hirugarren laginketa, dentsitatea 1000 g/L ingurukoa denean egin dugu, hori delako sagardotegietan erabili ohi den irizpidea **hartzidura alkoholikoa** noiz amaitu den erabakitzeke eta kupela ixteko. Halere, kanpaina honetan konprobatu dugu fidagarriagoa dela hartzidura alkoholikoa amaitutzat ematea azukre totala 2 g/L baino gutxiago denean. Dentsitatea 1000 g/L ingurukoa denean, oraindik azukre kantitate nahikoa geratu daiteke, kupelean gehiegizko presioa sortu dezakeena.

Era berean, pH 3.75 hartzea **hartzidura malolaktikoa** amaitu dela erabakitzeke, ez zaigu irizpide fidagarria iruditzen. Askoz ere egokiagoa deritzogu hartzidura malolaktikoa bukatutzat emateari azido malikoaren kontzentrazioa 0.5 g/L baino txikiagoa denean.

3.1.5 Muztioen hasierako ezaugarriak

Hurrengo taulan (**3.1 taula**) adierazten dira hasierako muztioen dentsitatea, pH-a, azido malikoa eta Folin-Ciocalteu indizea (FC) azido taniko g/L-ko unitateetan.

3.1 Taula. 2012ko kanpainaren hasierako muztioen ezaugarriak

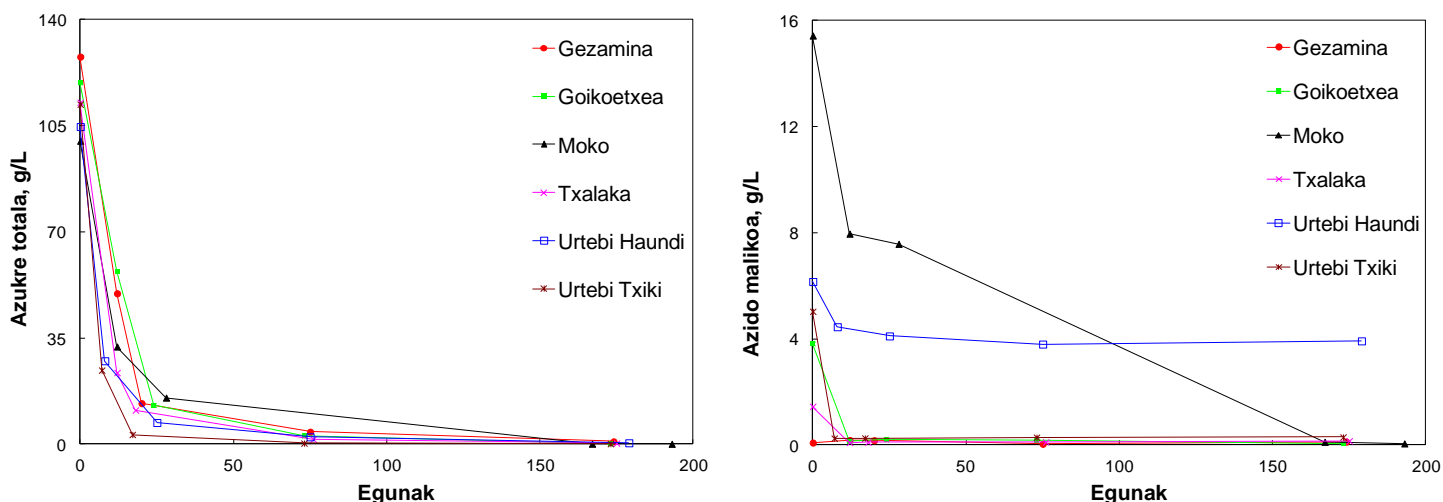
Sagar mota	Dentsitatea, g/L	pH-a	Azido malikoa, g/L	FC, azido taniko g/L
Gezamina	1054.5±0.1	3.88±0.02	0.09±0.01	3.1±0.1
Goikoetxea	1051.9±0.1	3.47±0.01	3.83±0.02	1.7±0.1
Moko	1049.0±0.1	3.09±0.01	15.44±0.05	3.7±0.1
Txalaka	1048.3±0.1	3.33±0.06	1.46±0.01	1.5±0.1
Urtebi Haundi	1050.9±0.1	3.26±0.02	6.16±0.02	1.2±0.1
Urtebi Txiki	1049.5±0.1	3.35±0.01	5.04±0.01	1.9±0.1

Balore hauek erreferentzia bezala hartu ziren muztioen bilakaera jarraitzeko.

3.1.6 Hartzidura alkoholiko eta malolaktikoaren bilakaera

Aipatu bezala, dentsitatea eta pH-a erabili ziren hartzidura alkoholikoa eta malolaktikoa kontrolatzeko. Baina gero laborategian, prozesu hauekin zerikusia duten beste parametro batzuk neurtu ziren, hala nola, azukre totala, Brix graduak, azido malikoa eta azido laktikoa.

Hurrengo irudian (**3.5 irudia**) adierazten da azukre totalaren eta azido malikoaren bilakaera, laginketetan zehar



3.5 Irudia. Azukre totalaren eta azido malikoaren bilakaera laginketetan zehar.

Gezamina, Goikoetxea, Txalaka eta Urtebi Txiki sagar motekin ez zen ezer apartekorik ikusi. Bai fermentazio alkoholikoa, bai fermentazio malolaktikoa, biak arazorik gabe burutu ziren. Azukre totalak azkar egiten du behera hasierako urratsetan eta 75. egunean ia kontsumituta dago. Fase honetan, muztioak irakiten baleude bezala antzematen dira, CO₂ burbuila askapen handiarekin. Ondoren, azukre desagerpenaren jaitziera moteldu egiten da, CO₂-aren jariora bezala. Amaieran, ez zen azukre kantitate adierazgarrikerik geratu sagardo hauetan.

Hartzidura malolaktikoari dagokionez, transformazioa azkarrago gertatu zen. Azido malikoaren desagerpena guztiz buru zen lehenengo 15 egunetan Goikoetxea, Txalaka eta Urtebi Txiki sagardoetan. Bestalde, Gezamina sagarraren kasuan, hasierako muztioari azido maliko 0.09 g/L neurtu zitzaizkion.

3.1.6.1 Urtebi Haundi muztioaren bilakaera

Urtebi Haundi muztioaren hartzidura alkoholikoa ageriko arazorik gabe burutu zen. Azukreak desagertzen joan ziren laginketetan zehar eta, aurreko muztioekin bezala, azukrea 75. egunean ia kontsumituta zegoen, amaierako 0.06 g/L balorera ailegatzeko. Hori dela eta, laginketak, erabakitako momentuetan egin ziren, baita ontzi-aldaketa eta sagardoaren botilaratzea ere.

Alabaina, agerian dago hartzidura malolaktikoa ez zela behar den moduan burutu. Azkeneko laginketan, hau da, sagardoa botilaratu aurretik egindako laginketan, sagardoak oraindik bazuen azido malikoa. Akats honen iturria hartzidura malolaktikoa bodegan jarraitzeko erabilitako irizpidean dago: pH-a neurtzea ez da nahikoa hartzidura malolaktikoa bukatu dela ziurtatzeko. Izan ere, pH-aren balorea sagardo hau botilaratu aurretik 3.61 izan zen. Geroago jakin genuen, ordea, azido malikoarekin botilaratu egin genuela, zehazki, 3.9 g/L-rekin.

3.1.6.2 Moko muztioaren bilakaera

Sagar mota honekin arazo ugari eduki genituen. Muztioaren bilakaera jarraitzen ari ginela, eta bigarren laginketa egin ondoren, denbora luze batean ez genuen ikusi ez dentsitatearen, ez pH-aren aldaketarik. Horrek pentsarazi zigun hartzidura alkoholikoa zein malolaktikoa, geldirik zeudela. Egoera honetan, hirugarren laginketa, dentsitatea 1000 g/L inguruan dagoenean egiten dena, balore hori lortu aurretik egin genuen, konkretuki, 1008.5 g/L balorean. Momentu honetan, azukre totala 15.3 g/L zen, eta azido malikoa 7.6 g/L. Beraz, gure susmoak konfirmatu egin genituen, hots, muztioaren bi hartzidura nagusiak geldituta zeudela.

Hori dela eta, lehenik eta behin, hartzidura alkoholikoa berrabiatzeko legamia exogenoak gehitzea erabaki genuen, fermentazio alkoholikoa guztiz bukatu zedin. Prozedura hau, bestalde, ohikoa da sagardotegietan hartzidura gelditzen denean.

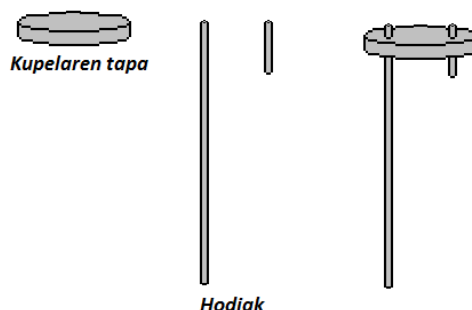
Erabilitako legamiak *Saccharomyces cerevisiae* komertzialak dira (Darnstar Ferment AG, Zug, Switserland). Legamia liofilizatuak dira, hartziduraren etenaldiak ardoetan berrabiarazteko propio aukeratuak. Erabili aurretik, fabrikatzaileak ezartzen ditu egin beharreko zenbait pausu, hala nola legamiak berridratatu, ardoarekin nahastu eta denbora jakin batez itxaron, besteak beste.

Pausu hauek fabrikatzaileak adierazitako eran jarraitu ziren, betiere gure kupelen bolumenak kontuan izanik eta proportzioak mantenduz. Denbora gutxian ikusi zen dentsitatea berriro jaitsi egin zela. Legamiak erantsitako egunean, hots, 2012ko urriaren 26an, muztioaren dentsitatea 1008.5 g/L zen, eta azukre totala, 15.3 g/L. Handik 10 egunetara, hau da, 2012ko azaroaren 5era, dentsitatea 1002.5 g/L bilakatu zen. Ezin dugu, ordea, azukre totalaren balorerik eman, ez baitzegoen laginketarik programatuta.

Bien bitartean, dentsitatea monitorizatzen ari ginela, pH neurketak ere egin genituen. Haatik, honen balorea berdin jarraitu zuen. Beraz, fermentazio malolaktikoa berrabiatzeko, bakterio exogenoak gehitzea erabaki genuen, eta honekin batera, kupelaren tenperatura igotzea.

Aukeratutako bakterioak *Oenococcus oeni* komertzialak dira (Darnstar Ferment AG, Zug, Switserland). Bakterio laktikoak dira, ardoetan hartzidura malolaktikoa eragiteko propio aukeratuak. Legamiekin bezala, hauekin ere fabrikatzaileak argi ezartzen du bakterio hauek erabiltzeko jarraitu beharreko prozedura, ondo segitu genuena.

Bakterioak 2012ko abenduaren 12an gehitu ziren. Honekin batera, kupelaren muztioaren temperatura 20 °C-tara igo zen. Horretarako, honako pieza enkargatu zitzaion errementari bati: kupel bateko tapa bati bi zulo egin eta, zulo bakoitzean, altzairu oxidaezinezko bi hodi soldatu zituen, tapa zeharkatzen dutenak (**3.6 irudia**).



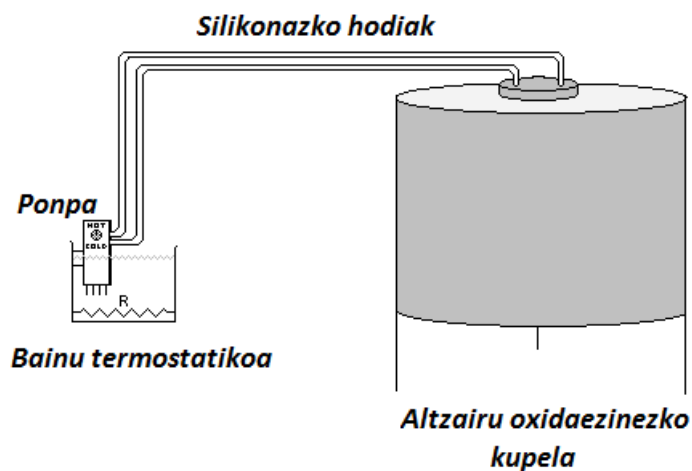
3.6 irudia. Bero-trukaketarako eraikitako sistema.

Gero, altzairu oxidaezinezko zilindro huts bati beste bi zulo egin zizkion, lehenengo taparen hodiaren diametrokoak. Azkenik, bi hodi dituen lehenengo tapa, zilindro hutsari soldatu zion. Lortutako piezaren eskema honako hau da (**3.7 irudia**).



3.7 irudia. Altzairu oxidaezinezko zilindroaren behin betiko itxura.

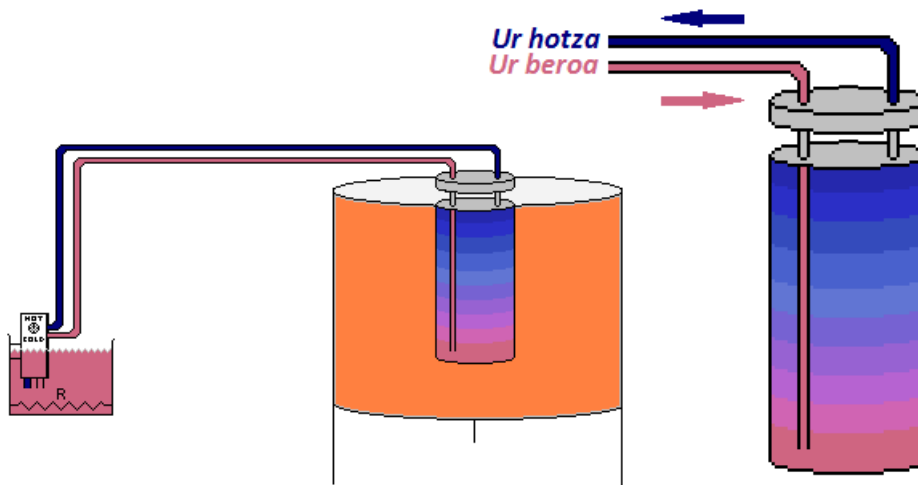
Ondoren, hurrengo irudian (**3.8 irudia**) agertzen den muntaia antolatu zen, Moko muztioaren kupelarekin eta gure pieza egin berriarekin:



3.8 irudia. Moko muztioa berotzeko antolatutako sistema.

Moko muztioa duen kupelaren tapa normala kendu, eta gure tapa zilindroduna jarri genion. Bestalde, bainu termostatiko baten ponpari silikonazko bi hodi luze jarri zitzaizkion, eta kupelean sartutako gure piezari konektatu egin zitzaizkion, hodie bidez.

Altzairuzko zilindroa kupelaren muztioarekin dago ukipean. Tapa eta zilindro hutsa zeharkatzen dituzten hodie esker, zilindroa ur beroz betetzen da, bero hori muztioari transmitituz. Horrela, bainua temperatura jakin batean jartzen da, eta ponparen bidez ura zilindrorra eramaten da, transferentzia termikoa gertatuz (**3.9 irudia**). Zilindrotik ateratzen den ur hotza bainura bueltatzen da zikloa berriro hasteko. Sistema honekin, kupelaren barruko muztioaren temperatura 20 °C-tan egonkortzea lortu genuen.



3.9 Irudia. Bero trukaketa zilindroaren eta muztioaren artean.

Bakterioak muztioan gehitu eta temperatura igo zenean, 2012ko abenduaren 20an, Moko muztioak azido maliko 7.6 g/L zituen. Handik 67 egunetara, hots, 2013ko otsailaren 25era, azido malikoaren kontzentrazioa 0.37 g/L-tara jaitsi zen.

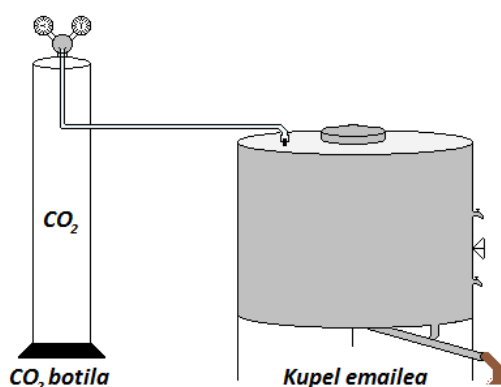
Bestalde, bagenuen 20 L-ko ontzi bat Moko muztioarena, ontzi-aldaketa egin ondoren kupela berriro betetzeko. Eta hemen ere fermentazioak geldirik zeuden. Aurreko prozesu guztia ez errepikatzeko, 20 L muztio atera genituen kupeletik plastikozko ontzi garbi batera, eta hartzitu gabeko muztioa kupelera pasa genuen. Horrela, honen fermentazioak ere amaitu ziren kupelean zeuden legamia eta bakterioei esker.

Azkenik, 2013ko martxoaren 6an, bukatutzat ematen da muztioaren hartidura malolaktikoa, eta bainu termostatikoa kendu egiten da. Momentu honetan, kupelaren muztioak azido maliko 0.16 g/L ditu.

3.1.7 Sagardoen ontzi-aldaketa (trasegua)

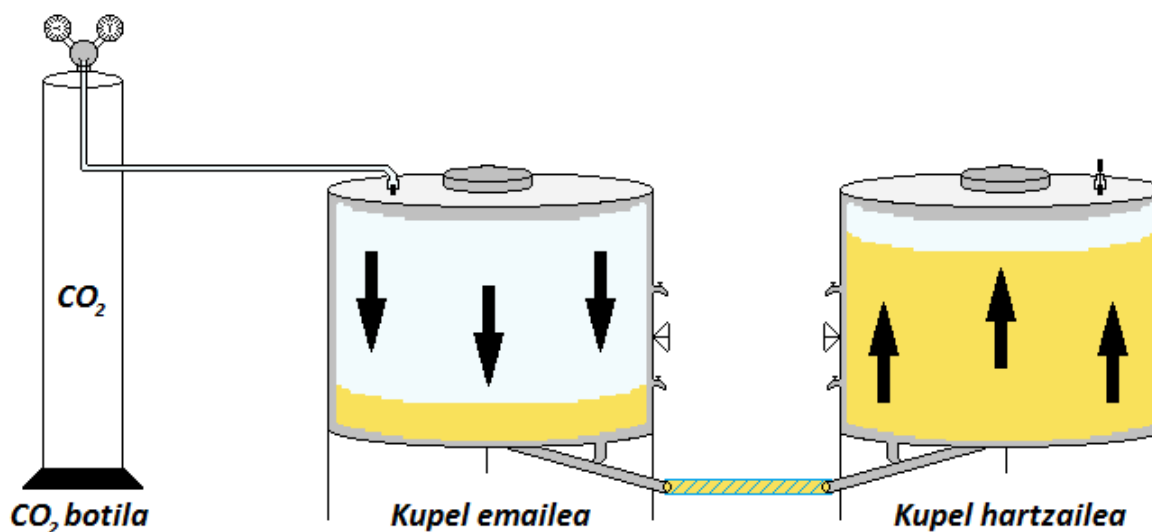
Eragiketa honen helburu nagusia da hartziduretan sortutako hauspeakinak kentzea, sagardoaren uhertasuna gutxitzeko eta egonkortasuna handitzeko. Horretarako, sagardoa bere kupeletik (kupel emalea) beste kupel batera eramaten da (kupel hartzailea). Bidean, kupel emalean zeuden hondarrak arbuiatzen dira.

Trasegatu nahi den muztioaren kupelari CO₂ presioa jartzen zaio. Horretarako, goiko txorrotari CO₂ botila konektatzen zaio. Gainpresio txiki bat ezartzen da, adibidez, 0.2 bar, botilak duen barometroaren bidez. Ondoren, kupelaren isurbidea irekitzen da, poliki. Horrela, kupelaren hondoa pilatzen joan diren zikinkeriak aterako dira lehenengo (**3.10 irudia**):



3.10 Irudia. Traseguaren lehenengo pausua.

Hortik gutxira, ateratzen ari den sagardoaren kolorea argitu egiten da. Momentu honetan, isurbidea ixten da. Segituan, kupel emalearen isurbidea kupel hartzailearen isurbidearekin konektatzen da, mahuka baten bidez. Kupel hartzailearen goiko giltza irekitzen da eta, ondoren, bere isurbidea. Jarraian, kupel emalearen isurbidea partzialki irekitzen da, kontu handiz, likidoak kolperik eman ez dezan. Sagardoa kupel hartzailea betetzen joango da (**3.11 irudia**).



3.11 Irudia. Traseguaren bigarren urratsa.

Halaber, kupel emalea hustear dagoenean, sagardoa berriro uher ateratzen ikusiko da, eta kupel hartzailean sartzean dagoenean, honen isurbidea ixten da. Azkenik, CO₂ botila ere ixten da, eta mahukan geratu den sagardoa baztertzen da.

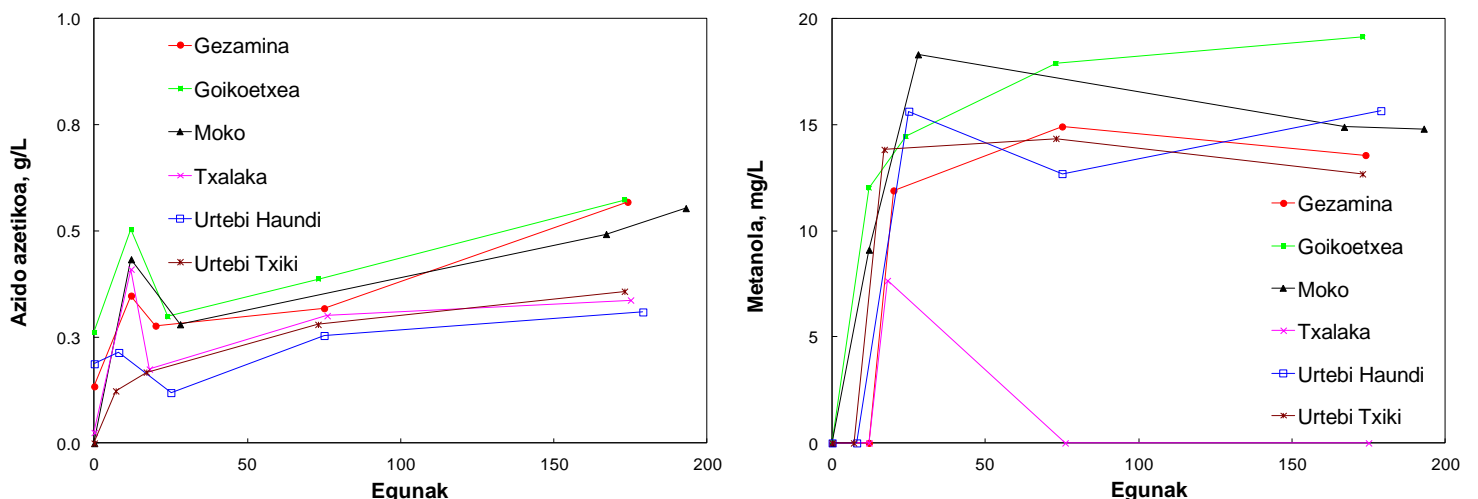
Era honetan lan egiteak abantaila nagusia dauka: karbono dioxidoa sagardoa bultzatzeko erabiltzen denez gero, sagardoa oxidazioaren kontra babestu egiten da.

Aipatu bezala, ontzi-aldaketaren ondoren, prozesuan galdutako sagardoa berrosatzen da plastikozko ontzian hartzitutako sagardoarekin. Prozesu hau aurrera eramateko, kupelaren goiko tapa ireki eta, mahuka baten bidez, sagardoa kupelean zuzenean isurtzen da. Ondoren, bi sagardoak era aproposan nahasteko, eta bide batez, oxigenoa kupeletik kanporatzeko, kupelaren beheko giltza CO₂ botilara konektatzen da, beste mahuka baten bidez. Gero, CO₂ korrante bat pasatzen da, oxigenoa baztertzeko.

Azkenik, CO₂ botila kupelaren goiko giltzara konektatzen da, eta kupelari 0.2 bareko gainpresioa ezartzen zaio; giltza ixten da eta ontzi-aldaketa amaitutzat ematen da. Horrela, botilaratu aurretik egin beharreko laginketa egin arte atmosfera inertean egongo da sagardoa. Eragiketa hau sagardo guztiak egiten da: lehenengo, Gezamina, Goikoetxea, Txalaka, Urtebi Haundi eta Urtebi Txiki sagardoekin eta, beranduago, Mokorekin.

3.1.8 Konposatu lurrinkorren bilakaera

Konposatu hauen kontzentrazioak, legeak agindutako maximoen azpitik zeuden sagardo guztietan. Hurrengo **3.12 irudian** adierazten da azido azetikoaren eta metanolaren bilakaera:



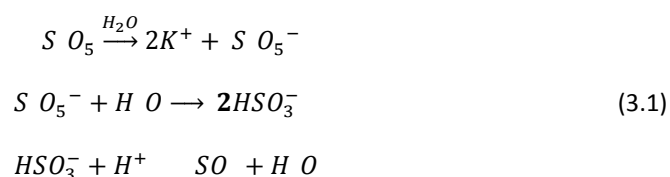
3.12 Irudia. Azido azetikoaren eta metanolaren bilakaera 2012ko kanpainan.

Azido azetiko eta metanol gehien zituen sagardoa Goikoetxea izan zen. Azido azetiko 0.6 g/L eta metanol 19 mg/L zituen. Gogoratu behar da, legezko maximoak azido azetiko 2.2 g/L eta metanol 200 mg/L direla.

Gainerako konposatu lurrinkorrei dagokienez, ez zen ezer apartekorik neurtu. Sagardoek ez zuten ez akroleinarik, ez azetaldehidorik. Bestalde, neurtutako etil azetato kontzentrazioak 200 mg/L-tik nahiko azpitik zeuden, eta ez zen konposatu honekiko lotuta dagoen akatsik nabaritu.

3.1.9 Azido askorbiko eta sufre dioxidoaren gehitzea

Programatutako laginketak egin ostean, azido askorbiko eta SO₂ dosia gehitu zitzairen sagardoei. Alde batetik, azido askorbiko 200 mg/L-ko dosia jarri zitzairen, eta bestetik, potasio metabisulfito 20 mg/L-koa. Azken honek SO₂-a ematen du hurrengo erreakzioen arabera (3.1 ekuazio multzoa):



Beraz, potasio metabisulfito mol batek sufre dioxido bi mol ematen ditu. Honek esan nahi du, pisu molekularrak kontutan hartuta, jarritako potasio metabisulfito dosiak SO₂ 10 mg/L-ko kontzentrazio totala ematen duela, gutxi gorabehera.

Azido askorbikoa gehitzeko, 30 g pisatzen dira eta sagardoan disolbatzen dira. Ondoren, kupelaren goiko tapa ireki eta barrura botatzen dira. Potasio metabisulfitoa gehitzeko, ordea, 3 g pisatzen dira eta uretan disolbatu. Sagardoan zuzenean disolbatu izan balira, honen pH azidoak SO₂ gasaren askapen azkarra eragingo zukeen. Behin uretan disolbatuta, kupelaren goiko tapa ireki eta sagardotara botatzen da.

Bi konposatuak gehitu ostean, kupelaren beheko txorrotari CO₂ botila konektatu, eta minutu batez CO₂ korrontea pasatzen zaio. Horrela, gehitutako disoluzioak era egokian nahasten dira eta, bidenabar, oxigenoa baztertu egiten da. Azkenik, CO₂ botila goiko giltzara konektatu eta 0.2 bareko gainpresioa jartzen zaio kupelari.

Erabilitako azido askorbiko eta metabisulfito dosiak ohikoak dira sagardogintzan. Azido askorbikoa iluntzea saihesteko erabiltzen da eta sufre dioxidoa nagusiki antiseptiko bezala, mikroorganismoen aurka, iluntzearen aurkako gaitasuna ere eduki arren (**Jarvis eta Lea, 2000**). Beraz, biek laguntzen dute sagardoa kontserbazioan.

3.1.10 Sagardoan botilaratzea

Sagardoak 2013ko maiatzaren 3an botilaratzen hasi ziren, hilaren 10ean bukatzeko. Lehenik eta behin, sagardo nahaste kontrolatu batzuk botilaratu ziren, dastatze-talde kualifikatu batek geroago iritzia emateko. Egindako nahasteen eta jarraitutako irizpidearen xehetasunak, hala nola dastatze-taldearen ezaugarriak, **4. kapitulu**an azalduko dira.

Sagardo mota bakoitza banaka botilaratu egin zen. Horretarako, CO₂ botila erabili zen berriro, kupel barruan CO₂ presioa egiteko. Botila kupelera konektatzen da, eta beheko txorrotari mahuka bat jartzen zaio. Mahukari dosifikagailua eransten zaio, eta azkenik CO₂ botila irekitzen da (**3.13 irudia**).



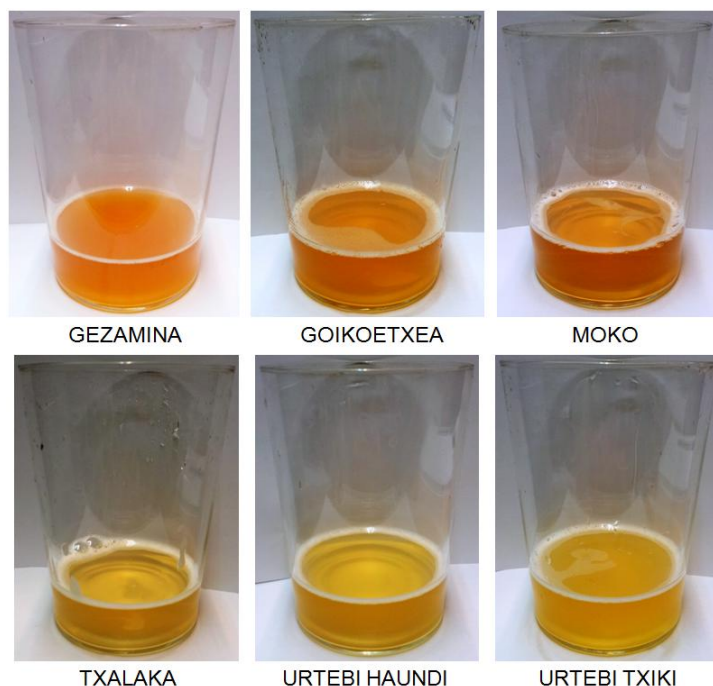
3.13 Irudia. Sagardo botilak betetzeko sistema eta kortxoa ipintzeko makina.

Botilak banaka betetzen joan ziren: batek betetzen zituen heinean, beste batek kortxoa jartzen zien eta hirugarren batek botila kartoizko kutxetan sartu eta kutxak ixten zituen.

Sagardoak hainbat ekitalditan erabili ziren: sagardo egunetan, dastatze pribatuetan edota hedabideei egindako aurkezpenetan. Era berean, dastatze-taldera sagardo monobarietalen aleak ere eraman ziren, aipatutako nahaste kontrolatuekin batera.

3.1.11 Sagardoen ezaugarri orokorrak

Hurrengo irudian (**3.14 irudia**), sagardoek edalontzietan duten itxura ikus daiteke.



3.14 Irudia. Sagardoak edalontzietan zerbitzatuak.

Honako hauek dira lortutako sagardoen ezaugarri organoleptikoak, dastatze-talde, gure eta probatu dituzten hainbat pertsonaren iritzia kontuan hartuta:

- **Gezamina:** Nabarmendu da bere mikaztasun eta astringentziagatik. Polifenol kantitate handiak gorputza eta kolore iluna ematen dizkio. Aldeko eta kontrako iritzia sortu zituen jendearengan, bere originaltasunagatik, garagardo itxura zeukan eta.
- **Goikoetxea:** Sagardo iluna da, mikatza eta astringentea, aski gorputza duena. Gazitasun gutxi ematen du ahoan.
- **Moko:** Muturreko sagardoa da, oso gazia eta oso mikatza, aberatsa delako azido eta polifenoletan. Kolore iluna du.
- **Txalaka:** Sagardo argia, gazia eta gorputz gutxikoa. Goikoetxearen antzeko azidotasuna eta polifenol kantitatea izanda, kolore argiagoa dauka, gorputz, mikaztasun eta astringentzia gutxiago eta ahoan azidotasun handiagoa. Dastatze-taldean nota baxuena lortu zuen.
- **Urtebi Haundi:** Sagardo honek azidotasun sendoa dauka, botilaratu zenean oraindik azido malikoa zuelako. Horretaz gain, gorputz gutxi eta kolore argia du.
- **Urtebi Txiki:** Sagardo argitsua da, nahiko borobila eta orekatua, bai gorputzaren, bai azidotasunaren aldetik. Dastatze-taldean nota altuena lortu zuena.

3.2 Bigarren uzta: 2013

Kanpaina honetan, honako hauek dira erabilitako sagar motak: Frantzes Sagarra, Gezamina, Merabi, Mozoloa, Nabarte Gorria, Urdin eta Urtebi Txiki (3.15 irudia).



Frantzes Sagarra



Gezamina



Merabi



Mozoloa



Nabarte Gorria



Urdin



Urtebi Txiki

3.15 Irudia. Bigarren kanpainaren sagar aleak.

Dena dela, kontuan hartu behar da honako hau:

- **Frantzes Sagarra**, **Mozoloa** eta **Urdin** sagar motak hasierako hamalau barietateen artean daude. Hortaz, sagardo monobarietalak egin ziren.
- **Gezamina** eta **Urtebi Txiki** barietateekin berriro sagardo bana egin zen, izan ere, sektorearen hainbat kideri interesgarriak iruditu zitzaizkien.
- **Merabi**, hasierako hamalau barietateen artean egon ez arren, interesgarria iruditzen zitzaion proiektuan parte hartu zuen sagardogile bati, horregatik erabaki genuen ikertzea. Bere lursailean dagoen sagar mota da, bertakoa, eta Moko barietatearen antzekoa.
- **Nabarte Gorria (Roja de Nabarte)** Nafarroako Nabarte herrian aspaldi aurkitutako sagarra da. Azidotasun eta polifenol kantitate handiko barietatea da, Mokok adinakoak, baina hau ez bezala, argia da eta ez da hainbeste iluntzen. Horregatik, interesgarria iruditu zitzaigun sagar mota hau aztertzea.

3.2.1 Sagar bilketa

Sagar bilketa 2013ko urriaren 22an hasi eta 31n bukatu zen. Bigarren uza honetan, sagar mota batzuk berriro Zubieta lursailetik jaso ziren, **Frantzes Sagarra**, **Gezamina** eta **Urtebi Txiki**, hain zuzen ere. Kanpaina honetan, 2012koan ez bezala, laguntza eman genuen sagar bilketan. **Merabi**, **Mozoloa** eta **Urdin** sagar motei dagokienez, lehen aipatutako sagardogile berak (Merabi sagarra eman zigunak) jaso zizkigun bere lursailetik. Azkenik, **Narbarte Gorria** Doneztebetik eta Sartagudatik jaso ziguten. Sagar mota guztietatik gutxi gorabehera 300 kg jaso ziren, Narbarte Gorria motatik izan ezik, zeinetik 80 kg bakarrik lortu genituen.

Sagarrak jaso eta gero, plastikozko kutxetan bildu (Narbate Gorria, 4 zakutan), eta furgoneta batean jarri ziren traktore baten laguntzaz (**3.16 irudia**). Ondoren, furgoneta Doneztebera gidatu zen non, lehenengo kanpainan bezala, sagarrak prentsatu ziren.



3.16 Irudia. Traktorea sagar kutxa kargatzen furgonetan.

3.2.2 Hasierako neurketak

Sagarren prentsaketarekin hasi aurretik, sagar lagin batzuk hartu eta fruituen gogortasuna eta muztioen Brix graduak neurtu ziren. Honi gehituta, iodoaren froga burutu zen sagarretan.

3.2.3 Sagarren prentsaketa

Sagar muztioak lortzeko, lehenengo uztan erabilitako prentsa berbera erabili zen, alegia, *Bucher Vaslin* markako prentsa horizontala, platerduna, 300 hL-ko edukiera duena. Haatik, oraingo honetan, ezin izan genuen 2012ko muntaia egin, torloju amaigabea haize kolpe batek lurrera bota eta hondatu zuelako. Horrek behartu gintuen sagarrak mahuka batekin urez garbitzera, eta gero, matxakan eskuz sartzera traktore baten laguntzaz (**3.17 irudia**).



3.17 Irudia. Sagarrak matxakan sartzen kutxatik.

Era berean, Narbarte Gorria sagar motaren muztioa lortzeko, prentsa bertikal txikiago bat erabili zen, aproposagoa mota honetatik hartu ziren 80 kg-etarako (**3.18 irudia**).



3.18 Irudia. Narbarte Gorria sagar motarekin erabilitako prentsa bertikala.

Lehenengo kanpainan bezala, sagar mota bakoitzetik 170 L muztio lortzen saiatu ginen, 150 L-ko kupelak eta 20 L-ko plastikozko ontziak betetzeko. Narbarte Gorria sagar motari dagokionez, lortutako muztioa 50 L-ko garagardo kupel batean gorde zen, zeini parafina geruza bat jarri zitzaion, gehiegizko aireztatzea saihesteko, ez zelako guztiz betea geratu.

Kupelak eta plastikozko ontziak furgonetaz garraiatu ziren Donostiara, lehenengo kanpainan erabilitako lokal berberera. Bertan, muztioen hartidurak gertatu ziren eta laginketak egin ziren.

3.2.4 Laginketak

Hasiera batean, kanpaina honetan laginketak egiteko jarraitutako irizpidea **lehenengo kanpainaren berbera** izan zen. Beraz, lehen adierazitako bost laginketak egitea erabaki zen, eta fase berdinetan ere egiten saiatu ginen: muztio lortu berriaren laginketa, dentsitatea 1020 g/L inguruan dagoenean, dentsitatea 1000 g/L inguruan, trasegua egin aurretik eta sagardoak botilaratu aurretik. Geroago, alabaina, zenbait aldaketa egin ziren.

Narbarte Gorria muztioan, adibidez, ez zen bigarren laginketarik egin, hau da, dentsitatea 1020 g/L ingurukoa. Alde batetik, muztio honen kantitate gutxi zegoen eskuragarri, eta bestetik, laginketa puntu hau harrapatzeko zaila da. Horregatik, nahiz eta kanpaina honetan gainerako sagardoetan bigarren laginketa hori egin, hirugarren kanpainan puntu hori ez egitea erabakiko zen.

Era berean, lehenengo kanpainan bezala, programatutako laginketez gain muztioen kontrola ere eraman zen bodegan. Oraingo honetan, ordea, eta lehenengo kanpainaren eskarmentuarekin, jarraipena askoz ere zorrotzagoa izan zen. Dentsitatea eta pH-a neurtzeaz gain, **azukre totalen, azido malikoaren eta azido azetikoaren** jarraipena ere egin zen, bai altzairuzko kupeletan, bai plastikozko ontzietan. Horrela, hartidura alkoholikoa amaitutzat emateko (eta kupelak ixteko) azukre totalaren kontzentrazioa 2 g/L baino txikiagoa izatea erabaki zen. Era berean, traseguak egiteko hartidura malolaktikoa bukatuta egotea hartu zen arau, eta bukatutzat emateko, azido malikoaren kontzentrazioa 0.5 g/L baino txikiagoa izatea erabaki zen.

3.2.5 Muztioen hasierako ezaugarriak

Muztioek hasieran dituzten ezaugarri garrantzitsuenak, dentsitatea, pH-a, azido malikoa eta Folin-Ciocalteu (FC) indizea azido taniko g/L-ko unitateetan, hurrengo taulan (**3.2 taula**) adierazten dira.

3.2 Taula. 2013ko kanpainaren hasierako muztioen ezaugarriak

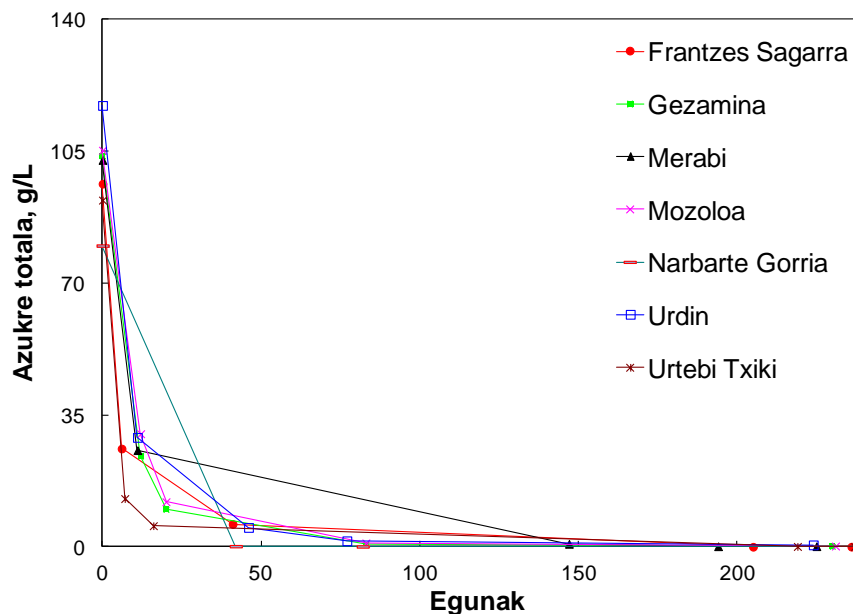
Sagar mota	Dentsitatea, g/L	pH-a	Azido malikoa, g/L	FC, azido taniko g/L
Frantzes Sagarra	1045.3±0.1	3.35±0.01	9.95±0.06	1.4±0.2
Gezamina	1046.0±0.1	4.03±0.05	2.25±0.11	3.3±0.2
Merabi	1050.7±0.1	3.22±0.02	13.65±0.08	4.5±0.2
Mozoloa	1050.8±0.1	4.04±0.01	2.37±0.08	2.8±0.1
Narbarte Gorria	1043.3±0.1	3.14±0.01	19.70±0.07	3.3±0.3
Urdin	1052.3±0.1	3.48±0.01	7.83±0.01	2.1±0.1
Urtebi Txiki	1041.4±0.1	3.36±0.03	9.33±0.02	1.4±0.2

3.2.6 Muztioen bilakaera: sarrera

Bigarren kanpaina konplikatu izan zen muztioen bilakaerari dagokionez. Izan ere, eboluzioa nahiko ezberdina izan zen muztio batetik bestera, hainbat arazo jazo ziren eta, oro har, lehenengo kanpaina baino zailagoa izan zen, bodegan egin behar izandako lanaren aldetik. Dena dela, muztioen hartidura alkoholikoa orokorrean normaltasunez burutu zen, aparteko arazorik gabe. Bestalde, esan beharra dago, kanpaina honetan gure sagardoekin izandako arazoak sagardotegietan ere gertatu daitezkeela.

3.2.6.1 Hartidura alkoholikoa

Hurrengo irudian (**3.19 irudia**) adierazten da laborategian neurtutako azukre totalaren desagerpena denboran zehar.

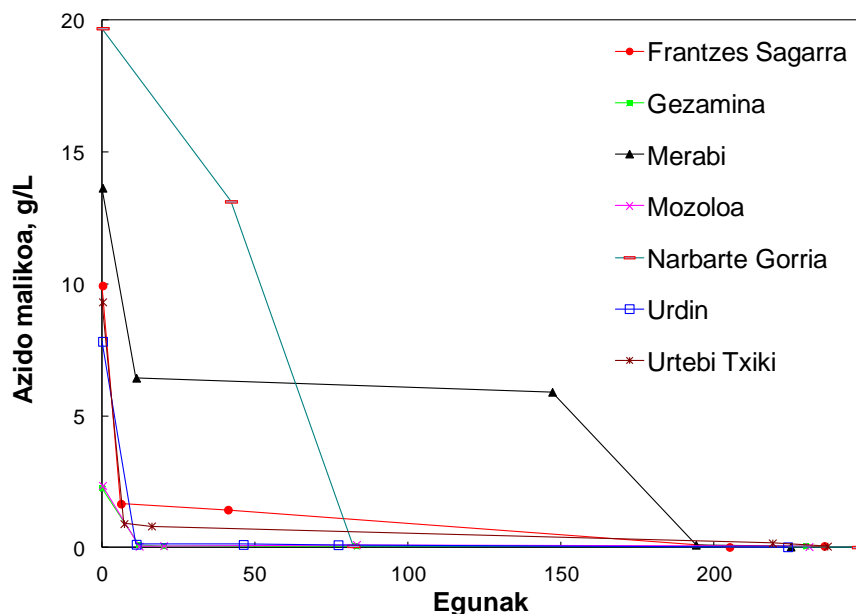


3.19 Irudia. Muztioen azukre totalaren desagerpena.

Esan bezala, muztioen hartidura alkoholikoa normaltasunez burutu zen. Aipatu daiteke, Merabi muztioan moteldu egin zela azukreen desagerpena, edota Frantzes Sagarra muztioan. Edonola ere, ez zen beharrezkoa izan legamia exogenoak gehitzea, lehenengo kanpaina gertatu zen bezala. Adierazitako grafikoan ikusi daiteke Narbarte Gorria muztioan oso azkar bukatu zela hartidura alkoholikoa, baina berriro ere halako portaera normala da sagardotegietan.

3.2.6.2 Hartidura malolaktikoa

Atal honetan, sagar muztio bakoitzaren bilakaera banaka azalduko da, kasu bakoitzaren xehetasunak adieraziz. Hurrengo irudian (**3.20 irudia**) adierazten da azido malikoaren bilakaera sagardoetan.



3.20 Irudia. Azido malikoaren bilakaera.

Frantzes Sagarra muztioaren hartidura malolaktikoa oso azkar joan zen lehenengo 6 egunetan eta gero gelditu egin zen, azido maliko 1.3 g/L-ko balorean.

Azido malikoko kontzentrazio txikia izanik, gure irizpideari jarraiki ezin genuen hartidura malolaktikoa bukatutzat eman. Baina, era berean, halako balore txikiarekin ez genuen eragiketarik egin nahi; nahiago genuen hartidura malolaktikoa bere kasa bukatu zedila. Hori dela eta, hasiera batean ez zen ezer egin. Alabaina, azido maliko 1.3 g/L-ko balorea ia 6 hilabetez mantendu zen eta, azkenean, bakterio laktiko exogenoak gehitzea erabaki genuen.

Aukeratutako bakterioak *Oenococcus oeni* komertzialak dira (Chr. Hansen Holding A/S, Hørsholm, Denmark). Hauekin batera, bakterioentzako elikagaia ere gehitu zen. Aukeratutako nutrientea hartiduraren aktibatzaile bat da (Enolviz S L, Valladolid, Espainia) eta nitrogeno asimilagarri eta bionutrientez osatuta dago. Honi gehituta, lehenengo kanpainan Moko muztioa berotzeko antolatutako sistema berbera erabili genuen.

Bakterioen eta elikagaien gehitzea eta bero sistemaren instalazioa 2013ko maiatzaren 9an egin zen. Handik 4 egunetara, laginketa bat egin zen, non ikusi zen azido maliko 0.72 g/L-ko kontzentrazioa zuela. Hori dela eta, beroa kendu zitzaion eta hartidura malolaktikoa guztiz burutu zen maiatzaren 15erako. Plastikozko bidoiari dagokionez, ezin izan zen aprobe txatu, gehiegizko azido azetiko eta etil azetatoa garatu baitzitzaizkion.

Gezamina muztioak ez zuen hartidura malolaktikoarekin arazorik izan; lehenengo 12 egunetan azido maliko guztia desagertu egin zen. Hau normala da, sagar barietate honek azido maliko gutxi duelako.

Merabi muztioan azido malikoa azkar desagertu zen hasieran. Haatik, 5.5 g/L-ko balorera ailegatu zenean, hartzidura malolaktikoa gelditu zen. Balore hau hainbat aldiz errepikatu zen laborategian egindako neurketetan. Hori dela eta, muztio honi ere bakterioak eta elikagaiak gehitu zitzaizkion, bero sistema jartzearekin batera. Eragiketa hau, 2013ko apirilaren 4an egin zen. Honekin batera, plastikozko bidoia laborategira eraman zen, hemen ere hartzidura malolaktikoa geldituta baitzegoen. Laborategiko tenperaturak lagunduko zuen fermentazioa berrabiatzen. Maiatzaren 9rako, bai bodegako kupelean bai plastikozko ontzian hartzidura malolaktikoa burututa zegoen.

Mozoloaren muztioak, Gezamina muztioak bezala, azido maliko gutxi zuen, eta ez zuen hartzidura malolaktikoarekin arazorik izan; lehenengo 12 egunetan ere azido maliko guztia desagertu egin zen.

Nabarte Gorria muztioari hartzidura malolaktikoa gelditu zitzaion, gutxi gorabehera hasierako azido maliko 20 g/L-ko kontzentrazioa erdira jaitsi zenean. Halere, kasu honetan, gauzak errazagoak izan ziren. Berrogeita hamar litroko kupel batean gordeta zegoenez gero, kupela hartu eta gure laborategira eraman genuen, non tenperatura bodegan baino altuagoa den. Horri esker, hartzidura malolaktikoa berrabiatu egin zen era espontaneoan. Bukatu zenean, kupela berriro bodegara eraman genuen.

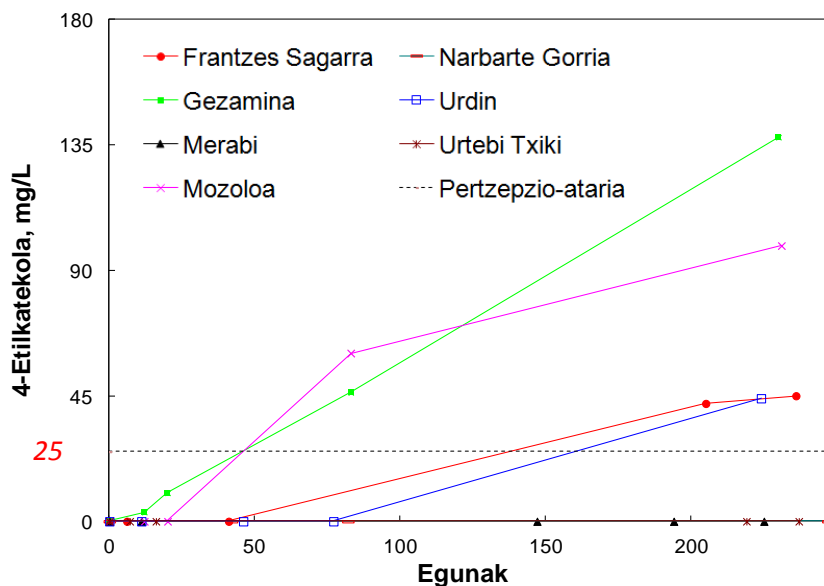
Urtebi Txiki muztioan hartzidura malolaktikoa ia guztiz burutu zen lehenengo 16 egunetan. Haatik, azido maliko 0.8 g/L-ko balorera ailegatu eta gelditu zen. Frantzes Sagarra muztioarekin bezala, hain balore txikia izanik, sagar muztioa bere horretan utzi genuen, hartzidura malolaktikoa era espontaneoan bukatzeko. Alferrik izan zen, ordea, 0.8 g/L-ko balorea ia 6 hilabetez mantendu baitzen, eta azkenean, bakterioak eta elikadura sartu ziren. Eragiketa hau, 2013ko maiatzaren 9an egin zen, Frantzes Sagarra muztioarekin egindako egun berean. Frantzes Sagarra muztioan hartzidura malolaktikoa bukatu zenean, bero sistema Urtebi Txiki muztioan jarri zen, maiatzaren 13an. Handik 10 egunetara hartzidura malolaktikoa bukatutzat eman genuen. Bien bitartean, plastikozko ontzia laborategira eraman zen, honek ere hartzidura malolaktikoa gelditua baitzeukan.

3.2.6.3 Akats organoleptikoak: akroleina

Frantzes sagarra muztioari akroleina agertu zitzaion. Traseguaren aurretik egindako laginketan akroleina usaina eta zaporea antzeman genituen. Geroago, botilaratu aurretik, 18.3 mg/L-ko kontzentrazioa neurtu zen, 10 mg/L-ko pertzepzio-atariaren nahiko gainetik. Hori dela eta, sagardoaren azkeneko bi laginketak ez ziren erabiliko aurrerago azalduko diren tratamendu estatistikoetan, ezta nahasketa kontrolatuetan ere.

3.2.6.4 Akats organoleptikoak: Brett izaera

Hurrengo irudian (**3.21 irudia**) adierazten da 4-etilkatekol konposatuaren bilakaera muztioetan. 4-Etilfenola eta 4-etilguaiakola ere neurtu egin ziren.



3.21 Irudia. 4-Etilkatekolaren bilakaera muztioetan. Lerro etenaz, konposatu honen pertzepzio-ataria sagardoetan adierazten da (**Buron et al., 2012**).

Aurtengo kanpaina honetan, Mozoloa eta Gezamina muztioei Brett izaera agertu zitzaizen. Bi sagardo hauetan bereziki nabaritzen zen Brett usain eta zaporea, guztiz desatsegina izanik. Hori dela eta, bi sagardo hauen laugarren eta bosgarren laginketak baztertuko ziren geroko tratamendu estatistikoetan zein nahasketa kontrolatuetan.

Frantzes Sagarra sagardoaren kasuan, arazo nagusia akroleinaren agerpena izan zen; Brett izaera edukitzea bigarren mailako arazoa izan zen.

Urdin sagardoari dagokionez, honek 4-etilkatekol 44.1 mg/L-ko kontzentrazioa zuen, baina neurtutako beste bi konposatuak, 4-etilfenol eta 4-etilguaiakol, ez ziren agertu. Gure iritziz, sagardo honi Brett izaeraren usaina eta zaporea nabaritzen zitzaizkion, baina ez zen desatsegina. Geroago, Fraisoroko dastatze-taldeak, bidalitako bi laginetako bati ere Brett izaera nabaritu zion, ez ordea besteari. Honek erakusten du, Brett izaeraren arazoak subjektibotasun handia duela.

3.2.7 Sagardoan ontzi-aldaketa (trasegua)

Kanpaina honetan, lehenengo Gezamina, Mozoloa, Narbarte Gorria eta Urdin muztioen traseguak egin ziren, eta ondoren, Frantzes Sagarra, Merabi eta Urtebi Txikirenak. Prozedura lehenengo kanpaina erabilitakoa da: CO₂ botila kupel emailari konektatzen zaio, eta muztioa, gasak egiten duen presioarekin, hutsik dagoen kupel hartzailera eramaten da. Bidean, kupelean dauden hondarrak arbutatu egiten dira.

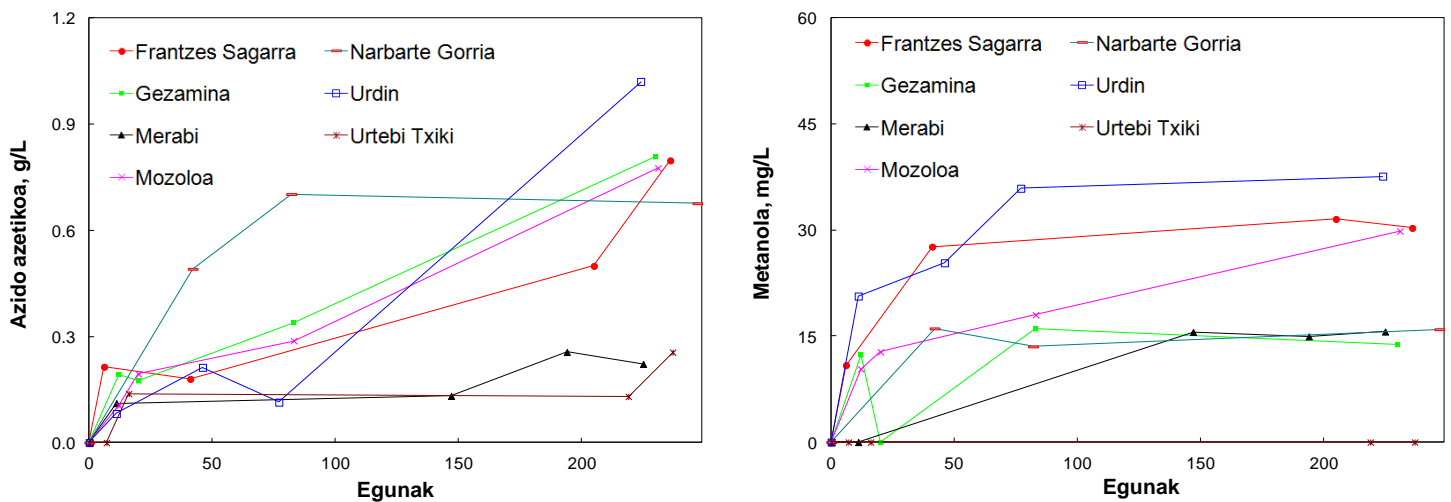
Ondoren, prozesuan galdutako muztioa berrosatzen da plastikozko ontzian hartzitutako muztioarekin.

Esan beharra dago, Nabarte Gorria muztioaren kasuan, edukia 30 L-ko garagardo kupel batera eraman zela. Horretarako, 50 L-ko kupelari sifoi jarri zitzaion, eta CO₂ botilaren laguntzaz, muztioa kupelaz aldatu zen. Oraingo honetan, kupel berria guztiz beterik geratu zen.

Gainontzeko muztioetan, traseguak aparteko arazorik gabe egin ziren. Urdin muztioaren kasuan, plastikozko ontzian hartzitutako muztioa ozpinduta zegoen, eta honen ondorioz, ezin izan zen kupela guztiz bete traseguaren ondoren. Dena dela, traseguen ondoren, kupel guztiei CO₂ 0.2 bareko gainpresioa jarri zitzaion, atmosfera inerte lortzeko.

3.2.8 Konposatu lurrinkorren bilakaera

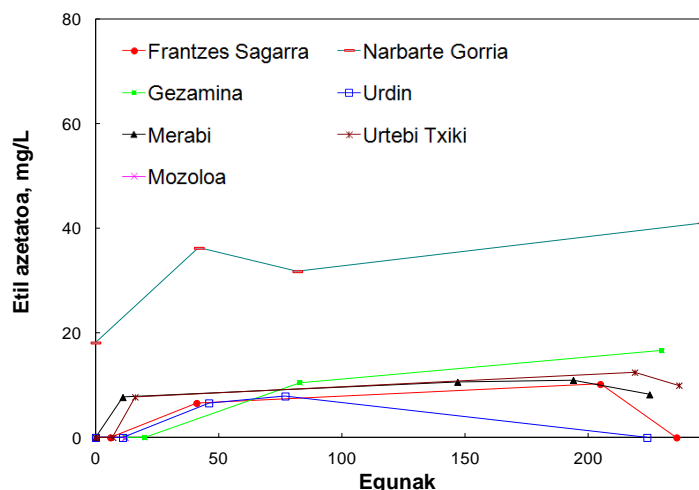
Bigarren kanpaina honetan, lehenengoan bezala, konposatu hauen kontzentrazioak legeak agindutako maximoen azpitik mantendu ziren. Hurrengo irudian (**3.22 irudia**) adierazten da azido azetikoaren eta metanolaren bilakaera.



3.22 Irudia. Azido azetikoaren eta metanolaren bilakaera 2013ko kanpainan.

Azido azetiko eta metanol gehien zituen sagardoa Urdin izan zen. Azido azetiko 1 g/L eta metanol 38 mg/L zituen. Gogoratu behar da, legezko maximoak azido azetiko 2.2 g/L eta metanol 200 mg/L direla. Beste konposatu lurrinkorrei dagokienez, Frantzes Sagarra muztioari azetaldehidoa agertu zitzaion, 22 mg/L-ko kontzentrazioan. Dena dela, araudiak ezarritako azetaldehidoaren kontzentrazio maximoa 150 mg/L da, eta gainera, lehen azaldu den bezala, sagardo honen arazo nagusia akroleina edukitzea izan zen.

Bestalde, Nabarte Gorriak, beste sagardoekin konparatuta, etil azetato gehiago zuen, **3.23 irudian** ikusten den bezala.



3.23 Irudia. Etil azetatoaren bilakera 2013ko kanpaina.

Zehazki, 41 mg/L-ko kontzentrazioarekin botilaratu zen. Analito hau arazoak ematen hasten da kontzentrazioa 200 mg/L baino altuagoa denean. Zentzu honetan, ez zen konposatu honekiko lotuta dagoen akatsik antzeman.

3.2.9 Azido askorbikoaren gehitzea

Lehenengo kanpaina, sufrearekin zerikusia duten usain desatseginak agertu ziren zenbait sagardo botilatan. Hori dela eta, bigarren kanpaina honetan, **ez zen potasio metabisulfitorik gehitu** sagardoetan. Dena dela, azido askorbikoa sagardo guztietan gehitu zen 200 mg/L-ko dosian.

Prozedura lehenengo urteko berbera izan zen kupel handietan: 30 g azido askorbiko pisatzen dira eta sagardoan disolbatzen dira. Ondoren, kupelaren goiko tapa ireki eta barrura botatzen dira. Gero, kupelaren beheko txorrotari CO₂ botila konektatu, eta minutu batez CO₂ korronea pasatzen zaio. Azkenik, CO₂ botila goiko giltzara konektatu eta 0.2 bareko gainpresioa jartzen zaio kupelari.

Narbarte Gorria sagardoari dagokionez, 30 L-ko kupelean dagoenez, 6 g azido askorbiko jarri zitzaizkion. Horretarako, sifoia ren laguntzaz sagardo pixka bat kupeletik atera eta solidoa disolbatzeko erabiltzen da. Ondoren, sifoi kentzen da, eta azido askorbikoaren disoluzioa barrura isurtzen da. Azkenik, sifoi bere lekuan jartzen da berriro, eta kupelari 0.2 bareko gainpresioa jartzen zaio.

3.2.10 Sagardo botilaratzea

Sagardo botilaratzea uztailaren 29aren eta abuztuaren 4aren artean egin zen. Lehenengo kanpaina bezala, sagardo nahaste kontrolatuak egin ziren lehen, dastatze-talde kualifikatuak iritzia emateko, eta ondoren, sagardoak botilaratu ziren. Prozedura ez zen aldatu lehenengo urtearekiko: CO₂ botila kupelera konektatzen da eta beheko txorrotari mahuka bat jartzen zaio. Gasak barruan egiten duen presioarekin sagardo botiletan isuri egiten da, dosifikagailuaren laguntzarekin. Narbarte Gorriaren kasuan,

sifoiarekin eta CO₂ botilarekin bultzatzen da sagardoa kupeletik botilara, baina horretaz aparte prozedura berdina da.

Esan beharra dago, Narbarte Gorria, Urdin eta Urtebi Txiki sagardoak **bakarrrik** botilaratu zirela guztiz, Narbarte Gorria kantitate gutxi zegoelako, eta beste biek ezaugarri organoleptiko interesgarriak zituztelako. Beste sagardoei dagokienez, froga ezberdinak egin ahal izateko botila kopuru txikiagoak botilaratu ziren, eta gainerakoa baztertu. Erabaki hau hartzeko lehenengo kanpainan gertatutakoa kontuan izan genuen; 2012an sagardo guztiak **guztiz** botilaratu ziren, eta azkenean, hainbat sagardo botila soberan egon ziren alferrik. Beraz, ez genuen beharrezkoa ikusi dena botilaratzea.

3.2.11 Sagardo ezaugarri orokorrak

Hurrengo irudian (**3.24 irudia**) akatsik gabeko sagardoak edalontzietan ikus daitezke.



3.24 Irudia. Merabi, Narbarte Gorria, Urdin eta Urtebi Txiki sagardo ezaugarri orokorrak edalontzietan.

Honako hauek dira lortutako sagardo ezaugarri organoleptikoak, dastatze-taldearen iritzia, gurea eta probatu dituzten hainbat pertsonaren kontuan hartuta:

- **Merabi:** Mokoren antzera, muturreko sagardoa da, oso gazia, mikatza eta astringentea nabaritzen da, aberatsa delako azido eta polifenoletan. Kolore iluna du.
- **Narbarte Gorria:** Sagardo honek oso azidotasun sendoa dauka. Gorputz gutxikoa eta kolore argikoa da. Zapora metaliko pixka bat ere nabaritzen zitzaion, garagardo kupel batean zelako agian. Dastatze-taldean kanpaina honetako nota baxuena lortu zuen.
- **Urdin:** Sagardo mikatza da, gorputz nahikoaren eta iluna. Zenbait nabaritu zioten Brett izaera, baina kasu honetan ez zen desatsegina izatera ailegatu. Dastatze-taldean nota altuena lortu zuen sagardoa da.
- **Urtebi Txiki:** Bigarren aldiz ere, sagardo nahiko orekatua, bai gorputzaren, bai azidotasunaren aldetik. Sagardo argitsua da.

Honako hau da, bestalde, akatsa duten sagardoei buruz aipatu daitekeena:

- **Frantzes Sagarra:** Akroleina garatu izanak guztiz zapuztu zituen sagardo honen ezaugarri organoleptiko nagusiak, hots, zapore eta usaina. Beraz, ezer gutxi esan daiteke sagardo honetaz.
- **Gezamina:** Lehenengo kanpainako sagardo bezain mikatza eta astringentea da. Baita polifenolen aldetik ere, zeintzuk ematen dioten kolore iluna eta gorputz handia. Haatik, aurreko kanpainan ez bezala, ahoan Brett izaera izugarri nabarmentzen da eta oso zapore desatsegina ematen du.
- **Mozoloa:** Mozoloa sagardoari Gezaminari gertatzen zaion berbera egotzi dakiok: mikatza eta astringentea da, eta polifenol kantitate handiak gorputza eta kolore iluna ematen dizkio. Baina honek ere Brett izaera nabarmena garatu zuen.

3.3 Hirugarren uzta: 2014

Hirugarren kanpaina honetan hauek dira aztertutako sagar motak: Aritza, Errezila, Frantzes Sagarra, Manttoni, Mozoloa eta Udare Marroi (**3.25 irudia**).



Aritza



Errezila



Frantzes Sagarra



Manttoni



Mozoloa



Udare Marroi

3.25 Irudia. Hirugarren kanpainaren sagar aleak.

- **Aritza, Errezila, eta Udare Marroi** sagar motak azertu gabe genituen. Beraz, sagardo monobarietalak egin ziren.
- **Frantzes Sagarra** eta **Mozoloa** sagar motekin berriro sagardoa egitea erabaki zen, bigarren kanpaina ez zelako emaitza onik lortu.
- Hasierako hamalau sagarrak gutxienez behin jorrazeko **Manttoni** eta Patzuloa sagar motak falta ziren. Haatik, sagardoa Manttonirekin bakarrik egin zen, bigarren kanpainako eskarmentuarekin ikasi baikeuen 6 sagardo egitea nahikoa lana zela.
- Gainera, urte honetan zenbait sagardogilek sagardo monobarietalak egitea erabaki zuten, Errezila, Patzuloa, Urdin, Urtebi Haundi eta Urtebi Txiki sagar motekin hain zuzen ere. Sagardogile hauekin elkarrekin lan egitea adostu genuen, eta horretarako gure laborategian neurketa batzuk egin genizkien.

3.3.1 Sagar bilketa

Sagarren bilketa 2014ko urriaren 1ean hasi zen. Frantzes Sagarra, Manttoni, Mozoloa eta Udare Marroi sagar motak Gipuzkoako Foru Aldundiaren Zubieta lursailean jaso zizkiguten, bertako langileek, lehenengo kanpainan bezala. Errezila sagar mota ere han jaso ziguten, baina hilabete bat geroago, besteekin konparatuta beranduago baitator. Sagarrak, plastikozko kutxetan gorde ziren eta furgonetaz garraiatu egin ziren prentsa tokira. Aritza sagar motari dagokionez, Oreretako baserri batean erosi genituen sagarrak. Handik, kotxez garraiatu genituen prentsa tokira (**3.26 irudia**).



3.26 Irudia. Lan baldintzak Aritza sagarra garraiatzeko.

3.3.2 Hasierako neurketak

Sagarren prentsaketarekin hasi aurretik, sagar lagin batzuk hartu eta fruituen gogortasuna eta muztioen Brix graduak neurtu ziren. Honi gehituta, iodoaren froga burutu zen sagarretan.

3.3.3 Sagarren prentsaketa

Azken kanpaina honetan, sagarrak Zizurkilen prentsatu ziren, Fraisoro Ingurumen eta Nekazal Laborategiak duen lursailean. Bertan, prentsa **pneumatiko** horizontala zegoen, erabiltzeko prest. Zehazki, *Bucher Vaslin* markakoa, *SUTTER EPC-10* modelo zen, 1000 kg-ko kapazitatekoa. Prentsaren ondoan, sagarrak urarekin garbitzeko eta txikitzeko muntaia jarri zen, lehenengo kanpainaren oso antzekoa. Ondoren, sagar-patsa prentsan sartzen zen plastikozko kutxen laguntzarekin (**3.27 irudia**).



3.27 Irudia. Sagarrak garbitzeko eta txikitzeko muntaia, eta muztioak lortzeko prentsa.

Sagar muztioak 2014ko urriaren 2an lortu ziren, Errezilaren salbuespenarekin, zein urriaren 29an lortu zen.

Lehenengo bi kanpainetan bezala, gure kupelak betetzeko eta, oraingo honetan, 25 L-ko plastikozko ontziak betetzeko muztio nahikoa lortu zen. Kupelak eta plastikozko ontziak Zizurkilen bertan gorde ziren, Fraisoroko laborategiko zuzendariarekin lortutako akordioari esker. Aipatu behar da Frantzes Sagarra muztietik ez zela plastikozko ontzia betetzeko lain lortu. Beraz, trasegua egin ondoren ezin izan zen galdutako muztioa berrosatu.

3.3.4 Laginketak

Aurreko bi kanpainetan lortutako eskarmentuarekin, erabaki genuen azken kanpaina honetan **4 laginketa** egitea:

- Lehenengoa, muztio lortu berrietan, jakiteko hasierako zukuen ezaugarriak.
- Bigarrena, dentsitatea 1000 g/L-ko inguruan dagoenean. Momentu honetan hartidura alkoholikoa bukatuta edo bukatzeaz egon ohi da.
- Hirugarrena bi hartidura nagusiak, alkoholikoa eta malolaktikoa, guztiz amaitu direnean egiten da, eta beti traseguak egin aurretik.
- Laugarrena, sagardoak botilaratu aurretik egiten da.

Aurreko kanpainako atalean aipatu bezala, 1020 g/L-ko dentsitate inguruan egiten zen laginketa kentzea erabaki zen, harrapatzeko momentu zaila zelako.

Bigarren kanpaina bezala, dentsitatea eta pH-a neurtzeaz gain, hartidura alkoholiko eta malolaktikoaren bilakaera jarraitzeko tarteko kontrolak egin ziren, zeinetan azukre totala, azido malikoa eta azido azetikoa neurtu ziren.

3.3.5 Muztioen hasierako ezaugarriak

Hurrengo taulan (3.3 taula) adierazten dira hasierako muztioen dentsitatea, pH-a, azido malikoa eta Folin-Ciocalteu indizea (FC) azido taniko g/L-ko unitateetan.

3.3 Taula. 2014ko kanpainaren hasierako muztioen ezaugarriak

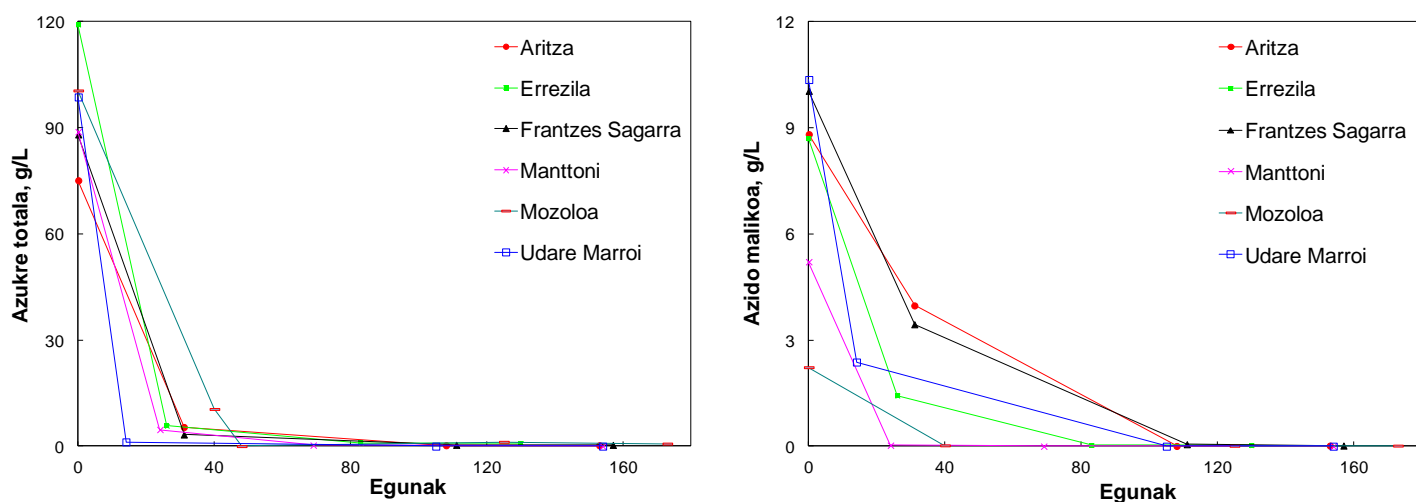
Sagar mota	Dentsitatea, g/L	pH-a	Azido malikoa, g/L	FC, azido taniko g/L
Aritza	1036.7±0.1	3.43±0.02	8.82±0.01	2.3±0.1
Errezila	1056.8±0.1	3.57±0.03	8.70±0.07	0.9±0.1
Frantzes Sagarra	1041.8±0.1	3.40±0.03	10.05±0.03	1.1±0.1
Manttoni	1036.8±0.1	3.66±0.02	5.22±0.01	0.6±0.1
Mozoloa	1045.3±0.1	4.27±0.02	2.23±0.11	2.9±0.1
Udare Marroi	1047.0±0.1	3.42±0.03	10.37±0.05	1.0±0.1

3.3.6 Muztioen bilakaera: sarrera

Azken kanpaina honetan ere, zenbait arazo eduki genituen muztietekin. Egindako 6 muztietatik, hiruretan hartzidura malolaktikoa moteldu egin zen, eta beste batek Brett izaera garatu zuen. Dena dela, kanpaina honetan jarri beharreko baliabide guztiak jarri genituen hartzidurak ahalik eta azkarren buka zitezten. Asmoa zen bigarren kanpaina gertatutakoa saihestea, non muztio batzuk 6 hilabetez egon ziren hartzidura geldirik. Oro har, oraingo hau ez zen kanpaina konplikatu izan, izandako arazoak erlatiboki erraz konpondu genituen eta.

3.3.6.1 Hartzidura alkoholiko eta malolaktikoaren bilakaera

Hurrengo irudian (3.28 irudia) adierazten da laborategian neurtutako azukre totalen eta azido malikoaren desagerpena denboran zehar.



3.28 Irudia. Azukre totalaren eta azido malikoaren desagerpena 2014ko kanpaina.

Kanpaina honetan ez zen arazorik egon hartzidura alkoholikoarekin, bai ordea malolaktikoarekin. Tarteko kontroletan antzeman zen azido malikoaren desagertzea moteltzen ari zela **Aritza**, **Errezila** eta **Frantzes Sagarra** muztioetan. Hori dela eta, lehenik eta behin, Aritza kupelean bero sistema jarri zen, hau baitzen momentu horretan azido maliko gehien zuen muztioa. Honi esker, hartzidura malolaktikoa bukatu egin zen, hartzidura alkoholikoarekin batera. Prozesua Frantzes Sagarra eta Errezila muztioetan errepikatu egin zen (orden horretan) eta bi hartzidura nagusiak arazorik gabe bukatu ziren muztio hauetan.

Manttoni eta **Udare Marroi** muztioei dagokienez, bi hartzidura nagusiak era espontaneoan burutu ziren, inolako arazorik gabe.

Azkenik, **Mozoloa** muztioak, bigarren kanpainan bezala, Brett izaera garatu zuen. Hau, bigarren laginketa egitean ikusi zen, hau da, dentsitatea 1000 g/L balorean zegoenean. Hori dela eta, jakinda bigarren kanpainako Mozoloa sagardoaren botilak bagenituela, eta hirugarren kanpaina honetan muztioa gaixotasun berdina pairatzen ari zela, sagardo honekin ezer gehiagorik ez egitea erabaki zen.

Plastikozko ontzietan hartzitutako muztioei dagokienez, Aritza eta Manttoni muztioak ozpindu egin ziren, hau da, azido azetikoak 2.2 g/L baloretik pasatu zitzaizkien. Horren ondorioz, ezin izan genituen erabili traseguen ondoren kupeletako muztioa berrosatzeko.

3.3.6.2 Akats organoleptikoak: akroleina

Azken kanpaina honetan Errezila muztioari akroleina agertu zitzaion. Trasegua egin aurretik egindako laginketan akroleina 12.5 mg/L-ko kontzentrazioa neurtu genuen, eta botilaratu aurretik, 13.8 mg/L-koa. Beraz, bi laginketa hauek ez ziren erabiliko tratamendu estatistikorik egiteko. Haatik, sagardogile batek Errezila sagardo monobariatela egin zuenez gero, ahal izan genuen pixka bat hartu dastatze-taldera bidaltzeko eta nahaste kontrolatuak egiteko.

3.3.6.3 Akats organoleptikoak: Brett izaera

Hurrengo taulan (**3.4 taula**) adierazten dira **sagardoetan** botilaratu aurretik aurkitutako 4-etilkatekol, 4-etilfenol eta 4-etilguaiakol kontzentrazioak.

3.4 Taula. Brett konposatuen kontzentrazioak 2014ko sagardoetan			
Sagardoa	4-etilkatekola	4-etilfenola	4-etilguaiakola
Aritza	1.9±0.1	1.2±0.7	0.39±0.02
Errezila	6.9±0.1	1.9±0.1	0.47±0.01
Frantzes Sagarra	ND	1.5±0.2	0.75±0.10
Manttoni	1.1±0.3	1.2±0.1	0.62±0.02
Mozoloa	60±1	5.7±0.9	ND
Udare Marroi	ND	1.5±0.4	0.50±0.04

Letra lodiz, bibliografiako pertzepzio-atariaren gainetik dauden baloreak
ND = detektatu gabea (not detected)

Letra lodiz adierazten dira bibliografian aurkitutako pertzepzio-atarietatik (sagardoetan) gora dauden baloreak. Pertzepzio-atariak konposatu hauentzat dira: 4-etilkatekol, 20 mg/L, 4 etilfenol, 1.5 mg/L eta 4 etilguaiakol, 0.6 mg/L (ardoetan).

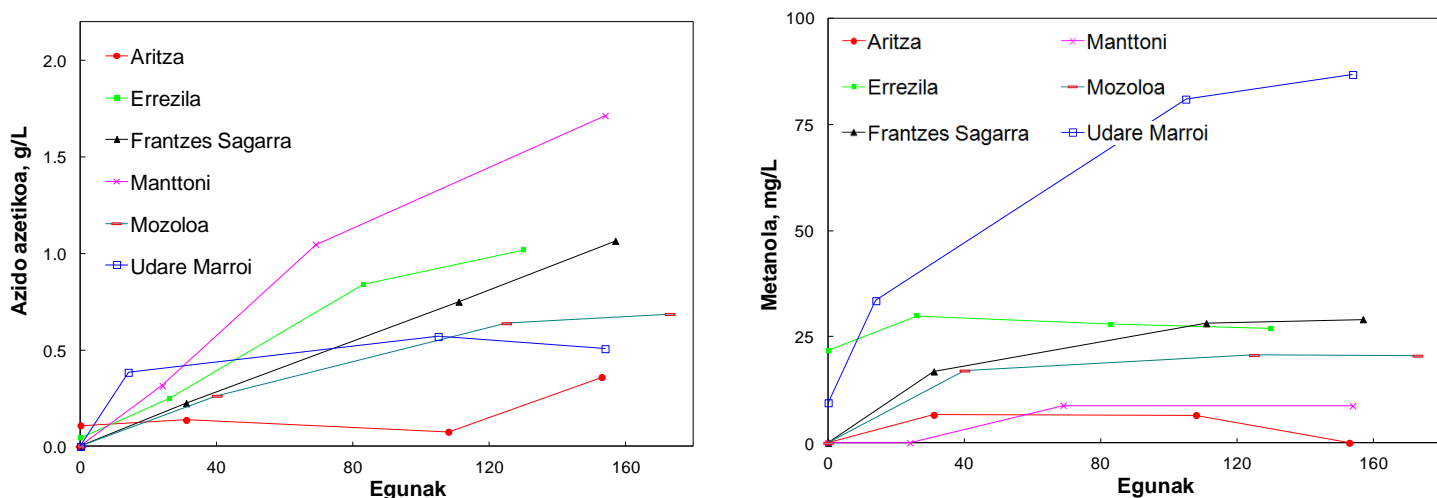
Lehen aipatu bezala, Mozoloa sagardoak Brett izaera sendoa garatu zuen. Nabarmentzen da aurkitutako 4-etilkatekol kontzentrazioa, pertzepzio-atari a hirukoizten duena. Beste sagardoei dagokienez, nahiz eta batzuk Brett konposatuak pertzepzio-atarien gaintetik eduki, ez zen Brett izaerarik nabaritu, edo behintzat dastatze-talde adituak ez zuen zentzu honetan ezer aipatu.

3.3.7 Sagardoan ontzi-aldaketa (trasegua)

Hirugarren kanpaina honetan, lehenengo Manttoni muztioaren trasegua egin zen, eta ondoren beste muztioenak. Prozedura aurreko kanpainetan erabilitakoa izan zen, CO₂ botilaren laguntzarekin egiten dena. Gogoratu egin behar da, ordea, traseguen ondoren Errezila eta Udare Marroi muztioen kupelak bakarrik berrosatu ahal izan genituela.

3.3.8 Konposatu lurrinkorren bilakaera

Azken kanpaina honetan, lehenengoan eta bigarreanean bezala, konposatu hauen kontzentrazioak legeak agindutako maximoen azpitik mantendu ziren. Hurrengo irudian (**3.29 irudia**) adierazten da azido azetikoaren eta metanolaren bilakaera.

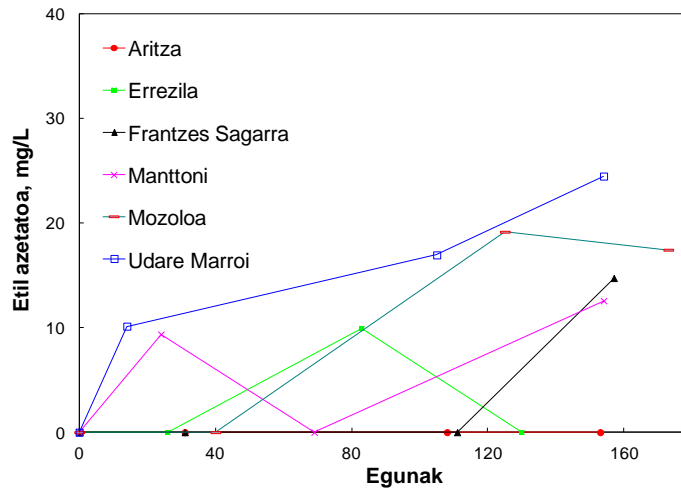


3.29 Irudia. Azido azetikoaren eta metanolaren bilakaera 2014ko kanpaina.

Azido azetiko gehien zuen sagardoa Manttoni izan zen, 1.7 g/L-rekin. Azken hau, nabarmendu egin zen beste sagardoekin konparatuz, baina hala eta guztiz ere balorea 2.2 g/L-ko maximo legalaren azpitik mantendu zen. Aipatu daiteke, era berean, azken kanpaina honetan, sagardoek beste kanpainetan baino azido azetiko gehiago garatu zutela. Metanolari dagokionez, Udare Marroi izan zen gehien izan zuen sagardoa, 86.8 mg/L-ko kontzentrazioarekin.

Beste konposatu lurrinkorrei dagokienez, azetaldehidoa Errezila sagardoan bakarrik detektatu zen, 14.3 mg/L-ko kontzentrazioan. Aurreko kanpainetan gertatu zen legez,

akroleina garatu zuten sagardoek azetaldehidoa mantendu zuten hartxidurak bukatu ostean. Azkenik, etil azetatoari dagokionez, Udare Marroi sagardoa izan zen gehien eduki zuena, 24.5 mg/L-ko kontzentrazioarekin (**3.30 irudia**). Ez zen, ordea, konposatu honekiko lotuta dagoen akatsik nabaritu.



3.30 Irudia. Etil azetatoaren bilakaera 2014ko kanpainan.

3.3.9 Azido askorbikoaren gehitzea

Hirugarren kanpaina honetan, bigarreanean bezala, **ez zen potasio metabisulfitorik gehitu** sagardoetan, eta azido askorbikoa soilik gehitu zen, 200 mg/L-ko dosian.

Prozedura azido askorbikoa gehitzeko, beste kanpainetan erabilitakoa da: 30 g azido askorbiko pisatzen dira eta sagardoan disolbatzen dira. Ondoren, kupelaren goiko tapa irekitzen da eta barrura botatzen da disoluzioa. Gero, kupelaren beheko txorrotari CO₂ botila konektatzen zaio, eta minutu batez CO₂ korrontea pasatzen da. Azkenik, CO₂ botila goiko giltzara konektatu eta 0.2 bareko gainpresioa jartzen zaio kupelari.

3.3.10 Sagardoen botilaratzea

Sagardoen botilaratzea 2015eko martxoaren 20an hasi zen. Aurreko kanpainetan bezala, sagardo nahaste kontrolatuak egin ziren lehen, dastatze-talde kualifikatuak iritzia emateko, eta ondoren, sagardoak botilaratu ziren. Prozedura ez zen aldatu aurreko kanpainekin konparatuta; beti bezala, CO₂ botilaren laguntzarekin bete ziren botilak.

Hirugarren kanpaina honetan, Aritza, Frantzes Sagarra, Manttoni eta Udare Marroi sagardoak erabili ziren nahaste kontrolatuak egiteko. Ondoren, guztiz botilaratu ziren. Gure errezila sagardoari dagokionez, arbuiatu egin zen akroleina zuelako, baina esan bezala, sagardogile bati esker, sagardo honekin ere nahaste kontrolatuak egin ahal izan genituen.

3.3.11 Sagardo en ezaugarri orokorrak

Hurrengo irudian (**3.31 irudia**) sagardo osasuntsuek edalontzietan duten itxura ikus daiteke.



3.31 irudia. Akatsik gabeko sagardoak edalontzietan zerbitzatuak.

Honako hauek dira lortutako sagardo en ezaugarri organoleptikoak, dastatze-taldearen, gure eta probatu dituzten hainbat pertsonaren iritzia kontuan hartuta:

- **Aritza:** Sagardo azidoa, mikatza eta astringentea da, kolore ilunekoa. Dastatze-taldean nota baxuena atera zuen sagardo da.
- **Errezila:** Gure sagardoak akroleina garatu zuenez gero, sagardogile batek egindako sagardo monobarietaren iritzia besterik ezin dugu aipatu. Hau esana, sagardo azidoa eta argia da, gorputz nahikoa duena.
- **Frantzes Sagarra:** Sagardo azidoa, aski gorputza duena eta argia. Dastatze-taldeak, akroleina antzeman zuen bidalitako bi botiletako batean. Hori dela eta, Aritzak ateratako nota berbera atera zuen, hots, baxuena.
- **Manttoni:** Sagardo azidoa da, gorputz gutxikoa eta argia. Oro har sagardo borobila, orekatua, dastatze-taldean nota altuena lortu zuena.
- **Udare Marroi:** Sagardo azidoa, mikaztasun apur batekin. Tarteko kolore dauka, ez argia, ez iluna.

3.4 Ondorioak

Kapitulu honetan, **sagar mota bakarrez** egindako 15 sagardoren ekoizpena aztertu ahal izan da. Hartziduren bilakaera nolakoa izan den ikusi da, eta amaierako sagardo en ezaugarri organoleptikoak zeintzuk izan diren azaldu da.

Oro har, sagardo en ekoizpenaren aldetik, **lehenengo kanpainan** ez zen aparteko arazorik egon, Moko sagar motarekin kenduta, zeinekin egin behar izan ziren zenbait eragiketa sagardo lortu ahal izateko. **Bigarren kanpainan**, arazo gehiago eduki genituen. Hartzidura geldialdiak pairatu genituen, eta horretaz gain, ezin izan genuen

produktu onik lortu Frantzes Sagarra, Gezamina eta Mozoloa sagar motekin. Azkenik, **hirugarren kanpaina** errazagoa izan zen berriro ere, nahiz eta oraingoan ezin izan genuen sagardo onik lortu, Errezila, Frantzes Sagarra eta Mozoloa sagar motekin.

Hiru kanpainetan erabilitako sagar motak hauek izan dira: Aritza, Errezila, Frantzes Sagarra, Gezamina, Goikoetxea, Narbarte Gorria, Manttoni, Merabi, Moko, Mozoloa, Txalaka, Udare Marroi, Urdin, Urtebi Haundi eta Urtebi Txiki. Hauetako lau, bi aldiz egin dira: Frantzes Sagarra, Gezamina, Mozoloa eta Urtebi Txiki. Hona hemen emaitza aipagarrienak:

- **Urtebi Txiki** eta **Manttoni** sagardo argiak, nahiko borobilak eta orekatuak izan dira, bai gorputzaren, bai azidotasunaren aldetik, eta harrera ona izan dute jendaurrean egindako hainbat ekitalditan. Urtebi Txiki bigarren aldian egin dugunean ere, nahiko borobila atera da.
- **Urdin** sagardoa iluna, mikatza eta gorputz nabarmeneko da. Aurrekoak bezain borobila ez bada ere, onarpen handia lortu du.
- **Gezamina** izan da lortu dugun sagardorik bereziena, itxuraz garagardoa baitirudi. Hori dela eta, iritzi kontrajarriak sortu ditu jendearengan. Sagardo iluna, gorputz handikoa, mikatza eta astringentea. Bigarren kanpainan ekoizten saiatu garenean, ordea, Brett izaera garatu du.
- **Moko, Merabi** eta **Narbarte Gorria** sagardoak bereziki gaziak eta mikatzak dira. Gainera, arazoak eman dituzte fermentazioetan. Gure ustez, aproposak dira beste sagardoek dituzten gabeziak zuzentzeko, hain zuzen ere, azido edo polifenol gutxi dituztenak. Erabilera horretan interesgarria da aipatzea Moko eta Merabi sagardoek kolore iluna dutela eta Narbarte Gorriak, ordea, argia.
- **Mozoloa** sagardoak Brett izaera sendoa garatu du ekoiztu den bi kanpainetan. Ez dirudi egokia denik bakarka erabiltzeko, bai ordea beste sagardoen polifenol falta zuzentzeko.
- Gainontzeko sagardoak ez dira orekatuak izan eta gehienetan izaera azidoa nabarmendu da, Goikoetxean izan ezik, non mikaztasuna nabarmendu den. Aipatu beharra dago, bestalde, Txalaka izan dela lortu dugun sagardorik argiena.

3.5 Erreferentziak

Buron, N., Coton, M., Legendre, P., Ledauphin, J., Kientz-Bouchart, V., Guichard, H., Barillier, D., Coton, E. (2012). Implications of *Lactobacillus collinoides* and *Brettanomyces/Dekkera anomala* in phenolic off-flavour defects of ciders. *International Journal of Food Microbiology* 153, 159-165.

Jarvis, B., Lea, A. G. H. (2000). Sulphite binding in ciders. *International Journal of Food Science and Technology* 35, 113-127.

Jolicoeur, C. (2013). *The New Cider Maker's Handbook. A Comprehensive Guide for Craft Producers*. Chelsea Green Publishing, Vermont (USA). Chapter 7: Apple Presses, 113-149.

4. Kapitula

Sagardo nahasketa kontrolatuak

4.1 Sarrera

Sagardo kanpaina bakoitzean, eta beti sagardoak botilaratu aurretik, sagardoaren nahasketa kontrolatuak egin dira. Nahasketa hauek, hiru faktoreko *simplex* zentroide diseinu experimentalaren bidez planteatu dira. Ondoren, Fraisoroko Dastatze-taldera eraman dira, zentzumen analisia egin diezaieten. Zentzumen analisisian lortutako puntuaketa, erantzun gainazal batera doitu da, *simplex* zentroide diseinu bakoitzerako. Horretarako *Statistica 8.0* (StatSoft Inc, Tulsa, AEB) programa erabili da. Honi esker, erantzun gainazalaren puntuazio maximoak bilatu dira, desiragarritasun funtzioaren bidez. Helburu nagusia landutako sagardoaren arteko nahasketarik interesgarrienak aurkitzea izan da.

4.2 Dastatze-taldea eta erantzun gainazalak

4.2.1 Testuingurua

Elikagai baten ezaugarriak definitzeko eta kalitatea determinatzeko, laborategian egindako hainbat neurketa fisikokimikoz aparte, ezinbestekoa da elikagaiaren balorazio organoleptikoa egitea. Hemen, elikagaia zentzumenen bidez analizatzen da, bereziki usaimenaren eta dastamenaren bidez. Eta hori da, hain zuzen ere, dastatze-talde batek egiten duena. Elikagaiaren ezaugarrietan trebatuak eta heziak diren hainbat pertsonaz osatutako talde batek, elikagaia zentzumenen bidez analizatzen du, ezaugarri positibo eta negatiboak identifikatzeko eta, dastatze-fitxa baten arabera, ezaugarri hauei intentsitatea jartzeko.

Gipuzkoako esparruan, 2013an Fraisoroko Ingurumen eta Nekazar Laborategiak (Zizurkil, Gipuzkoa) Zentzumen Analisisiko arloa sortu zuen, Gipuzkoako nekazaritza eta elikagaien sektoreko pertsona desberdinei aholkularitza zerbitzua emateko xedearekin. Hasiera batean, sagardo naturalaren sektore ekoizlean zentratu zuen jarduera; zentzumen ebaluazioko oinarritzko tresna bezala, Sagardoaren Dastatze-taldea sortu zuen. Geroago, 2014an, sagardoaren zentzumen bidezko analisisian ENAC-eko (Entidad Nacional de Acreditación) egiaztapena lortu zuen. Horrelako egiaztapena lortzen duen lehenbiziko laborategia bilakatu zen, UNE EN ISO 17025 arauaren arabera.

4.2.2 Dastatzeak egiteko prozedura

Fraisoroko dastatze-talde bakoitza bost pertsonaz osatuta dago, epaileak, dastatzaileak edo taldekideak bezala ezagutzen direnak. Era isolatuan, eta probatu beharreko sagardoei buruz ezer jakin gabe, sagardoak ebaluatzen dituzte, **eranskinean** agertzen den dastatze-fitxaren arabera. Ikusi ahal denez, garrantzi handia ematen zaio batez ere dastamen eta usaimen kalitateari, baina, kolorea edota harmonia bezalako ezaugarriak ere ebaluatu egiten dira. Ezaugarri ezberdinek **puntuaketa totala** ematen dute, zein gutxienez 56koa izan behar den sagardoa aprobatuta egoteko.

Bestalde, dastatzeak era objektiboan eta errepikagarrian egiten dira. Horretarako, dastatzaileak hezi egiten dira, irizpide komuna izan dezaten. Horretaz aparte,

dastatze-taldearen kideek kontrolak egiten dituzte noizbehinka, sagardoan analisietarako gaitasuna denboran zehar mantentzen dutela bermatzeko.

4.2.3 Erantzun gainazalak eta hauen maximoak lortzeko metodologia

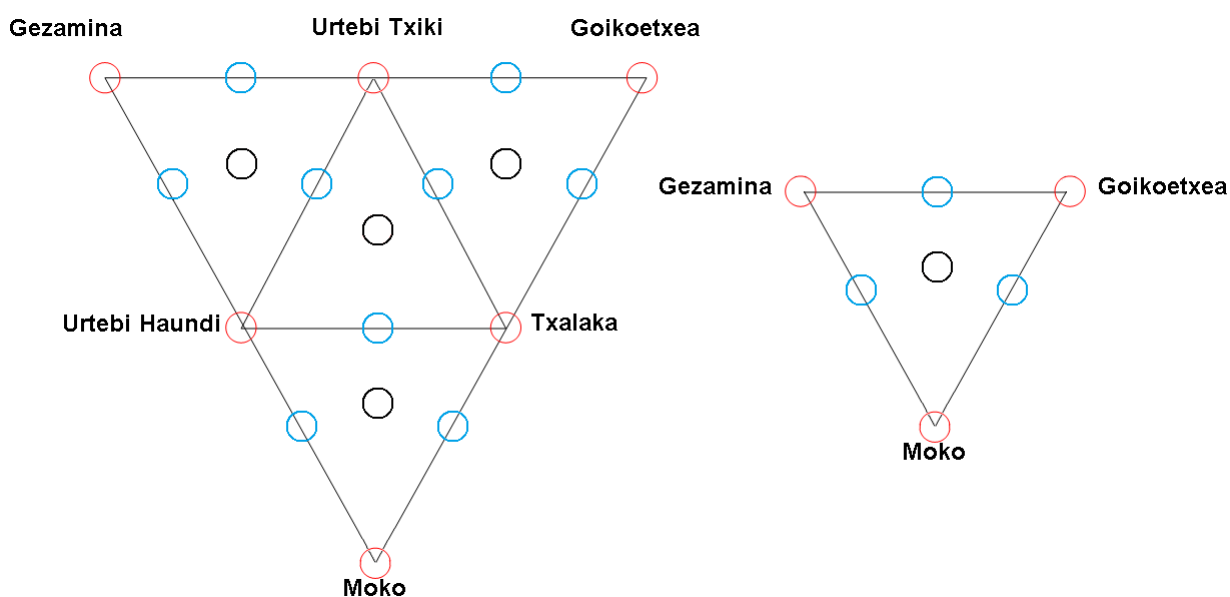
Dastatze-taldearen bidez diseinu bakoitzerako lortutako **puntuazio totala**, erantzun gainazalaren metodologiaren bidez doitu da. Bilatutako modelo matematikoa, **termino koadratiko adierazgarriak** dituen izan da, kasu guztietan. Horretarako, modelo kubiko berezia abiapuntu izanik, ANOVA taula eta Pareto irudikapenak erabili dira, terminoen adierazgarritasuna aztertzeko. Kasu guztietan terminoak kendu behar izan dira, baina lortutako modeloak eta hauen terminoak adierazgarriak izan dira % 95 konfiantza mailarekin. Modelo egokiak lortu ostean, **desiragarritasun funtzioa** erabili da hauen maximoak kalkulatzeko. Funtzio honetan, desiragarritasun maximoa 100 puntuazioari eman zaio, minimoa, 40ri, eta desiragarritasun ertaina 72ri. Dastatze-fitxaren arabera, 100 da dastatze-taldeak eman dezakeen puntuaziorik altuena, 40 baxuena, eta 72 sagardo "on" bati legokiona. Horrela, nahaste bakoitzarentzat puntuazio altuena emango lukeen nahasketaren konposizioa aurkitu egin da (**Siche et al., 2016**). Konposizio hau, erantzun gainazal bakoitzean puntu beltz baten bidez adierazi da. Dastatzeetan sagardo bakoitzak lortutako nota **eranskinean** ematen dira.

4.3 Lehenengo kanpaina: 2012ko nahasketak

4.3.1 Diseinu esperimentalak

Sagardo kanpaina honetan sagardo guztiak aintzakotzat hartu ziren nahasketak egiteko. Esan bezala, *simplex* zentroide diseinuak erabili ziren sagardoak hirunaka hartuz. Baldintza bakarra izan zen, diseinu bakoitzean muturreko sagardo bakarra hartzea. Horretarako, polifenol kantitatea eta azidotasuna hartu ziren irizpide.

Hurrengo irudian (**4.1 irudia**) agertzen diren *simplex* zentroideak egin ziren:



4.1 Irudia. 2012ko kanpainan egindako nahasketen eskema.

Irudian, borobil gorriak sagardo monobarietalei dagozkie, urdinak, nahaste bitarrei eta, beltzak, nahaste hirukoitzei. Horrela, bost *Simplex* zentroide diseinu egin ziren, irudian adierazten direnak, hain zuzen ere. Diseinu bakoitzari dagozkion sagardoak dastatze-taldera bidali ziren, hots, sagardo monobarietalak eta nahaste bitar eta hirukoitzak. Triangelu bakoitzaren zentroa, alegia, nahaste hirukoitza, hiru aldiz dastatu zen, eta beste puntu guztiak berriz, behin bakarrik.

Bi diseinuren erpinak edota alde komunak elkarrekin jarriz, dagokien sagardo edo nahaste bitarra bi diseinutan aprobeztatzen da, egin beharreko nahaste kopurua murrizteko. Eskuinean adierazten den diseinuan (Gezamina-Goikoetxea-Moko sagardoaren nahasketa), adibidez, erpin guztiak beste diseinutan aztertzen dira, eta bakarrik nahaste bitarrak eta hirukoitza dastatu behar dira. Horrela, dastatze-taldeari gehiegizko lagin kopurua bidaltzea saihestu zen.

Dastatze-taldeak bi sagardo botila eskatzen ditu lagin bakoitzeko. Beraz, sagardo monobarietal eta nahaste bitar bakoitzeko bi botila bidali ziren, eta nahaste hirukoitz bakoitzeko, 6 botila. Honako hauek dira egindako nahasketa guztiak eta prestatutako sagardo botilen kopurua (**4.1 taula**).

4.1 Taula. 2012an egindako nahasketak eta prestatutako sagardo botilen kopurua

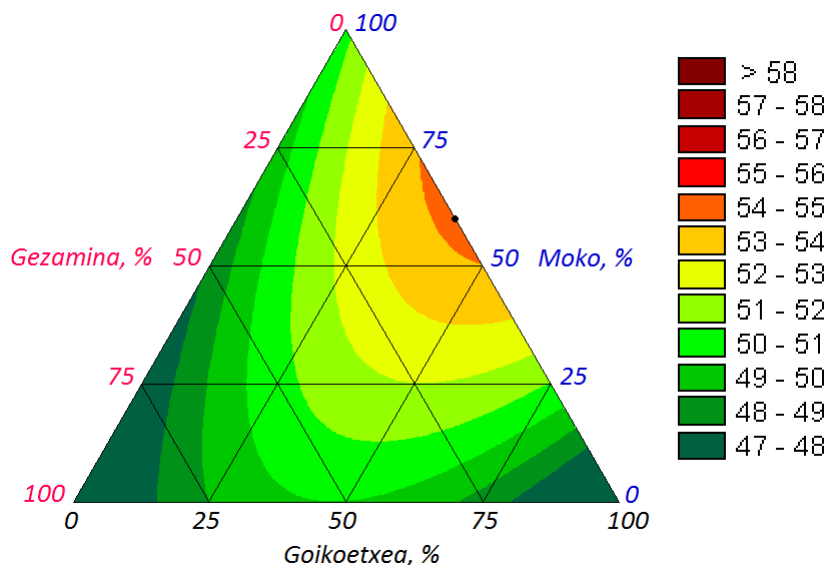
SAGARDO MONOBARIETALAK	NAHASTE BITARRAK
Gezamina: x2	Gezamina-Goikoetxea: x2
Goikoetxea: x2	Gezamina-Moko: x2
Moko: x2	Gezamina-Urtebi Haundi: x2
Txalaka: x2	Gezamina-Urtebi Txiki: x2
Urtebi Haundi: x2	Goikoetxea-Moko: x2
Urtebi Txiki: x2	Goikoetxea-Txalaka: x2
NAHASTE HIRUKOITZAK	Goikoetxea-Urtebi Txiki: x2
Gezamina-Goikoetxea-Moko: x6	Moko-Txalaka: x2
Gezamina-Urtebi Haundi-Urtebi Txiki: x6	Moko-Urtebi Haundi: x2
Goikoetxea-Txalaka-Urtebi Txiki: x6	Txalaka-Urtebi Haundi: x2
Moko-Txalaka-Urtebi Haundi: x6	Txalaka-Urtebi Txiki: x2
Txalaka-Urtebi Haundi-Urtebi Txiki: x6	Urtebi Haundi-Urtebi Txiki: x2

4.3.2 Emaitzak

Egindako bost nahaste diseinuetatik, bik bakarrik eman zuten modelo matematiko adierazgarria. Nahaste hauek dira Gezamina-Goikoetxea-Moko eta Goikoetxea-Txalaka-Urtebi txiki sagardoak. Beste diseinuekin, esan bezala, ezin izan zen doiketarik egin modelo adierazgarririk lortzeko. Beraz, ez dira komentatuko.

4.3.2.1 Gezamina-Goikoetxea-Moko sagardoen nahasketa

Honako hau da nahaste honetarako lortutako erantzun gainazala (**4.2 irudia**).



4.2 Irudia. Erantzun gainazala Gezamina-Goikoetxea-Moko nahasketarentzat.

Erantzun gainazal honen modelo matematikoa honako hau da:

$$\hat{y} = 0.4566 * (\text{Gezamina, \%}) + 0.4476 * (\text{Goikoetxea, \%}) + 0.5066 * (\text{Moko, \%}) + 19.08 * 10^{-4} * (\text{Gezamina, \%} * \text{Goikoetxea, \%}) + 25.08 * 10^{-4} * (\text{Goikoetxea, \%} * \text{Moko, \%})$$

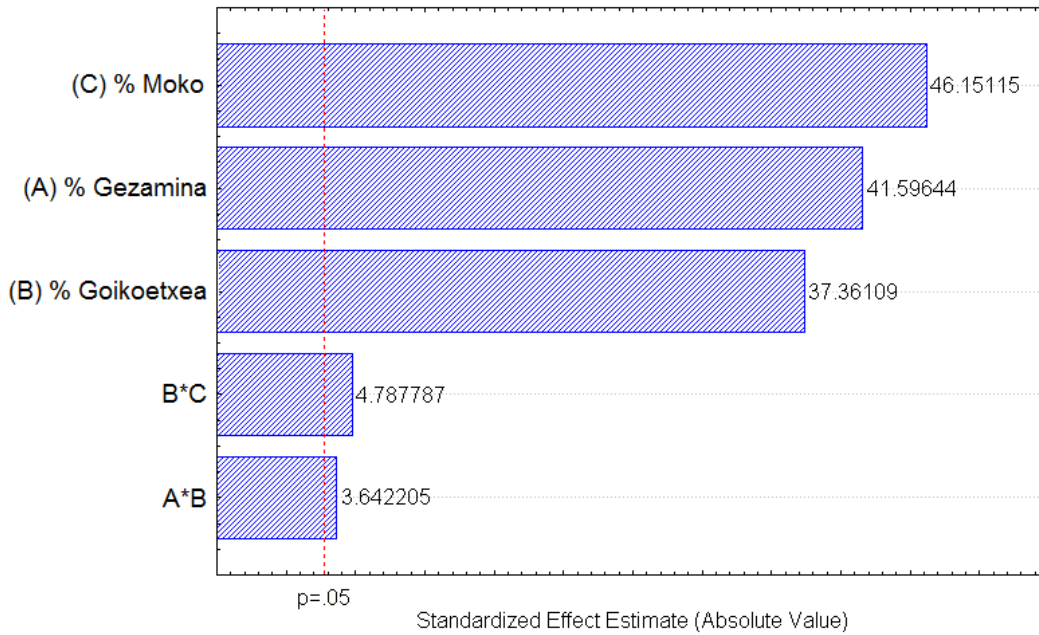
Ekuazio honetan, \hat{y} modeloak iragarritako puntuazioa da eta parentesien artean adierazten dena, sagardoen ehunekoa nahasketan. Modelo honen ezaugarriak **4.2 taulan** ematen dira. Ikusten den bezala, modeloa adierazgarria da ($p= 0.05$), eta doiketa falta (lack of fit), ez-adierazgarria.

4.2 Taula. ANOVA taula Gezamina-Goikoetxea-Moko modeloarentzat

	SS	df	MS	F	p
Model	77.05374	4	19.26344	13.20511	0.014170
Total Error	5.83514	4	1.45879		
Lack of Fit	5.16848	2	2.58424	7.75272	0.114250
Pure Error	0.66667	2	0.33333		
Total Adjusted	82.88889	8	10.36111		

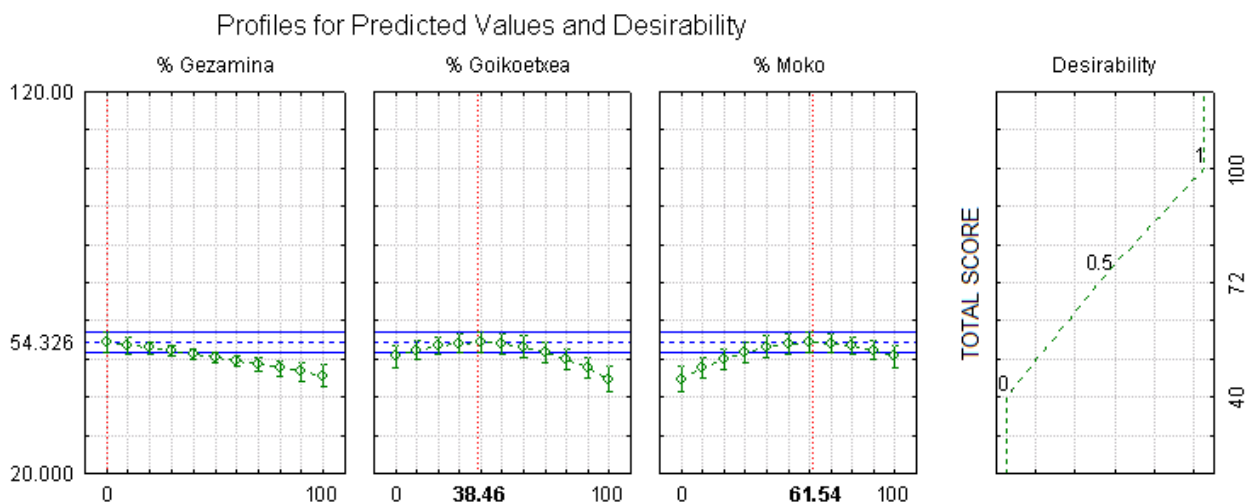
SS: sum of squares MS: mean square effect p: probability
df: degrees of freedom F: Fisher coefficient

Modelo hau osatzen duten terminoak adierazgarriak dira ($p= 0.05$), **4.3 irudian** adierazten den Pareto grafikoan ikus daitekeen bezala.



4.3 Irudia. Pareto irudikapena Gezamina-Goikoetxea-Moko modeloaren terminoentzat.

Desiragarritasun funtzioaren arabera, nahaste honetarako erantzunik handiena honako aldagaien baloreek ematen dute: Gezamina, % 0, Goikoetxea, % 38.46 eta Moko, % 61.54. Balore hauekin, 54.3ko puntuazio totala lortuko litzateke. **4.4 Irudian** ematen da nahasketa honetarako desiragarritasun funtzioak emandako profila.

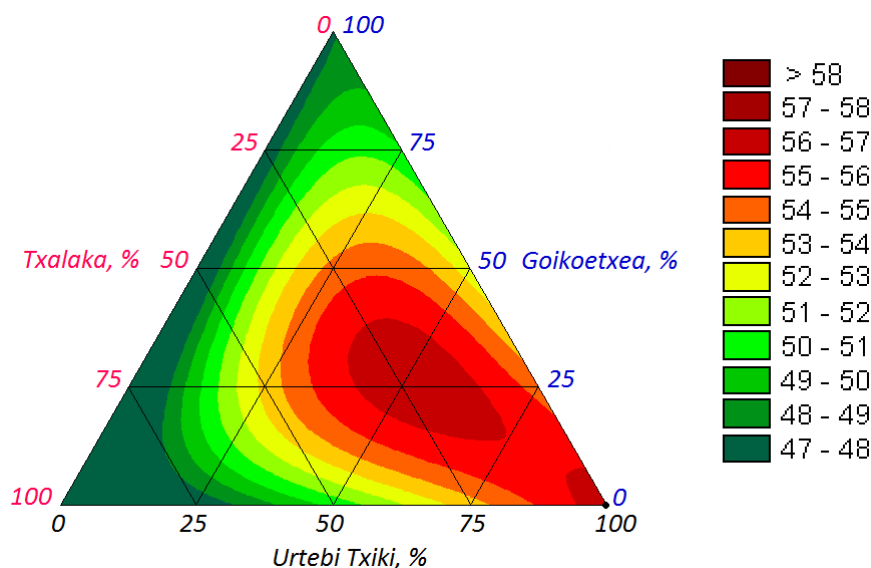


4.4 Irudia. Auresandako balioaren eta desiragarritasun profila Gezamina-Goikoetxea-Moko modeloarentzat.

Erantzun gainazal honetaz esan daiteke ez dagoela nahasketarik aprobatzeko nota lortzen duena, hots, 56 puntu. Izan ere, puntuazio altueneko nahasketak bitarrak dira, Goikoetxea eta Moko sagardoaren artean, Moko sagardoaren proportzioa % 50-75 tartean mugitzen denean, gutxi gorabehera. Gezamina sagardoa edozein proportzian sartuz gero, eta erantzun gainazalaren arabera, puntuazioa beti jaisten da.

4.3.2.2 Goikoetxea-Txalaka-Urtebi Txiki sagardoen nahasketa

Honako hau da nahaste honetarako lortutako erantzun gainazala (**4.5 irudia**).



4.5 Irudia. Goikoetxea-Txalaka-Urtebi Txiki nahasketarentzat lortutako erantzun gainazala.

Erantzun gainazal honen modelo matematikoa honako hau da:

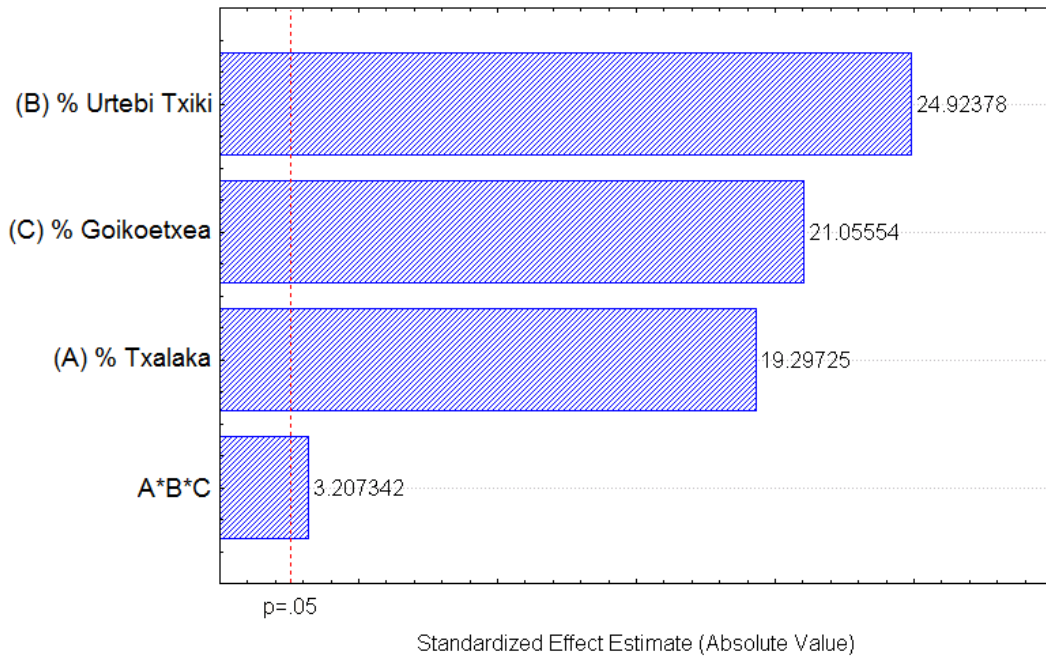
$$\hat{y} = 0.479 * (Goikoetxea, \%) + 0.439 * (Txalaka, \%) + 0.567 * (Urtebi Txiki, \%) + 16.65 * 10^{-5} * (Goikoetxea, \% * Txalaka, \% * Urtebi Txiki, \%)$$

Berrito ere, \hat{y} modeloak iragarritako puntuazioa da eta parentesien artean adierazten dena, sagardoen ehunekoa. Hemen ere, modelo eta modelo osatzen duten terminoak adierazgarriak dira ($p= 0.05$), eta doiketa falta ez-adierazgarria. Kasu honetan, ez dago termino koadratikorik, baina bai hiru osagaien arteko interakzioak adierazten dituen. Modelo honen ezaugarriak **4.3 taulan** ematen dira, eta dagokion Pareto irudikapena, **4.6 irudian**.

4.3 Taula. ANOVA taula Goikoetxea-Txalaka-Urtebi Txiki modeloarentzat

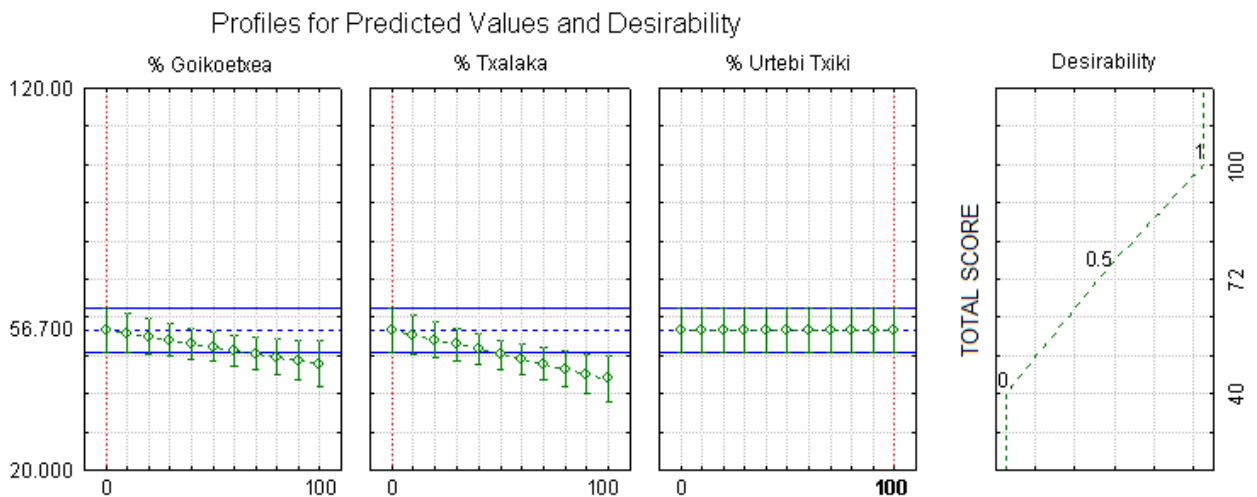
	SS	df	MS	F	p
Model	183.2556	3	61.08519	8.262198	0.022059
Total Error	36.9667	5	7.39333		
Lack of Fit	32.3000	3	10.76667	4.614286	0.183252
Pure Error	4.6667	2	2.33333		
Total Adjusted	220.2222	8	27.52778		

SS: sum of squares
df: degrees of freedom
MS: mean square effect
F: Fisher coefficient
p: probability



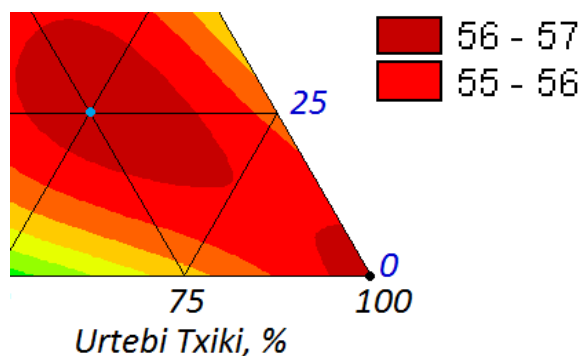
4.6 Irudia. Goikoetxea-Txalaka-Urtebi Txiki modeloaren terminoen adierazgarritasuna.

Nahaste honetarako erantzunik handiena ematen duten aldagaien baloreak honako hauek dira: Goikoetxea, % 0, Txalaka, % 0 eta Urtebi Txiki, % 100. Hau da, puntuazio altuena erantzun gainazal honetan Urtebi Txiki sagardo monobarietalarari dagokio. Honek, modelo matematikoaren arabera. 56.7ko puntuazioa lortuko luke. Desiragarritasun funtzioak emandako profilak **4.7 irudian** ikusi daitezke.



4.7 Irudia. Auresandako balioaren eta desiragarritasun profilak Goikoetxea-Txalaka Urtebi Txiki modeloarentzat.

Hala eta guztiz ere, badaude erantzun gainazal honetan bi zonalde interesgarriak (4.8 irudia).



4.8 Irudia. 56 Puntuako zonaldeak handituak.

Lehenengoa, Goikoetxea % 25, Urtebi Txiki % 50 eta Txalaka % 25 nahaste hirukoitzaren inguruan dago, puntu urdin batez adierazita. Esate baterako, aipatutako nahaste honek 56.5eko puntuazioa lortuko luke, eta inguruan zonalde gorri iluneko edozein nahastek aprobataua lortuko luke dastatze-taldean, beti ere erantzun gainazalaren modeloaren arabera.

Bigarrena, Urtebi Txiki sagardoaren % 100 proportziotik gertu dago. Hemen ere, edozein nahastek lortzen du aprobataua. Adibidez, Goikoetxea % 5, Txalaka % 5 eta Urtebi Txiki % 90 proportzioetan egindako nahasketak 56ko puntuazioa lortuko luke, dastatze-taldean aprobataua lortzeko puntuaziorik txikiena.

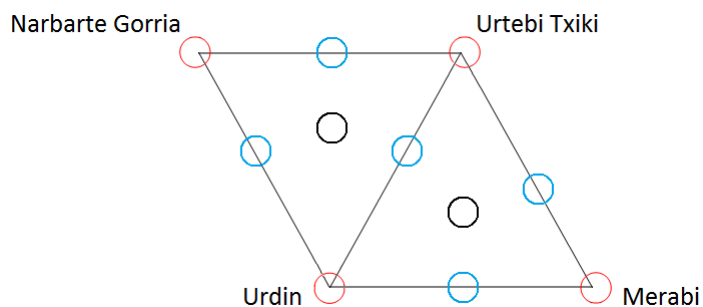
4.4 Bigarren kanpaina: 2013ko nahasketak

4.4.1 Diseinu esperimental

Bigarren kanpaina honetan, ez ziren aztertutako sagardo guztiak aintzakotzat hartu nahasketak egiteko. Egindako zazpi sagardoetatik, lau izan ziren aukeratutakoak: Merabi, Narbate Gorria, Urdin eta Urtebi Txiki. Frantzes Sagarra sagardoari akroleina agertu zitzaion, eta Mozoloa eta Gezamina sagardoei Brett izaera. Hori dela eta, ez ziren nahasketak egiteko erabili.

Berrero ere, *simplex* zentroide diseinuak erabili ziren sagardoak hiruak hartuz. Beraz, kanpaina honetan, bi diseinu besterik ez ziren egin.

Hurrengo irudian (4.9 irudia) agertzen diren *simplex* zentroideak egin ziren.



4.9 Irudia. 2013ko kanpainen egindako nahasketen eskema.

Merabi eta Narbarte Gorria sagardo motak ez nahastea erabaki zen, muturreko azidotasuneko sagardoak baitira. Eta lehenengo kanpainan bezala, bi diseinuentzat komunak diren erpin eta aldeak aprobetxatu ziren, egin beharreko lagin kopurua murrizteko.

Borobil gorriak sagardo monobarietalei dagozkie, urdinak, nahaste bitarrei eta, beltzak, nahaste hirukoitzei. Berriro ere, diseinu bakoitzari dagozkion sagardoak dastatze-taldera bidali ziren, puntuazioa eman ziezaieten. Alabaina, kanpaina honetan, sagardo gutxiago izateak aukera eman zuen erreplika gehiago egiteko. Triangelu bakoitzaren zentroa, hots, nahaste hirukoitza, bi aldiz dastatu zen (lehenengo kanpainan hiru aldiz), baina triangeluen erpinak, hau da, sagardo monobarietalak, bi aldiz dastatu ziren (lehenengo kanpainan behin). Azkenik, nahaste bitarrak behin dastatu ziren (lehenengo kanpainan bezala).

Dastatze-taldeak bi sagardo botila eskatzen ditu lagin bakoitzeko. Beraz, sagardo monobarietal eta nahaste hirukoitz bakoitzeko lau sagardo botila bidali ziren, eta nahaste bitar bakoitzeko, 2 botila. Honako hauek dira egindako nahasketa guztiak eta hauen sagardo botilen kopurua (**4.4 taula**).

4.4 Taula. 2013an egindako nahasketak eta prestatutako sagardo botilen kopurua

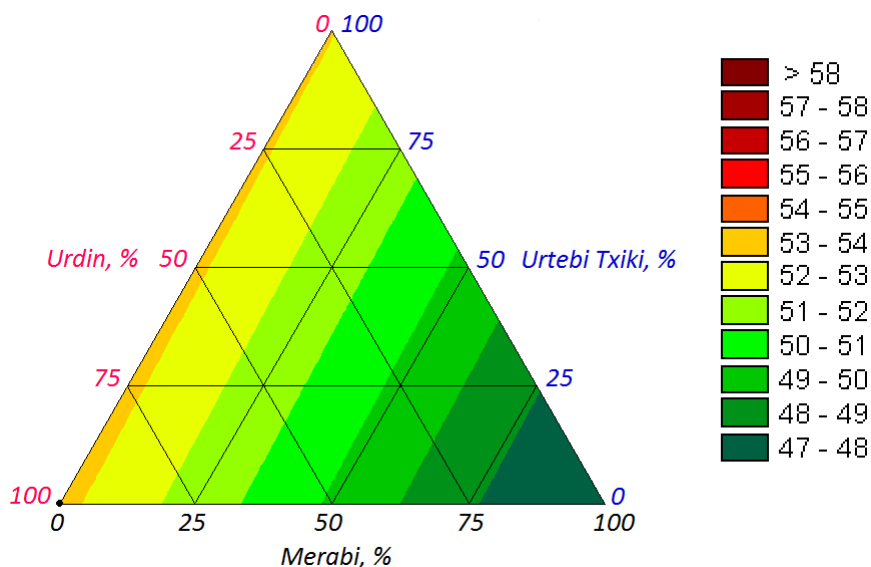
SAGARDO MONOBARIETALAK	NAHASTE BITARRAK
Merabi: x4	Merabi-Urdin: x2
Narbarte Gorria: x4	Merabi-Urtebi Txiki: x2
Urdin: x4	Narbarte Gorria-Urdin: x2
Urtebi Txiki: x4	Narbarte Gorria-Urtebi Txiki: x2
NAHASTE HIRUKOITZAK	Urdin-Urtebi Txiki: x2
Merabi-Urdin-Urtebi Txiki: x4	
Narbarte Gorria-Urdin-Urtebi Txiki: x4	

4.4.2 Emaitzak

Egindako bi diseinuekin modelo matematiko adierazgarriak lortu ahal izan ziren.

4.4.2.1 Merabi-Urdin-Urtebi Txiki sagardoen nahasketa

Honako hau da nahaste honetarako lortutako erantzun gainazala (**4.10 irudia**).



4.10 Irudia. Merabi-Urdin-Urtebi Txiki nahasketarentzat lortutako erantzun gainazala.

Erantzun gainazal honen modelo matematikoa honako hau da:

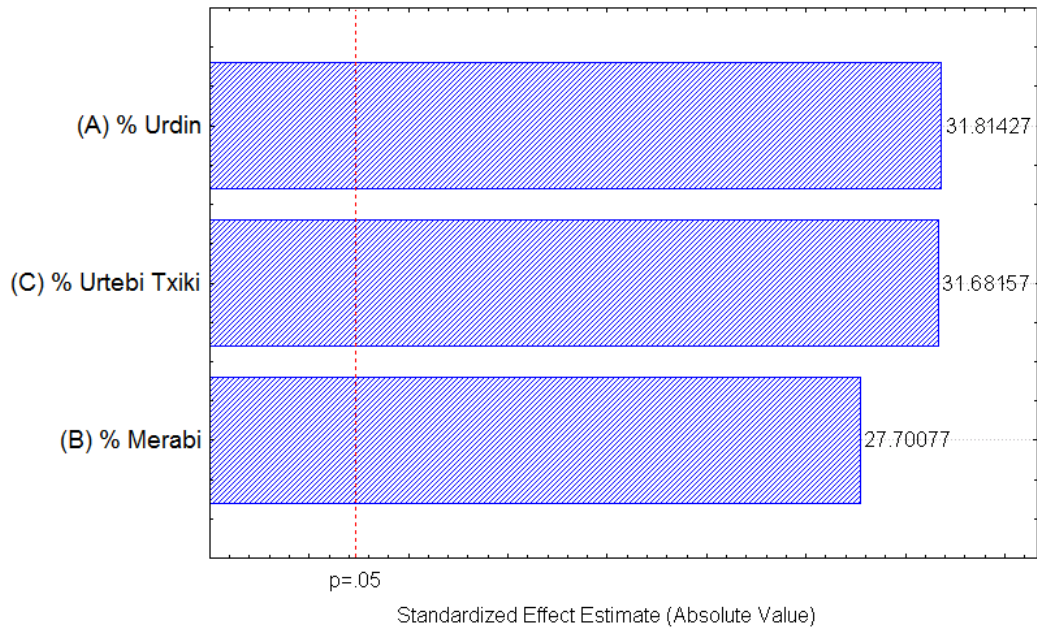
$$\hat{y} = 0.4639 * (\text{Merabi, \%}) + 0.5328 * (\text{Urdin, \%}) + 0.5306 * (\text{Urtebi Txiki, \%})$$

Modelo honen ezaugarriak **4.5 taulan** ematen dira, eta dagokion Pareto irudikapena, **4.11 irudian**. Modeloa eta modeloa osatzen duten terminoak adierazgarriak dira ($p=0.05$). Doiketa faltari dagokionez, ez-adierazgarria atera da.

4.5 Taula. ANOVA taula Merabi-Urdin-Urtebi Txiki modeloarentzat

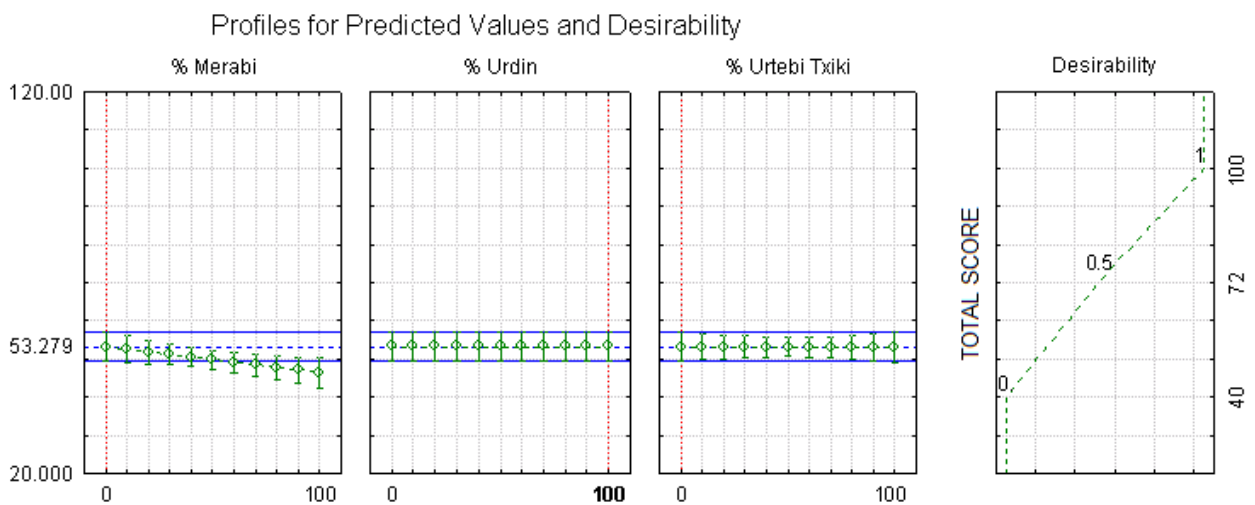
	SS	df	MS	F	p
Model	68.9630	2	34.48148	4.760488	0.043464
Total Error	57.9461	8	7.24327		
Lack of Fit	20.4461	4	5.11153	0.545230	0.714356
Pure Error	37.5000	4	9.37500		
Total Adjusted	126.9091	10	12.69091		

SS: sum of squares
df: degrees of freedom
MS: mean square effect
F: Fisher coefficient
p: probability



4.11 Irudia. Merabi-Urdin-Urtebi Txiki modeloaren terminoen adierazgarritasuna.

Modelo honetarako erantzunik handiena honako aldagaien baloreek ematen dute: Merabi, % 0, Urdin, % 100 eta Urtebi Txiki, % 0. Balore hauek, 53.3ko puntuazio totala emango lukete. Desiragarritasun funtzioak emandako profilak **4.12 irudian** ikus daitezke.



4.12 Irudia. Auresandako balioaren eta desiragarritasun profilak Merabi-Urdin-Urtebi Txiki modeloerantz.

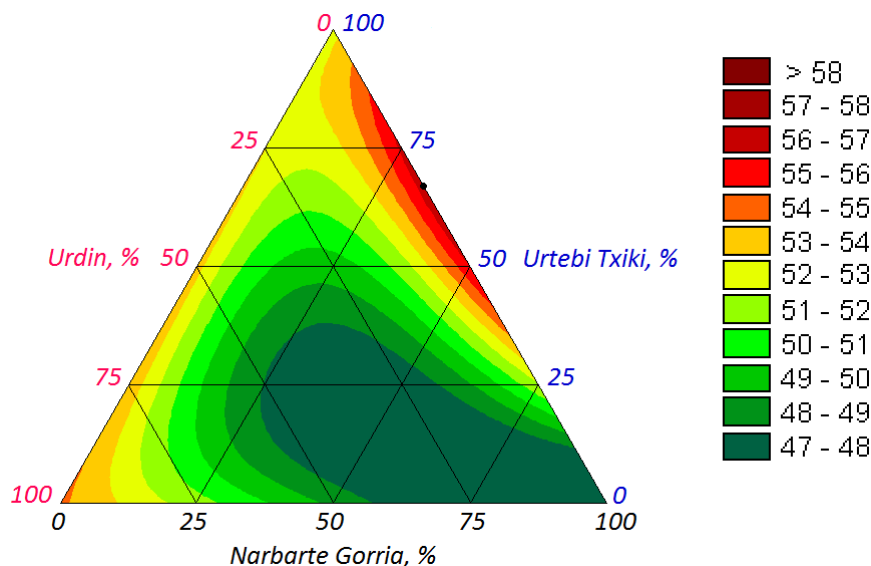
Erantzun gainazal honi buruz aipatu beharreko lehenengo gauza da doitutako modeloa **lineala** dela. Honek esan nahi du, termino koadratikoez ez dutela eragin adierazgarririk modeloaren barruan. Horretaz gain, berriro gertatzen da ez dagoela nahasketarik aprobatzeko gutxieneko nota lortzen duenik.

Bestalde, dastatzeetan notarik altuena lortu duen sagardoa Urdin izan arren, Urtebi Txikik 53.1eko puntuazioa lortuko luke, modelo honen arabera. Eta are gehiago, bi sagardo hauekin bakarrik egindako edozein nahastek ez luke Urdin sagardo monobarietalak lortutakoaren oso puntuazio ezberdinik eskuratuko. Azkenik, Merabi

sagardoa da nahasketa diseinu honetan notarik baxuena lortuko lukeena, eta edozein proportzioan nahastuta puntuazio totala jaisten du.

4.4.2.2 *Narbarte Gorria-Urdin-Urtebi Txiki sagardoen nahasketa*

Honako hau da nahaste honetarako lortutako erantzun gainazala (**4.13 irudia**).



4.13 Irudia. Narbarte Gorria-Urdin-Urtebi Txiki nahasketarentzat lortutako erantzun gainazala.

Erantzun gainazal honen modelo matematikoa honako hau da:

$$\hat{y} = 0.4354 * (\text{Narbarte Gorria, \%}) + 0.5418 * (\text{Urdin, \%}) + 0.5265 * (\text{Urtebi Txiki, \%}) + 31.64 * 10^{-4} * (\text{Narbarte Gorria, \%} * \% \text{ Urtebi Txiki, \%}) - 16.68 * 10^{-5} * (\text{Narbarte Gorria, \%} * \text{Urdin, \%} * \% \text{ Urtebi Txiki, \%})$$

Modeloa adierazgarria da ($p= 0.05$). Doiketa faltari dagokionez, ez-adierazgarria atera da (**4.6 taula**).

4.6 Taula. ANOVA taula Narbarte Gorria-Urdin-Urtebi Txiki modeloarentzat

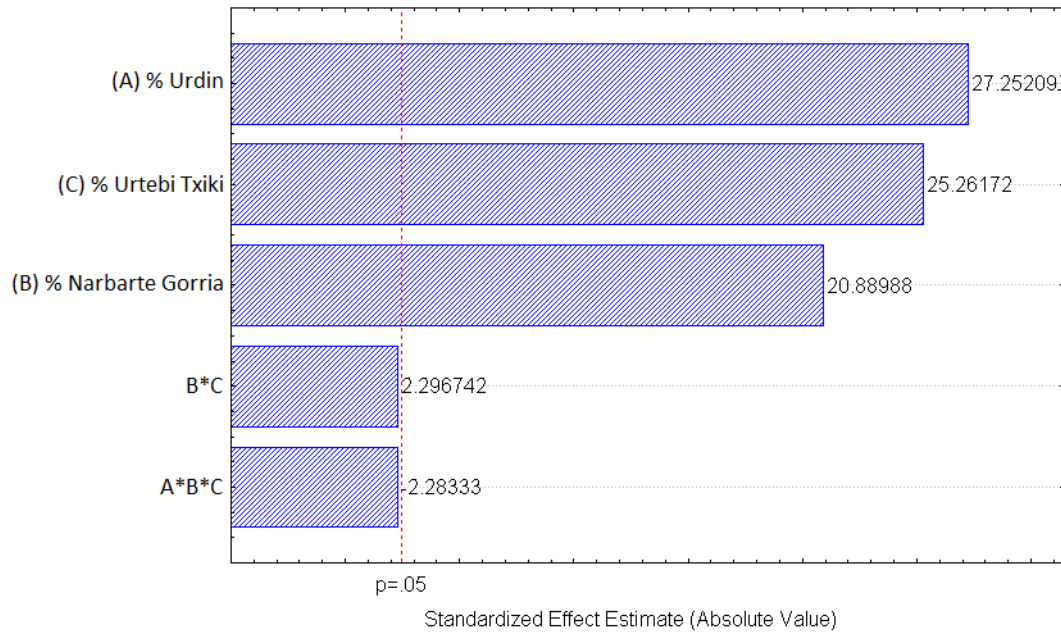
	SS	df	MS	F	p
Model	192.5707	4	48.14268	4.982446	0.040958
Total Error	57.9747	6	9.66246		
Lack of Fit	0.4747	2	0.23737	0.016513	0.983689
Pure Error	57.5000	4	14.37500		
Total Adjusted	250.5455	10	25.05455		

SS: sum of squares
df: degrees of freedom

MS: mean square effect
F: Fisher coefficient

p: probability

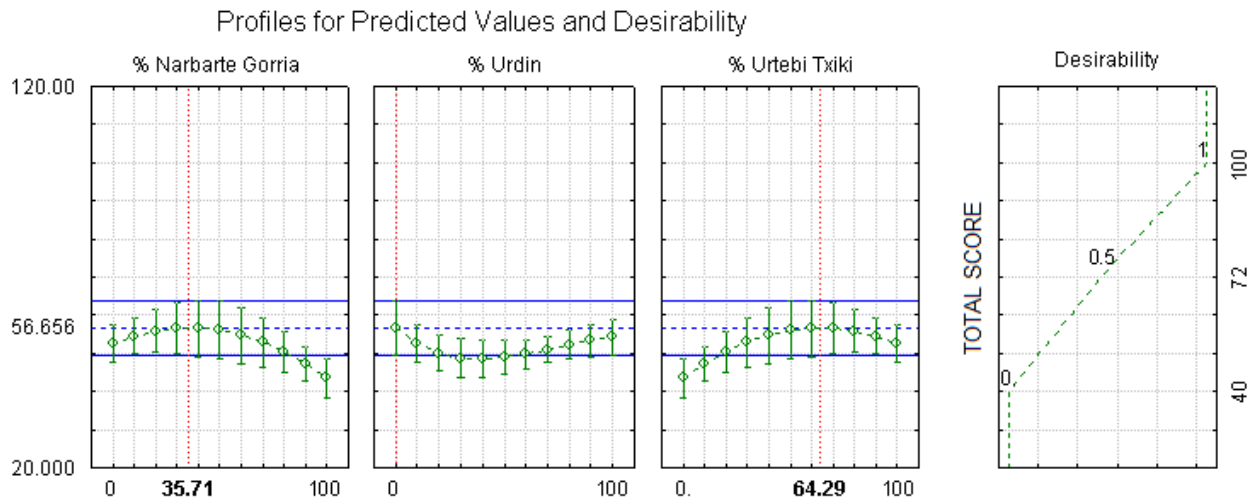
Haatik, termino linealak dira bakarrik adierazgarriak. Termino koadratikoa eta hiru osagaien arteko interakzioarena **ez-adierazgarriak** atera dira, gutxigatik bada ere (**4.14 irudia**).



4.14 Irudia. Pareto irudikapena modelo honen terminoentzat.

Dena dela, modeloaren barruan uztea erabaki da, modelo oro har **adierazgarria** ateratzen delako eta ezin delako modelo adierazgarririk lortu termino hauek mantendu ezean.

Nahaste honetarako erantzunik handiena honako aldagaien baloreek ematen dute: Narbarte Gorria, % 35.71, Urdin, % 0 eta Urtebi Txiki, % 64.29. Balore hauekin, 56.7ko puntuazio totala eskuratuko litzateke (aprobatua). Desiragarritasun funtzioaren profilak **4.15 irudian** ikus daitezke.



4.15 Irudia. Auresandako balioaren eta desiragarritasun profilak Narbarte Gorria-Urdin-Urtebi Txiki modeloarentzat.

Beraz, diseinu honetarako puntuazio gehien eskuratuko lukeen nahastea, bitarra litzateke, Narbarte Gorria eta Urtebi Txiki sagardoek 35.71 eta 64.29 ehunekoetan nahastuz, hurrenez hurren, emango luketena.

4.7 Taula. 2014an egindako nahasketak eta prestatutako sagardo botilen kopurua

SAGARDO MONOBARIETALAK	NAHASTE BITARRAK
Aritza: x4	Aritza-Errezila: x2
Errezila: x4	Aritza-Manttoni: x2
Frantzes Sagarra: x4	Aritza-Udare Marroi: x2
Manttoni: x4	Errezila-Frantzes Sagarra: x2
Udare Marroi: x4	Errezila-Manttoni: x2
NAHASTE HIRUKOITZAK	Frantzes Sagarra-Manttoni: x2
Aritza-Errezila-Manttoni: x4	Manttoni-Udare Marroi: x2
Aritza-Manttoni-Udare Marroi: x4	
Errezila-Frantzes Sagarra-Manttoni: x4	

4.5.2 Ohar garrantzitsua

Azkeneko kanpaina honetan, dartzatze-taldeak gure sagardoak dastatzeko irizpidea aldatu zuen. Sagardo hauek dastatzeko propio antolatutako saioak egitea erabaki zuten, hau da, saioak, non guk bidalitako sagardoak **bakarrik** dastatuko ziren.

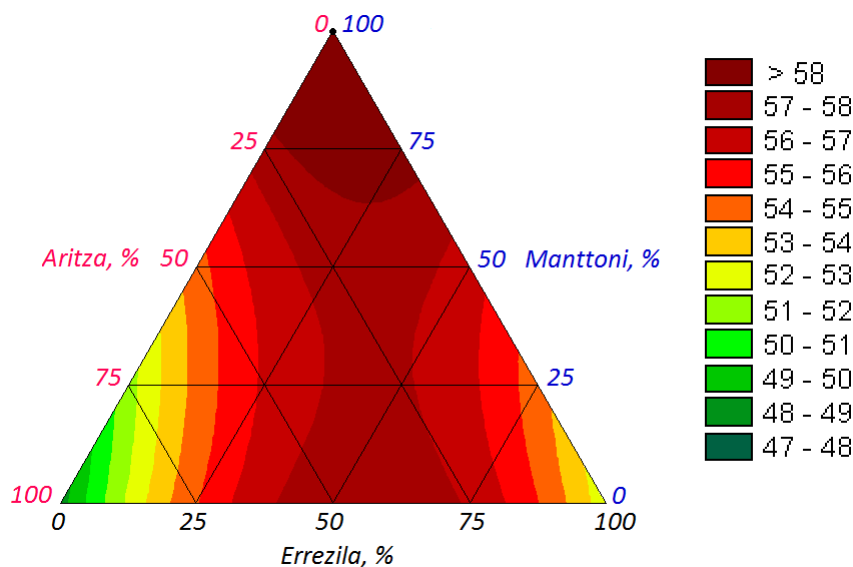
Ikerketa honetako lehenengo eta bigarren kanpainetan, gure sagardoak sagardo **komertzialak** balira bezala dastatu ziren eta irizpide horren arabera puntuatuak. Hirugarren kanpaina honetan, ordea, gure sagardoak, sagardo **monobarietalak** bezala dastatu ziren. Horrek, puntuazio altuagoak lortzea suposatu zuen, oro har, lehenengo eta bigarren kanpainekin alderatuta, baina era berean, puntuazioak konparatzeko edozein aukera galarazi zuen, azken kanpaina honetakoak irizpide ezberdinarekin aztertu baitziren.

4.5.3 Emaizak

Azken kanpaina honetan, egindako hiru diseinuekin modelo matematiko adierazgarriak lortu ahal izan ziren.

4.5.3.1 Aritza-Errezila-Manttoni sagardoen nahasketa

Honako hau da nahaste honetarako lortutako erantzun gainazala (**4.17 irudia**).



4.17 Irudia. Aritza-Errezila-Manttoni nahasketarentzat lortutako erantzun gainazala.

Erantzun gainazal honen modelo matematikoa honako hau da:

$$\hat{y} = 0.4857 * (\text{Aritza}, \%) + 0.5234 * (\text{Errezila}, \%) + 0.6062 * (\text{Manttoni}, \%) + 29.04 * 10^{-4} * (\text{Aritza}, \% * \text{Errezila}, \%)$$

Modeloa adierazgarria da ($p= 0.05$). Doiketa faltari dagokionez, ez-adierazgarria atera da (**4.8 taula**).

4.8 Taula. ANOVA taula Aritza-Errezila-Manttoni modeloarentzat

	SS	df	MS	F	p
Model	178.3839	3	59.46131	6.256719	0.021589
Total Error	66.5252	7	9.50359		
Lack of Fit	12.0252	3	4.00838	0.294193	0.828707
Pure Error	54.5000	4	13.62500		
Total Adjusted	244.9091	10	24.49091		

SS: sum of squares

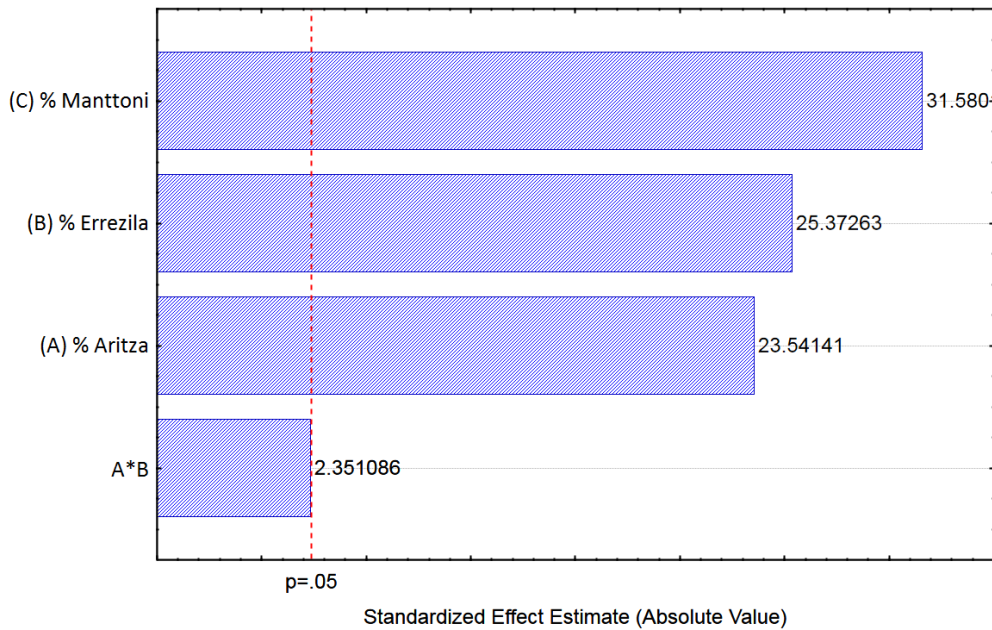
MS: mean square effect

p: probability

df: degrees of freedom

F: Fisher coefficient

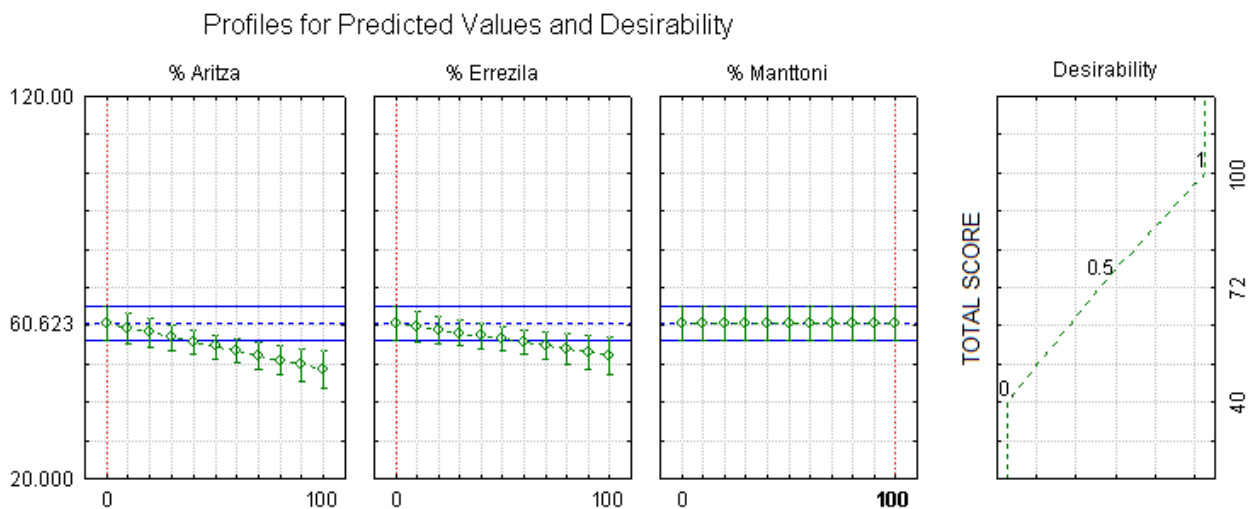
Haatik, termino linealak dira bakarrik adierazgarriak. Termino koadratikoa **ez-adierazgarria** atera da, gutxigatik bada ere (**4.18 irudia**).



4.18 Irudia. Pareto irudikapena modelo honen terminoentzat.

Hala eta guztiz ere, termino koadratikoa modeloaren barruan uztea erabaki da, modelo oro har adierazgarria ateratzen delako eta ezin delako modelo adierazgarririk lortu termino hau mantendu ezean.

Nahaste honetarako erantzunik handiena honako aldagaien baloreek ematen dute: Aritza, % 0, Errezila, % 0 eta Manttoni, % 100. Beraz, diseinu honetan Manttoni sagardo monobarietalarri dagokio puntuazio altuena; honek, 60.6ko puntuazio totala lortuko luke. Desiragarritasun funtzioak emandako profilak **4.19 irudian** ikus daitezke.

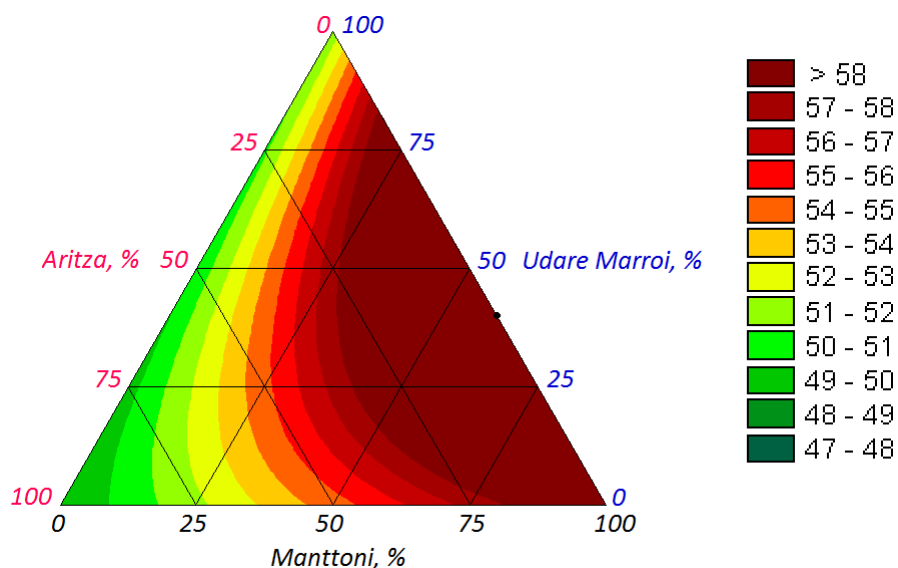


4.19 Irudia. Auresandako balioaren eta desiragarritasun profilak Narbarte Gorria-Urdin-Urtebi Txiki modeloarentzat.

Dena dela, gainditzeko gutxieneko 56ko puntuaketa baino gehiago adierazten duen zonaldea zabala da erantzun gainazal honetan. Adibidez, Manttoni % 62.5 proportzioa mantentzen duen edozein nahastek aprobaturiko luke. Eta, beste adibide bat izan liteke triangeluaren zentroa, alegia, hiru osagaiak 1/3 proportzian adierazte dituen, zeinek 57.1eko puntuaketa lortuko lukeen.

4.5.3.2 Aritza-Manttoni-Udare Marroi sagardoen nahasketa

Honako hau da nahaste honetarako lortutako erantzun gainazala (**4.20 irudia**).



4.20 Irudia. Aritza-Manttoni-Udare Marroi nahasketarentzat lortutako erantzun gainazala.

Erantzun gainazal honen modelo matematikoa honako hau da:

$$\hat{y} = 0.4902 * (Aritza, \%) + 0.6002 * (Manttoni, \%) + 0.5135 * (Udare Marroi, \%) + 37.96 * 10^{-4} * (Manttoni, \% * Udare Marroi, \%)$$

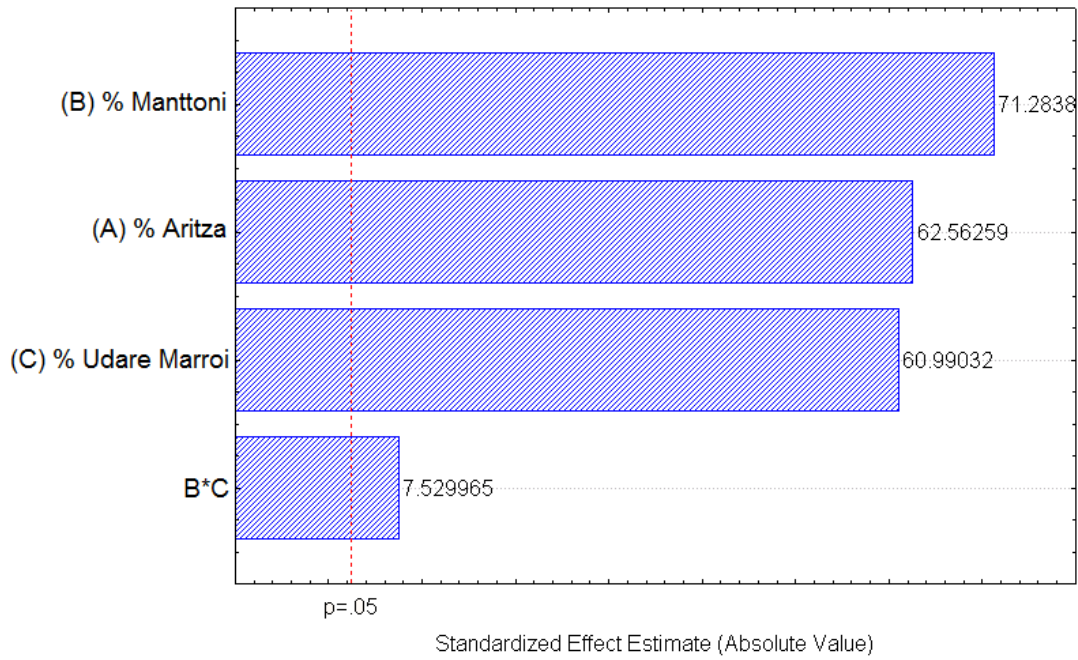
Modeloa adierazgarriak da ($p= 0.05$) eta doiketa falta, ez-adierazgarria (**4.9 taula**)

4.9 Taula. ANOVA taula Aritza-Manttoni-Udare Marroi modeloarentzat

	SS	df	MS	F	p
Model	289.8284	3	96.60946	61.03097	0.000022
Total Error	11.0807	7	1.58296		
Lack of Fit	6.5807	3	2.19357	1.94984	0.263524
Pure Error	4.5000	4	1.12500		
Total Adjusted	300.9091	10	30.09091		

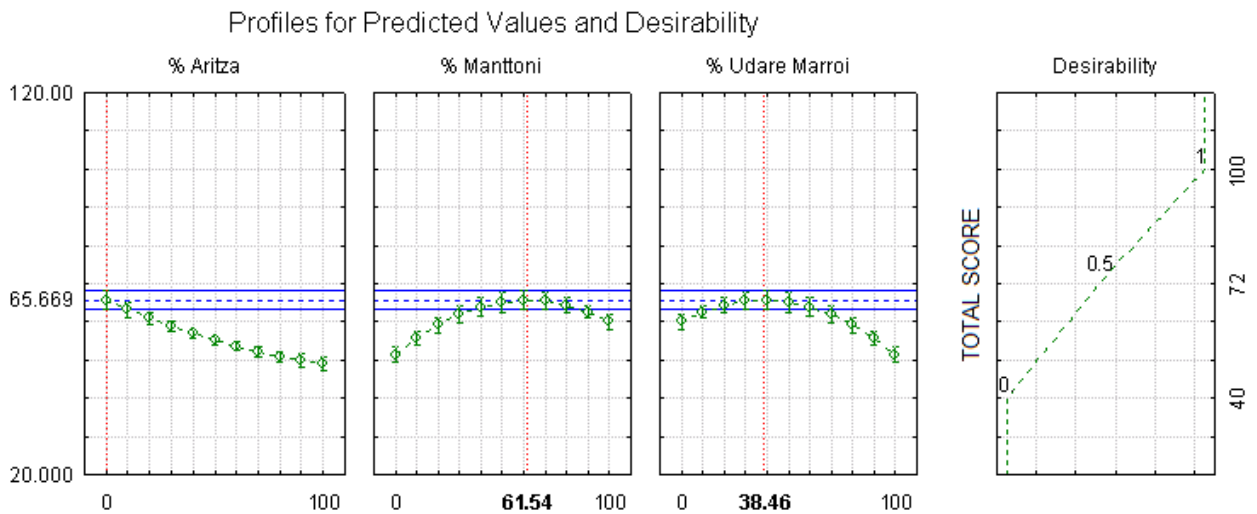
SS: sum of squares MS: mean square effect p: probability
df: degrees of freedom F: Fisher coefficient

Modeloa osatzen duten termino guztiak adierazgarriak dira (**4.21 irudia**).



4.21 Irudia. Pareto irudikapena modelo honen terminoentzat.

Nahaste honetarako erantzunik handiena honako aldagaien baloreek ematen dute: Aritza, % 0, Manttoni, % 61.54 eta Udare Marroi, % 38.46. Balore hauekin, 65.7ko puntuazio totala lortuko litzateke. Desiragarritasun funtzioaren profilak **4.22 irudian** ikus daitezke.

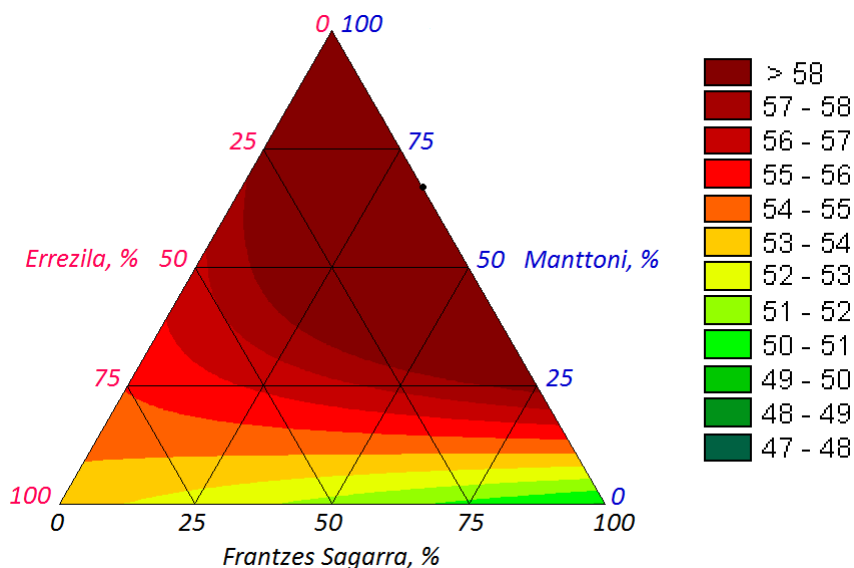


4.22 Irudia. Auresandako balioaren eta desiragarritasun profilak Aritza-Manttoni-Udare Marroi modeloarentzat.

Beraz, diseinu honetarako puntuazio gehien eskuratuko lukeen nahastea, bitarra litzateke. Dena dela, berriro ere ikusten da aprobatzeko puntuaketa nahikoa ematen duen gainazal eremua zabala dela. Adibidez, Aritza % 25, Manttoni % 50 eta Udare Marroi % 25 proportzioetan egindako nahaste hirukoitzak, 59.8ko puntuazioa lortuko luke erantzun gainazal honen arabera.

4.5.3.3 Errezila-Frantzes Sagarra-Manttoni sagardoen nahasketa

Honako hau da nahaste honetarako lortutako erantzun gainazala (**4.23 irudia**).



4.23 irudia. Errezila-Frantzes Sagarra-Manttoni nahasketarentzat lortutako erantzun gainazala.

Erantzun gainazal honen modelo matematikoa honako hau da:

$$\hat{y} = 0.5341 * (\text{Errezila, \%}) + 0.4984 * (\text{Frantzes Sagarra, \%}) + 0.6006 * (\text{Manttoni, \%}) + 32.15 * 10^{-4} * (\text{Frantzes Sagarra, \%} * \text{Manttoni, \%})$$

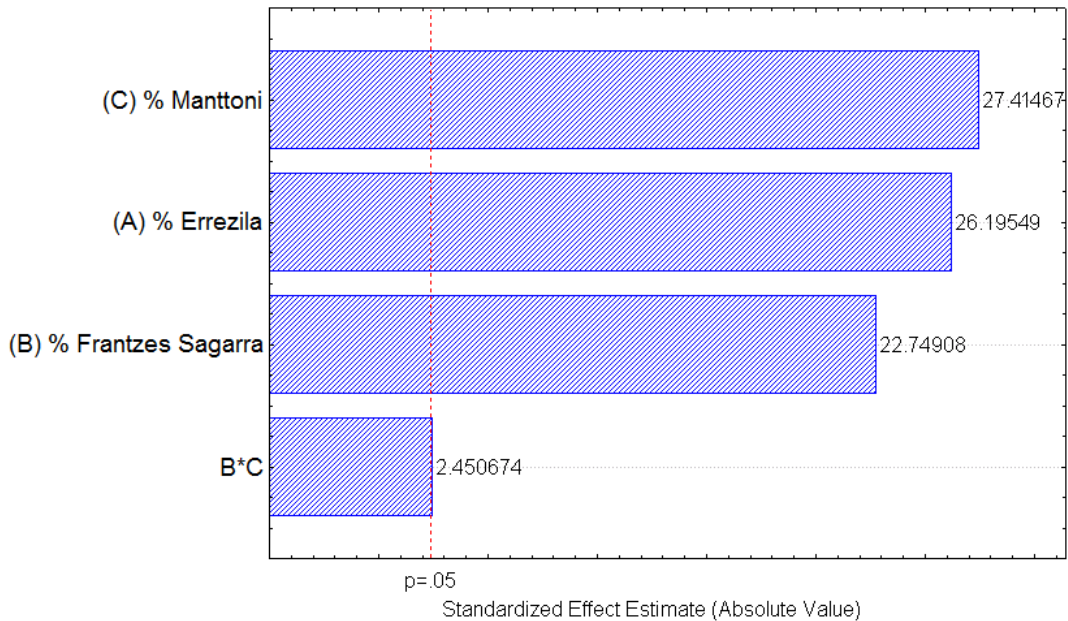
Modeloa adierazgarria da ($p= 0.05$) eta, doiketa falta, ez-adierazgarria (**4.10 taula**).

4.10 Taula. ANOVA taula Errezila-Frantzes Sagarra-Manttoni modeloarentzat

	SS	df	MS	F	p
Model	198.6007	3	66.20023	6.175752	0.022287
Total Error	75.0357	7	10.71938		
Lack of Fit	36.5357	3	12.17855	1.265304	0.398747
Pure Error	38.5000	4	9.62500		
Total Adjusted	273.6364	10	27.36364		

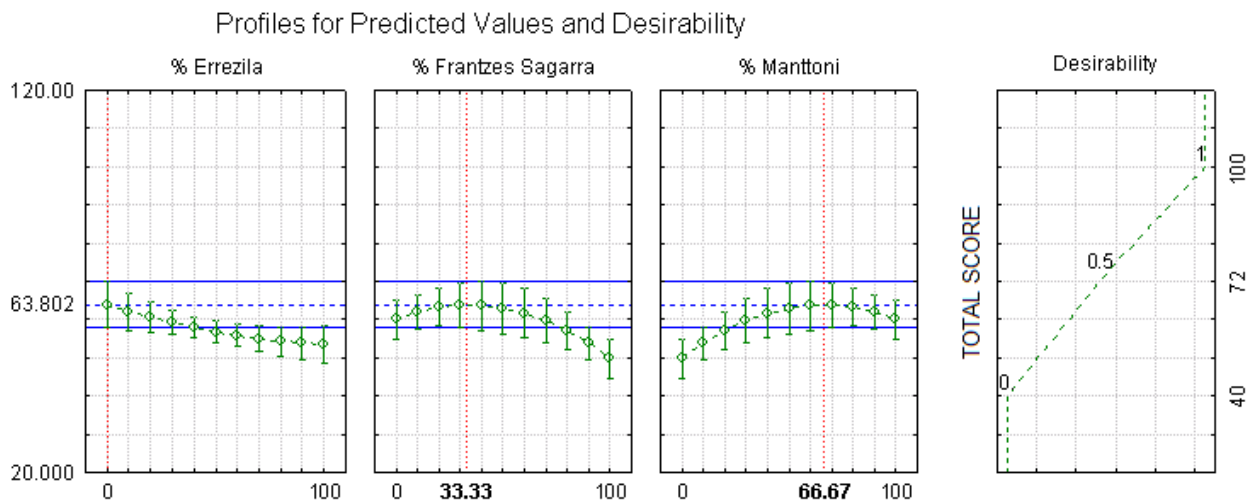
SS: sum of squares MS: mean square effect p: probability
df: degrees of freedom F: Fisher coefficient

Modeloaren termino guztiak adierazgarriak atera dira (**4.24 irudia**).



4.24 Irudia. Pareto irudikapena modelo honen terminoentzat.

Nahaste honetarako erantzunik handiena honako aldagaien baloreek ematen dute: Errezila, % 0, Frantzes Sagarra, % 33.33 eta Manttoni, % 66.66. Balore hauekin, 63.8ko puntuazio totala lortuko litzateke. Desiragarritasun funtzioak emandako profilak **4.25 irudian** ikus daitezke.



4.25 Irudia. Aurrezandako balioaren eta desiragarritasun profilak Errezila-Frantzes Sagarra-Manttoni modeloarentzat.

Beraz, diseinu honetarako puntuazio gehien eskuratuko lukeen nahastea bitarra litzateke, Frantzes Sagarra eta Manttoni sagardoek 1/3 eta 2/3 proportzioetan nahastuz, hurrenez hurren, emango luketena, hain zuzen ere.

Berriro ere, erantzun gainazal honetan 56ko puntuaketa baino altuagoa adierazten duen eremua zabala da. Adibidez, Manttoni sagardoaren proportzioa gutxienez % 40 mantenduz, egindako edozein nahastek gutxienerako 56 puntuazio baino gehiago lortuko luke. Eta, beste adibide bat izan liteke Errezila % 25, Frantzes Sagarra % 25 eta Manttoni % 50 proportzioetan egindako nahaste hirukoitza, zeinek 59.9ko puntuazioa lortuko lukeen.

4.6 Ondorioak

Kapitulu honetan, ekoiztutako sagardo monobarietalak organoleptikoki aztertu dira, baita haien arteko nahasketak ere. Horretarako, **Fraisoroko dastatze-taldeak** sagardoei **puntuazioa** eman die. Jarraian, **erantzun gainazalen metodologia** erabiliz, puntuazio horiek modelo matematiko batera doitu dira. Azkenik, **desiragarritasun funtzioaren** bitartez, erantzun gainazal bakoitzaren maximoa aurkitu da, hau da, puntuazio altueneko nahastea.

Lehenengo kanpainari dagokionez, Urtebi Txiki izan da, sagardo monobarietalen artean, dastatze-taldean notarik altuena lortu duena. Gainera, ikusi da sagardo honek beti hobetzen duela nota beste sagardoekin nahasten denean. **Txalaka** sagardoak, bestalde, notarik baxuena lortu du. Nahasketei buruz, esan daiteke **Goikoetxea** eta **Moko** sagardoen arteko nahaste bitar bat dela, dagokien modelan, notarik altuena lortzen duena. Nahaste bitar hau da, gutxi gorabehera, Goikoetxea % 40 eta Moko % 60 nahastuz lortuko litzatekeena.

Bigarren kanpainan, Urdin sagardo monobarietala da notarik altuena eskuratzen duena, eta notarik baxuena **Narbarte-Gorria** sagardoari dagokio. Bestalde, nahasketarik interesgarriena **Narbarte-Gorria** eta **Urtebi Txiki** sagardoen artekoa da, bi sagardo hauek % 36 eta % 64 proportzian nahastuz. Kasu honetan, paradoxikoki, Urdin sagardoa sartzeak ez du hobetzen aurreko biek lortutako nahaste hirukoitza.

Hirugarren kanpainan, nota altuena **Manttoni** sagardo monobarietalari dagokio, eta baxuena, **Aritza** eta **Frantzes Sagarra** sagardoei. Nahasteei dagokienez, bi nahaste **bitarrek** lortuko lituzkete nota altuenak: lehenengoa, **Manttoni** % 62 eta **Udare Marroi** % 38 proportzioetan nahastuz sortuko litzatekeena, eta bigarrena, **Frantzes Sagarra** %33 eta **Manttoni** %67 proportzioetan.

4.7 Erreferentziak

Siche, R., Aredo, V., Velásquez, L., Castillo, I. (2016). El Diseño Simplex-Centroide y la Función de Deseabilidad en la optimización de la aceptabilidad sensorial de pan dulce enriquecido con *Chenopodium quinoa*. Enfoque UTE 3, 70-81.

5. Kapitulua

Sagardoak eta parametroak

5.1 Sarrera

Kapitulu honetan, sagardoaren indar antioxidatzailea jorratu da, ikuspuntu ezberdinetatik. Hasteko, gure sagardo monobariatelen indar antioxidatzailea ardoarekin eta beste zenbait edarirekin konparatu da. Horrela, gure sagardoaren indar antioxidatzailearen ikuspuntu orokor bat eduki ahal izango dugu.

Ondoren, polifenolen eta honako parametro hauen arteko erlazioak bilatu dira: FRAP saioa, ABTS saioa, Folin-Ciocalteu indizea (FC), proteinekin hauspeatzeko gaitasuna (PPC), iluntzea, uhertasuna eta erredox potentziala. Helburu honetarako, **aldagai anitzeko kalibraketa** erabili da, konkretuki PLS edo karratu minimo partzialen erregresioa (PLS = *Partial Least Squares*).

Azkenik, lehen aipatutako parametroak erabilia (uhertasuna eta erredox potentziala kenduta) **konglomeratuen analisia** egin zaie sagardoei. Horrela, sagardoak multzokatzen saiatu gara, eta honek irizpide bat eman digu esan ahal izateko zeintzuk diren indar antioxidatzaile gehien dutenak, eta zeintzuk diren beste parametroetan balore altuena dutenak.

5.2 Sagardo monobariatelen indar antioxidatzailea

Atal honetan, gure sagardo monobariatelen indar antioxidatzailea beste zenbait edarirekin konparatuko da. **5.1 Taulan** erakusten dira lan honetako sagardoek eman duten indar antioxidatzailea. Adierazitako balorea, PLS modelook muztio bakoitzaren **azkeneko bi laginketen batez bestekoa** da*. Izan ere, kasu gehienetan sagardoa bukatuta edo bukatzeaz dago azken-aurreko laginketan. Balore horiekin batera, beste edari batzuentzat bibliografian aurkitu daitekeen indar antioxidatzailea adierazten da. Konparazioa egiteko, ABTS baloreak bakarrik hartu dira, horiek baitira artikulu gehienetan adierazten direnak. FRAP baloreak ez dira hain maiz agertzen, eta Folin-Ciocalteu indizea polifenol totalen kontzentrazioa aztertzeke erabiltzen da nagusiki, ez indar antioxidatzailea neurtzeke.

***Oharra:** Goikoetxea 2012 eta Urdin 2013 sagardoetan, 4. laginketako balorea adierazi da, izan ere, 5. laginketako ABTS, FRAP eta FC baloreak arbuiatu ziren, hurrengo atalean azalduko den bezala.

Sagardoaren indar antioxidatzailearen tarte hartuta, ikus daiteke ardo zurien eta gorrien tartean gainera dagoela, eta ardo beltzarenaren parean. Interesgarria iruditzen zaigu datu hau, askotan aipatzen baita, ardoaren onura bezala, honen indar antioxidatzaile altua. Honetaz gain, beste edari alkoholduen gainera ere badaude gure sagardo monobariatelak, hala nola, garagardoa, cognac-a, armagnac-a eta ron-a, besteak beste.

Alkoholik gabeko edariei dagokienez, kafearen parean daude sagardoak, eta bestalde, tearen, laranja zukuaren, oliba olioaren eta ekilore olioaren gainetik ere. Interesagarria da berriro laranja zukuaren datua, beti jartzen baita elikagai hau edari osasuntsu eta antioxidatzailearen eredu bezala.

5.1. Taula. Sagardo monobarietalen eta zenbait edariren indar antioxidatzailea (ABTS, Trolox mmol/L)

Sagardoa ^a	ABTS	Edari alkoholdunak	ABTS	Erreferentziak
Gezamina 2012	17.6	Ardo beltza ^b	2.3-25.2	(Landrault <i>et al.</i> , 2001; Pellegrini <i>et al.</i> , 2003; Pulido <i>et al.</i> , 2003; Villaño <i>et al.</i> , 2004; Saura-Calixto eta Goñi, 2006)
Goikoetxea 2012	9.3	Ardo gorria ^b	1.5-3.2	(Landrault <i>et al.</i> , 2001; Pellegrini <i>et al.</i> , 2003; Pulido <i>et al.</i> , 2003; Saura-Calixto eta Goñi, 2006)
Moko 2012	17.6	Ardo zuria ^b	0.1-1.9	(Landrault <i>et al.</i> , 2001; Pellegrini <i>et al.</i> , 2003; Pulido <i>et al.</i> , 2003; Villaño <i>et al.</i> , 2004; Saura-Calixto eta Goñi, 2006)
Txalaka 2012	6.8	Garagardoa ^c	0.6-2.0	(Zhao <i>et al.</i> , 2010)
Urtebi Haundi 2012	6.2	Cognac-a	0.7-4.9	(Schwarz <i>et al.</i> , 2009)
Urtebi Txiki 2012	8.4	Armagnac-a	0.6-1.2	(Schwarz <i>et al.</i> , 2009)
Merabi 2013	23.8	Ron-a	<0.1	(Pellegrini <i>et al.</i> , 2003)
Narbarte Gorria 2013	16.9			
Urdin 2013	8.8	Edari alkoholgabeak	ABTS	Erreferentziak
Urtebi Txiki 2013	9.7	Kola	<0.1	(Pellegrini <i>et al.</i> , 2003; Pulido <i>et al.</i> , 2003; Saura-Calixto eta Goñi, 2006)
Aritza 2014	14.8	Kafea (100 g/L) ^d	7.8-12.3	(Parras <i>et al.</i> , 2007)
Frantzes Sagarra 2014	7.9	Tea (15 g/L) ^e	0.8-6.3	(Almajano <i>et al.</i> , 2008)
Manttoni 2014	5.7	Laranja zuku ^f	0.7-7.1	(Rapisarda <i>et al.</i> , 1999)
Udare Marroi 2014	7.7	Oliba olio ^g	0.4-1.8	(Pellegrini <i>et al.</i> , 2003; Pulido <i>et al.</i> , 2003; Saura-Calixto eta Goñi, 2006)
<i>Tartea</i>	5.7-23.8	Ekilore olio ^g	0.1-1.2	(Pellegrini <i>et al.</i> , 2003; Pulido <i>et al.</i> , 2003; Saura-Calixto eta Goñi, 2006)

^aAzkeneko bi laginketen batez bestekoa, salbu Goikoetxea 2012 eta Urdin 2013, non 4. laginketako balorea adierazi den; ^b ardo espainiarrak eta frantsesak, nagusiki; ^c mundu osoko garagardoak; ^d filtroko kafeak, mundu osokoak; ^e infusio moduan lortuak; 5 minutuz irakiten uretan; ^f laranja italiarrak, zukuak lortu berriak; ^g olio italiarrak

5.3 Kalibraketa anizkoitza: parametroen PLS modeloak

Hemen, lehen aipatutako parametro fisikokimikoen eta muztioen arteko erlazioak bilatu dira. Birgogora dezagun, hautatutako parametroak honako hauek direla: FRAP saioa, ABTS saioa, Folin-Ciocalteu indizea (FC), proteinekin hauspeatzeko gaitasuna (PPC), iluntzea, uhertasuna eta erredox potentziala. Gure helburua lortzeko, PLS modeloak egiten saiatu gara. Parametro fisikokimikoak **banaka** hartu dira, eta modelo bakoitzean, parametro hauetako bat erabili da **Y** menpeko aldagai bezala, eta polifenolen banakako kontzentrazioak **X** aldagai independente bezala. Aldagai anitzeko kalibraketa erabiliz, polifenol bakoitzaren eragina parametroetan aztertu nahi da.

Modeloak eraiki aurretik, 86 lagin genituen, hiru kanpainetan egindako 86 laginketak, hain zuzen ere (**eranskinean** jasotzen dira datu guztiak). Halere, hirugarren kapitulu

aipatu bezala, akroleina eta Brett izaera zuten laginak kanpoan utzi ziren, izan ere, lagin osasuntsuekin bakarrik lan egin nahi genuen. Kanpoan utzitakoak, **5.2 taulan** jasotzen dira. Azkenean, **77 lagin** erabili ziren hasierako datu matrizea osatzeko. Muztioak edo sagardoak barietatearen eta uztaren urtearekin izendatuko dira, adibidez, Moko-2012 edo Gezamina-2013. Beharrezkoa denean, laginketa zenbakia ere adieraziko da: Moko-1-2012, Moko-2-2012, Gezamina-3-2013, Gezamina-4-2013, etab.

5.2 Taula. Baztertutako laginak eta akats organoleptikoa

Lagina	Akats organoleptikoa
Frantzes Sagarra-4-2013	Akroleina
Frantzes Sagarra-5-2013	Akroleina
Gezamina-4-2013	Brett izaera
Gezamina-5-2013	Brett izaera
Mozoloa-4-2013	Brett izaera
Mozoloa-5-2013	Brett izaera
Errezila-4-2014	Akroleina
Errezila-5-2014	Akroleina
Mozoloa-3-2014	Brett izaera

Laginak, bi multzotan banatu ziren, bata **kalibraketa multzoa**, non laginen % 65 erabili zen (51 lagin) eta bestea, **balidazio multzoa**, gainerakoekin (26 lagin). Laginak era aleatorioan banatu ziren bi multzoetan, baina ziurtatu egin zen kalibraketa multzoak gutxienez sagar mota bakoitzetik **bi lagin** zituela.

5.3.1 PLS modelook lortzen

PLS modelook eraikitzeke, **kalibraketa multzoa** hartu zen. Kalkulua egiteko *Unscrambler*® X 10.3 (CAMO Software AS, Oslo, Norvegia) programa erabili zen eta NIPALS algoritmoa. Aldagai guztiak auto-eskalatu egin ziren, datuak normalizatzeko. Barne-balidazio metodo bezala, erabateko balidazio gurutzatua (*full cross-validation*) erabili zen.

Lehenik eta behin, parametro bakoitzarekin modelo bat egiten da, polifenol guztiak hartzen dituen. Ondoren, polifenol bat kentzen da modelotik eta modelo birkalkulatu da. Kanporatutako polifenolak dauka, alde batetik, erregresio koefiziente ponderatu (*weighted*) baxuena balore absolutuan, eta bestetik, adierazgarritasuna % 95 baino txikiagoa ($p > 0.05$) *Martens*-en testaren arabera (**Martens eta Martens, 2000**).

Prozesu hau errepikatzen da behin eta berriro, aldiro polifenol bakar bat kenduta, modeloaren barruan geratutako **polifenol guztien** adierazgarritasuna % 95 baino altuagoa ($p < 0.05$) izan arte. Prozesu honetan, lagin bakoitzaren palanka (*leverage*) eta hondarra (*residual*) ere kontuan hartzen dira, lagin anomaloak (*outliers*) detektatu eta eliminatu ahal izateko. Prozesu honen helburua PLS modelorik sinpleena lortzea da,

hots, polifenol kontzentrazio edo X aldagai gutxien dituen, eta parametro edo Y aldagai bakoitzean bariantza gehien azaltzen duena.

5.3.2 PLS modeloak balidatzen

PLS modeloen egokitasuna (*goodness*) aztertzeko bi errore erabili ziren: kalibraketaren batez besteko errore karratuaren erroa ($RMSE_C$) eta erabateko balidazio gurutzatuko batez besteko errore karratuaren erroa ($RMSE_{CV}$) (ikusi 1.24 ekuazioa). Bi errore hauek konparagarriak zirenean, kalibraketa modelo ontzat hartu zen.

Modelo egokiak lortu ostean, **balidazio multzoa** erabili zen parametro bakoitzaren iragarpena egiteko, eta horrela kalkulaturako modeloen fidagarritasuna aztertu zen. Iragarpena beti egin zen *Unscrambler*-ek modelo bakoitzarentzat gomendaturako osagai nagusien kopuruarekin. Iragarpenaren zehaztasuna (*accuracy*) aztertzeko, iragarpeneko batez besteko errore karratuaren erroa ($RMSE_P$) erabili zen. Modelo ontzat hartu zen $RMSE_C$, $RMSE_{CV}$ eta $RMSE_P$ konparagarriak zirenean. Honi gehituta, iragarritako (\hat{y}_i) eta neurtutako (y_i) baloreak **lagin bakoitzean** konparatu ziren, estimazioa erabilita (ikusi 1.26 ekuazioa). Gero, estimazio guztien batez bestekoa eta desbideratze estandarra kalkulatu ziren, parametro bakoitzean.

5.4 PLS modeloen emaitzak

Modelo bakoitzaren ezaugarriak tauletan adieraziko dira. Hauetan, lortutako osagai nagusien kopurua adieraziko da, egokitasuna eta zehaztasuna aztertzeko lortutako erroreekin batera: RE_C , RE_{CV} eta RE_P (ikusi 1.25 ekuazioa), hau da, $RMSE_C$, $RMSE_{CV}$ eta $RMSE_P$ errorearen forma erlatiboak. Honi gehituta, parametro bakoitzarentzat estimazio guztien batez bestekoa eta desbideratze estandarra adieraziko da (estimazioen batez bestekoa \pm desbideratze estandarra). Azkenik, modeloak azaldutako bariantza matrize bakoitzean adieraziko da, eta modelo osatzen duten polifenolak eta hauen koefizienteak.

5.4.1 Indar antioxidatzailearen parametroak

Modeloak eraikitzean, *outliertzat* hartutako lagin batzuk kendu ziren FRAP eta ABTS saioetan. Hauek dira Moko-1-2012, Goikoetxea-5-2012 eta Urdin-5-2013 laginak. FC saioaren kalibraketa modeloan NARBARTe-GORRIA-3-2013 lagina ere kendu zen. Iragarpenak egiteko, ordea, ez zen beharrezkoa izan laginik kentzea.

Hurrengo taulan (**5.3 taula**), adierazten dira indar antioxidatzailearen parametroentzat lortutako PLS modeloen ezaugarriak.

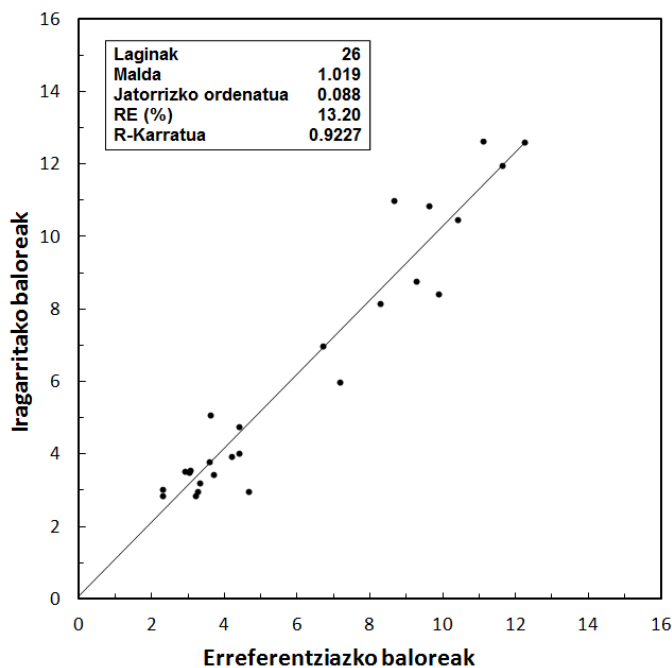
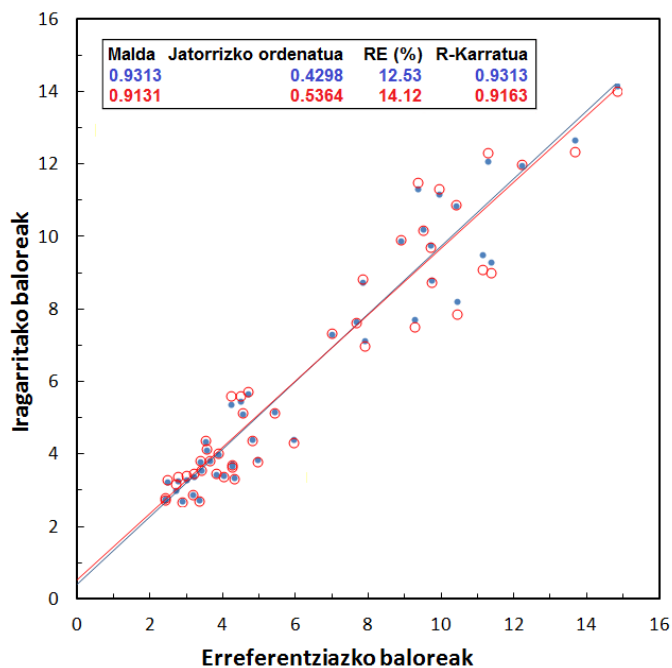
5.3 Taula. PLS erregresio modeloen ezaugarriak, indar antioxidatzailearen parametroentzat

Parametroa	Modeloaren emaitzak		PLS modeloaren ekuazioa	
			X aldagaiak ^a	β koefizienteak
FRAP	LV ^b	2	β_0	0.6642
	RE _C (%)	12.53	Azido 4- <i>p</i> -kumaroilkinikoa	0.3598
	RE _{CV} (%)	14.12	Azido klorogenikoa	0.3594
	RE _P (%)	13.20	(-)-Epikatekina	0.1760
	Estimazioa (%) ^c	105±17	Isokertzitrina	0.1452
	Azaldutako bariantza (%)	X: 65	Prozianidina B5	0.1397
		Y: 94	Floretin 2'- <i>O</i> -xiloglukosidoa	0.1295
			Azido galikoa	-0.1561
ABTS	LV	2	β_0	0.8216
	RE _C (%)	14.57	Azido klorogenikoa	0.3226
	RE _{CV} (%)	16.25	Azido 4- <i>p</i> -kumaroilkinikoa	0.2893
	RE _P (%)	16.48	(-)-Epikatekina	0.1565
	Estimazioa (%)	102±19	Floretin 2'- <i>O</i> -xiloglukosidoa	0.1468
	Azaldutako bariantza (%)	X: 79	Prozianidina B1	0.1304
		Y: 90	Prozianidina B5	0.1087
			Isokertzitrina	0.0878
FC	LV	2	β_0	0.9271
	RE _C (%)	14.12	Azido klorogenikoa	0.4047
	RE _{CV} (%)	15.59	Azido 4- <i>p</i> -kumaroilkinikoa	0.2986
	RE _P (%)	20.94	(-)-Epikatekina	0.2281
	Estimazioa (%)	106±26	Floretin 2'- <i>O</i> -xiloglukosidoa	0.1719
	Azaldutako bariantza (%)	X: 54	Isokertzitrina	0.1507
		Y: 91	Azido protokatekuikoa	-0.1216
			Tirosola	-0.1243
		Azido <i>p</i> -hidroxibentzoikoa	-0.1320	

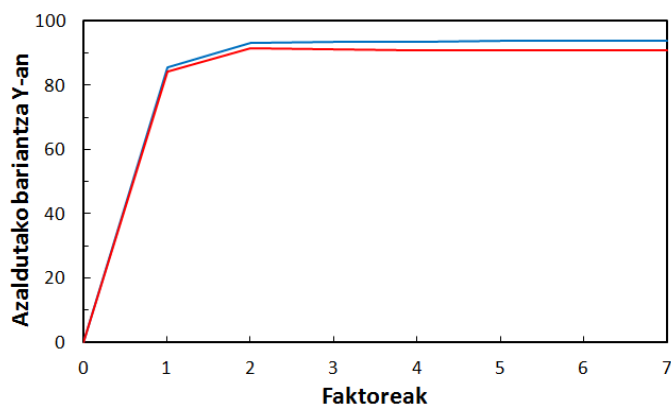
^aadierazgarriak $p=0.05$ mailan ^bLV: osagai nagusien kopurua ^cbatez bestekoa \pm desbideratze estandarra

Lortutako PLS modeloek RE_C, RE_{CV} eta RE_P balore txikiak eta estimazio ona eman zituzten, FRAP, ABTS eta FC parametroetan. Kontribuzio positibo adierazgarria ($p=0.05$) duten polifenolen artean, bost komunak dira hiru parametroentzat: azido klorogenikoa, azido 4-*p*-kumaroilkinikoa, (-)-epikatekina, floretin 2'-*O*-xiloglukosidoa eta isokertzitrina. Lehenengo hirurak, beta koefiziente altuenak dituzte hiru parametroetan; honen ondorioz, indar antioxidatzailean eragin handiena duten polifenolak direla esan daiteke. Kontribuzio negatiboegi dagokienez, ez da polifenolik aurkitu hiru parametroetan batera eragina duenik, beraz, ezin dugu ondoriorik atera.

Hurrengo irudian (**5.1 irudia**) adierazten dira, adibide bezala, FRAP parametroarentzat lortutako modeloaren iragarpenak, kalibraketa eta balidazio multzoarentzat. **5.2 Irudian**, modelo honentzat azaldutako bariantzaren joera osagai nagusiekiko adierazten da.



5.1 Irudia. Ezkerrean: **kalibraketa multzoaren** iragarpenak; puntu urdinez, behin betiko modeloarekin lortutako iragarpenak, puntu gorritz, balidazio gurutzatuarekin lortutako iragarpenak. Eskuinean: **balidazio multzoaren** iragarpena, behin betiko modeloarekin.



5.2 Irudia. Azaldutako bariantza osagai nagusien kopuruarekin, kalibraketa modeloarentzat (lerro urdina) eta balidazio gurutzatuarentzat (lerro gorria). Kasu honetan, *Unscrambler* programak **bi** osagai nagusi hartzea gomendatzen du.

5.4.2 Proteinekin hauspeatzeko gaitasuna (PPC)

Kalibraketa modelo kalkulatzen hasi aurretik, lau lagin kendu behar izan ziren, konturatu ginelako PPC-a gaizki neurtuta zeudela. Hauek dira Merabi-5-2013, Narbarte-Gorria-5-2013, Urdin-5-2013 eta Urtebi-Txiki-5-2013 laginak. Bestalde, modelo kalkulatzen ez zen PPC-a azido taniko g/L unitateetan adierazi, ez zelako modelo egokirik lortzen. Honen ordez, jatorrizko absorbantziak erabili ziren, e^{A510} eran, parametro horren kalibraketa zuzenarekin egin zen bezala (ikusi 2.2.6 atala). Gainera, modelo kalkulatzen, beste bi lagin kendu behar izan ziren, *outliertzat* hartu zirelako: Moko-1-2012 eta Gezamina-5-2012. Ez zen laginik kendu, ordea, parametroaren iragarpena egiteko.

Modeloaren ezaugarriak, **5.4 taulan** adierazten dira. PLS modeloak RE_C , RE_{CV} eta RE_P balore txikiak eta estimazio ona eman zituen. Parametro honentzat kontribuzio positibo adierazgarria ($p=0.05$) duten polifenolak, handienetik txikienera, honako hauek dira: azido 4-*p*-kumaroilkinikoa, azido klorogenikoa, azido kafeikoa eta abikularina. Beraz, esan daiteke hauek direla hauspeakinak eta uhertasuna sortzen eragin handiena duten polifenolak. Bestalde, kontribuzio negatibo adierazgarria duten polifenolak azido protokatekuikoa eta (+)-katekina dira.

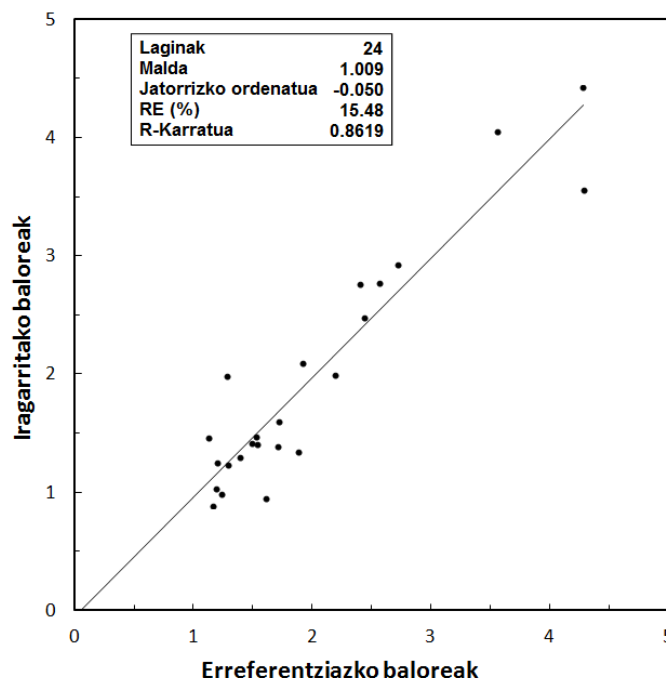
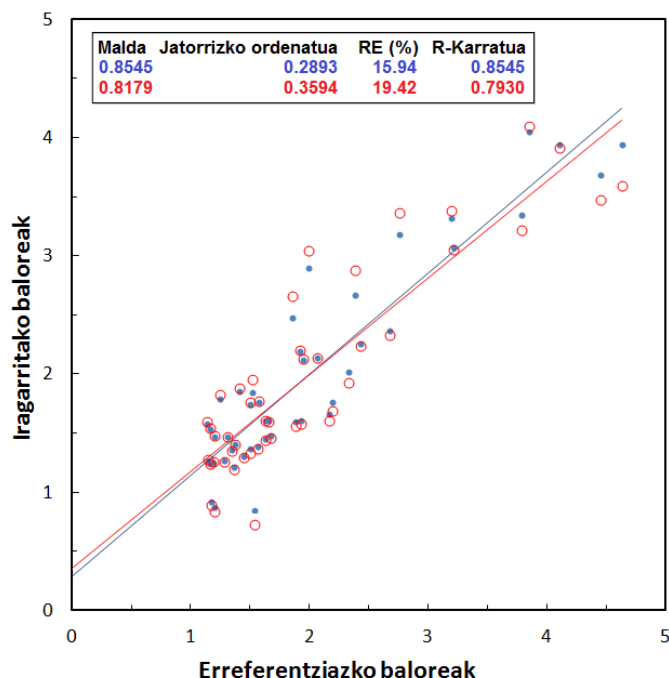
5.4 Taula. PLS erregresio modeloaren ezaugarriak, PPC parametroentzat

Parametroa	Modeloaren emaitzak	PLS modeloaren ekuazioa		
		X aldagaiak ^a	β koefizienteak	
PPC	LV ^b	3	β_0	1.1547
	RE_C (%)	15.94	Azido 4- <i>p</i> -kumaroilkinikoa	0.5992
	RE_{CV} (%)	19.42	Azido klorogenikoa	0.3614
	RE_P (%)	15.48	Azido kafeikoa	0.3158
	Estimazioa (%) ^c	98±20	Abikularina	0.1850
	Azaldutako bariantza (%)	X: 66 Y: 85	(+)-katekina	-0.2547
			Azido protokatekuikoa	-0.2830

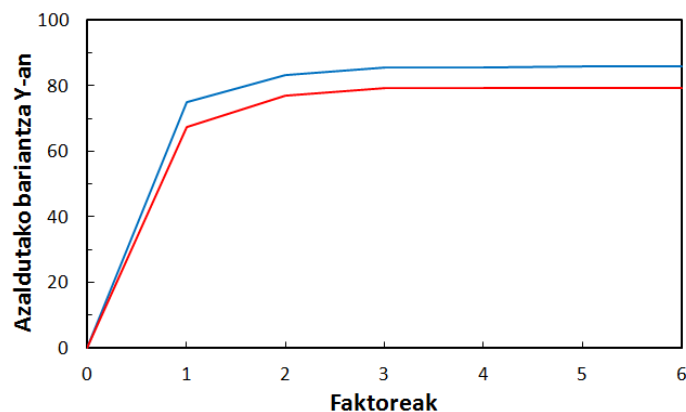
^aadierazgarriak $p=0.05$ mailan ^bLV: osagai nagusien kopurua

^cbatez bestekoa ± desbideratze estandarra

Hurrengo irudian (**5.3 irudia**) adierazten dira PPC parametroarekin lortutako modeloaren iragarpenak, kalibraketa eta balidazio multzoarentzat eta, **5.4 Irudian**, azaldutako bariantzaren joera osagai nagusiekiko.



5.3 Irudia. Ezkerrean: **kalibraketa multzoaren** iragarpenak; puntu urdinak, behin betiko modeloarekin, puntu gorriak, balidazio gurutzatuarekin. Eskuinean: **balidazio multzoaren** iragarpena, behin betiko modeloarekin.



5.4 Irudia. Azaldutako bariantza osagai nagusien kopuruarekin, kalibraketa modeloarentzat (lerro urdina) eta balidazio gurutzatuarentzat (lerro gorria). *Unscrambler* programak **hiru** osagai nagusi hartzea gomendatzen du.

5.4.3 Iluntzea (Browning)

Parametro honentzat modelo egokia lortzea zailagoa izan zen. Modeloa kalkulatu hasi aurretik, muztio lortu berriei dagozkien laginetak kendu egin ziren. Hauek, aireztapen handia jasaten dute, sagarrak aire zabalean txikitzen eta prentsatzan direlako. Honen ondorioz, iluntze balore bereziki altuak dituzte eta hauek gehiegi distortsionatzen zuten modelo. Hori dela eta, lagin hauek kendu behar izan ziren.

Gero, modelo kalkulatu, beste hiru lagin kendu ziren, *outlierrak* bezala agertu zirelako: *Narbarte-Gorria-3-2013*, *Narbarte-Gorria-4-2013* eta *Urdin-2-2013*. Honi gehituta, *Narbarte-Gorria-5-2013* eta *Urdin-3-2013* laginak kendu behar izan ziren balidazio multzotik, iragarpena modu nabarmenean deformatzen zutelako. Honen ondorioz, modelorik onena lortzeko bidean, **Narbarte Gorria** lagin guztiak kendu behar izan ziren.

Hurrengo taulan (**5.5 taula**) adierazten dira lortutako modeloaren ezaugarriak.

5.5 Taula. PLS erregresio modeloaren ezaugarriak, iluntze parametroentzat

Parametroa	Modeloaren emaitzak		PLS modeloaren ekuazioa	
			X aldagaiak ^a	β koefizienteak
Iluntzea	LV ^b	3	β_0	0.2064
	RE _C (%)	20.92	Azido 4- <i>p</i> -kumaroilkinikoa	0.9575
	RE _{CV} (%)	25.14	Floretin 2'- <i>O</i> -xiloglukosidoa	0.3410
	RE _P (%)	19.08	Kertzitrina	-0.2720
	Estimazioa (%) ^c	105±41	(+)-katekina	-0.3693
	Azaldutako bariantza (%)	X: 92 Y: 91		

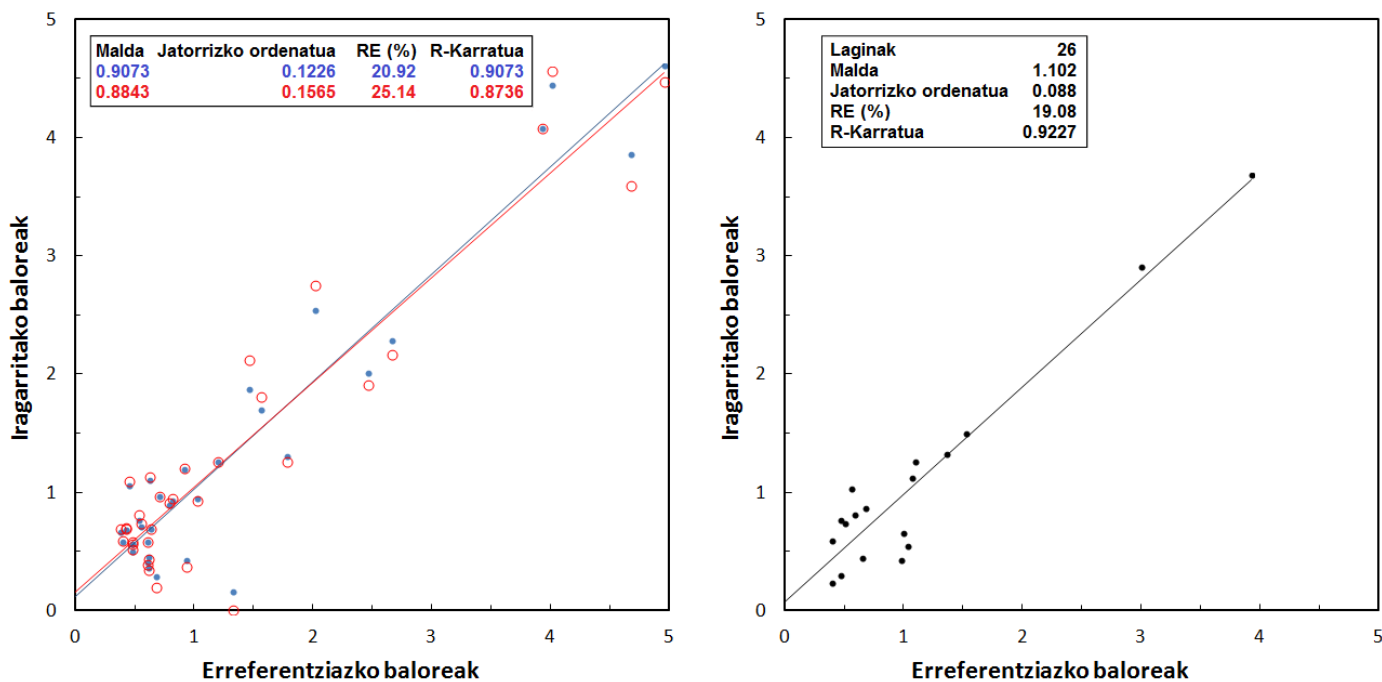
^aadierazgarriak $p=0.05$ mailan ^bLV: osagai nagusien kopurua

^cbatez bestekoa \pm desbideratze estandarra

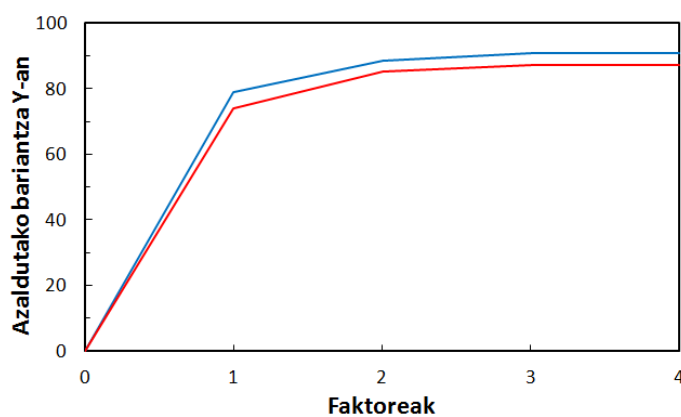
Lortutako PLS modeloak, RE_C, RE_{CV} eta RE_P balore txikiak eta estimazio ona eman zituen, nahiz eta beste modeloetan bezain onak izan ez. Kontribuzio positibo adierazgarri ($p=0.05$) nagusia, parametro honetan, azido 4-*p*-kumaroilkiniko

polifenolari dagokio. Floretin 2'-O-xiloglukosido polifenolak ere badu kontribuzioa, baina nabarmen txikiagoa. Kontribuzio negatibo adierazgarria duten polifenolak kertzitrina eta (+)-katekina dira.

Hurrengo irudietan erakusten dira Iluntze parametroarekin lortutako modeloaren iragarpenak, kalibraketa eta balidazio multzoarentzat (**5.5 irudia**), eta azaldutako bariantzaren joera osagai nagusiekiko (**5.6 irudia**).



5.5 irudia. Ezkerrean: **kalibraketa multzoaren** iragarpenak; puntu urdinak, behin betiko modeloarekin, puntu gorriak, balidazio gurutzatuarekin. Eskuinean: **balidazio multzoaren** iragarpena, behin betiko modeloarekin.



5.6 irudia. Azaldutako bariantza osagai nagusien kopuruarekin, kalibraketa modeloarentzat (lerro urdina) eta balidazio gurutzatuarentzat (lerro gorria). *Unscrambler* programak **hiru** osagai nagusi hartzea gomendatzen du.

5.4.4 Uhertasuna eta erredox potentziala

Ezin izan zen behar bezalako modelorik lortu uhertasuna eta erredox potentziala parametroentzat, beraz, gure datu esperimentalekin ezin izan zen erlaziorik aurkitu polifenol bakoitzaren eta parametro hauen artean.

5.4.5 Emaidza orokorrak

Polifenol bakoitzak egitura kimiko ezberdina duenez gero, polifenol kontzentratuenak ez dira zertan izan, parametro jakin batean, kontribuzio handiena dutenak. Hortaz, nahiz eta azido klorogenikoa eta azido 4-*p*-kumaroilkinikoa polifenolik kontzentratuenak diren aztertutako lagin gehienetan, bigarrenak bakarrik erakusten du eragin adierazgarria indar antioxidatzailean, PPC-an eta iluntzean. Azido klorogenikoak, eragin adierazgarria erakusten du indar antioxidatzailean eta PPC-an, baina ez, ordea, iluntzean. Honekin batera, floretin 2'-*O*-xiloglukosidoa, polifenol nagusia izanik aztertutako lagin askotan, eragin adierazgarria du indar antioxidatzailean eta iluntzean, baina ez PPC-an. Bestalde, kontzentrazio txikiagoko polifenolek ere kontribuzioa dutela ikusi da. (-)-Epikatekinak edo azido kafeikoak, esate baterako, eragina dute zenbait parametrotan. Baita abikularinak edo kertzitrinak ere, nahiz eta hauen kontzentrazioa are txikiagoa den.

5.5 Sagardo monobariatelen sailkapena

Atal honen helburua, sagardoak neurtutako parametroen arabera sailkatzea da. Aztertutako parametroak bost izan dira: FRAP, ABTS, FC, PPC eta Iluntzea, hau da, PLS modelo egokiak eman dutenak. Laginak, muztio bakoitzari dagozkion **azkeneko bi laginketak** izan dira, izan ere, kasu gehienetan sagardoa bukatuta edo bukatzeaz dago azken-aurreko laginketan. Haatik, aurreko atalean azaldu den bezala, zenbait lagin kendu ziren PLS modeloak eraikitzerakoan; batzuk, gaizki neurtuta zeudelako eta, beste batzuk, modeloak eraikitzean anomaloak (*outliers*) bezala agertu zirelako. Beraz, hemen ere, ez dira kontuan izan sailkapena egiteko. Kalkuluak egiteko, **IBM SPSS Statistics 24** programa estatistikoa erabili da (IBM, Armonk, AEB).

Hartutako laginak eta bost parametroen baloreak, **5.6 taulan** adierazten dira.

5.6. Taula. Bost parametroen baloreak azkeneko bi laginketetan

Sagardo lagina	Laburdura	FRAP	ABTS	FC	PPC	Iluntzea
		Trolox mmol/L	Trolox mmol/L	Azido taniko g/L	e ^{A₅₁₀ nm}	A _{420 nm}
Gezamina 4 2012	Gz4 2012	8.87	18.12	3.28	2.38	2.017
Gezamina 5 2012	Gz5 2012	9.92	16.99	3.17	2.30**	1.566
Goikoetxea 4 2012	Gk4 2012	3.60	9.34	1.40	1.53	1.363
Goikoetxea 5 2012	Gk5 2012	4.13**	10.94*	1.50	1.53	1.029
Moko 4 2012	Mk4 2012	9.71	17.91	2.98	2.32	0.680
Moko 5 2012	Mk5 2012	9.25	17.36	3.03	2.19	0.651
Txalaka 4 2012	Tx4 2012	3.31	6.89	1.07	1.34	0.456
Txalaka 5 2012	Tx5 2012	3.16	6.66	1.15	1.36	0.420
Urtebi Haundi 4 2012	UH4 2012	2.27	6.25	0.90	1.12	0.392
Urtebi Haundi 5 2012	UH5 2012	2.69	6.17	0.94	1.13	0.374
Urtebi Txiki 4 2012	UT4 2012	2.97	7.92	1.05	1.31	0.787
Urtebi Txiki 5 2012	UT5 2012	3.23	8.80	1.19	1.29	0.590
Merabi 4 2013	Mb4 2013	11.26	21.61	3.27	2.43	0.535
Merabi 5 2013	Mb5 2013	12.19	26.08	3.58	2.60*	0.554
Narbarte Gorria 4 2013	NG4 2013	9.32	17.24	2.41	1.99	0.368
Narbarte Gorria 5 2013	NG5 2013	10.38	16.65	2.07	1.89*	0.500**
Urdin 4 2013	Ur4 2013	4.92	8.76	1.55	1.52	1.327
Urdin 5 2013	Ur5 2013	5.25	11.28	1.59	1.54*	0.937
Urtebi Txiki 4 2013	UT4 2013	4.53	8.33	1.30	1.44	0.633
Urtebi Txiki 5 2013	UT5 2013	4.36	11.02	1.45	1.50*	0.679
Aritza 4 2014	Ar4 2014	6.67	13.96	1.80	1.91	0.399
Aritza 5 2014	Ar5 2014	7.89	15.61	1.88	1.91	0.476
Frantzes Sagarra 4 2014	Fs4 2014	3.57	7.08	0.78	1.20	0.474
Frantzes Sagarra 5 2014	Fs5 2014	4.23	8.79	0.92	1.19	0.479
Manttoni 4 2014	Mn4 2014	2.38	4.26	0.43	1.14	0.423
Manttoni 5 2014	Mn5 2014	2.86	7.16	0.36	1.16	0.398
Udare Marroi 4 2014	UM4 2014	3.37	7.54	0.61	1.16	0.610
Udare Marroi 5 2014	UM5 2014	3.68	7.91	0.59	1.16	0.470

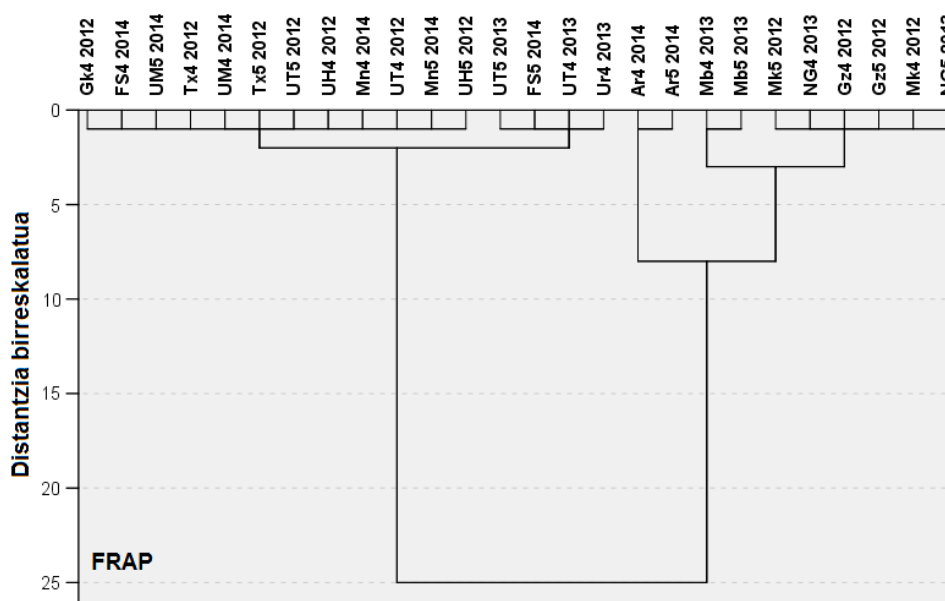
*Gaizki neurtutako datuak

**PLS modeloak eraikitzean lagin anomaloak bezala agertutako datuak.

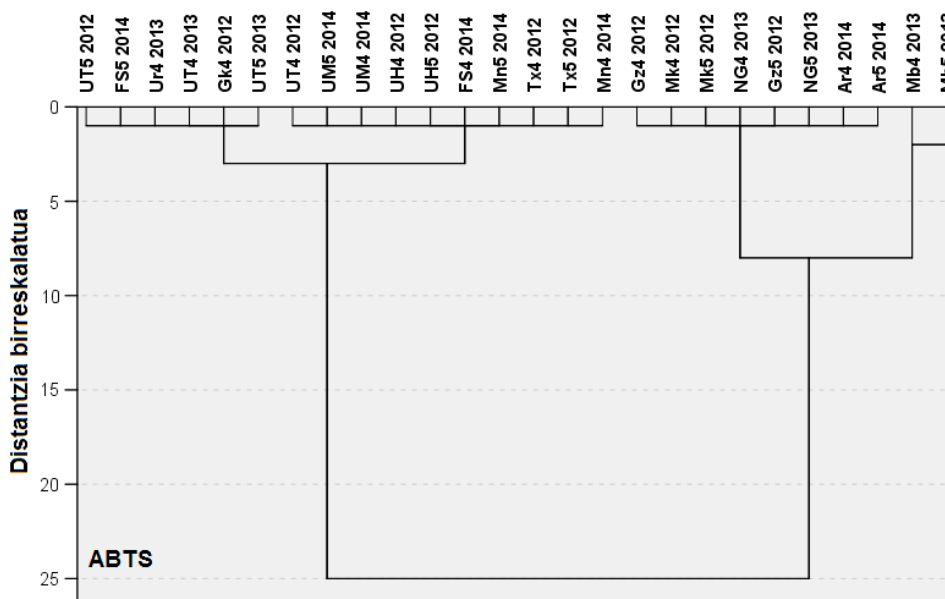
Sagardoak balore hauen arabera sailkatzeko, dendograma bat eraiki da parametro bakoitzarekin. Honako hauek izan dira laginak multzokatzeko jarraitutako irizpideak:

- Antzekotasun irizpide bezala **distantzia euklidearra ber bi** erabili da. Dendograma bakoitzean, aldagai bakarra erabiltzen da laginak konparatzeko. Hori dela eta, antzekotasun irizpide aproposena distantzia dela iruditu zaigu, eta honekin batera, ez dago datuak eskalatzeko beharrik.
- Taldeen arteko loturak egiteko, **lotura osoa edo bizilagun urrunena** erabili da. Irizpide hau erabilia, multzoen arteko diferentziak areagotzen dira, errazagoa izanik taldeak desberdintzea.

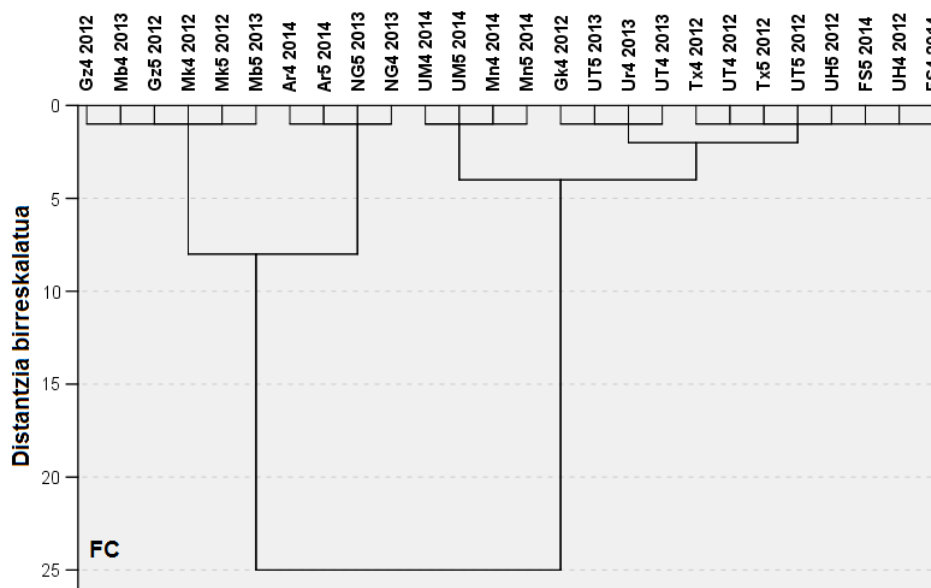
Lortutako dendogramak **5.7-5.12 irudietan** adierazten dira.



5.7 Irudia. FRAP parametroarekin lortutako multzoak.



5.8 Irudia. ABTS parametroarekin lortutako multzoak.

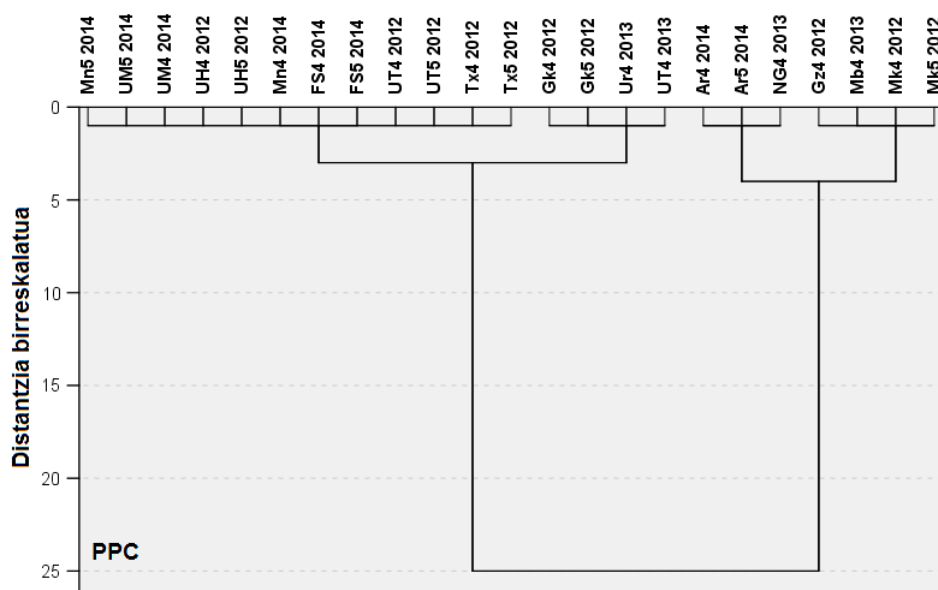


5.9 Irudiak. FC parametroarekin lortutako multzoak.

Indar antioxidatzaileari dagokionez, FRAP, ABTS eta FC-rekin lortutako dendogramek ezaugarri komun bat dute: hirurek banatzen dituzte sagardoak **bi talde nagusietan**. Taldeak sagardo hauek osatzen dituzte:

- **A taldea:** Aritza, Gezamina, Merabi, Moko eta Narbarte Gorria.
- **B taldea:** Frantzes, Goikoetxea, Manttoni, Txalaka, Udare Marroi, Urdin, Urtebi Haundi eta Urtebi Txiki.

5.6 Taulako baloreen arabera, A taldean indar antioxidatzaile handieneko sagardoak sartu dira (FRAP > 6 Trolox mmol/L; ABTS > 12 Trolox mmol/L; FC > 1.7 azido taniko g/L – gutxi gorabeherako mugak–) eta B taldean, indar antioxidatzaile txikienekoak (aurreko baloreen azpitik).



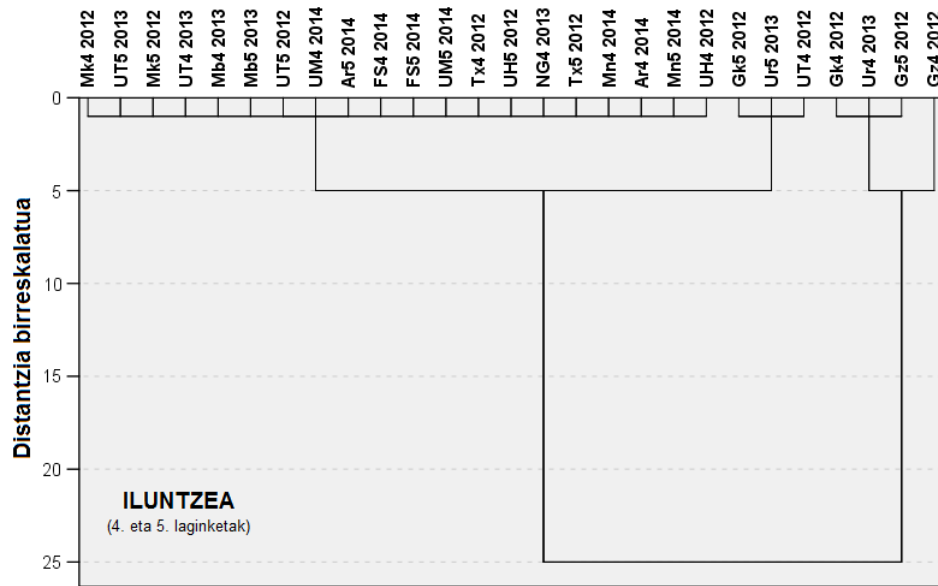
5.10 Irudia. PPC parametroarekin lortutako multzoak.

Proteinekin hauspeatzeko gaitasuna (PPC) aztertzean, indar antioxidatzailearekin lortutako talde berberak lortzen dira (gutxi gorabeherako muga, PPC= 1.7 azido taniko g/L), nahiz eta, aldagai anitzeko kalibraketan ikusi dugun bezala, bi propietateetan inplikatuak dauden polifenolak desberdinak diren. Hala ere, esan beharra dago, PPC eta indar antioxidatzailea oso korrelazionatuta daudela, **5.7 Taulan** jasotzen den bezala. Taula hau osatzeko, **5.6 taulan** agertutako laginak kontutan hartu dira, hau da, dendogramak egiteko erabilitako lagin berberak. Edonola ere, laginketa guztiak kontutan hartzen badira (murtio jakin baten guztiak), gauza bera lortzen da.

5.7. Taula. Pearson korrelazioak aldagaien artean, murtioen azkeneko bi laginketak hartuta

Parametroa	FRAP	ABTS	FC	PPC (e^{A510})	Iluntzea
FRAP	1.000				
ABTS	0.974*	1.000			
FC	0.936*	0.943*	1.000		
PPC (e^{A510})	0.964*	0.968*	0.977*	1.000	
Iluntzea	0.267	0.252	0.429	0.360	1.000

*Korrelazio adierazgarria 0.01eko mailan



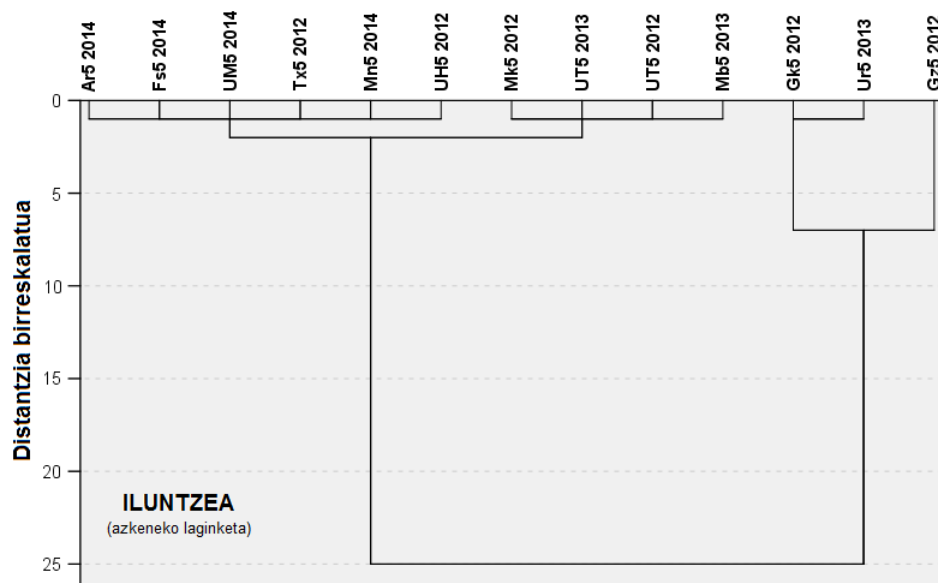
5.11 Irudia. Iluntze parametroarekin lortutako multzoak, muztioen azkeneko bi laginketak erabiliz.

Iluntzeari dagokionez, dendogramak hurrengo bi taldeetan banatzen ditu sagardoak:

- **1. Taldea:** Goikoetxea-4-2012, Urdin-4-2013, Gezamina-4-2012, Gezamina-5-2013
- **2. Taldea:** Gainontzekoak

Aurreko kasuetan ez bezala, hemen, sagardo jakin baten bi laginketak ez dira beti talde berean geratu. Goikoetxea-4 eta 5, eta Urdin-4 eta 5 laginak talde ezberdinetan geratu dira. Kontuan izan behar da 4. laginketatik 5. laginketara iluntzea nabarmen jaitsi zela sagardo **guztietan**, bidean egindako trasegua dela eta. Horregatik, sagardo batzuen bi laginketak talde desberdinean geratu dira.

Arazo hau saihesteko, dendograma berriro egin da, 5. laginketarekin bakarrik (**5.12 irudia**). Horrela, guztiz bukatutako sagardoak hartuta, iluntzea konparagarriagoa izango da.



5.12 Irudia. Iluntze parametroarekin lortutako multzoak, muztioen azkeneko laginketa bakarrik erabiliz.

Dendograma horrela eginenez gero, sagardoak bi taldetan banatzen dira berriro:

- **Iluntze handia:** Gezamina, Goikoetxea eta Urdin.
- **Iluntze ertaina-txikia:** Gainontzekoak

Nahiko genuke, alabaina, iluntze ertaina eta txikiko sagardoak bereizi ahal izatea. Adibide bat jartzearen, badakigu Moko edo Merabi sagardoak Txalaka sagardoa baino nabarmen ilunagoak direla; halere, hiruak multzo berean geratu dira. Dirudienez, ditugun datuekin ezin ditugu lortu, modu argian, multzo gehiago.

5.6 Ondorioak

Atal honetan, lortutako sagardo monobarietalen **indar antioxidatzailea** ohiko beste zenbait edarirekin konparatu da. Ondoren, **polifenolen eragina** honako parametro hauetan aztertu da: **FRAP saioa**, **ABTS saioa**, **Folin-Ciocalteu indizea**, **proteinekin hauspeatzeko gaitasuna**, **iluntzea**, **uhertasuna** eta **erredox potentziala**. Azkenik, **konglomeratuen analisisa** egin zaie sagardoei, bereizi ahal izateko zeintzuk diren indar antioxidatzaile gehien dutenak, eta zeintzuk diren beste parametroetan balore altuena dutenak.

Lortutako sagardo monobarietalen **indar antioxidatzailea** ardo zurien eta gorrien gaitetik dago, eta ardo beltzen parean. Honetaz gain, beste edari alkoholduen gaitetik ere badaude, hala nola, garagardoa, cognac-a, armagnac-a eta ron-a, besteak beste. Alkoholik gabeko edariei dagokienez, kafearen parean daude eta te, laranja zuku, oliba olio eta ekilore olioaren gaitetik.

Indar antioxidatzailean eragin positibo handiena duten polifenolak azido klorogenikoa, azido 4-*p*-kumaroilkinikoa eta (-)-epikatekina dira. Hiru polifenol hauek komunak dira FRAP saio, ABTS saio eta Folin-Ciocalteu indizean.

Proteinekin hauspeatzeko gaitasunean eragin positibo handiena duten polifenolak honako hauek dira: azido 4-*p*-kumaroilkinikoa, azido klorogenikoa, azido kafeikoa eta abikularina. Bestalde, kontribuzio negatibo adierazgarria dutenak azido protokatekuikoa eta (+)-katekina dira.

Iluntzean, azido 4-*p*-kumaroilkiniko polifenola da eragin positibo handiena duena; floretin 2'-*O*-xiloglukosidoak ere eragin adierazgarria du, baina nabarmenki txikiagoa aurrekoarekin konparatuta. Kontribuzio negatibo adierazgarria duten polifenolak kertzitrina eta (+)-katekina dira.

Ezin izan da erlaziorik aurkitu polifenolen eta **uhertasuna** eta **erredox potentziala** parametroen artean.

Konglomeratu analisiak honako multzo hauek eman ditu indar antioxidatzailearentzat (FRAP saio, ABTS saio edo Folin-Ciocalteu indizea kontuan hartuta) eta proteinekin hauspeatzeko gaitasunarentzat:

- **Parametroetan balore altuak:** Aritza, Gezamina, Merabi, Moko eta Narbarte Gorria.
- **Parametroetan balore baxuak:** Frantzes, Goikoetxea, Manttoni, Txalaka, Udare Marroi, Urdin, Urtebi Haundi eta Urtebi Txiki.

Iluntzearekin, ordea, ez da banaketa onik lortu.

5.7 Erreferentziak

Almajano, M. P, Carbó, R., López Jiménez, J. A., Gordon, M. H. (2008). Antioxidant and antimicrobial activities of tea infusions. *Food Chemistry* 108, 55–63.

Landrault, N., Poucheret, P., Ravel, P., Gasc, F., Cros, G., Teissedre, P. L. (2001). Antioxidant capacities and phenolics levels of French wines from different varieties and vintages. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49, 3341-3348.

Martens, H., Martens, M. (2000). Modified Jack-knife estimation of parameter uncertainty in bilinear modelling by partial least squares regression (PLSR). *Food Quality and Preference* 11, 5-16.

Parras, P., Martínez-Tomé, M., Jiménez, A. M. and Murcia, M. A. (2007). Antioxidant capacity of coffees of several origins brewed following three different procedures. *Food Chemistry* 102, 582–592.

Pellegrini, N., Serafini, M., Colombi, B., Del Rio, D., Salvatore, S., Bianchi, M., Brighenti, F. (2003). Total antioxidant capacity of plant foods, beverages and oils consumed in Italy assessed by three different in vitro assays. *The Journal of Nutrition* 133, 2812-2819.

Pulido, R., Hernández-García, M., Saura-Calixto, F. (2003). Contribution of beverages to the intake of lipophilic and hydrophilic antioxidants in the Spanish diet. *European Journal of Clinical Nutrition* 57, 1275–1282.

Rapisarda, P., Tomaino, A., Lo Cascio, R., Bonina, F., De Pasquale, A., Saija, A. (1999). Antioxidant effectiveness as influenced by phenolic content of fresh orange juices. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 47, 4718-4723.

Saura-Calixto, F., Goñi, I. (2006). Antioxidant capacity of the Spanish Mediterranean diet. *Food Chemistry* 94, 442–447.

Schwarz, M., Rodríguez, M. C., Martínez, C., Bosquet, V., Guillén, D., García Barroso, C. (2009). Antioxidant activity of Brandy de Jerez and other aged distillates, and correlation with their polyphenolic content. *Food Chemistry* 116, 29–33.

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 sample dilution and time. *Talanta* 64, 501–509.

Zhao, H., Chen, W., Lu, J., Zhao, M. (2010). Phenolic profiles and antioxidant activities of commercial beers. *Food Chemistry* 119, 1150–1158.

6. Kapitula

^1H NMR metodo berriak

6.1 Sarrera

Kapitulu honetan, etanol, azido laktiko eta azido azetikoaren ¹H NMR espektroskopiaren bitartez determinatzeko metodoa azaltzen da. Etanola determinatzeak ahalbidetzen du fermentazio alkoholikoa jarraitzea, eta azido laktikoa determinatzeak, fermentazio malolaktikoaren kontrola. Azido azetikoaren determinatzea, bestalde, baliagarria da sagardoaren gehiegizko azetifikazioa kontrolatzeko.

6.2 Prozedura esperimentalak

6.2.1 Barne patroi disoluzioaren prestaketa: TSP-D₂O

0.2500 g 3-(trimetilsilil)-2,2,3,3-d₄ propionikoaren sodio gatz (TSP) zehazki pisatzen dira eta 17.5 mL D₂O-an disolbatzen dira. Disoluzioa 25 mL-ko matrize bolumetriko batera isuri eta neurrira eramaten da. TSP-ren kontzentrazioa disoluzioan 10.00 g/L da eta, ur deuteratuarena, % 70 (v/v).

6.2.2 ¹H NMR-ko espektroak erregistratzeko metodo orokorra

Seihun mikrolitro patroi edo lagin hartu eta 5 mm-ko kanpo diametroko NMR hodi batean isurtzen dira. Jarraian, 100 µL TSP-D₂O disoluzio gehitzen zaizkio, tapoia jarri eta disoluzioa homogeneizatzen da. Horrela, bukaerako TSP eta D₂O-ren kontzentrazioak 1.426±0.014 g/L eta % 10 (v/v) dira, hurrenez hurren. *Bruker Avance 500* (Bruker Corporation, Billerica, AEB) espektrometroa erabiltzen da 500 MHz-eko espektroak erregistratzeko. Lagin bakoitzari 64 eskaneatu egiten zaizkio, 32K datu puntutakoak eta 8012 Hz-eko (16 ppm) espektro zabalerakoak. Eskuratzeko denbora 4.0 s izan dira, itzarote denbora 2.0 s eta inklinazio angelua 90°. Espektro guztiak 28.5eko irabazi konstantearekin egin dira eta 30°C-tan erregistratu dira. Guztira, 8 minutuko denbora behar da espektro bakoitza erregistratzeko. Uraren seinalea kentzeko, Nord-ek erabilitako aurreasetzeko pulsu-sekuentzia erabili da (**Nord et al., 2004**).

Datuei aurre-tratamendua egiten zaie 2.5 bertsioko *Bruker* Softwarearekin. Hasiera batean, indukzioaren erorketa askeko seinalea edo FID-a lortzen da (FID= *Free Induction Decay*). Honi, Fourier-en transformazioa aplikatzen zaio (1.0 Hz-eko zabalkuntzarekin) espektroa lortzeko. Espektroari fasea doitzen zaio, eta oinarritzko lerroa zuzendu egiten da. Azkenik, desplazamendua zuzentzen da TSP-aren seinalea 0 ppm-ko erreferentzia bezala erabiliz. Datuen analisia *MestReNova 6.11-6384* (Mestrelab Research, Santiago de Compostela, Espainia) programarekin burutzen da.

6.2.3 Luzerako erlaxazio denboraren (T₁) determinazioa

NMR hodi batean hurrengo disoluzioa prestatzen da: ~1 µL etanol, % 98 purutasuneko, ~1.6 mg azido laktiko eta ~1 µL azido azetiko anhidro. Disoluzio honi 650 µL ur deuteratu eta 50 µL azido klorhidriko deuteratu gehitzen zaizkio, azken hau

azidotasun sendoa bermatzeko. Etanolaren, azido laktikoaren eta azido azetikoaren T_1 denbora neurtzeko, aukeratutako protoien luzerako erlaxazio atzerapenak determinatzen dira, inbertsio-berreskurapenaren pulsu sekuentziaren metodoaren bitartez. Horretarako, T_1 *cal Bruker* programa erabiltzen da, zeinek datuak $I = I_0 + P e^{(-\tau/T_1)}$ ekuazioa doitzen dituen. Ekuazio honetan, I protoi bakoitzaren erresonantziaren intentsitatea da τ inbertsio atzerapenean, I_0 intentsitatea oreka egoeran eta P konstante bat. Erabilitako inbertsio atzerapenak honako hauek dira: 0.10, 0.50, 1.00, 2.00, 3.00, 7.00, 10.00, 20.00, 30.00 eta 45.00 s.

6.2.4 Stock eta patroia disoluzioen prestaketa

Honako hauek dira prestatutako stock disoluzioak:

- **Etanol disoluzioa: etanol % 50 (v/v).** 50 mL % 99.5 purutasuneko etanol 100 mL-ko matrize bolumetrikoko batean isurtzen dira, eta neurria eramaten dira ur destilatuarekin.
- **Azido azetiko disoluzioa: azido azetiko 20 g/L.** Beharrezkoa den azido azetiko anhidroaren kantitatea 50 mL-ko matrize bolumetrikoko batean isuri, eta neurria eramaten da ur destilatuarekin. Ondoren, disoluzioa NaOH-rekin estandarizatzen da, benetako kontzentrazioa jakiteko.
- **Azido laktiko disoluzioa: azido L-laktiko 32 g/L.** Beharrezkoa den % 98 purutasuneko azido laktikoaren kantitatea 50 mL-ko matrize bolumetrikokoan jarri eta neurria eramaten da ur destilatuarekin.

Stock disoluzioetatik abiatuta, hauen diluzioak egiten dira 10 patroia lortzeko, zeintzuk hiru analitoen kontzentrazio ezberdinak dituzten. Patroia bakoitza egiten bukatu baino lehen, pH-a 1.0-era doitzen zaio H_2SO_4 kontzentratua gehituz. Etanolaren kontzentrazio tartea patroien barruan % 0.8-8.0 (v/v) da, azido azetikoarena, 0.3-3.0 g/L eta azido L-laktikoarena, 0.5-5.0 g/L.

6.2.5 Laginen prestaketa

Hamabost mL sagardo gasgabetu edo muztio hartu eta hauspeakin ontzi batean jartzen dira. Hemen, pH-a 1.0-era doitzen da H_2SO_4 kontzentratuarekin. Ondoren, ontziaren edukia 25 mL-ko matrize bolumetrikoko batera eramaten da pH 1.0-eko urarekin. Azkenik, disoluzioa neurria eramaten da ur horrekin, eta ondoren, NMR espektroa erregistratzen da.

6.2.6 Analitoen determinazioa 1H NMR-ren bidez

Seihun μL patroia hartu eta NMR hodi batean isurtzen dira. Ehun μL TSP- D_2O disoluzio gehitzen dira hodian, tapoia jarri, hodia homogeneizatu eta lortutako disoluzioaren NMR espektroa erregistratu eta tratatu egiten da, metodo orokorra erabiliz.

Kalibraketa zuzenak lortzeko, analito bakoitzaren azalera barne patroiarekin azalerarekin zatitzen da eta analitoaren kontzentrazioaren aurrean irudikatzen da.

Kalibraketa zuzenak lortu ondoren, laginen espektroak erregistratzen dira, metodo orokorra erabiliz. Analitoak kuantifikatzeko, patroiekin jarraitutako prozedura berbera erabiltzen da.

6.2.7 Etanolaren determinazioa gas kromatografiaren bidez

Etanola gas kromatografiaren bitartez determinatzeko, **2.5 atalean** azaldutako metodoa erabili da; zentzu honetan, instrumentazioa ere berbera da. Lehenik eta behin, kalibraketa bat lortzen da etanolarentzat. Hau, 10 patroiz osatuta dago, eta horrela, etanol % 0.8-8.0 (v/v) kontzentrazio tartea barne hartzen da. Ondoren, sagardoen eta muztioen etanola determinatzen da.

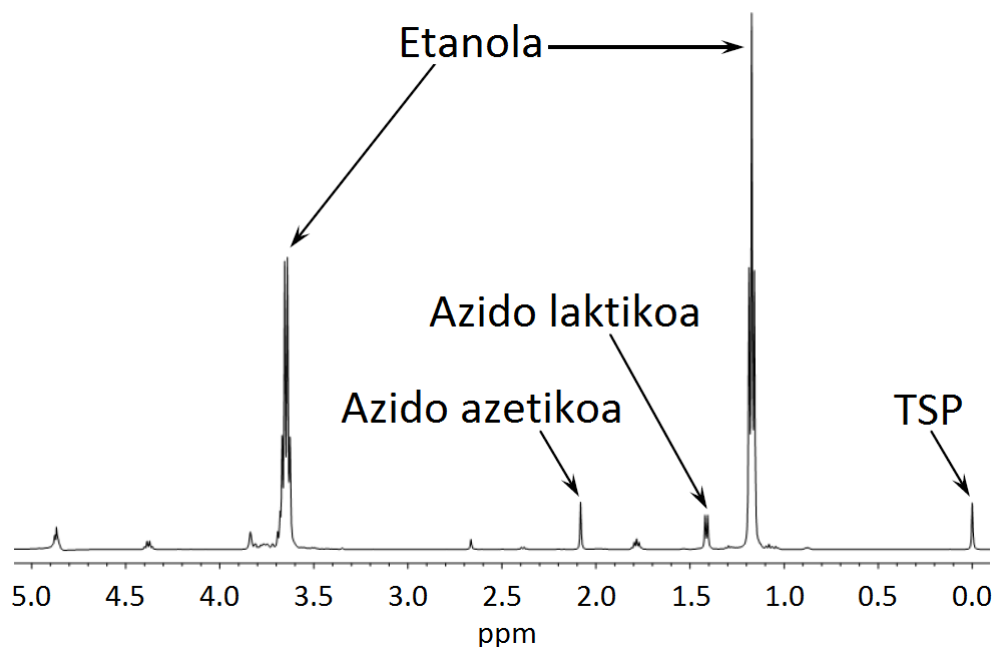
6.2.8 Azidoen determinazioa metodo entzimatiaren bidez

Azido azetiko eta azido laktiko, metodo entzimatiaren bidez determinatzen dira. Erabilitako metodoak, instrumentazioa eta kit entzimatiak **2.3 atalean** azaldutako berberak dira. NMR-aren teknika ez bezala, metodo hauek azido laktikoaren L eta D isomeroak bereizteko gai dira.

6.3 Emaitzak

6.3.1 Laginen ^1H NMR espektroak

Hurrengo irudian (**6.1 irudia**) ikusi daiteke sagardo komertzial baten ^1H NMR espektroa. Sagardo honi, TSP-a ere gehitu zaio, barne patroia ren metodologiari jarraitua.



6.1 Irudia. Sagardo komertzial baten ^1H NMR espektroa (TSP gehitua).

Irudi honetan, analitoak determinatzeko erabilitako seinaleak adierazten dira.

Etanolak ($\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{OH}$), bi seinale sendo ematen ditu: bata, triplete seinalea, 1.19 ppm-tan, metilo ($-\text{CH}_3$) taldeko protoiei dagokiena, eta bestea, multipletea, 3.66 ppm-tan, metileno ($-\text{CH}_2-$) taldeko protoiei esleitzen zaiena. Lanerako, lehenengoa erabili zen, metiloarena, indartsuagoa delako.

Honekin batera, azido laktikoaren ($\text{CH}_3\text{-CHOH-COOH}$) metilo taldeak doblete seinalea ematen du 1.42 ppm-tan, eta azido azetikoaren ($\text{CH}_3\text{-COOH}$) metiloak, singletea, 2.09 ppm-tan. Bi konposatuen protoi karboxilikoak, hala nola azido laktikoaren $-\text{CHOH}$ taldeko protoiak, ez dira ikusten, uraren seinaleetik oso gertu agertzen direlako (~ 4.9 ppm-tan), eta seinale hau eliminatzen delako erabilitako aurreasetze pulsuarekin.

TSP konposatua, $(\text{CH}_3)_3\text{-Si-(CD}_2)_2\text{-COONa}$, barne patroia bezala erabili zen aurretik egindako lanetan (**del Campo et al., 2006**). Honek, zenbait abantaila ditu: uretan disolbagarria da, laginaren ingurunean egonkorra da, purutasun handian dago eskuragarri eta ^1H NMR espektro sinplea du. Izan ere, seinale bakarra ematen du, hiru metiloen protoiek emandako singletea. Barne patroia izateaz gain, ^1H NMR espektroaren 0.00 ppm-ko desplazamendu kimikoa finkatzeko erabiltzen da.

Azido laktikoaren eta azido azetikoaren seinaleen desplazamendu kimikoa pH-arekiko baldintzatuta dago, bereziki pH 5.0 baino balore txikiagotan. TSP-ari, aldiz, ez zaio hori gertatzen. Edonola ere, pH-a 1.0 baliora doitu da H₂SO₄ kontzentratuarekin, azido malikoaren determinazioan erabilitako baldintza esperimentalak erreproduzitzeko (**del Campo et al., 2006**). Honela, analisi berean lau konposatuen (hiru azidoak eta etanola) bilakaera jarraitzeko aukera potentziala sortzen da, eta horrela, sagar zuku batean gertatzen diren bi hartidura nagusia.

6.3.2 Analitoen luzerako erlaxazio denborak

Hurrengo taulan (**6.1 taula**) adierazten dira lan-protointzat lortutako luzerako erlaxazio denborak:

6.1 Taula. Luzerako erlaxazio denbora intereseko analitoen protointzat

Konposatua	Lan-protioiak (taldea)	Luzerako erlaxazio denbora, s
Etanola	-CH ₃	6.546±0.001
Azido laktikoa	-CH ₃	1.829±0.044
Azido azetikoa	-CH ₃	5.640±0.090
TSP	-(CH ₃) ₃	3.769±0.016

TSP konposatuaren luzerako erlaxazio denbora ere adierazten da, nahiz eta hau aurretik egindako lan batean determinatu zen (**del Campo et al., 2010**).

Datuen arabera, faktore kritikoa espektroen eskuratze baldintzetan **etanolaren** protoien erlaxazio denbora da. Molekulen erlaxazio maximoa lortzeko eta, era berean, espektroen eskuratze denbora luzeegia ez izateko, aukeratutako lan baldintzak honako hauek dira: eskuratze denbora 4.0 s, itxarote denbora 2.0 s eta 64 eskaneatu. Eskuratze eta itxarote denboren batura 6.0 s da, etanolaren protoien erlaxazio denbora baino zertxobait motzagoa. Honek, sentzibilitate apur bat galtzen dela suposatzen du, protoiak ez direlako guztiz erlaxatuko pulsu batetik bestera. Haatik, etanolaren seinaleak nahiko sendoak dira, eta baldintza hauetan, espektro bakoitzak 8 minutuko luzera du. Denbora hau egokia dela iruditu zaigu, hau da, eskuragarri dauden beste metodoekin lehiakorra. Gainera, denbora honetan, gainontzeko konposatuen protoiak erabat erlaxatzen dira.

6.3.3 Kalibraketak eta detekzio mugak

Kalibraketak lortzeko, analitoen eta TSP-ren azalaren arteko erlazioa, A/A_{TSP} , analitoaren kontzentrazioarekiko, C , irudikatu da. Ekuazioa orokorra, 6.1 ekuazioaren bidez adierazten da.

$$\frac{A}{A_{TSP}} = a \times C + b \quad (6.1)$$

Hemen, C kontzentrazioa g/L unitateetan ematen da azido laktiko eta azetikoarentzat eta % (v/v) unitateetan, etanolarentzat.

Datuak, *Excel 2007* (Microsoft, Redmon, AEB) programarekin tratatu dira, eta hurrengo taulan (**6.2 taula**) adierazten diren emaitzak lortu dira.

6.2 Taula. Kalibraketen ezaugarriak. Ekuazio orokorra, $A/A_{TSP} = a \times C^* + b$

Analitoa	$a \pm S_a$	$b \pm S_b$	R	N	$S_{y/x}$	LOD*
Etanola	6.131±0.114	-0.6167±0.5656	0.9997	10	0.3590	0.18
Azido laktikoa	0.4364±0.0055	0.0216±0.0175	0.9994	10	2.567×10^{-2}	0.18
Azido azetikoa	0.6184±0.0034	-0.0097±0.0071	0.9999	10	1.043×10^{-2}	0.05

S_a : desbideratze estandarra maldarentzat S_b : desbideratze estandarra jatorrizko ordenatuarentzat

R :erregresio koefizientea $S_{y/x}$: desbideratze estandarra erregresioarentzat N : puntu esperimentalen zenbakia

LOD: detekzio muga

* C eta LOD: % (v/v) unitateetan adierazita etanolarentzat eta g/L unitateetan azidoarentzat

Taula honetan adierazitako detekzio mugak, 2.15 ekuazioarekin kalkulatu dira (**Miller eta Miller, 2010**).

6.3.4 Doitasuna

Metodoaren doitasuna aztertzeko, egunaren barruko (*intra-day*) eta egunen arteko (*inter-day*) errepikagarritasun probak erabili ziren. Prozedura orokorra jarraituz, 5 patroi prestatu ziren, hurrengo analitoen kontzentrazioekin: etanol, % 4 (v/v), azido laktiko 2.57 g/L eta, azido azetiko, 1.68 g/L. Kontzentrazio hauek, analito bakoitzaren kalibraketa tartearen erdiko kontzentrazioak dira. Horrela, bost patroien ^1H NMR espektroa eginez eta kalibraketa ekuazioa erabiliz, konposatu bakoitzaren kontzentrazioa kalkulatu zen. Egun berean egindako 5 neurketarako (egun barruko errepikagarritasuna) % 1.70ko aldakortasun-koefizientea lortu zen etanolarentzat, % 2.34 azido laktikoarentzat eta % 4.47 azido azetikoarentzat. Hamazazpi egunetan zehar egindako hogeitaz neurketentzat (egunen arteko errepikagarritasuna), 5 lehenengo egunean, 5 hirugarren egunean, 5 zazpigarren egunean eta 5 hamazazpigarren egunean, aldakortasun-koefizientea % 2.80 izan zen etanolarentzat, % 2.76 azido laktikoarentzat eta % 5.02 azido azetikoarentzat.

6.3.5 Metodoaren aplikazioa sagardo komertzialetan eta muztioetan

Deskribatutako ¹H NMR prozedura balioztatzeko, hamabi sagardo komertzial (A-L sagardoak) eta zuku komertzial bat erosi eta etanola determinatu zitzairen. Honekin batera, euskal sagarrez egindako zuku bat hartu eta hartidura egiteko baldintzetan jarri zen. Hartiduran zehar, zenbait lagin hartu eta, etanola determinatu zitzairen (1-8 muztioak). Horrela, metodoaren baliagarritasuna hartiduran zehar etanola determinatzeko ikusi nahi da. Konparaketak egiteko, gas kromatografia erabili zen sagardo komertzialen eta hartitzen ari zen muztioetan etanola determinatzeko. Emaitzak **6.3 taulan** adierazten dira.

6.3 Taula. Etanol kontzentrazioak^a %, (v/v) unitateetan, gas kromatografia (GC) eta ¹H NMR tekniken bidez determinatuak

Lagina	Etanola		Lagina	Etanola	
	GC	¹ H NMR		GC	¹ H NMR
A sagardoa	5.38 ± 0.05	5.73 ± 0.12	Zukua	nd ^c	nd
B sagardoa	5.37 ± 0.05	6.11 ± 0.08	1 muztioa ^b	nd	nd
C sagardoa	6.04 ± 0.12	6.32 ± 0.08	2 muztioa	1.49 ± 0.02	1.06 ± 0.05
D sagardoa	6.20 ± 0.17	6.33 ± 0.04	3 muztioa	1.96 ± 0.01	2.44 ± 0.01
E sagardoa	5.34 ± 0.05	5.64 ± 0.11	4 muztioa	3.10 ± 0.03	3.62 ± 0.03
F sagardoa	5.77 ± 0.08	6.15 ± 0.07	5 muztioa	4.88 ± 0.10	4.80 ± 0.02
G sagardoa	5.33 ± 0.12	5.69 ± 0.11	6 muztioa	5.32 ± 0.02	5.48 ± 0.02
H sagardoa	5.73 ± 0.08	6.43 ± 0.10	7 muztioa	5.42 ± 0.05	5.63 ± 0.08
I sagardoa	5.69 ± 0.06	6.12 ± 0.04	8 muztioa	5.98 ± 0.04	5.88 ± 0.07
J sagardoa	5.55 ± 0.14	6.02 ± 0.28			
K sagardoa	5.56 ± 0.07	5.98 ± 0.13			
L sagardoa	5.80 ± 0.12	6.88 ± 0.12			

^aHiru neurketaren batezbestekoa ± desbideratze estandarra

^bZenbakiak hartiduraren etapa adierazten du

^cDetektatu gabea (not detected)

Azido laktiko eta azido azetikoaren kasuetan, beste hamar sagardo komertzial erosi eta bi azidoak determinatu zitzaizkien. Konparaketak egiteko, azidoak metodo entzimatikoen bidez determinatu ziren. Emaitzak **6.4 taulan** adierazten dira:

6.4 Taula. Azido laktiko eta azido azetiko kontzentrazioak* (g/L) sagardo komertzialetan, metodo entzimatico estandarren eta ¹H NMR tekniken bidez determinatuak

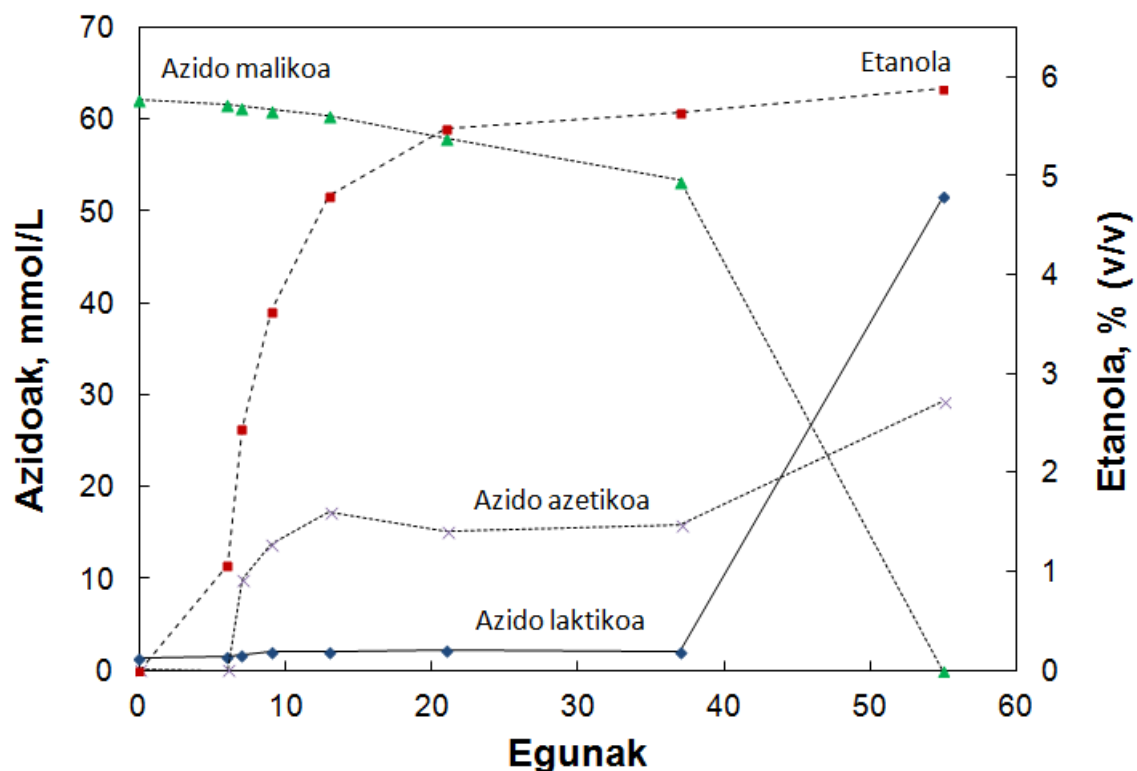
Lagina	Azido	Azido	Azido laktiko	Azido laktiko	Azido azetikoa	Azido azetikoa
	L-laktikoa	D-laktikoa	TOTALA	TOTALA		
	Entzimatikoa	Entzimatikoa	Entzimatikoa	¹ H NMR	Entzimatikoa	¹ H NMR
1	3.02 ± 0.04	3.19 ± 0.14	6.21 ± 0.14	6.86 ± 0.13	2.52 ± 0.05	2.56 ± 0.03
2	2.87 ± 0.05	2.84 ± 0.12	5.71 ± 0.13	6.18 ± 0.04	1.45 ± 0.07	1.55 ± 0.04
3	4.86 ± 0.17	0.29 ± 0.01	5.15 ± 0.17	5.88 ± 0.06	1.68 ± 0.10	1.78 ± 0.06
4	0.91 ± 0.03	0.96 ± 0.03	1.87 ± 0.05	1.98 ± 0.01	1.98 ± 0.01	2.06 ± 0.02
5	8.42 ± 0.29	0.31 ± 0.02	8.73 ± 0.29	9.45 ± 0.20	0.30 ± 0.06	0.33 ± 0.03
6	6.65 ± 0.26	0.32 ± 0.01	6.97 ± 0.26	7.29 ± 0.14	0.92 ± 0.03	0.97 ± 0.02
7	1.12 ± 0.02	0.83 ± 0.01	1.95 ± 0.02	2.39 ± 0.02	1.30 ± 0.05	1.24 ± 0.02
8	2.12 ± 0.04	2.30 ± 0.01	4.42 ± 0.04	5.09 ± 0.03	1.71 ± 0.04	1.75 ± 0.02
9	2.18 ± 0.04	1.97 ± 0.01	4.15 ± 0.04	4.85 ± 0.06	0.48 ± 0.09	0.55 ± 0.01
10	4.38 ± 0.12	0.33 ± 0.03	4.71 ± 0.13	4.93 ± 0.09	0.84 ± 0.02	0.87 ± 0.02

*Hiru neurketaren batezbestekoa ± desbideratze estandarra

^1H NMR bidez lortutako emaitzak, gas kromatografiaren bidez lortutakoen aurrean irudikatu ziren, etanolaren kasuan, eta metodo entzimatikoen bidez lortutakoen aurrean, azido laktiko eta azetikoaren kasuan. Datuak, zuzen batera doitu ziren, karratu minimoen metodoaren bidez (**Miller eta Miller, 2010**). Etanolarentzat, 0.9762 Pearson korrelazio koefizientea lortzen da. Honekin batera, % 95eko konfiantza tarte maldarentzat 1.07 ± 0.12 da (bat barne dago) eta, jatorrizko ordenatuarentzat, -0.03 ± 0.63 da (zero barne dago).

Azido laktikoarentzat, Pearson korrelazio koefizientea 0.9958 da; % 95eko konfiantza tarte maldarentzat 1.05 ± 0.08 da eta, jatorrizko ordenatuarentzat, 0.27 ± 0.42 . Azkenik, azido azetikoarentzat lortutako Pearson korrelazio koefizientea 0.9977 da; maldarentzat eta jatorrizko ordenatuarentzat % 95eko konfiantza tarte, 1.01 ± 0.06 eta 0.03 ± 0.08 dira, hurrenez hurren. Emaitza hauen arabera, ^1H NMR metodoa baliagarria da etanol, azido laktiko eta azido azetiko sagardoetan determinatzeko.

Hartzitzen ari ziren 1-8 muztioetan, etanola kuantifikatzeaz gain, azido maliko, laktiko eta azetiko ere ^1H NMR-ren bitartez kuantifikatu ziren. Azido malikoa determinatzeko, espeketroan 2.88 ppm-tan agertzen den multiplete seinalea erabili zen, aurretik proposatutako beste metodo baten arabera (**del Campo et al., 2006**). Lau konposatu hauen bilakaera **6.2 irudian** ikus daiteke.



6.2 irudia. Etanol, azido maliko, laktiko eta azetikoaren bilakaera sagar muztio baten hartiduran zehar, ^1H NMR teknikarekin jarraituta.

Azidoen kontzentrazioak mmol/L unitateetan eman dira eta ez g/L unitateetan, aurreko ataletan bezala, era honetan hobeto ikusten delako azido laktikoaren agerpena malikoaren desagerpenarekin bat datorrela, gutxi gorabehera.

Irudi honen bidez baieztatzen da kapitulu honen helburua bete egin dela, izan ere, ¹H NMR teknikarekin bidez, muztio baten bi fermentazio nagusiak jarraitu dira. Fermentazio alkoholikoa etanolaren agerpenarekin jarraitu da, eta fermentazio malolaktikoarena azido malikoaren desagertzearekin, edo azido laktikoaren agerpenarekin ere. Era berean, azido azetikoaren bilakaera ere jarraitu da.

Hemen proposatutako metodoa erabilgarria gerta dakioke NMR zerbitzua gertu duen edozein sagardogileri. Zentzu honetan, Euskal Herrian sagardoa ekoizten dutenen artean, ia guztiek dute halako zerbitzua nahiko hurbil. Zortzi minututan posible da, ikusi den bezala, muztio baten bi hartidura nagusien egoera aztertzea. Jakina, NMR zerbitzua gertu egon ezean, aipatutako abantaila desagertzen da.

Etanolari dagokionez, egia da, ordea, zortzi minutuko denbora luzea izan daitekeela beste zenbait metodoekin konparatuta. Adibidez, infragorria erabiltzen duen metodo batekin (**Lachenmeier et al., 2010**), posible da etanola bi minutu baino gutxiagotan determinatzea. Hala eta guztiz ere, proposatutako prozedura metodo ofiziala (**Official Journal of the European Union, 2000**) baino azkarragoa eta sinpleagoa da, eta ¹H NMR erabiltzen duten beste zenbait metodo baino sinpleagoa (**Anders et al., 1976; Guillou eta Tellier, 1988; Guiñon eta Belanche, 1989; Tellier et al., 1989**), behintzat gure iritziz.

Honekin batera, esan den bezala, etanola ez ezik azido **malikoa**, **laktikoa** eta **azetikoa** ere determinatu daitezke analisi bakoitzean. Azken bi analitoei dagokienez, gure prozedura metodo entzimatiakoa baino ekonomikoagoa da, errektibo entzimatiakoa normalean garestiak direlako. Haatik, esan beharra dago, metodo entzimatiakoekin posible dela azido laktikoaren bi isomeroak bereiztea, eta guk proposatutako metodoarekin ezinezkoa dela. Kasu gehienetan, bi isomeroak ezin desberdintzea ez da arazo larria, izan ere, normalean azido laktiko totala begiratzen baita. Alabaina, azido D-laktikoa determinatzeko interes berezia egonez gero, esate baterako, sagardoarekin arazoren bat egon delako susmoa dagoelako, orduan argi dago gure metodoak desabantaila bat duela.

6.4 Ondorioak

Kapitulu honetan azaldu da **etanola**, **azido laktiko** eta **azido azetikoa** ¹H NMR **espektroskopiaren** bitartez determinatzeko metodoa. Analisiak, **sagar muztio** eta **sagardoetan** burutu dira, eta ikusi da, analisi bakar batean hirurak determinatu daitezkeela. Beraz, teknika honek ahalbidetzen du sagar muztioetan gertatzen diren bi hartidura nagusiak jarraitzea, alegia, **hartidura alkoholikoa** eta **hartidura malolaktikoa**. Honekin batera, azidotasun lurrinkorraren bilakaera ere jarraitu ahal izango da analisi berberarekin. Atal honek, gainera, bi argitalpeneko bidea eman du (**Zuriarrain et al., 2015b; Zuriarrain et al., 2015a**).

6.5 Erreferenziak

Anders, U., Tittgemeier, F., Hailer, G. (1976). ^1H -NMR Bestimmung von Äthanol in Wein, weinähnlichen Getränken und Spirituosen. Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und –Forschung 162, 21-24.

del Campo, G., Berregi, I., Caracena, R., Santos, J. I. (2006). Quantitative analysis of malic and citric acid in fruit juices using proton nuclear magnetic resonance spectroscopy. Analytica Chimica Acta 556, 462-468.

del Campo, G., Berregi, I., Caracena, R., Zuriarrain, J. (2010). Quantitative determination of caffeine, formic acid, trigonelline and 5-(hydroxymethyl)furfural in soluble coffees by ^1H NMR spectrometry. Talanta 81, 367-371.

Guillou, M., Tellier, C. (1988). Determination of ethanol in alcoholic beverages by low-resolution pulsed nuclear magnetic resonance. Analytical Chemistry 60, 2182-2185.

Guiñon, J. L., Belanche, M. (1989). Application de la résonance magnétique nucléaire du proton au dosage de lethanol dans les boissons alcoolisées. Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin 23, 215-221.

Lachenmeier, D. W., Godelmann, R., Steiner, M., Ansay, B., Weigel, J., Krieg, G. (2010). Rapid and mobile determination of alcoholic strength in wine, beer and spirits using a flow-through infrared sensor. Chemistry Central Journal 4:5.

Miller, J. N., Miller, J. C. (2010). Statistics and chemometrics for analytical chemistry (6th ed.). Pearson Education, London (UK). Chapter 5: Calibration methods in instrumental analysis: regression and correlation, 110-153.

Nord, L. I., Vaag, P., Duus, J. Ø. (2004). Quantification of organic and amino acids in beer by ^1H NMR spectroscopy. Analytical Chemistry 76, 4790-4798.

Official Journal of the European Communities. (2000). Commission regulation (EC) No 2870/2000 of 19 December 2000 laying down community reference methods for the analysis of spirits drinks (Vol. L333), 20-46.

Tellier, C., Guillou-Charpin, M., Grenier, P., Le Botlan, D. (1989). Monitoring alcoholic fermentation by low-resolution pulsed nuclear magnetic resonance. Journal of Agricultural and Food Chemistry 37, 988-991.

7. Kapitulua

Ondorio orokorrak

Atal honetan, egindako lan osoaren ondorio nagusiak adieraziko dira, modu laburrean.

HIRUGARREN KAPITULUA

1. Hamabost sagardo monobarietal ekoiztu dira hurrengo sagar motak erabilia: Aritza, Errezila, Frantzes Sagarra, Gezamina, Goikoetxea, Nabarte Gorria, Manttoni, Merabi, Moko, Mozoloa, Txalaka, Udare Marroi, Urdin, Urtebi Haundi eta Urtebi Txiki. Hona hemen emaitza aipagarrienak:

- **Urtebi Txiki** eta **Manttoni** sagardo argiak, borobilak eta orekatuak dira, bai gorputzaren, bai azidotasunaren aldetik, eta onarpen handia lortu dute.
- **Urdin** sagardoa iluna, mikatza eta gorputz nabarmenekoa da. Aurrekoak bezain borobila ez bada ere, onarpen ona lortu du.
- **Gezamina** sagardoa iluna da, gorputz handikoa, mikatza eta astringentea. Itxuraz, garardoa ematen du. Sagardo bereziena izan da eta iritzi kontrajarriak sortu ditu.
- **Moko, Merabi** eta **Nabarte Gorria** muturreko sagardoak dira, bereziki gaziak eta mikatzak. Beraz, aproposak dira beste sagardoek dituzten azido edo polifenol gabeziak zuzentzeko. Moko eta Merabik kolore iluna dute eta Nabarte Gorriak, argia.
- **Mozoloa** sagardoak Brett izaera sendoa garatu du ekoiztu den bi kanpainetan, beraz, ezin dugu honi buruz ezaugarririk eman.
- Gainontzeko sagardoetan izaera azidoa gailendu da, Goikoetxean izan ezik, non mikaztasuna nabarmendu den. Txalaka da, bestalde, lortutako sagardorik argiena.

LAUGARREN KAPITULUA

2. **Fraisoroko dastatze-taldeak** gure 15 sagardo monobarietalen analisi organoleptikoa egin du, baita sagardo hauekin egindako nahaste kontrolatu batzuen ere. Emaitza garrantzitsuenak hauek dira:

- Sagardo monobarietalen artean, nota altuena lortu dutenak Manttoni, Urdin eta Urtebi Txiki dira.
- Nahasteen artean, eta beti **erantzun gainazalen** arabera, nota altuena hurrengoentzat izan da:
 - Goikoetxea % 40 gehi Moko % 60
 - Nabarte Gorria % 36 gehi Urtebi Txiki % 64
 - Manttoni % 62 gehi Udare Marroi % 38
 - Frantzes Sagarra % 33 gehi Manttoni % 67

BOSGARREN KAPITULUA

3. Lortutako sagardo monobarietalen **indar antioxidatzailea** ardo beltzen eta kafearen parean dago, eta hurrengo edariena baino handiagoa da: ardo zuriak, ardo gorriak, garagardoa, cognac-a, armagnac-a, ron-a, tea, laranja zukua, oliba olio eta ekilore olio.
4. **Indar antioxidatzailean** eragin positibo handiena duten polifenolak azido klorogeniko, azido 4-*p*-kumaroilkiniko eta (-)-epikatekina dira.
5. **Proteinekin hauspeatzeko gaitasunean** eragin positibo handiena duten polifenolak honako hauek dira: azido 4-*p*-kumaroilkinikoa, azido klorogenikoa, azido kafeikoa eta abikularina. Bestalde, eragin negatibo adierazgarria dutenak azido protokatekuikoa eta (+)-katekina dira.
6. **Iluntzean**, azido 4-*p*-kumaroilkinikoa da eragin positibo gehien duena; floretin 2'-*O*-xiloglukosidoak ere badu eragin adierazgarria, baina nabarmenki txikiagoa aurrekoarekin konparatuta. Kontribuzio negatibo adierazgarria kertzitrinak eta (+)-katekinak dute.
7. Konglomeratu analisiak bi multzo hauek eman ditu indar antioxidatzailearen parametroekin (FRAP, ABTS eta Folin-Ciocalteu indizea) eta proteinekin hauspeatzeko gaitasunarekin (PPC):
 - **Parametroen balore altuak:** Aritza, Gezamina, Merabi, Moko eta Narbarte Gorria.
 - **Parametroen balore baxuak:** Frantzes Sagarra, Goikoetxea, Manttoni, Txalaka, Udare Marroi, Urdin, Urtebi Haundi eta Urtebi Txiki.

SEIGARREN KAPITULUA

8. **Etanola**, **azido laktikoa** eta **azido azetikoa** determinatzeko metodo bat deskribatu da, ¹H NMR **espektroskopia** erabiltzen duena. Metodoa baliagarria da **sagar muztio** zein **sagardoetan**, eta honek ahalbidetzen du teknika honekin jarraitzea, aldi berean, sagar muztioen **hartzidura alkoholikoa**, **hartzidura malolaktikoa** eta **azidotasun lurrinkorraren** bilakaera.

Ezagutzaren transferentzia

Hurrengo hauek dira orain arte lan honen inguruan argitaratu diren artikuluzientifikoak, ekarpenak kongresuetara eta gure lanaren inguruan egindako dibulgazio ekitaldiak.

ARGITALPENAK

Zuriarrain, A., Zuriarrain, J., Puertas, A. I., Dueñas, M. T., Ostra, M., Berregi, I. (2015). Polyphenolic profile in cider and antioxidant power. *Journal of the science of food and agriculture* 95, 2931-2943 (tesiaren aurreko lana).

Zuriarrain, A., Zuriarrain, J., Puertas, A. I., Villar, M., Berregi, I. (2015). Quantitative determination of ethanol in cider by ^1H NMR spectrometry. *Food Control* 50, 758-762.

Zuriarrain, A., Zuriarrain, J., Puertas, A. I., Dueñas, M. T., Berregi, I. (2015). Quantitative determination of lactic and acetic acids in cider by ^1H NMR spectrometry. *Food Control* 52, 49-53.

Zuriarrain-Ocio, A., Zuriarrain, J., Vidal, M., Llamas, G., Dueñas, M. T., Berregi, I. Antioxidant activity of cider and polyphenolic composition. (*Food Chemistry* aldizkarira bidalita).

EKARPENAK KONGRESUETARA

Zuriarrain, A., Zuriarrain, J., Berregi, I. Determinación de etanol en sidras comerciales por resonancia magnética nuclear de protón (^1H RMN). Poster komunikazioa. XVIII Reunión de la Sociedad Española de Química Analítica, Úbeda (Jaén) 2013.

Puertas, A. I., Ibarburu, I., Llamas, G., Zuriarrain, A., López, P., Spano, G., Munduate, A., Berregi, I., Dueñas, M. T. Estudio de la variación del perfil polifenólico por bacterias lácticas en mostos de manzana. Komunikazioa. 8ª Reunión de la red temática BAL (bacterias lácticas), San Adrián (Nafarroa) 2014.

Zuriarrain, A., Berregi, I., Zuriarrain, J., Agirre, U. Sidras monovarietales. Elaboración y estudio. Poster komunikazioa. Zabalduz Eguna, Bilbao, 2014.

Zuriarrain, A., Berregi, I., Zuriarrain, J., Agirre, U. Sidras monovarietales. Elaboración y estudio. II. Poster komunikazioa. Zabalduz Eguna, Leioa (Bizkaia) 2015.

Zuriarrain, A., Zuriarrain, J., Berregi, I., Puertas, A. I., Dueñas, M. Quantitative determination of lactic and acetic acid in cider by ^1H NMR spectrometry. Poster komunikazioa. XX Reunión de la Sociedad Española de Química Analítica, Santiago de Compostela, 2015.

Zuriarrain, A., Zuriarrain, J., Berregi, I., Ostra, M., Puertas, A. I., Dueñas, M. Polyphenolic profile in cider and antioxidant power. Poster komunikazioa. XX Reunión de la Sociedad Española de Química Analítica, Santiago de Compostela, 2015.

LANAREN DIBULGAZIOA

“*Sidras monovarietales*”. Aurkezpena Donostiako 2013ko Sagardo Egunean. Aipamenak *Noticias de Gipuzkoa* eta *Diario Vasco* egunkarietan, eta Euskal Telebistako Teleberri eta Gaur Egun informatiboetan (2013/09/07).

“*Sagar mota bakarra, sagardoak hamaika*”. Artikulua Gipuzkoako Hitza aldizkarian, 144. zenbakian (2013/12/06).

Elkarrizketa 2012ko kanpainan lortutako sagardo monobarietalen inguruan. Hamaika Telebista (2014/02/24).

“*Contribución de la variedad de manzana y los polifenoles a las propiedades de la sidra natural del País Vasco: sidras de la campaña 2012-13*”. **Hitzaldia** Fraisoroko Ingurumen eta Nekazal Laborategian emana, Zizurkil, Gipuzkoa (2014/04/17). Honi buruzko artikuluak *Noticias de Gipuzkoa*, *Diario Vasco* eta *Gara* egunkarietan.

“*Sidras monovarietales*”. Aurkezpena Donostiako 2015eko Sagardo Egunean. Aipamena *Diario Vasco* egunkarian (2015/09/05).

“**Sagardoa bidegile/Cider Stories**”. Dokumentala Donostiako 2015eko Zinemaldian aurkeztua, Culinary Cinema atalaren barruan. Gure Ikerkuntza Taldeak parte hartzen du sagardoari buruzko ikerkuntza aipatzen den atalean. Bertako komunikabide askotan aipatu dute, Euskal Telebistan barru. Azken honetan, dokumentala osorik emititu zuten 2017ko urtarrilaren 16an.

“*Polifenolak eta Sagardoa*”. Artikuluak *Noticias de Gipuzkoa* eta *Diario Vasco* egunkarietan, eta Euskal Herriko Unibertsitateko Campusa aldizkarian (2015eko abendua).

Akronimoak eta laburdurak

^1H NMR:	<i>Proton Nuclear Magnetic Resonance</i> ; Protoi erresonantzia magnetiko nuklearra
3-HPA:	<i>3-Hydroxypropionaldehyde</i> ; 3-Hidroxipropionaldehidoa
ABTS:	<i>2,2'-Azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid)</i> ; 2,2'-azino-bis-(azido 3-etilbenzotiazolin-6-sulfonikoa)
ADP:	<i>Adenosine Diphosphate</i> ; Adenosin difosfatoa
ANOVA :	<i>Analysis of Variance</i> ; Bariantza analisisa
ATP:	<i>Adenosine Triphosphate</i> ; Adenosin trifosfatoa
BOE:	<i>Boletín Oficial del Estado</i> ; Estatuko aldizkari ofiziala
BSA:	<i>Bovine Serum Albumin</i> ; Behi-serum albumina
CLS:	<i>Classical Least Squares (regression)</i> ; Karratu minimoen kalibraketa klasikoa
CW:	<i>Continuous Wave</i> ; Uhin zuzena
DAD:	<i>Diode-Array Detector</i> ; Diodo lerrokatuko detektagailua
DSS:	<i>2,2-Dimethyl-2-silapentane-5-sulfonate sodium salt</i> ; Sodio 2,2-dimetil-2-silapentano-5-sulfonatoa
ENAC:	<i>Entidad Nacional de Acreditación</i> ; Akreditazioko erakunde nazionala
FC:	<i>Folin-Ciocalteu index</i> ; Folin-Ciocalteu indizea
Fe^{III} -TPTZ:	<i>Tripyridyltriazine Ferric Complex</i> ; Tripiridiltriazina konplexu ferrikoa
FID(1):	<i>Flame Ionization Detector</i> ; Gar ionizazioko detektorea
FID(2):	<i>Free Induction Decay</i> ; Indukzioaren erorketa askea
FRAP:	<i>Ferric ion Reducing Antioxidant Power</i> ; loi ferrikoa erreduzitzeko indar antioxidatzailea
GC:	<i>Gas Chromatography</i> ; Gas kromatografia
HPLC:	<i>High Performance Liquid Chromatography</i> ; Bereizmen handiko likido kromatografia
I_p :	<i>Ionization Potential</i> ; Ionizazio-potentziala
LOD:	<i>Limit of Detection</i> ; Detekzio muga
LV:	<i>Latent Variable</i> ; Aldagai latentea
NADH/NAD ⁺ :	<i>Nicotinamide Adenine Dinucleotide</i> ; Nikotinamida adenina dinukleotidoa
NADPH/NADP ⁺ :	<i>Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate</i> ; Nikotinamida adenina dinukleotido fosfatoa
NIPALS:	<i>Nonlinear Iterative Partial Least Squares</i> ; Karratu minimo partzial iteratiboen bidezko estimazio ez-lineala
NMR:	<i>Nuclear Magnetic Resonance</i> ; Erresonantzia magnetiko nuklearra
NTU:	<i>Nephelometric Turbidity Unit</i> ; Uhartasun unitate nefelometrikoak
OIV:	<i>Organización Internacional de la Viña y el Vino</i> ; Ardoaren eta mahastiaren nazioarteko erakunde
PC:	<i>Principal Components</i> ; Osagai nagusiak
PCA:	<i>Principal Component Analysis</i> ; Osagai nagusien analisisa
PCR:	<i>Principal Component Regression</i> ; Osagai nagusien kalibraketa
PLS:	<i>Partial Least Squares</i> ; Karratu minimo partzialak
PLS-R:	<i>Partial Least Squares Regression</i> ; Karratu minimo partzialen erregresioa
PPC:	<i>Protein-Precipitating Capacity</i> ; Proteinekin hauspeatzeko gaitasuna
RE:	<i>Relative Error</i> ; Errore erlatiboa
RE _C :	<i>Relative Error of Calibration</i> ; Kalibraketako errore erlatiboa
RE _{CV} :	<i>Relative Error of Cross Validation</i> ; Balidazio gurutzatuaren errore erlatiboa
RE _p :	<i>Relative Error of Prediction</i> ; Iragarpeneko errore erlatiboa
RMSE:	<i>Root Mean Square Error</i> ; Batez besteko errore karratuaren erroa

RMSE _c :	<i>Root Mean Square Error of Calibration</i> ; Kalibraketako batez besteko errore karratuaren erroa
RMSE _{CV} :	<i>Root Mean Square Error of Cross-Validation</i> ; Balidazio gurutzatuko batez besteko errore karratuaren erroa
RMSE _p :	<i>Root Mean Square Error of Prediction</i> ; Iragarpeneko batez besteko errore karratuaren erroa
SDS:	<i>Sodium Dodecyl Sulfate</i> ; Sodio dodezilsulfatoa
TEA:	<i>Triethanolamine</i> ; Trietanolamina
TMS:	<i>Tetramethylsilane</i> ; Tetrametilsilanoa
TPTZ:	<i>2,4,6-Tripyridyl-s-triazine</i> ; 2,4,6-tripiridil-s-triazina
Trolox:	<i>6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid</i> ; Azido 6-hidroxi-2, 5, 7, 8-tetrametilkroman-2-karboxilikoa
TSP:	<i>3-(Trimethylsilyl)-2,2,3,3-d₄-propionic acid sodium salt</i> ; azido 3-(trimetilsilil)-2,2,3,3-d ₄ propionikoaren sodio gatza

Eranskina

FICHA DE CATA DE SAGARDOA



Nº Muestra:

Fecha
Número de catador

	EXCELENTE	MUY BUENO	BUENO	CORRECTO	INSUFICIENTE	Observaciones
FASE VISUAL						
COLOR	5	4	3	2	1	
ASPECTO	10	8	6	4	2	
FASE OLFATIVA						
INTENSIDAD	8	7	6	4	2	
FRANQUEZA	6	5	4	3	2	
CALIDAD	16	14	12	10	8	
FASE EN BOCA						
INTENSIDAD	8	7	6	4	2	
FRANQUEZA	6	5	4	3	2	
CALIDAD	22	19	16	13	10	
ARMONIA						
PERSISTENCIA	8	7	6	5	4	
ARMONÍA	11	10	9	8	7	
PUNTUACIÓN TOTAL	Firma del catador					

Dastatze-taldearen emaitzak. 2012ko kanpaina

<i>Lagina</i>	<i>Puntuazio totala</i>
Gezamina	46
Goikotxea	45
Moko	51
Txalaka	44
Urtebi Haundi	47
Urtebi Txiki	56
Gezamina - Goikoetxea	47
Gezamina - Moko	49
Gezamina - Urtebi Haundi	54
Gezamina - Urtebi Txiki	55
Goikoetxea - Moko	53
Goikoetxea - Txalaka	48
Goikoetxea - Urtebi Txiki	56
Moko - Txalaka	45
Moko - Urtebi Haundi	50
Txalaka - Urtebi Haundi	49
Txalaka - Urtebi Txiki	48
Urtebi Haundi - Urtebi Txiki	46
Gezamina - Goikoetxea - Moko	53 / 53 / 52
Gezamina - Urtebi Haundi - Urtebi Txiki	57 / 51 / 53
Goikoetxea - Txalaka - Urtebi Txiki	57 / 54 / 56
Moko - Txalaka - Urtebi Haundi	44 / 47 / 53
Txalaka - Urtebi Haundi - Urtebi Txiki	52 / 49 / 42

Dastatze-taldearen emaitzak. 2013ko kanpaina

<i>Lagina</i>	<i>Puntuazio totala</i>
Merabi	45 / 48
Narbate Gorria	46 / 41
Urdin	52 / 56
Urtebi Txiki	50 / 55
Merabi - Urdin	48
Merabi - Urtebi Txiki	53
Narbate Gorria - Urdin	49
Narbate Gorria - Urtebi Txiki	56
Urdin - Urtebi Txiki	54
Merabi - Urdin - Urtebi Txiki	52 / 47
Narbate Gorria - Urdin - Urtebi Txiki	44 / 51

Dastatze-taldearen emaitzak. 2014ko kanpaina

<i>Lagina</i>	<i>Puntuazio totala</i>
Aritza	47 / 50
Errezila	56 / 48
Frantzes Sagarra	47 / 50
Manttoni	60 / 60
Udare marroi	51 / 51
Aritza - Errezila	56
Aritza - Manttoni	54
Aritza - Udare Marroi	51
Errezila - Frantzes Sagarra	57
Errezila - Manttoni	57
Frantzes Sagarra - Manttoni	63
Manttoni - Udare Marroi	64
Aritza - Errezila - Manttoni	56 / 62
Aritza - Manttoni - Udare marroi	59 / 59
Errezila - Frantzes Sagarra - Manttoni	57 / 59

GEZAMINA-2012. Polifenolak (mg/L) eta PLS modeloetan erabilitako parametro fisikokimikoak

Parametroa/konposatua	Hartidura egunak eta data				
	0	12	20	75	174
	2012/09/28	2012/10/10	2012/10/18	2012/12/12	2013/03/21
Azido hidroxiznamikoak^a					
Azido hidrokafeikoa	ND	ND	ND	ND	ND
Azido kafeikoa	ND	21 ± 1	41 ± 1	47 ± 1	56 ± 1
Azido klorogenikoa	461 ± 18	651 ± 3	647 ± 2	621 ± 1	614 ± 4
Azido <i>p</i> -kumarikoa	ND	ND	1.1 ± 0.1	1.2 ± 0.1	0.6 ± 0.2
Azido 4- <i>p</i> -kumaroilkinikoa	152 ± 3	240 ± 2	234 ± 1	229 ± 2	226 ± 1
Azido <i>trans</i> -ferulikoa	4.7 ± 0.6	5.9 ± 1.0	5.3 ± 0.1	4.4 ± 0.2	4.3 ± 0.1
Flaban-3-olak^a					
(-)-epikatekina	ND	42.8 ± 1.0	81.9 ± 0.8	83.6 ± 0.8	98.5 ± 0.6
(+)-katekina	ND	5.3 ± 0.6	19.3 ± 0.3	20.7 ± 0.4	26.5 ± 0.7
Prozianidina B1	ND	12.5 ± 0.1	20.9 ± 0.8	25.7 ± 0.3	33.5 ± 0.6
Prozianidina B2	ND	ND	12.2 ± 0.1	16.1 ± 0.3	12.3 ± 0.1
Prozianidina B5	ND	ND	ND	ND	ND
Dihidroalkonak^a					
Floretin 2'- <i>O</i> -xiloglukosidoa	15.3 ± 0.7	73.0 ± 0.1	77.4 ± 0.1	69.2 ± 0.9	79.6 ± 0.3
Floridzina	ND	9.3 ± 0.2	17.8 ± 0.8	18.2 ± 0.7	26.4 ± 0.1
Flabonolak^a					
Abikularina	ND	ND	ND	0.47 ± 0.02	1.17 ± 0.03
Hiperina (hiperosidoa)	ND	ND	ND	0.15 ± 0.04	0.15 ± 0.01
Isokertzitrina	ND	ND	0.24 ± 0.04	0.35 ± 0.01	0.60 ± 0.06
Kertzitrina	ND	ND	0.9 ± 0.1	1.3 ± 0.2	2.3 ± 0.1
Azido bentzoikoak^a					
Azido galikoa	ND	4.98 ± 0.03	5.85 ± 0.01	6.60 ± 0.04	6.81 ± 0.01
Azido <i>p</i> -hidroxibentzoikoa	ND	ND	ND	ND	ND
Azido protokatekuikoa	ND	2.45 ± 0.09	2.43 ± 0.10	2.53 ± 0.01	2.50 ± 0.02
Besteak^a					
Katekola	ND	ND	ND	ND	0.74 ± 0.02
Tirosola	ND	16.1 ± 0.3	19.9 ± 0.6	20.6 ± 0.3	20.8 ± 0.2
Parametro fisikokimikoak^b					
FRAP, Trolox mmol/L	9.2 ± 0.2	9.5 ± 0.3	9.6 ± 0.4	8.9 ± 0.4	9.9 ± 0.2
ABTS, Trolox mmol/L	19.1 ± 0.1	19.8 ± 0.9	18.4 ± 1.0	18.1 ± 0.8	17.0 ± 1.0
FC, azido taniko g/L	3.1 ± 0.1	2.7 ± 0.1	3.0 ± 0.1	3.3 ± 0.1	3.2 ± 0.1
FC, azido galiko g/L	2.4 ± 0.1	2.3 ± 0.1	2.4 ± 0.4	2.1 ± 0.3	2.4 ± 0.2
PPC, A _{510 nm}	1.17 ± 0.02	1.16 ± 0.04	0.94 ± 0.02	0.87 ± 0.01	0.83 ± 0.04
PPC, azido taniko g/L	1.34 ± 0.01	1.34 ± 0.06	1.02 ± 0.03	0.93 ± 0.01	0.89 ± 0.04
Iluntzea, A _{420 nm}	5.135 ± 0.025	4.017 ± 0.010	3.007 ± 0.030	2.017 ± 0.016	1.566 ± 0.016
Uhertasuna, NTU	1864 ± 28	3340 ± 35	1131 ± 23	163 ± 3	99 ± 1
E, mV	290 ± 1	291 ± 9	280 ± 3	278 ± 1	232 ± 3

^aBi neurketaren batez bestekoa ± desbideratze estandarra

^bHiru neurketaren batez bestekoa ± desbideratze estandarra

FRAP: loi ferrikoa erreduzitzeko indar antioxidatzailea

ABTS: 2,2'-Azino-bis-(azido 3 etilbenzotiazolin-6-sulfonikoa)

FC: Folin-Ciocalteu indizea

PPC: Proteinekin hauspeatzeko gaitasuna

A: Absorbantzia

E: Erredox potentziala

ND: Detektatu gabea (not detected)

GEZAMINA-2012. Interes enologikoa duten parametro fisikokimikoak eta konposatuak

Parametroa/konposatua	Hartzidura egunak eta data				
	0	12	20	75	174
	2012/09/28	2012/10/10	2012/10/18	2012/12/12	2013/03/21
Parametro fisikokimikoak^a					
A _{280 nm}	71.1 ± 0.1	68.9 ± 0.2	65.9 ± 0.3	60.8 ± 0.7	66.1 ± 0.3
A _{320 nm}	70.5 ± 0.9	68.9 ± 1.0	67.0 ± 0.2	62.5 ± 0.1	67.0 ± 0.7
Azidotasan totala, H ⁺ mmol/L	30.1 ± 0.5	38.7 ± 0.3	28.6 ± 0.1	31.2 ± 0.1	33.7 ± 0.1
Brix graduak	13.9 ± 0.1	8.3 ± 0.1	5.5 ± 0.1	4.9 ± 0.1	4.5 ± 0.1
Dentsitatea, g/L	1054.5 ± 0.1	1020.0 ± 0.1	998.8 ± 0.1	996.5 ± 0.1	995.9 ± 0.1
pH	3.88 ± 0.02	3.89 ± 0.04	3.86 ± 0.06	3.91 ± 0.02	4.02 ± 0.10
Azido organikoak^a					
Azido azetikoak, g/L	0.13 ± 0.08	0.35 ± 0.09	0.28 ± 0.07	0.32 ± 0.08	0.57 ± 0.05
Azido L-(+)-laktikoa, g/L	1.62 ± 0.02	1.73 ± 0.02	1.81 ± 0.03	2.01 ± 0.02	2.02 ± 0.02
Azido L-(-)-malikoa, g/L	0.09 ± 0.01	0.19 ± 0.02	0.18 ± 0.02	0.04 ± 0.01	0.13 ± 0.02
Azukreak eta glizerola^a					
Fruktosa, g/L	77 ± 5	29.08 ± 0.06	0.33 ± 0.01	0.57 ± 0.04	0.24 ± 0.05
Glukosa, g/L	25.8 ± 0.8	2.47 ± 0.06	0.17 ± 0.01	0.35 ± 0.03	0.12 ± 0.03
Sakarosa, g/L	25.2 ± 0.5	18.2 ± 0.8	12.98 ± 0.07	3.16 ± 0.02	0.52 ± 0.01
Azukre totala, g/L	128 ± 5	49.7 ± 0.8	13.48 ± 0.07	4.07 ± 0.03	0.89 ± 0.05
Glizerola, g/L	ND	2.0 ± 0.5	2.9 ± 0.5	2.7 ± 0.3	3.0 ± 0.1
Konposatu lurrinkorrak^b					
Akroleina, mg/L	ND	ND	ND	ND	ND
Azetaldehidoa, mg/L	ND	24 ± 2	15 ± 1	ND	ND
Etanola, % v/v	ND	4.3 ± 0.3	6.9 ± 0.1	7.4 ± 0.4	7.5 ± 0.3
Etil azetatoa, mg/L	ND	ND	8 ± 1	21 ± 1	8 ± 1
Metanola, mg/L	ND	ND	12 ± 1	15 ± 3	14 ± 1

^aBi neurketaren batez bestekoa ± desbideratze estandarra

^bHiru neurketaren batez bestekoa ± desbideratze estandarra

A: Absorbantzia

A_{280 nm} : polifenol totalen indizea

A_{320 nm} : azido hidroxizimikoak

ND: Detektatu gabea (not detected)

GOIKOETXEA-2012. Polifenolak (mg/L) eta PLS modeloetan erabilitako parametro fisikokimikoak

Parametroa/konposatua	Hartidura egunak eta data				
	0	12	20	75	174
	2012/09/28	2012/10/10	2012/10/22	2012/12/10	2013/03/20
Azido hidroxiznamikoak^a					
Azido hidrokafeikoa	ND	ND	ND	ND	59 ± 1
Azido kafeikoa	1.6 ± 0.1	31.6 ± 0.1	48.1 ± 0.2	52.0 ± 0.2	ND
Azido klorogenikoa	58 ± 1	190 ± 1	156 ± 2	132 ± 2	73 ± 1
Azido <i>p</i> -kumarikoa	ND	0.94 ± 0.22	1.2 ± 0.2	6.3 ± 0.3	ND
Azido 4- <i>p</i> -kumaroilkinikoa	20 ± 1	92 ± 1	90 ± 2	87 ± 1	83 ± 1
Azido <i>trans</i> -ferulikoa	ND	2.3 ± 0.2	2.6 ± 0.2	2.3 ± 0.3	1.9 ± 0.1
Flaban-3-olak^a					
(-)-epikatekina	ND	19.8 ± 0.6	32.1 ± 0.2	30.2 ± 0.9	29.0 ± 0.1
(+)-katekina	ND	4.4 ± 0.4	6.4 ± 0.7	9.4 ± 1.0	12.0 ± 0.8
Prozianidina B1	ND	ND	5.0 ± 0.1	8.0 ± 0.3	7.1 ± 0.3
Prozianidina B2	ND	ND	ND	ND	2.8 ± 0.5
Prozianidina B5	ND	ND	ND	ND	ND
Dihidroalkonak^a					
Floretin 2'- <i>O</i> -xiloglukosidoa	ND	140.8 ± 1.2	160.9 ± 8.0	152.6 ± 1.5	146.9 ± 1.0
Floridzina	ND	16.1 ± 1.6	38.4 ± 1.2	41.9 ± 0.7	40.2 ± 1.2
Flabonolak^a					
Abikularina	ND	ND	ND	ND	ND
Hiperina (hiperosidoa)	ND	ND	ND	ND	0.21 ± 0.02
Isokertzitrina	ND	ND	ND	ND	ND
Kertzitrina	ND	0.4 ± 0.1	1.0 ± 0.0	1.9 ± 0.0	2.1 ± 0.0
Azido bentzoikoak^a					
Azido galikoa	ND	3.72 ± 0.05	4.34 ± 0.10	4.43 ± 0.05	4.72 ± 0.05
Azido <i>p</i> -hidroxibentzoikoa	ND	ND	ND	ND	ND
Azido protokatekuikoa	ND	2.20 ± 0.02	2.24 ± 0.02	2.32 ± 0.02	1.23 ± 0.01
Besteak^a					
Katekola	ND	ND	ND	ND	1.25 ± 0.01
Tirosola	ND	14.7 ± 0.1	17.0 ± 0.3	17.3 ± 0.2	17.5 ± 0.2
Parametro fisikokimikoak^b					
FRAP, Trolox mmol/L	4.7 ± 0.3	4.5 ± 0.1	4.2 ± 0.1	3.6 ± 0.1	4.1 ± 0.1
ABTS, Trolox mmol/L	11.6 ± 0.8	10.5 ± 1.0	10.6 ± 1.1	9.3 ± 0.9	10.9 ± 0.7
FC, azido taniko g/L	1.7 ± 0.1	1.4 ± 0.2	1.5 ± 0.1	1.4 ± 0.1	1.5 ± 0.3
FC, azido galiko g/L	1.6 ± 0.2	1.2 ± 0.1	1.2 ± 0.3	0.8 ± 0.1	0.9 ± 0.1
PPC, A _{510 nm}	0.63 ± 0.01	0.63 ± 0.01	0.50 ± 0.01	0.43 ± 0.01	0.42 ± 0.02
PPC, azido taniko g/L	0.67 ± 0.01	0.67 ± 0.01	0.56 ± 0.02	0.50 ± 0.02	0.50 ± 0.03
Iluntzea, A _{420 nm}	3.586 ± 0.028	2.666 ± 0.026	2.470 ± 0.021	1.363 ± 0.023	1.029 ± 0.020
Uhertasuna, NTU	683 ± 10	1440 ± 21	995 ± 14	53.75 ± 0	19 ± 0
E, mV	337 ± 4	306 ± 1	321 ± 4	307 ± 2	214 ± 3

^aBi neurketaren batez bestekoa ± desbideratze estandarra

^bHiru neurketaren batez bestekoa ± desbideratze estandarra

FRAP: loi ferrikoa erreduzitzeko indar antioxidatzailea

ABTS: 2,2'-Azino-bis-(azido 3 etilbenzotiazolin-6-sulfonikoa)

FC: Folin-Ciocalteu indizea

PPC: Proteinekin hauspeatzeko gaitasuna

A: Absorbantzia

E: Erredox potentziala

ND: Detektatu gabea (not detected)

GOIKOETXEA-2012. Interes enologikoa duten parametro fisikokimikoak eta konposatuak

Parametroa/konposatua	Hartzidura egunak eta data				
	0	12	24	73	173
	2012/09/28	2012/10/10	2012/10/22	2012/12/10	2013/03/20
Parametro fisikokimikoak^a					
A _{280 nm}	36.8 ± 0.9	35.1 ± 0.1	31.2 ± 1.0	32.7 ± 0.8	28.5 ± 0.7
A _{320 nm}	29.9 ± 0.2	28.4 ± 0.8	25.9 ± 0.2	26.4 ± 0.3	18.6 ± 0.9
Azidotasan totala, H ⁺ mmol/L	99.8 ± 0.1	60.4 ± 1.0	56.6 ± 0.6	55.9 ± 0.1	56.8 ± 0.1
Brix graduak	13.0 ± 0.1	8.5 ± 0.1	5.2 ± 0.1	4.5 ± 0.1	4.2 ± 0.1
Dentsitatea, g/L	1051.9 ± 0.1	1023.3 ± 0.1	1002.1 ± 0.1	997.5 ± 0.1	996.7 ± 0.1
pH	3.47 ± 0.01	3.87 ± 0.01	3.87 ± 0.06	3.90 ± 0.02	3.94 ± 0.02
Azido organikoak^a					
Azido azetikoak, g/L	0.26 ± 0.04	0.50 ± 0.04	0.30 ± 0.01	0.39 ± 0.04	0.57 ± 0.01
Azido L-(+)-laktikoa, g/L	2.66 ± 0.02	5.69 ± 0.01	5.62 ± 0.01	5.01 ± 0.01	3.21 ± 0.05
Azido L-(-)-malikoa, g/L	3.83 ± 0.02	0.15 ± 0.01	0.21 ± 0.01	0.18 ± 0.01	0.06 ± 0.03
Azukreak eta glizerola^a					
Fruktosa, g/L	81 ± 1	39 ± 1	4.2 ± 0.1	1.23 ± 0.06	0.11 ± 0.03
Glukosa, g/L	21 ± 1	3.98 ± 0.01	0.33 ± 0.03	0.75 ± 0.02	0.05 ± 0.02
Sakarosa, g/L	17.5 ± 0.6	14.4 ± 1.5	8.37 ± 0.46	0.80 ± 0.01	ND
Azukre totala, g/L	119 ± 1	57 ± 2	12.9 ± 0.5	2.78 ± 0.06	0.16 ± 0.02
Glizerola, g/L	ND	1.7 ± 0.2	2.7 ± 0.4	2.3 ± 0.1	2.6 ± 0.1
Konposatu lurrinkorrak^b					
Akroleina, mg/L	ND	ND	ND	ND	ND
Azetaldehidoa, mg/L	ND	48 ± 3	35 ± 2	ND	ND
Etanola, % v/v	ND	3.6 ± 0.2	5.3 ± 0.1	6.8 ± 0.5	6.6 ± 0.1
Etil azetatoa, mg/L	ND	4 ± 1	8 ± 1	17 ± 2	8 ± 1
Metanola, mg/L	ND	12 ± 1	14 ± 1	18 ± 2	19 ± 1

^aBi neurketaren batez bestekoa ± desbideratze estandarra

^bHiru neurketaren batez bestekoa ± desbideratze estandarra

A: Absorbantzia

A_{280 nm} : polifenol totalen indizea

A_{320 nm} : azido hidroxizimikoak

ND: Detektatu gabea (not detected)

MOKO-2012. Polifenolak (mg/L) eta PLS modeloetan erabilitako parametro fisikokimikoak

Parametroa/konposatua	Hartidura egunak eta data				
	0	12	28	167	193
	2012/09/28	2012/10/10	2012/10/26	2013/03/14	2013/04/09
Azido hidroxizimikoak^a					
Azido hidrokafeikoa	ND	ND	ND	11 ± 1	12 ± 1
Azido kafeikoa	2.5 ± 0.1	10.2 ± 0.2	8.9 ± 0.3	2.9 ± 0.8	1.4 ± 0.9
Azido klorogenikoa	297 ± 2	534 ± 3	510 ± 14	458 ± 3	461 ± 1
Azido <i>p</i> -kumarikoa	ND	0.39 ± 0.07	ND	ND	ND
Azido 4- <i>p</i> -kumaroilkinikoa	35 ± 1	70 ± 1	63 ± 1	58 ± 3	58 ± 1
Azido <i>trans</i> -ferulikoa	0.9 ± 0.1	2.1 ± 0.1	1.8 ± 0.1	1.0 ± 0.1	1.0 ± 0.1
Flaban-3-olak^a					
(-)-epikatekina	45 ± 1	196 ± 5	138 ± 3	150 ± 3	153 ± 2
(+)-katekina	1.1 ± 0.3	4.6 ± 0.4	5.3 ± 0.9	10.1 ± 0.6	8.8 ± 0.9
Prozianidina B1	9.6 ± 0.4	16.4 ± 0.1	15.2 ± 0.5	12.3 ± 0.1	12.6 ± 0.9
Prozianidina B2	11 ± 2	15 ± 6	15 ± 1	13 ± 1	11 ± 1
Prozianidina B5	ND	ND	ND	ND	ND
Dihidrokalonak^a					
Floretin 2'- <i>O</i> -xiloglukosidoa	56 ± 1	181 ± 13	157 ± 8	163 ± 1	166 ± 5
Floridzina	1.57 ± 0.03	30 ± 2	18 ± 3	24 ± 1	24 ± 1
Flabonolak^a					
Abikularina	ND	0.94 ± 0.05	0.50 ± 0.06	0.67 ± 0.01	0.59 ± 0.07
Hiperina (hiperosidoa)	ND	1.52 ± 0.08	0.53 ± 0.06	0.40 ± 0.01	0.31 ± 0.02
Isokertzitrina	ND	1.51 ± 0.05	0.86 ± 0.02	0.76 ± 0.03	0.71 ± 0.02
Kertzitrina	0.34 ± 0.02	4.47 ± 0.10	2.84 ± 0.02	3.43 ± 0.05	3.30 ± 0.05
Azido bentzoikoak^a					
Azido galikoa	ND	4.40 ± 0.08	5.04 ± 0.01	6.39 ± 0.01	6.47 ± 0.03
Azido <i>p</i> -hidroxibentzoikoa	ND	ND	ND	0.51 ± 0.03	0.63 ± 0.03
Azido protokatekuikoa	ND	0.93 ± 0.02	1.00 ± 0.01	1.15 ± 0.01	1.19 ± 0.02
Besteak^a					
Katekola	ND	ND	ND	ND	ND
Tirosola	ND	17.5 ± 0.9	18.4 ± 1.0	17.9 ± 0.6	17.7 ± 0.7
Parametro fisikokimikoak^b					
FRAP, Trolox mmol/L	10.0 ± 0.4	11.6 ± 0.2	11.1 ± 0.1	9.7 ± 0.2	9.3 ± 0.1
ABTS, Trolox mmol/L	22.8 ± 0.7	21.1 ± 0.2	20.8 ± 0.1	17.9 ± 0.8	17.4 ± 0.6
FC, azido taniko g/L	3.7 ± 0.1	3.0 ± 0.2	3.6 ± 0.3	3.0 ± 0.1	3.0 ± 0.3
FC, azido galiko g/L	3.0 ± 0.2	3.1 ± 0.3	3.4 ± 0.3	2.1 ± 0.2	2.1 ± 0.1
PPC, A _{510 nm}	1.12 ± 0.04	1.00 ± 0.01	0.98 ± 0.02	0.84 ± 0.02	0.78 ± 0.01
PPC, azido taniko g/L	1.27 ± 0.06	1.10 ± 0.02	1.07 ± 0.02	0.90 ± 0.02	0.83 ± 0.02
Iluntzea, A _{420 nm}	1.989 ± 0.020	0.995 ± 0.023	0.812 ± 0.013	0.680 ± 0.023	0.651 ± 0.018
Uhertasuna, NTU	738 ± 2	1718 ± 60	254 ± 6	29.7 ± 0.4	20 ± 0.5
E, mV	330 ± 7	269 ± 2	202 ± 2	196 ± 1	206 ± 3

^aBi neurketaren batez bestekoa ± desbideratze estandarra

^bHiru neurketaren batez bestekoa ± desbideratze estandarra

FRAP: loi ferrikoa erreduzitzeko indar antioxidatzailea

ABTS: 2,2'-Azino-bis-(azido 3 etilbenzotiazolin-6-sulfonikoa)

FC: Folin-Ciocalteu indizea

PPC: Proteinekin hauspeatzeko gaitasuna

A: Absorbantzia

E: Erredox potentziala

ND: Detektatu gabea (not detected)

MOKO-2012. Interes enologikoa duten parametro fisikokimikoak eta konposatuak

Parametroa/konposatua	Hartzidura egunak eta data				
	0	12	28	167	193
	2012/09/28	2012/10/10	2012/10/26	2013/03/14	2013/04/09
Parametro fisikokimikoak^a					
A _{280 nm}	60.8 ± 0.2	61.1 ± 0.7	58.6 ± 0.5	53.0 ± 0.6	53.2 ± 0.3
A _{320 nm}	41.3 ± 0.5	42.1 ± 1.0	40.9 ± 0.2	36.9 ± 0.6	36.9 ± 0.7
Azidotasan totala, H ⁺ mmol/L	206.5 ± 0.4	166.9 ± 0.1	150.1 ± 0.5	92.8 ± 0.1	92.5 ± 0.1
Brix graduak	12.5 ± 0.1	7.2 ± 0.1	5.8 ± 0.1	4.8 ± 0.1	4.9 ± 0.1
Dentsitatea, g/L	1049.0 ± 0.1	1017.9 ± 0.1	1008.5 ± 0.1	1000.4 ± 0.1	1000.4 ± 0.1
pH	3.09 ± 0.01	3.33 ± 0.01	3.35 ± 0.04	3.61 ± 0.06	3.58 ± 0.06
Azido organikoak^a					
Azido azetiko, g/L	ND	0.43 ± 0.05	0.28 ± 0.04	0.49 ± 0.05	0.55 ± 0.09
Azido L-(+)-laktiko, g/L	0.15 ± 0.01	4.23 ± 0.07	4.32 ± 0.04	8.73 ± 0.02	8.67 ± 0.03
Azido L-(-)-maliko, g/L	15.44 ± 0.05	7.97 ± 0.14	7.58 ± 0.03	0.12 ± 0.02	0.06 ± 0.01
Azukreak eta glizerola^a					
Fruktosa, g/L	69 ± 2	12.4 ± 0.6	0.12 ± 0.03	ND	ND
Glukosa, g/L	11.2 ± 0.9	0.42 ± 0.09	0.16 ± 0.02	0.10 ± 0.01	0.06 ± 0.01
Sakarosa, g/L	20 ± 2	19.4 ± 0.1	15.1 ± 0.3	ND	ND
Azukre totala, g/L	100 ± 3	32.2 ± 0.6	15.3 ± 0.3	0.10 ± 0.02	ND
Glizerola, g/L	ND	1.4 ± 0.1	2.3 ± 0.5	2.4 ± 0.2	1.8 ± 0.1
Konposatu lurrinkorrak^b					
Akroleina, mg/L	ND	ND	ND	ND	ND
Azetaldehidoa, mg/L	ND	16 ± 2	24 ± 1	ND	ND
Etanola, % v/v	ND	4.1 ± 0.2	4.2 ± 0.3	5.5 ± 0.1	5.5 ± 0.1
Etil azetatoa, mg/L	ND	5 ± 1	5 ± 1	12 ± 1	6 ± 1
Metanola, mg/L	ND	9 ± 1	18 ± 1	15 ± 1	15 ± 1

^aBi neurketaren batez bestekoa ± desbideratze estandarra

^bHiru neurketaren batez bestekoa ± desbideratze estandarra

A: Absorbantzia

A_{280 nm} : polifenol totalen indizea

A_{320 nm} : azido hidroxizimikoak

ND: Detektatu gabea (not detected)

TXALAKA-2012. Polifenolak (mg/L) eta PLS modeloetan erabilitako parametro fisikokimikoak

Parametroa/konposatua	Hartzidura egunak eta data				
	0	12	18	76	175
	2012/09/27	2012/10/09	2012/10/15	2012/12/12	2013/03/21
Azido hidroxiznamikoak^a					
Azido hidrokafeikoa	ND	ND	ND	ND	ND
Azido kafeikoa	2.8 ± 0.1	19.8 ± 0.3	22.4 ± 0.5	24.0 ± 0.4	24.9 ± 0.4
Azido klorogenikoa	55.4 ± 0.3	30.4 ± 0.9	25.9 ± 0.1	15.3 ± 0.1	12.9 ± 0.4
Azido <i>p</i> -kumarikoa	ND	0.5 ± 0.1	0.4 ± 0.1	0.8 ± 0.1	0.8 ± 0.1
Azido 4- <i>p</i> -kumaroilkinikoa	51 ± 1	57 ± 1	56 ± 2	50 ± 1	51 ± 2
Azido <i>trans</i> -ferulikoa	ND	ND	ND	ND	0.23 ± 0.01
Flaban-3-olak^a					
(-)-epikatekina	23 ± 3	46 ± 5	46 ± 1	20 ± 6	39 ± 1
(+)-katekina	ND	ND	ND	ND	3.7 ± 0.3
Prozianidina B1	ND	ND	ND	ND	ND
Prozianidina B2	4.5 ± 0.1	6.4 ± 0.4	6.3 ± 0.4	5.3 ± 0.1	5.7 ± 0.7
Prozianidina B5	ND	ND	ND	ND	ND
Dihidroalkonak^a					
Floretin 2'- <i>O</i> -xiloglukosidoa	10.7 ± 0.1	18.2 ± 0.6	17.6 ± 0.6	14.8 ± 0.2	15.3 ± 0.1
Floridzina	2.8 ± 0.1	10.3 ± 0.1	11.0 ± 0.2	7.9 ± 0.1	10.9 ± 0.1
Flabonolak^a					
Abikularina	ND	ND	ND	ND	ND
Hiperina (hiperosidoa)	ND	ND	ND	ND	ND
Isokertzitrina	ND	ND	ND	ND	ND
Kertzitrina	ND	0.69 ± 0.03	0.79 ± 0.01	0.44 ± 0.02	0.70 ± 0.01
Azido bentzoikoak^a					
Azido galikoa	ND	3.39 ± 0.01	3.88 ± 0.02	4.10 ± 0.01	4.31 ± 0.02
Azido <i>p</i> -hidroxibentzoikoa	ND	ND	ND	ND	ND
Azido protokatekuikoa	ND	1.39 ± 0.11	1.34 ± 0.10	1.41 ± 0.02	1.28 ± 0.05
Besteak^a					
Katekola	ND	ND	ND	ND	ND
Tirosola	ND	9.1 ± 0.5	10.1 ± 0.3	10.1 ± 0.6	11.2 ± 0.1
Parametro fisikokimikoak^b					
FRAP, Trolox mmol/L	3.4 ± 0.1	4.3 ± 0.3	3.3 ± 0.1	3.3 ± 0.1	3.2 ± 0.1
ABTS, Trolox mmol/L	9.5 ± 0.5	10.2 ± 0.9	9.1 ± 0.7	6.9 ± 0.9	6.7 ± 0.9
FC, azido taniko g/L	1.5 ± 0.1	1.2 ± 0.2	1.2 ± 0.1	1.1 ± 0.1	1.1 ± 0.3
FC, azido galiko g/L	1.3 ± 0.1	1.3 ± 0.3	1.2 ± 0.3	0.7 ± 0.1	1.0 ± 0.3
PPC, A _{510 nm}	0.48 ± 0.01	0.44 ± 0.01	0.40 ± 0.01	0.29 ± 0.01	0.31 ± 0.01
PPC, azido taniko g/L	0.54 ± 0.01	0.51 ± 0.01	0.48 ± 0.02	0.40 ± 0.02	0.41 ± 0.02
Iluntzea, A _{420 nm}	0.963 ± 0.010	0.625 ± 0.023	0.558 ± 0.026	0.456 ± 0.022	0.420 ± 0.015
Uhertasuna, NTU	198 ± 2	613 ± 11	216 ± 2	29.8 ± 0.2	22.7 ± 0.2
E, mV	279 ± 1	263 ± 9	196 ± 2	219 ± 4	214 ± 2

^aBi neurketaren batez bestekoa ± desbideratze estandarra

^bHiru neurketaren batez bestekoa ± desbideratze estandarra

FRAP: loi ferrikoa erreduzitzeko indar antioxidatzailea

ABTS: 2,2'-Azino-bis-(azido 3 etilbenzotiazolin-6-sulfonikoa)

FC: Folin-Ciocalteu indizea

PPC: Proteinekin hauspeatzeko gaitasuna

A: Absorbantzia

E: Erredox potentziala

ND: Detektatu gabea (not detected)

TXALAKA-2012. Interes enologikoa duten parametro fisikokimikoak eta konposatuak

Parametroa/konposatua	Hartzidura egunak eta data				
	0	12	18	76	175
	2012/09/27	2012/10/09	2012/10/15	2012/12/12	2013/03/21
Parametro fisikokimikoak^a					
A _{280 nm}	19.7 ± 0.3	20.1 ± 0.2	15.6 ± 1.0	16.3 ± 0.7	16.6 ± 0.4
A _{320 nm}	11.4 ± 0.5	11.4 ± 0.6	8.9 ± 0.8	9.8 ± 0.9	9.7 ± 0.6
Azidotasan totala, H ⁺ mmol/L	99.7 ± 0.1	50.9 ± 0.2	48.8 ± 0.6	49.6 ± 0.1	50.6 ± 0.1
Brix graduak	12.1 ± 0.1	5.5 ± 0.1	4.6 ± 0.1	3.9 ± 0.1	3.6 ± 0.1
Dentsitatea, g/L	1048.3 ± 0.1	1005.6 ± 0.1	1000.0 ± 0.1	996.0 ± 0.1	996.1 ± 0.1
pH	3.33 ± 0.06	3.74 ± 0.06	3.77 ± 0.06	3.71 ± 0.08	3.93 ± 0.05
Azido organikoak^a					
Azido azetiko, g/L	ND	0.41 ± 0.06	0.17 ± 0.01	0.30 ± 0.08	0.34 ± 0.06
Azido L-(+)-laktiko, g/L	4.22 ± 0.09	5.54 ± 0.03	5.58 ± 0.06	5.65 ± 0.01	5.55 ± 0.01
Azido L-(-)-maliko, g/L	1.46 ± 0.01	0.10 ± 0.01	0.11 ± 0.01	0.11 ± 0.01	0.16 ± 0.01
Azukreak eta glizerola^a					
Fruktosa, g/L	71.3 ± 0.9	2.10 ± 0.02	0.27 ± 0.05	0.65 ± 0.03	0.19 ± 0.02
Glukosa, g/L	12.8 ± 0.9	0.30 ± 0.03	0.18 ± 0.02	0.30 ± 0.03	0.06 ± 0.01
Sakarosa, g/L	29 ± 2	21.20 ± 0.05	10.78 ± 0.06	0.70 ± 0.01	ND
Azukre totala, g/L	113 ± 2	23.60 ± 0.05	11.23 ± 0.07	1.65 ± 0.03	0.25 ± 0.01
Glizerola, g/L	ND	2.1 ± 0.2	2.6 ± 0.2	2.4 ± 0.2	2.7 ± 0.1
Konposatu lurrinkorrak^b					
Akroleina, mg/L	ND	ND	ND	ND	ND
Azetaldehidoa, mg/L	ND	18 ± 4	25 ± 1	ND	ND
Etanola, % v/v	ND	5.5 ± 0.2	5.7 ± 0.1	6.3 ± 0.1	6.0 ± 0.1
Etil azetatoa, mg/L	ND	7 ± 1	10 ± 1	15 ± 1	8 ± 1
Metanola, mg/L	ND	ND	8 ± 1	ND	ND

^aBi neurketaren batez bestekoa ± desbideratze estandarra

^bHiru neurketaren batez bestekoa ± desbideratze estandarra

A: Absorbantzia

A_{280 nm} : polifenol totalen indizea

A_{320 nm} : azido hidroxizimikoak

ND: Detektatu gabea (not detected)

URTEBI HAUNDI-2012. Polifenolak (mg/L) eta PLS modeloetan erabilitako parametro fisikokimikoak

Parametroa/konposatua	Hartzidura egunak eta data				
	0	8	25	75	179
	2012/09/27	2012/10/05	2012/10/22	2012/12/11	2013/03/25
Azido hidroxiznamikoak^a					
Azido hidrokafeikoa	ND	ND	ND	ND	ND
Azido kafeikoa	1.1 ± 0.1	7.1 ± 0.1	17.0 ± 0.3	20.2 ± 0.1	22.1 ± 0.4
Azido klorogenikoa	50 ± 1	163 ± 2	164 ± 4	142 ± 3	130 ± 1
Azido <i>p</i> -kumarikoa	ND	ND	ND	0.5 ± 0.1	0.3 ± 0.1
Azido 4- <i>p</i> -kumaroilkinikoa	16 ± 1	56 ± 1	56 ± 2	54 ± 2	53 ± 1
Azido <i>trans</i> -ferulikoa	ND	ND	ND	0.4 ± 0.1	1.4 ± 0.1
Flaban-3-olak^a					
(-)-epikatekina	ND	ND	15 ± 1	ND	ND
(+)-katekina	ND	3.4 ± 0.7	4.5 ± 0.1	5.1 ± 0.5	2.5 ± 0.4
Prozianidina B1	ND	3.0 ± 0.1	4.4 ± 0.1	3.6 ± 0.2	3.5 ± 0.1
Prozianidina B2	ND	ND	ND	ND	ND
Prozianidina B5	ND	ND	ND	ND	1.4 ± 0.1
Dihidroalkonak^a					
Floretin 2'- <i>O</i> -xiloglukosidoa	ND	48 ± 1	54 ± 1	50 ± 2	50 ± 2
Floridzina	ND	7.7 ± 0.7	15.4 ± 0.3	16.5 ± 0.3	15.6 ± 0.1
Flabonolak^a					
Abikularina	ND	ND	ND	ND	ND
Hiperina (hiperosidoa)	ND	ND	ND	ND	ND
Isokertzitrina	ND	ND	ND	ND	ND
Kertzitrina	ND	0.85 ± 0.01	2.35 ± 0.02	2.39 ± 0.01	1.74 ± 0.02
Azido bentzoikoak^a					
Azido galikoa	ND	6.35 ± 0.04	6.81 ± 0.05	6.89 ± 0.01	7.25 ± 0.07
Azido <i>p</i> -hidroxibentzoikoa	ND	ND	ND	ND	ND
Azido protokatekuikoa	ND	0.73 ± 0.09	0.74 ± 0.01	0.82 ± 0.01	0.86 ± 0.02
Besteak^a					
Katekola	ND	ND	ND	ND	ND
Tirosola	ND	15.2 ± 0.9	15.6 ± 0.2	15.7 ± 0.5	16.1 ± 0.2
Parametro fisikokimikoak^b					
FRAP, Trolox mmol/L	3.2 ± 0.2	2.8 ± 0.1	3.2 ± 0.2	2.3 ± 0.1	2.7 ± 0.1
ABTS, Trolox mmol/L	8.5 ± 0.4	6.7 ± 0.9	7.7 ± 0.5	6.2 ± 0.6	6.2 ± 0.4
FC, azido taniko g/L	1.2 ± 0.1	1.0 ± 0.2	0.8 ± 0.1	0.9 ± 0.2	0.9 ± 0.1
FC, azido galiko g/L	1.2 ± 0.2	0.8 ± 0.1	0.6 ± 0.1	0.3 ± 0.1	0.7 ± 0.2
PPC, A _{510 nm}	0.33 ± 0.01	0.18 ± 0.01	0.15 ± 0.01	0.11 ± 0.01	0.12 ± 0.01
PPC, azido taniko g/L	0.43 ± 0.02	0.33 ± 0.02	0.31 ± 0.01	0.29 ± 0.02	0.30 ± 0.04
Iluntzea, A _{420 nm}	2.521 ± 0.014	0.709 ± 0.025	0.619 ± 0.017	0.392 ± 0.029	0.374 ± 0.020
Uhertasuna, NTU	1344 ± 54	2770 ± 42	2483 ± 18	24.6 ± 0.1	9.8 ± 0.1
E, mV	329 ± 1	305 ± 6	304 ± 9	205 ± 2	173 ± 3

^aBi neurketaren batez bestekoa ± desbideratze estandarra

^bHiru neurketaren batez bestekoa ± desbideratze estandarra

FRAP: loi ferrikoa erreduzitzeko indar antioxidatzailea

ABTS: 2,2'-Azino-bis-(azido 3 etilbenzotiazolin-6-sulfonikoa)

FC: Folin-Ciocalteu indizea

PPC: Proteinekin hauspeatzeko gaitasuna

A: Absorbantzia

E: Erredox potentziala

ND: Detektatu gabea (not detected)

URTEBI HAUNDI-2012. Interes enologikoa duten parametro fisikokimikoak eta konposatuak

Parametroa/konposatua	Hartzidura egunak eta data				
	0	8	25	75	179
	2012/09/27	2012/10/05	2012/10/22	2012/12/11	2013/03/25
Parametro fisikokimikoak^a					
A _{280 nm}	22.5 ± 0.3	18.8 ± 0.6	16.9 ± 0.1	18.2 ± 0.1	19.2 ± 0.9
A _{320 nm}	19.7 ± 0.8	17.8 ± 0.3	16.9 ± 0.5	17.8 ± 0.5	17.9 ± 0.5
Azidotasan totala, H ⁺ mmol/L	161.2 ± 0.2	106.4 ± 0.1	101.8 ± 0.1	99.5 ± 0.1	101.3 ± 0.1
Brix graduak	12.6 ± 0.1	6.1 ± 0.1	5.0 ± 0.1	4.6 ± 0.1	4.3 ± 0.1
Dentsitatea, g/L	1050.9 ± 0.1	1012.2 ± 0.1	1001.9 ± 0.1	999.1 ± 0.1	999.2 ± 0.1
pH	3.26 ± 0.02	3.51 ± 0.01	3.67 ± 0.01	3.57 ± 0.05	3.61 ± 0.06
Azido organikoak^a					
Azido azetikoak, g/L	0.19 ± 0.03	0.21 ± 0.09	0.12 ± 0.02	0.25 ± 0.04	0.31 ± 0.04
Azido L-(+)-laktikoa, g/L	4.03 ± 0.03	4.84 ± 0.03	4.96 ± 0.05	4.88 ± 0.10	4.94 ± 0.09
Azido L-(-)-malikoa, g/L	6.16 ± 0.02	4.46 ± 0.01	4.11 ± 0.01	3.80 ± 0.01	3.92 ± 0.01
Azukreak eta glizerola^a					
Fruktosa, g/L	53.6 ± 0.8	0.44 ± 0.04	0.24 ± 0.03	0.83 ± 0.03	0.30 ± 0.02
Glukosa, g/L	15.1 ± 0.6	0.18 ± 0.00	0.11 ± 0.01	0.39 ± 0.02	0.07 ± 0.01
Sakarosa, g/L	36 ± 2	27 ± 1	6.77 ± 0.03	1.17 ± 0.02	ND
Azukre totala, g/L	105 ± 2	27 ± 1	7.12 ± 0.03	2.39 ± 0.03	0.37 ± 0.02
Glizerola, g/L	0.6 ± 0.1	2.4 ± 0.2	2.8 ± 0.4	2.3 ± 0.3	2.9 ± 0.1
Konposatu lurrinkorrak^b					
Akroleina, mg/L	ND	ND	ND	ND	ND
Azetaldehidoa, mg/L	ND	21 ± 2	19 ± 3	8 ± 1	ND
Etanola, % v/v	ND	4.9 ± 0.1	7.0 ± 0.2	6.2 ± 0.1	5.8 ± 0.3
Etil azetatoa, mg/L	ND	11 ± 1	11 ± 1	18 ± 1	5 ± 1
Metanola, mg/L	ND	ND	16 ± 2	13 ± 1	16 ± 1

^aBi neurketaren batez bestekoa ± desbideratze estandarra

^bHiru neurketaren batez bestekoa ± desbideratze estandarra

A: Absorbantzia

A_{280 nm} : polifenol totalen indizea

A_{320 nm} : azido hidroxizimikoak

ND: Detektatu gabea (not detected)

URTEBI TXIKI-2012. Polifenolak (mg/L) eta PLS modeloetan erabilitako parametro fisikokimikoak

Parametroa/konposatua	Hartidura egunak eta data				
	0	7	17	73	173
	2012/09/28	2012/10/05	2012/10/15	2012/12/10	2013/03/20
Azido hidroxiznamikoak^a					
Azido hidrokafeikoa	ND	ND	ND	ND	ND
Azido kafeikoa	1.1 ± 0.1	5.9 ± 0.7	22.3 ± 0.1	33.8 ± 0.2	34.6 ± 0.5
Azido klorogenikoa	111 ± 1	122 ± 1	103 ± 1	77 ± 2	62 ± 3
Azido <i>p</i> -kumarikoa	ND	ND	0.3 ± 0.1	0.7 ± 0.1	0.4 ± 0.1
Azido 4- <i>p</i> -kumaroilkinikoa	42 ± 1	60 ± 2	59 ± 3	55 ± 1	53 ± 1
Azido <i>trans</i> -ferulikoa	0.3 ± 0.1	0.5 ± 0.1	0.5 ± 0.1	0.6 ± 0.2	0.4 ± 0.1
Flaban-3-olak^a					
(-)-epikatekina	ND	19 ± 1	49 ± 2	58 ± 7	47 ± 2
(+)-katekina	ND	ND	3.6 ± 0.3	7.3 ± 0.1	7.6 ± 1.0
Prozianidina B1	ND	ND	ND	7.5 ± 0.1	6.7 ± 0.6
Prozianidina B2	ND	ND	ND	ND	ND
Prozianidina B5	ND	ND	ND	ND	ND
Dihidroalkonak^a					
Floretin 2'- <i>O</i> -xiloglukosidoa	14 ± 1	33 ± 1	40 ± 1	41 ± 1	39 ± 1
Floridzina	ND	3.7 ± 0.6	10.9 ± 0.8	18.1 ± 0.8	14.0 ± 0.1
Flabonolak^a					
Abikularina	ND	ND	0.34 ± 0.04	0.68 ± 0.02	0.45 ± 0.01
Hiperina (hiperosidoa)	ND	ND	ND	ND	ND
Isokertzitrina	ND	ND	ND	ND	ND
Kertzitrina	ND	ND	ND	ND	ND
Azido bentzoikoak^a					
Azido galikoa	ND	4.55 ± 0.02	6.10 ± 0.02	6.31 ± 0.04	6.58 ± 0.03
Azido <i>p</i> -hidroxibentzoikoa	ND	ND	ND	0.32 ± 0.02	0.36 ± 0.09
Azido protokatekuikoa	ND	2.77 ± 0.09	2.34 ± 0.02	2.55 ± 0.01	2.50 ± 0.07
Besteak^a					
Katekola	ND	ND	ND	ND	ND
Tirosola	ND	7.7 ± 0.2	9.9 ± 0.2	10.0 ± 0.1	10.1 ± 0.2
Parametro fisikokimikoak^b					
FRAP, Trolox mmol/L	4.2 ± 0.2	3.0 ± 0.3	3.8 ± 0.2	3.0 ± 0.1	3.2 ± 0.2
ABTS, Trolox mmol/L	11.6 ± 0.4	7.5 ± 0.7	10.0 ± 0.3	7.9 ± 0.8	8.8 ± 0.9
FC, azido taniko g/L	1.9 ± 0.1	1.2 ± 0.1	1.3 ± 0.1	1.0 ± 0.2	1.2 ± 0.2
FC, azido galiko g/L	1.5 ± 0.1	0.7 ± 0.2	0.9 ± 0.1	0.5 ± 0.1	0.8 ± 0.1
PPC, A _{510 nm}	0.65 ± 0.02	0.48 ± 0.01	0.40 ± 0.01	0.27 ± 0.01	0.26 ± 0.02
PPC, azido taniko g/L	0.70 ± 0.02	0.54 ± 0.01	0.48 ± 0.01	0.39 ± 0.03	0.38 ± 0.02
Iluntzea, A _{420 nm}	2.643 ± 0.012	1.527 ± 0.015	1.203 ± 0.010	0.787 ± 0.011	0.590 ± 0.018
Uhertasuna, NTU	843 ± 1	3625 ± 14	972 ± 4	71.8 ± 0.1	28.2 ± 0.1
E, mV	336 ± 1	289 ± 8	288 ± 3	288 ± 2	204 ± 2

^aBi neurketaren batez bestekoa ± desbideratze estandarra

^bHiru neurketaren batez bestekoa ± desbideratze estandarra

FRAP: loi ferrikoa erreduzitzeko indar antioxidatzailea

ABTS: 2,2'-Azino-bis-(azido 3 etilbenzotiazolin-6-sulfonikoa)

FC: Folin-Ciocalteu indizea

PPC: Proteinekin hauspeatzeko gaitasuna

A: Absorbantzia

E: Erredox potentziala

ND: Detektatu gabea (not detected)

URTEBI TXIKI-2012. Interes enologikoa duten parametro fisikokimikoak eta konposatuak

Parametroa/konposatua	Hartzidura egunak eta data				
	0	7	17	73	173
	2012/09/28	2012/10/05	2012/10/15	2012/12/10	2013/03/20
Parametro fisikokimikoak^a					
A _{280 nm}	31.0 ± 0.4	23.7 ± 0.1	21.1 ± 0.6	20.8 ± 0.1	32.3 ± 0.7
A _{320 nm}	21.1 ± 0.6	16.7 ± 0.4	15.3 ± 0.9	15.3 ± 0.1	15.0 ± 0.9
Azidotasan totala, H ⁺ mmol/L	116.7 ± 0.3	77.3 ± 0.5	55.1 ± 0.5	56.6 ± 0.3	58.1 ± 0.8
Brix graduak	12.6 ± 0.1	6.5 ± 0.1	4.3 ± 0.1	4.0 ± 0.1	3.8 ± 0.1
Dentsitatea, g/L	1049.5 ± 0.1	1015.3 ± 0.1	997.8 ± 0.1	996.4 ± 0.1	997.2 ± 0.1
pH	3.35 ± 0.01	3.72 ± 0.01	3.85 ± 0.02	3.79 ± 0.09	3.78 ± 0.10
Azido organikoak^a					
Azido azetiko, g/L	ND	0.12 ± 0.03	0.17 ± 0.04	0.28 ± 0.04	0.36 ± 0.01
Azido L-(+)-laktiko, g/L	2.42 ± 0.08	6.07 ± 0.04	5.89 ± 0.04	5.97 ± 0.04	6.18 ± 0.01
Azido L-(-)-maliko, g/L	5.04 ± 0.01	0.26 ± 0.02	0.26 ± 0.01	0.29 ± 0.02	0.30 ± 0.01
Azukreak eta glizerola^a					
Fruktosa, g/L	72 ± 1	8.40 ± 0.18	0.17 ± 0.04	0.16 ± 0.03	0.02 ± 0.02
Glukosa, g/L	18.4 ± 0.9	0.47 ± 0.02	0.12 ± 0.02	0.06 ± 0.02	0.04 ± 0.01
Sakarosa, g/L	21 ± 2	15.52 ± 0.01	2.88 ± 0.02	0.10 ± 0.02	ND
Azukre totala, g/L	112 ± 2	24.4 ± 0.2	3.17 ± 0.04	0.32 ± 0.03	0.06 ± 0.02
Glizerola, g/L	ND	1.9 ± 0.1	2.3 ± 0.1	2.3 ± 0.1	2.5 ± 0.2
Konposatu lurrinkorrak^b					
Akroleina, mg/L	ND	ND	ND	ND	ND
Azetaldehidoa, mg/L	ND	18 ± 1	21 ± 1	ND	ND
Etanola, % v/v	ND	5.0 ± 0.1	7.0 ± 0.1	6.5 ± 0.1	5.9 ± 0.2
Etil azetatoa, mg/L	ND	10 ± 2	13 ± 3	11 ± 2	6 ± 1
Metanola, mg/L	ND	ND	14 ± 1	14 ± 1	13 ± 1

^aBi neurketaren batez bestekoa ± desbideratze estandarra

^bHiru neurketaren batez bestekoa ± desbideratze estandarra

A: Absorbantzia

A_{280 nm} : polifenol totalen indizea

A_{320 nm} : azido hidroxizimikoak

ND: Detektatu gabea (not detected)

FRANTZES SAGARRA-2013. Polifenolak (mg/L) eta PLS modeloetan erabilitako parametro fisikokimikoak

Parametroa/konposatua	Hartidura egunak eta data				
	0	6	41	205	236
	2013/10/23	2013/10/29	2013/12/03	2014/05/16	2014/06/16
Azido hidroxizimikoak^a					
Azido hidrokafeikoa	ND	ND	ND	52 ± 1	67 ± 4
Azido kafeikoa	ND	26 ± 3	64 ± 1	ND	ND
Azido klorogenikoa	112 ± 1	158 ± 3	99 ± 1	ND	ND
Azido <i>p</i> -kumarikoa	ND	0.3 ± 0.1	0.7 ± 0.2	ND	ND
Azido 4- <i>p</i> -kumaroilklinikoa	28 ± 1	54 ± 1	52 ± 2	45 ± 1	39 ± 3
Azido <i>trans</i> -ferulikoa	ND	ND	0.5 ± 0.1	0.6 ± 0.2	ND
Flaban-3-olak^a					
(-)-epikatekina	ND	14.1 ± 0.2	12.8 ± 0.8	8.0 ± 0.2	ND
(+)-katekina	ND	ND	ND	ND	ND
Prozianidina B1	ND	ND	ND	ND	ND
Prozianidina B2	ND	ND	ND	ND	0.5 ± 0.1
Prozianidina B5	ND	ND	ND	ND	ND
Dihidroalkonak^a					
Floretin 2'- <i>O</i> -xiloglukosidoa	1.0 ± 0.3	19.0 ± 0.1	17.4 ± 0.5	17.4 ± 0.1	16.3 ± 0.4
Floridzina	ND	9.1 ± 0.5	7.2 ± 0.8	5.5 ± 0.3	5.3 ± 0.8
Flabonolak^a					
Abikularina	ND	ND	ND	ND	ND
Hiperina (hiperosidoa)	ND	ND	ND	ND	ND
Isokertzitrina	ND	ND	ND	ND	ND
Kertzitrina	ND	ND	ND	ND	ND
Azido bentzoikoak^a					
Azido galikoa	ND	ND	ND	ND	ND
Azido <i>p</i> -hidroxibentzoikoa	ND	ND	ND	ND	0.37 ± 0.08
Azido protokatekuikoa	ND	1.06 ± 0.02	1.42 ± 0.01	1.71 ± 0.01	1.85 ± 0.08
Brett izaerakoak^a					
4-Etilfenola	ND	ND	ND	3.5 ± 0.1	2.0 ± 1.0
4-Etilguaiaakola	ND	ND	ND	0.80 ± 0.06	0.80 ± 0.05
4-Etilkatekola	ND	ND	ND	42 ± 2	45 ± 1
Besteak^a					
Katekola	ND	ND	ND	ND	ND
Tirosola	ND	17.5 ± 0.4	19.7 ± 0.6	18.0 ± 0.1	18.2 ± 0.3
Parametro fisikokimikoak^b					
FRAP, Trolox mmol/L	4.0 ± 0.4	4.8 ± 0.5	4.4 ± 0.3	3.6 ± 0.4	4.8 ± 0.3
ABTS, Trolox mmol/L	6.8 ± 0.3	5.8 ± 0.5	7.2 ± 0.6	7.2 ± 0.4	6.5 ± 0.9
FC, azido taniko g/L	1.4 ± 0.2	1.8 ± 0.6	1.6 ± 0.3	1.2 ± 0.3	1.3 ± 0.1
FC, azido galiko g/L	1.2 ± 0.3	2.0 ± 0.1	1.3 ± 0.3	1.2 ± 0.3	1.4 ± 0.2
PPC, A _{510 nm}	0.51 ± 0.02	0.40 ± 0.02	0.25 ± 0.01	0.18 ± 0.01	0.19 ± 0.01
PPC, azido taniko g/L	0.56 ± 0.02	0.47 ± 0.02	0.36 ± 0.03	0.32 ± 0.03	0.33 ± 0.03
Iluntzea, A _{420 nm}	2.564 ± 0.017	1.786 ± 0.012	1.102 ± 0.015	0.540 ± 0.017	0.518 ± 0.020
Uhartasuna, NTU	905 ± 21	2220 ± 21	1585 ± 35	57 ± 1	45 ± 1
E, mV	346 ± 2	308 ± 1	306 ± 1	181 ± 1	173 ± 4

^aBi neurketaren batez bestekoa ± desbideratze estandarra

^bHiru neurketaren batez bestekoa ± desbideratze estandarra

FRAP: loi ferrikoa erreduzitzeko indar antioxidatzailea

ABTS: 2,2'-Azino-bis-(azido 3 etilbenzotiazolin-6-sulfonikoa)

FC: Folin-Ciocalteu indizea

PPC: Proteinekin hauspeatzeko gaitasuna

A: Absorbantzia

E: Erredox potentziala

ND: Detektatu gabea (not detected)

FRANTZES SAGARRA-2013. Interes enologikoa duten parametro fisikokimikoak eta konposatuak

Parametroa/konposatua	Hartzidura egunak eta data				
	0	6	41	205	236
	2013/10/23	2013/10/29	2013/12/03	2014/05/16	2014/06/16
Parametro fisikokimikoak^a					
A _{280 nm}	27.5 ± 0.4	25.1 ± 0.6	26.8 ± 0.7	16.5 ± 0.2	16.0 ± 0.1
A _{320 nm}	25.1 ± 0.9	23.3 ± 0.4	24.1 ± 0.1	10.0 ± 0.7	8.4 ± 0.2
Azidotasun totala, H ⁺ mmol/L	126.8 ± 0.1	74.7 ± 0.1	71.5 ± 0.1	64.3 ± 0.1	70.3 ± 0.2
Brix graduak	11.6 ± 0.1	6.1 ± 0.1	4.6 ± 0.1	3.9 ± 0.1	3.7 ± 0.1
Dentsitatea, g/L	1045.3 ± 0.1	1011.8 ± 0.1	1000.5 ± 0.1	996.8 ± 0.1	996.8 ± 0.1
pH	3.35 ± 0.01	3.66 ± 0.01	3.68 ± 0.05	3.70 ± 0.05	3.82 ± 0.02
Azido organikoak^a					
Azido azetiko, g/L	ND	0.21 ± 0.03	0.18 ± 0.04	0.50 ± 0.02	0.80 ± 0.06
Azido L-(+)-laktikoa, g/L	0.04 ± 0.01	5.44 ± 0.02	5.71 ± 0.03	3.31 ± 0.02	3.05 ± 0.03
Azido D-(+)-laktikoa, g/L	ND	0.03 ± 0.01	0.06 ± 0.01	2.78 ± 0.01	2.77 ± 0.10
Azido laktiko totala, g/L	0.04 ± 0.01	5.47 ± 0.03	5.77 ± 0.03	6.08 ± 0.02	5.82 ± 0.10
Azido L-(-)-malikoa, g/L	9.95 ± 0.06	1.67 ± 0.02	1.45 ± 0.01	0.03 ± 0.01	0.07 ± 0.04
Azukreak eta glizerola^a					
Fruktosa, g/L	51.2 ± 0.8	0.14 ± 0.01	0.27 ± 0.01	ND	ND
Glukosa, g/L	16.1 ± 0.7	0.09 ± 0.01	0.09 ± 0.01	0.05 ± 0.01	0.03 ± 0.01
Sakarosa, g/L	29 ± 2	25.9 ± 0.6	5.7 ± 0.1	ND	ND
Azukre totala, g/L	96 ± 2	26.1 ± 0.6	6.1 ± 0.1	0.02 ± 0.01	0.03 ± 0.01
Glizerola, g/L	ND	2.0 ± 0.2	2.2 ± 0.2	2.2 ± 0.2	0.8 ± 0.1
Konposatu lurrinkorrak^b					
Akroleina, mg/L	ND	ND	ND	ND	18.3 ± 0.2
Azetaldehidoa, mg/L	ND	10 ± 1	14 ± 1	ND	22 ± 1
Etanola, % v/v	ND	3.6 ± 0.1	5.6 ± 0.2	6.1 ± 0.1	5.8 ± 0.1
Etil azetatoa, mg/L	ND	ND	7 ± 1	10 ± 2	ND
Metanola, mg/L	ND	11 ± 1	28 ± 1	32 ± 1	30 ± 1

^aBi neurketaren batez bestekoa ± desbideratze estandarra

^bHiru neurketaren batez bestekoa ± desbideratze estandarra

A: Absorbantzia

A_{280 nm} : polifenol totalen indizea

A_{320 nm} : azido hidroxizimikoak

ND: Detektatu gabea (not detected)

GEZAMINA-2013. Polifenolak (mg/L) eta PLS modeloetan erabilitako parametro fisikokimikoak

Parametroa/konposatua	Hartidura egunak eta data				
	0	12	20	83	230
	2013/10/23	2013/11/04	2013/11/12	2014/01/14	2014/06/10
Azido hidroxiznamikoak^a					
Azido hidrokafeikoa	ND	ND	ND	ND	186 ± 2
Azido kafeikoa	12 ± 2	83 ± 3	105 ± 3	36 ± 2	ND
Azido klorogenikoa	620 ± 3	377 ± 3	289 ± 16	180 ± 1	ND
Azido <i>p</i> -kumarikoa	ND	3.0 ± 0.1	ND	ND	ND
Azido 4- <i>p</i> -kumaroilkinikoa	207 ± 2	215 ± 1	193 ± 8	182 ± 2	194 ± 1
Azido <i>trans</i> -ferulikoa	ND	0.8 ± 0.2	ND	ND	ND
Flaban-3-olak^a					
(-)-epikatekina	9 ± 1	54 ± 15	56 ± 2	35 ± 1	19 ± 1
(+)-katekina	ND	ND	ND	ND	ND
Prozianidina B1	ND	10.7 ± 0.6	15.0 ± 1.0	24.6 ± 0.6	35.5 ± 0.5
Prozianidina B2	2.6 ± 0.3	4.9 ± 0.9	1.4 ± 0.2	1.3 ± 0.1	11.9 ± 0.2
Prozianidina B5	ND	0.8 ± 0.1	0.5 ± 0.2	1.1 ± 0.1	2.2 ± 0.1
Dihidroalkonak^a					
Floretin 2'- <i>O</i> -xiloglukosidoa	25 ± 2	55 ± 7	56 ± 5	41 ± 3	55 ± 1
Floridzina	1.8 ± 0.1	10.9 ± 0.8	11.7 ± 0.8	6.6 ± 0.2	6.4 ± 0.1
Flabonolak^a					
Abikularina	ND	ND	0.62 ± 0.07	ND	ND
Hiperina (hiperosidoa)	ND	ND	0.71 ± 0.07	ND	ND
Isokertzitrina	ND	ND	ND	ND	ND
Kertzitrina	ND	0.67 ± 0.08	0.72 ± 0.04	0.82 ± 0.01	0.87 ± 0.06
Azido bentzoikoak^a					
Azido galikoa	ND	ND	ND	ND	ND
Azido <i>p</i> -hidroxibentzoikoa	ND	ND	ND	ND	ND
Azido protokatekuikoa	ND	1.39 ± 0.06	1.76 ± 0.07	ND	ND
Brett izaerakoak^a					
4-Etilfenola	ND	ND	ND	6.4 ± 0.3	9.3 ± 0.2
4-Etilguaiakola	ND	ND	ND	0.66 ± 0.05	0.80 ± 0.04
4-Etilkatekola	ND	3.3 ± 0.2	10.2 ± 0.5	46.2 ± 0.1	138 ± 2
Besteak^a					
Katekola	ND	ND	ND	ND	ND
Tirosola	ND	17.3 ± 0.3	19.5 ± 0.6	18.9 ± 0.4	18.7 ± 0.4
Parametro fisikokimikoak^b					
FRAP, Trolox mmol/L	9.7 ± 1.0	11.3 ± 0.5	9.9 ± 0.3	7.9 ± 0.4	9.9 ± 0.4
ABTS, Trolox mmol/L	16.9 ± 0.8	17.0 ± 0.4	18.5 ± 0.8	18.0 ± 0.5	19.0 ± 0.4
FC, azido taniko g/L	3.3 ± 0.2	2.9 ± 0.1	2.8 ± 0.2	2.7 ± 0.1	2.8 ± 0.2
FC, azido galiko g/L	2.5 ± 0.4	2.4 ± 0.1	2.4 ± 0.2	2.4 ± 0.3	2.5 ± 0.4
PPC, A _{510 nm}	1.41 ± 0.02	1.35 ± 0.02	1.45 ± 0.01	1.57 ± 0.01	1.12 ± 0.01
PPC, azido taniko g/L	1.82 ± 0.04	1.69 ± 0.05	1.91 ± 0.01	2.20 ± 0.03	1.22 ± 0.02
Iluntzea, A _{420 nm}	4.827 ± 0.022	3.933 ± 0.021	3.928 ± 0.028	5.162 ± 0.020	2.254 ± 0.018
Uhertasuna, NTU	990 ± 7	3125 ± 7	2423 ± 53	1000 ± 7	125 ± 1
E, mV	288 ± 1	274 ± 7	280 ± 1	298 ± 3	252 ± 2

^aBi neurketaren batez bestekoa ± desbideratze estandarra

^bHiru neurketaren batez bestekoa ± desbideratze estandarra

FRAP: loi ferrikoa erreduzitzeko indar antioxidatzailea

ABTS: 2,2'-Azino-bis-(azido 3 etilbenzotiazolin-6-sulfonikoa)

FC: Folin-Ciocalteu indizea

PPC: Proteinekin hauspeatzeko gaitasuna

A: Absorbantzia

E: Erredox potentziala

ND: Detektatu gabea (not detected)

GEZAMINA-2013. Interes enologikoa duten parametro fisikokimikoak eta konposatuak

Parametroa/konposatua	Hartzidura egunak eta data				
	0	12	20	83	230
	2013/10/23	2013/11/04	2013/11/12	2014/01/14	2014/06/10
Parametro fisikokimikoak^a					
A _{280 nm}	71.2 ± 0.9	65.8 ± 0.3	65.8 ± 0.1	64.0 ± 0.8	49.7 ± 0.4
A _{320 nm}	69.8 ± 0.8	57.5 ± 0.7	55.7 ± 0.4	51.0 ± 0.4	24.2 ± 0.1
Azidotasan totala, H ⁺ mmol/L	26.3 ± 0.2	24.9 ± 0.2	23.2 ± 0.2	23.8 ± 0.1	31.9 ± 0.1
Brix graduak	12.2 ± 0.1	5.7 ± 0.1	4.5 ± 0.1	4.1 ± 0.1	3.7 ± 0.1
Dentsitatea, g/L	1046.0 ± 0.1	1007.9 ± 0.1	1000.8 ± 0.1	995.2 ± 0.1	994.4 ± 0.1
pH	4.03 ± 0.05	4.14 ± 0.01	4.01 ± 0.07	4.06 ± 0.06	4.10 ± 0.02
Azido organikoak^a					
Azido azetiko, g/L	ND	0.19 ± 0.02	0.17 ± 0.02	0.34 ± 0.08	0.81 ± 0.03
Azido L-(+)-laktikoa, g/L	0.10 ± 0.05	1.85 ± 0.04	1.87 ± 0.05	1.95 ± 0.01	0.81 ± 0.07
Azido D-(+)-laktikoa, g/L	0.16 ± 0.02	0.03 ± 0.01	0.08 ± 0.03	0.22 ± 0.01	0.75 ± 0.01
Azido laktiko totala, g/L	0.26 ± 0.05	1.88 ± 0.05	1.95 ± 0.05	2.17 ± 0.02	1.56 ± 0.08
Azido L-(-)-malikoa, g/L	2.25 ± 0.11	0.09 ± 0.01	0.06 ± 0.01	0.06 ± 0.01	0.06 ± 0.02
Azukreak eta glizerola^a					
Fruktosa, g/L	64.2 ± 0.7	10.4 ± 0.4	0.08 ± 0.01	ND	ND
Glukosa, g/L	22.7 ± 0.5	0.59 ± 0.04	0.10 ± 0.01	0.05 ± 0.02	0.04 ± 0.03
Sakarosa, g/L	16.8 ± 0.8	13.1 ± 0.1	9.76 ± 0.10	0.51 ± 0.03	0.11 ± 0.01
Azukre totala, g/L	103.8 ± 0.8	24.1 ± 0.4	9.94 ± 0.10	0.56 ± 0.03	0.14 ± 0.01
Glizerola, g/L	ND	2.2 ± 0.2	1.8 ± 0.1	2.5 ± 0.4	1.1 ± 0.1
Konposatu lurrinkorrak^b					
Akroleina, mg/L	ND	ND	ND	ND	ND
Azetaldehidoa, mg/L	ND	7 ± 1	ND	ND	ND
Etanola, % v/v	ND	4.2 ± 0.1	5.4 ± 0.3	6.0 ± 0.3	6.8 ± 0.1
Etil azetatoa, mg/L	ND	ND	ND	10 ± 2	17 ± 1
Metanola, mg/L	ND	12 ± 1	ND	16 ± 1	14 ± 1

^aBi neurketaren batez bestekoa ± desbideratze estandarra

^bHiru neurketaren batez bestekoa ± desbideratze estandarra

A: Absorbantzia

A_{280 nm} : polifenol totalen indizea

A_{320 nm} : azido hidroxizimikoak

ND: Detektatu gabea (not detected)

MERABI-2013. Polifenolak (mg/L) eta PLS modeloetan erabilitako parametro fisikokimikoak

Parametroa/konposatua	Hartidura egunak eta data				
	0	11	147	194	225
	2013/10/31	2013/11/11	2014/03/27	2014/05/13	2014/06/13
Azido hidroxiznamikoak^a					
Azido hidrokafeikoa	ND	ND	ND	ND	ND
Azido kafeikoa	3.0 ± 0.2	18 ± 2	32 ± 3	28 ± 8	36 ± 2
Azido klorogenikoa	753 ± 6	654 ± 9	611 ± 23	616 ± 5	610 ± 4
Azido <i>p</i> -kumarikoa	ND	ND	1.3 ± 0.1	1.7 ± 0.4	2.1 ± 0.3
Azido 4- <i>p</i> -kumaroilkinikoa	61 ± 2	59 ± 3	57 ± 1	54 ± 3	54 ± 1
Azido <i>trans</i> -ferulikoa	ND	ND	0.94 ± 0.07	ND	1.37 ± 0.09
Flaban-3-olak^a					
(-)-epikatekina	229 ± 14	223 ± 8	239 ± 2	183 ± 8	189 ± 1
(+)-katekina	ND	ND	12.2 ± 0.4	11.5 ± 0.3	12.2 ± 0.1
Prozianidina B1	53.2 ± 0.5	52.2 ± 0.2	47.3 ± 0.8	47.1 ± 0.9	50.1 ± 0.9
Prozianidina B2	56 ± 1	45 ± 8	43 ± 1	41 ± 1	ND
Prozianidina B5	16.2 ± 0.2	14.7 ± 0.1	12.3 ± 1.1	13.5 ± 0.6	12.5 ± 0.1
Dihidroalkonak^a					
Floretin 2'- <i>O</i> -xiloglukosidoa	195 ± 6	241 ± 11	187 ± 2	187 ± 2	189 ± 1
Floridzina	18 ± 2	35 ± 12	24 ± 1	23 ± 1	22 ± 1
Flabonolak^a					
Abikularina	0.40 ± 0.01	0.57 ± 0.05	0.39 ± 0.04	0.29 ± 0.06	0.30 ± 0.04
Hiperina (hiperosidoa)	ND	ND	0.42 ± 0.01	0.39 ± 0.01	0.42 ± 0.01
Isokertzitrina	0.48 ± 0.01	ND	0.36 ± 0.02	0.31 ± 0.02	0.30 ± 0.02
Kertzitrina	1.9 ± 0.4	2.8 ± 0.6	2.1 ± 0.1	2.1 ± 0.2	2.1 ± 0.1
Azido bentzoikoak^a					
Azido galikoa	ND	ND	ND	ND	ND
Azido <i>p</i> -hidroxibentzoikoa	ND	ND	ND	ND	ND
Azido protokatekuikoa	ND	ND	0.46 ± 0.10	0.78 ± 0.01	0.81 ± 0.01
Brett izaerakoak^a					
4-Etilfenola	ND	ND	ND	ND	ND
4-Etilguaiakola	ND	ND	ND	ND	ND
4-Etilkatekola	ND	ND	ND	ND	ND
Besteak^a					
Katekola	ND	ND	ND	ND	ND
Tirosola	ND	12.7 ± 0.4	11.2 ± 1.0	11.4 ± 0.8	12.7 ± 0.5
Parametro fisikokimikoak^b					
FRAP, Trolox mmol/L	14.8 ± 0.4	13.6 ± 0.7	12.2 ± 0.2	11.3 ± 0.1	12.2 ± 0.5
ABTS, Trolox mmol/L	26.6 ± 0.3	25.9 ± 1.1	24.9 ± 0.9	21.6 ± 0.9	26.1 ± 0.8
FC, azido taniko g/L	4.5 ± 0.2	3.6 ± 0.1	3.2 ± 0.1	3.3 ± 0.1	3.6 ± 0.1
FC, azido galiko g/L	4.0 ± 0.5	3.1 ± 0.1	2.8 ± 0.2	2.9 ± 0.2	3.3 ± 0.4
PPC, A _{510 nm}	1.01 ± 0.02	1.33 ± 0.02	0.89 ± 0.01	0.89 ± 0.01	0.96 ± 0.01
PPC, azido taniko g/L	1.12 ± 0.03	1.65 ± 0.03	0.96 ± 0.01	0.95 ± 0.01	1.00 ± 0.01
Iluntzea, A _{420 nm}	1.036 ± 0.018	1.465 ± 0.019	0.505 ± 0.020	0.535 ± 0.030	0.554 ± 0.022
Uhertasuna, NTU	609 ± 2	1530 ± 14	26.8 ± 0.1	20.2 ± 0.4	10.8 ± 0.1
E, mV	331 ± 4	280 ± 4	199 ± 1	150 ± 3	179 ± 1

^aBi neurketaren batez bestekoa ± desbideratze estandarra

^bHiru neurketaren batez bestekoa ± desbideratze estandarra

FRAP: loi ferrikoa erreduzitzeko indar antioxidatzailea

ABTS: 2,2'-Azino-bis-(azido 3 etilbenzotiazolin-6-sulfonikoa)

FC: Folin-Ciocalteu indizea

PPC: Proteinekin hauspeatzeko gaitasuna

A: Absorbantzia

E: Erredox potentziala

ND: Detektatu gabea (not detected)

MERABI-2013. Interes enologikoa duten parametro fisikokimikoak eta konposatuak

Parametroa/konposatua	Hartzidura egunak eta data				
	0	11	147	194	225
	2013/10/31	2013/11/11	2014/03/27	2014/05/13	2014/06/13
Parametro fisikokimikoak^a					
A _{280 nm}	69.5 ± 0.3	68.5 ± 0.6	55.8 ± 0.4	60.3 ± 0.7	61.8 ± 0.2
A _{320 nm}	53.2 ± 0.8	51.5 ± 0.6	42.4 ± 0.9	44.9 ± 0.4	45.2 ± 0.7
Azidotasan totala, H ⁺ mmol/L	165.3 ± 0.1	126.3 ± 0.7	116.7 ± 0.2	75.1 ± 0.1	75.8 ± 0.1
Brix graduak	12.7 ± 0.1	6.7 ± 0.1	5.0 ± 0.1	4.5 ± 0.1	4.5 ± 0.1
Dentsitatea, g/L	1050.7 ± 0.1	1013.0 ± 0.1	999.1 ± 0.1	997.4 ± 0.1	997.7 ± 0.1
pH	3.22 ± 0.02	3.41 ± 0.01	3.47 ± 0.01	3.61 ± 0.04	3.65 ± 0.02
Azido organikoak^a					
Azido azetiko, g/L	ND	0.11 ± 0.04	0.13 ± 0.01	0.26 ± 0.04	0.22 ± 0.01
Azido L-(+)-laktikoa, g/L	0.14 ± 0.01	4.14 ± 0.03	4.11 ± 0.09	8.10 ± 0.02	7.98 ± 0.03
Azido D-(+)-laktikoa, g/L	0.03 ± 0.03	0.04 ± 0.01	0.02 ± 0.01	0.17 ± 0.01	0.20 ± 0.01
Azido laktiko totala, g/L	0.17 ± 0.03	4.18 ± 0.03	4.13 ± 0.09	8.26 ± 0.02	8.18 ± 0.04
Azido L-(-)-malikoa, g/L	13.65 ± 0.08	6.45 ± 0.05	5.91 ± 0.06	0.11 ± 0.03	0.04 ± 0.01
Azukreak eta glizerola^a					
Fruktosa, g/L	62 ± 1	7.3 ± 0.4	0.64 ± 0.01	0.08 ± 0.02	0.11 ± 0.01
Glukosa, g/L	19.3 ± 0.9	0.28 ± 0.06	0.16 ± 0.01	0.08 ± 0.02	0.06 ± 0.01
Sakarosa, g/L	21.1 ± 0.8	18.1 ± 0.5	ND	ND	ND
Azukre totala, g/L	103 ± 1	25.7 ± 0.6	0.80 ± 0.01	0.16 ± 0.03	0.17 ± 0.01
Glizerola, g/L	ND	1.1 ± 0.1	1.2 ± 0.1	1.5 ± 0.1	1.1 ± 0.1
Konposatu lurrinkorrak^b					
Akroleina, mg/L	ND	ND	ND	ND	ND
Azetaldehidoa, mg/L	ND	16 ± 1	ND	ND	ND
Etanola, % v/v	ND	4.7 ± 0.1	6.8 ± 0.1	7.0 ± 0.2	7.0 ± 0.3
Etil azetatoa, mg/L	ND	8 ± 1	11 ± 1	11 ± 2	8 ± 1
Metanola, mg/L	ND	ND	16 ± 2	15 ± 1	16 ± 1

^aBi neurketaren batez bestekoa ± desbideratze estandarra

^bHiru neurketaren batez bestekoa ± desbideratze estandarra

A: Absorbantzia

A_{280 nm} : polifenol totalen indizea

A_{320 nm} : azido hidroxizimikoak

ND: Detektatu gabea (not detected)

MOZOLOA-2013. Polifenolak (mg/L) eta PLS modeloetan erabilitako parametro fisikokimikoak

Parametroa/konposatua	Hartidura egunak eta data				
	0	12	20	83	231
	2013/10/23	2013/11/04	2013/11/12	2014/01/14	2014/06/11
Azido hidroxizimikoak^a					
Azido hidrokafeikoa	ND	ND	ND	118 ± 1	207 ± 10
Azido kafeikoa	ND	36 ± 3	48 ± 2	ND	ND
Azido klorogenikoa	402 ± 45	264 ± 7	219 ± 2	148 ± 2	ND
Azido <i>p</i> -kumarikoa	ND	0.6 ± 0.2	1.8 ± 0.2	0.3 ± 0.1	2.6 ± 0.1
Azido 4- <i>p</i> -kumaroilkinikoa	174 ± 4	229 ± 3	258 ± 5	247 ± 7	222 ± 2
Azido <i>trans</i> -ferulikoa	ND	ND	ND	ND	ND
Flaban-3-olak^a					
(-)-epikatekina	ND	9 ± 3	19 ± 6	22 ± 6	16 ± 1
(+)-katekina	1.3 ± 0.2	2.9 ± 0.7	4.0 ± 0.1	ND	ND
Prozianidina B1	2.5 ± 0.9	5.1 ± 0.2	11.7 ± 1.0	29.8 ± 0.6	27.5 ± 0.3
Prozianidina B2	ND	ND	ND	10 ± 1	9 ± 1
Prozianidina B5	ND	ND	ND	ND	ND
Dihidrokalonak^a					
Floretin 2'- <i>O</i> -xiloglukosidoa	2.2 ± 0.1	35 ± 9	59 ± 10	53 ± 1	70 ± 1
Floridzina	ND	3 ± 1	5 ± 1	9 ± 1	11 ± 1
Flabonolak^a					
Abikularina	0.52 ± 0.05	ND	ND	ND	ND
Hiperina (hiperosidoa)	0.27 ± 0.04	ND	ND	ND	ND
Isokertzitrina	0.22 ± 0.10	ND	ND	ND	ND
Kertzitrina	1.4 ± 0.1	0.9 ± 0.7	0.4 ± 0.2	1.1 ± 0.1	1.8 ± 0.2
Azido bentzoikoak^a					
Azido galikoa	ND	ND	ND	ND	ND
Azido <i>p</i> -hidroxibentzoikoa	ND	ND	ND	ND	0.62 ± 0.07
Azido protokatekuikoa	ND	ND	ND	ND	ND
Brett izaerakoak^a					
4-Etilfenola	ND	ND	ND	2.6 ± 0.5	4.9 ± 0.3
4-Etilguaiakola	ND	ND	ND	ND	ND
4-Etilkatekola	ND	ND	ND	60 ± 1	99 ± 3
Besteak^a					
Katekola	ND	ND	ND	ND	ND
Tirosola	ND	13.7 ± 0.3	17.1 ± 0.2	16.7 ± 0.3	18.0 ± 0.6
Parametro fisikokimikoak^b					
FRAP, Trolox mmol/L	8.3 ± 0.4	10.4 ± 0.6	7.8 ± 0.3	9.2 ± 0.8	8.8 ± 0.6
ABTS, Trolox mmol/L	14.7 ± 0.9	16.0 ± 1.0	16.9 ± 0.8	16.4 ± 0.5	18.2 ± 0.7
FC, azido taniko g/L	2.8 ± 0.1	2.7 ± 0.1	2.5 ± 0.1	3.0 ± 0.2	2.8 ± 0.1
FC, azido galiko g/L	2.3 ± 0.3	2.2 ± 0.1	2.0 ± 0.2	2.5 ± 0.5	2.6 ± 0.3
PPC, A _{510 nm}	1.46 ± 0.03	1.49 ± 0.03	1.53 ± 0.03	1.29 ± 0.02	0.99 ± 0.01
PPC, azido taniko g/L	1.91 ± 0.06	2.00 ± 0.06	2.09 ± 0.08	1.57 ± 0.04	1.04 ± 0.01
Iluntzea, A _{420 nm}	6.658 ± 0.010	4.677 ± 0.010	4.962 ± 0.027	3.533 ± 0.018	1.691 ± 0.014
Uhartasuna, NTU	1720 ± 7	2688 ± 32	2640.0 ± 42	554.0 ± 2.8	51.5 ± 0.2
E, mV	290 ± 1	281 ± 3	287 ± 1	281 ± 2	216 ± 8

^aBi neurketaren batez bestekoa ± desbideratze estandarra

^bHiru neurketaren batez bestekoa ± desbideratze estandarra

FRAP: loi ferrikoa erreduzitzeko indar antioxidatzailea

ABTS: 2,2'-Azino-bis-(azido 3 etilbenzotiazolin-6-sulfonikoa)

FC: Folin-Ciocalteu indizea

PPC: Proteinekin hauspeatzeko gaitasuna

A: Absorbantzia

E: Erredox potentziala

ND: Detektatu gabea (not detected)

MOZOLOA-2013. Interes enologikoa duten parametro fisikokimikoak eta konposatuak

Parametroa/konposatua	Hartzidura egunak eta data				
	0	12	20	83	231
	2013/10/23	2013/11/04	2013/11/12	2014/01/14	2014/06/11
Parametro fisikokimikoak^a					
A _{280 nm}	70.2 ± 0.1	66.4 ± 0.1	64.9 ± 0.3	56.9 ± 0.2	45.2 ± 0.8
A _{320 nm}	68.1 ± 0.8	55.8 ± 0.6	53.1 ± 0.9	39.0 ± 0.7	25.1 ± 1.0
Azidotasan totala, H ⁺ mmol/L	26.4 ± 0.1	24.5 ± 1.0	22.7 ± 0.3	25.6 ± 0.1	33.9 ± 0.1
Brix graduak	13.2 ± 0.1	6.7 ± 0.1	4.8 ± 0.1	4.3 ± 0.1	3.9 ± 0.1
Dentsitatea, g/L	1050.8 ± 0.1	1010.8 ± 0.1	1000.6 ± 0.1	995.2 ± 0.1	994.7 ± 0.1
pH	4.04 ± 0.01	4.15 ± 0.03	3.89 ± 0.05	4.10 ± 0.07	3.96 ± 0.03
Azido organikoak^a					
Azido azetiko, g/L	ND	0.10 ± 0.02	0.19 ± 0.02	0.29 ± 0.04	0.78 ± 0.05
Azido L-(+)-laktiko, g/L	0.09 ± 0.03	1.57 ± 0.08	1.73 ± 0.01	1.17 ± 0.07	0.95 ± 0.05
Azido D-(+)-laktiko, g/L	0.11 ± 0.02	0.02 ± 0.01	0.09 ± 0.01	0.66 ± 0.01	0.80 ± 0.04
Azido laktiko totala, g/L	0.20 ± 0.03	1.59 ± 0.09	1.81 ± 0.02	1.83 ± 0.07	1.75 ± 0.06
Azido L-(-)-malikoa, g/L	2.37 ± 0.08	0.06 ± 0.01	0.08 ± 0.02	0.12 ± 0.01	0.04 ± 0.01
Azukreak eta glizerola^a					
Fruktosa, g/L	66 ± 1	13.4 ± 0.3	0.13 ± 0.02	0.17 ± 0.02	ND
Glukosa, g/L	16.9 ± 0.5	0.87 ± 0.03	0.10 ± 0.01	0.07 ± 0.01	0.06 ± 0.02
Sakarosa, g/L	22.2 ± 0.9	15.7 ± 0.6	11.7 ± 0.2	0.80 ± 0.02	0.16 ± 0.02
Azukre totala, g/L	105 ± 2	30.0 ± 0.7	12.0 ± 0.2	1.04 ± 0.02	0.22 ± 0.02
Glizerola, g/L	0.4 ± 0.1	1.7 ± 0.1	2.0 ± 0.2	2.3 ± 0.1	1.7 ± 0.1
Konposatu lurrinkorrak^b					
Akroleina, mg/L	ND	ND	ND	ND	ND
Azetaldehidoa, mg/L	ND	11 ± 1	ND	ND	ND
Etanola, % v/v	ND	4.5 ± 0.3	6.0 ± 0.3	6.9 ± 0.1	7.1 ± 0.3
Etil azetatoa, mg/L	ND	ND	6 ± 1	10 ± 1	8 ± 1
Metanola, mg/L	ND	10 ± 1	13 ± 1	18 ± 2	30 ± 2

^aBi neurketaren batez bestekoa ± desbideratze estandarra

^bHiru neurketaren batez bestekoa ± desbideratze estandarra

A: Absorbantzia

A_{280 nm} : polifenol totalen indizea

A_{320 nm} : azido hidroxizimikoak

ND: Detektatu gabea (not detected)

NARBARTE GORRIA-2013. Polifenolak (mg/L) eta PLS modeloetan erabilitako parametro fisikokimikoak

Parametroa/konposatua	Hartzidura egunak eta data			
	0	42	82	247
	2013/10/23	2013/12/04	2014/01/13	2014/06/27
Azido hidroxizininamikoak^a				
Azido hidrokafeikoa	ND	ND	ND	ND
Azido kafeikoa	ND	ND	7 ± 1	10 ± 2
Azido klorogenikoa	408 ± 1	384 ± 2	364 ± 2	337 ± 1
Azido <i>p</i> -kumarikoa	ND	ND	2.3 ± 0.1	3.0 ± 0.1
Azido 4- <i>p</i> -kumaroilkinikoa	188 ± 7	164 ± 2	185 ± 4	175 ± 7
Azido <i>trans</i> -ferulikoa	ND	ND	1.6 ± 0.1	1.6 ± 0.1
Flaban-3-olak^a				
(-)-epikatekina	155 ± 1	121 ± 2	142 ± 2	134 ± 1
(+)-katekina	13.9 ± 0.6	11.7 ± 0.2	ND	13.1 ± 0.8
Prozianidina B1	53.3 ± 0.5	45.1 ± 0.9	45.8 ± 0.7	45.1 ± 0.2
Prozianidina B2	392 ± 1	342 ± 5	32 ± 1	28 ± 2
Prozianidina B5	10.8 ± 0.3	6.9 ± 0.2	8.0 ± 0.4	7.4 ± 0.6
Dihidroalkonak^a				
Floretin 2'- <i>O</i> -xiloglukosidoa	133 ± 6	130 ± 10	137 ± 1	136 ± 2
Floridzina	28 ± 2	28 ± 1	23 ± 1	21 ± 1
Flabonolak^a				
Abikularina	0.23 ± 0.01	ND	ND	ND
Hiperina (hiperosidoa)	0.44 ± 0.03	0.26 ± 0.01	0.27 ± 0.03	ND
Isokertzitrina	0.46 ± 0.01	0.28 ± 0.02	0.18 ± 0.02	ND
Kertzitrina	2.2 ± 0.1	1.8 ± 0.1	1.9 ± 0.1	1.9 ± 0.1
Azido bentzoikoak^a				
Azido galikoa	ND	ND	ND	ND
Azido <i>p</i> -hidroxibentzoikoa	ND	ND	0.93 ± 0.02	0.70 ± 0.03
Azido protokatekuikoa	ND	ND	1.22 ± 0.02	1.12 ± 0.03
Brett izaerakoak^a				
4-Etilfenola	ND	ND	ND	ND
4-Etilguaiakola	ND	ND	ND	ND
4-Etilkatekola	ND	ND	ND	ND
Besteak^a				
Katekola	ND	ND	ND	ND
Tirosola	ND	8.4 ± 0.5	9.4 ± 0.3	6.5 ± 0.1
Parametro fisikokimikoak^b				
FRAP, Trolox mmol/L	11.1 ± 0.5	10.4 ± 0.6	9.3 ± 0.2	10.4 ± 0.5
ABTS, Trolox mmol/L	17.9 ± 0.9	20.1 ± 0.6	17.2 ± 0.9	16.6 ± 0.3
FC, azido taniko g/L	3.3 ± 0.3	2.3 ± 0.1	2.4 ± 0.2	2.1 ± 0.1
FC, azido galiko g/L	2.9 ± 0.3	1.9 ± 0.1	1.9 ± 0.2	1.6 ± 0.2
PPC, A _{510 nm}	0.87 ± 0.01	0.61 ± 0.02	0.69 ± 0.01	0.64 ± 0.01
PPC, azido taniko g/L	0.94 ± 0.01	0.65 ± 0.02	0.73 ± 0.01	0.66 ± 0.02
Iluntzea, A _{420 nm}	0.703 ± 0.028	0.328 ± 0.021	0.368 ± 0.018	0.500 ± 0.010
Uhertasuna, NTU	38.7 ± 0.4	17.2 ± 0	96.3 ± 0	8.5 ± 0.1
E, mV	278 ± 1	162 ± 2	129 ± 2	158 ± 1

^aBi neurketaren batez bestekoa ± desbideratze estandarra

PPC: Proteinekina hauspeatzeko gaitasuna

^bHiru neurketaren batez bestekoa ± desbideratze estandarra

A: Absorbantzia

FRAP: loi ferrikoa erreduitzeko indar antioxidatzailea

E: Erredox potentziala

ABTS: 2,2'-Azino-bis-(azido 3 etilbenzotiazolin-6-sulfonikoa)

ND: Detektatu gabea (not detected)

FC: Folin-Ciocalteu indizea

NARBARTE GORRIA-2013. Interes enologikoa duten parametro fisikokimikoak eta konposatuak

Parametroa/konposatua	Hartzidura egunak eta data			
	0	42	82	247
	2013/10/23	2013/12/04	2014/01/13	2014/06/27
Parametro fisikokimikoak^a				
A _{280 nm}	50.8 ± 0.9	40.6 ± 0.2	39.7 ± 0.5	46.0 ± 0.1
A _{320 nm}	37.0 ± 0.7	32.4 ± 0.9	31.4 ± 0.3	34.5 ± 0.5
Azidotasan totala, H ⁺ mmol/L	254.9 ± 0.2	199.7 ± 0.1	109.5 ± 0.1	108.8 ± 0.1
Brix graduak	11.2 ± 0.1	4.4 ± 0.1	4.0 ± 0.1	3.9 ± 0.1
Dentsitate, g/L	1043.3 ± 0.1	1002.7 ± 0.1	999.8 ± 0.1	999.9 ± 0.1
pH	3.14 ± 0.01	3.29 ± 0.04	3.69 ± 0.03	3.53 ± 0.03
Azido organikoak^a				
Azido azetiko, g/L	ND	0.49 ± 0.05	0.70 ± 0.01	0.68 ± 0.01
Azido L-(+)-laktiko, g/L	0.08 ± 0.01	2.78 ± 0.08	10.70 ± 0.03	11.10 ± 0.09
Azido D-(+)-laktiko, g/L	0.02 ± 0.01	0.12 ± 0.01	0.35 ± 0.01	0.36 ± 0.01
Azido laktiko totala, g/L	0.10 ± 0.02	2.90 ± 0.08	11.05 ± 0.04	11.46 ± 0.09
Azido L-(-)-maliko, g/L	19.70 ± 0.07	13.13 ± 0.12	0.07 ± 0.02	ND
Azukreak eta glizerola^a				
Fruktosa, g/L	47.0 ± 0.6	ND	ND	ND
Glukosa, g/L	21.5 ± 0.7	0.08 ± 0.02	0.09 ± 0.04	0.03 ± 0.01
Sakarosa, g/L	11 ± 2	0.14 ± 0.02	ND	ND
Azukre totala, g/L	80 ± 2	0.21 ± 0.02	0.09 ± 0.04	0.03 ± 0.01
Glizerola, g/L	ND	1.8 ± 0.1	1.7 ± 0.1	1.3 ± 0.1
Konposatu lurrinkorrak^b				
Akroleina, mg/L	ND	ND	ND	ND
Azetaldehidoa, mg/L	ND	ND	ND	ND
Etanola, % v/v	ND	4.9 ± 0.1	5.0 ± 0.1	5.2 ± 0.3
Etil azetatoa, mg/L	18 ± 2	36 ± 1	32 ± 2	41 ± 3
Metanola, mg/L	ND	16 ± 2	14 ± 2	16 ± 1

^aBi neurketaren batez bestekoa ± desbideratze estandarra

^bHiru neurketaren batez bestekoa ± desbideratze estandarra

A: Absorbantzia

A_{280 nm} : polifenol totalen indizea

A_{320 nm} : azido hidroxizimikoak

ND: Detektatu gabea (not detected)

URDIN-2013. Polifenolak (mg/L) eta PLS modeloetan erabilitako parametro fisikokimikoak

Parametroa/konposatua	Hartidura egunak eta data				
	0	11	46	77	224
	2013/10/31	2013/11/11	2013/12/16	2014/01/16	2014/06/12
Azido hidroxiznamikoak^a					
Azido hidrokafeikoa	ND	ND	ND	ND	100 ± 1
Azido kafeikoa	ND	67 ± 2	102 ± 1	114 ± 6	ND
Azido klorogenikoa	313 ± 1	109 ± 1	ND	ND	ND
Azido <i>p</i> -kumarikoa	ND	0.6 ± 0.1	1.4 ± 0.1	1.7 ± 0.2	ND
Azido 4- <i>p</i> -kumaroilkinikoa	41 ± 1	41 ± 1	40 ± 2	39 ± 1	29 ± 2
Azido <i>trans</i> -ferulikoa	ND	0.4 ± 0.1	1.3 ± 0.2	1.8 ± 0.3	1.3 ± 0.1
Flaban-3-olak^a					
(-)-epikatekina	6 ± 1	19 ± 1	22 ± 1	20 ± 1	ND
(+)-katekina	4.7 ± 0.7	5.4 ± 0.6	14.7 ± 1.0	12.4 ± 0.1	ND
Prozianidina B1	5.1 ± 0.1	4.1 ± 0.2	10.0 ± 0.1	13.1 ± 0.7	ND
Prozianidina B2	2.0 ± 0.1	1.5 ± 0.1	2.2 ± 0.3	2.9 ± 0.1	ND
Prozianidina B5	ND	ND	ND	0.8 ± 0.1	ND
Dihidroalkonak^a					
Floretin 2'- <i>O</i> -xiloglukosidoa	47 ± 1	81 ± 1	74 ± 2	70 ± 1	4.7 ± 0.1
Floridzina	ND	12 ± 1	13 ± 1	13 ± 2	26 ± 1
Flabonolak^a					
Abikularina	ND	ND	ND	ND	ND
Hiperina (hiperosidoa)	ND	ND	ND	ND	ND
Isokertzitrina	ND	ND	ND	ND	ND
Kertzitrina	ND	0.56 ± 0.09	0.92 ± 0.04	0.71 ± 0.02	0.97 ± 0.05
Azido bentzoikoak^a					
Azido galikoa	ND	ND	ND	ND	ND
Azido <i>p</i> -hidroxibentzoikoa	ND	ND	ND	ND	0.20 ± 0.01
Azido protokatekuikoa	ND	1.13 ± 0.03	1.05 ± 0.03	1.03 ± 0.01	1.49 ± 0.07
Brett izaerakoak^a					
4-Etilfenola	ND	ND	ND	ND	ND
4-Etilguaiakola	ND	ND	ND	ND	ND
4-Etilkatekola	ND	ND	ND	ND	44 ± 1
Besteak^a					
Katekola	ND	ND	ND	ND	ND
Tirosola	ND	16.9 ± 0.1	15.1 ± 0.3	15.5 ± 0.1	16.3 ± 0.5
Parametro fisikokimikoak^b					
FRAP, Trolox mmol/L	5.4 ± 0.4	5.9 ± 0.4	4.2 ± 0.2	4.9 ± 1.0	5.2 ± 0.4
ABTS, Trolox mmol/L	11.8 ± 0.9	8.0 ± 0.4	7.5 ± 0.8	8.8 ± 0.6	11.3 ± 0.4
FC, azido taniko g/L	2.1 ± 0.1	1.4 ± 0.1	1.3 ± 0.1	1.5 ± 0.1	1.6 ± 0.1
FC, azido galiko g/L	1.8 ± 0.3	1.1 ± 0.1	1.2 ± 0.2	1.1 ± 0.2	1.3 ± 0.2
PPC, A _{510 nm}	0.77 ± 0.02	0.78 ± 0.01	0.54 ± 0.01	0.42 ± 0.02	0.43 ± 0.01
PPC, azido taniko g/L	0.82 ± 0.03	0.83 ± 0.01	0.58 ± 0.01	0.48 ± 0.02	0.49 ± 0.01
Iluntzea, A _{420 nm}	2.863 ± 0.015	3.098 ± 0.013	2.361 ± 0.010	1.327 ± 0.015	0.937 ± 0.018
Uhertasuna, NTU	708 ± 4	2750 ± 14	1925.0 ± 47	268 ± 1	19.4 ± 0.1
E, mV	337 ± 1	316 ± 2	328 ± 3	284 ± 1	219 ± 1

^aBi neurketaren batez bestekoa ± desbideratze estandarra

^bHiru neurketaren batez bestekoa ± desbideratze estandarra

FRAP: loi ferrikoa erreduzitzeko indar antioxidatzailea

ABTS: 2,2'-Azino-bis-(azido 3 etilbenzotiazolin-6-sulfonikoa)

FC: Folin-Ciocalteu indizea

PPC: Proteinekin hauspeatzeko gaitasuna

A: Absorbantzia

E: Erredox potentziala

ND: Detektatu gabea (not detected)

URDIN-2013. Interes enologikoa duten parametro fisikokimikoak eta konposatuak

Parametroa/konposatua	Hartzidura egunak eta data				
	0	11	46	77	224
	2013/10/31	2013/11/11	2013/12/16	2014/01/16	2014/06/12
Parametro fisikokimikoak^a					
A _{280 nm}	39.7 ± 0.2	35.2 ± 0.4	36.2 ± 0.2	25.0 ± 0.5	23.6 ± 0.2
A _{320 nm}	35.3 ± 0.1	28.0 ± 0.3	28.3 ± 0.6	20.3 ± 0.7	11.1 ± 0.1
Azidotasan totala, H ⁺ mmol/L	93.8 ± 0.3	45.1 ± 0.1	45.3 ± 0.1	44.9 ± 0.2	66.0 ± 0.1
Brix graduak	13.1 ± 0.1	6.3 ± 0.1	4.7 ± 0.1	4.7 ± 0.1	4.0 ± 0.1
Dentsitatea, g/L	1052.3 ± 0.1	1010.3 ± 0.1	999.0 ± 0.1	996.6 ± 0.1	996.2 ± 0.1
pH	3.48 ± 0.01	3.90 ± 0.05	3.83 ± 0.05	3.86 ± 0.05	3.82 ± 0.02
Azido organikoak^a					
Azido azetiko, g/L	ND	0.08 ± 0.03	0.21 ± 0.03	0.11 ± 0.05	1.02 ± 0.02
Azido L-(+)-laktikoa, g/L	0.09 ± 0.01	5.63 ± 0.02	5.71 ± 0.05	5.42 ± 0.06	3.93 ± 0.07
Azido D-(+)-laktikoa, g/L	0.08 ± 0.02	0.09 ± 0.04	0.07 ± 0.01	0.24 ± 0.01	1.69 ± 0.06
Azido laktiko totala, g/L	0.17 ± 0.02	5.72 ± 0.04	5.78 ± 0.05	5.66 ± 0.06	5.62 ± 0.10
Azido L-(-)-malikoa, g/L	7.83 ± 0.01	0.13 ± 0.01	0.13 ± 0.02	0.12 ± 0.01	0.04 ± 0.01
Azukreak eta glizerola^a					
Fruktosa, g/L	76 ± 1	0.09 ± 0.01	0.36 ± 0.02	0.48 ± 0.05	0.34 ± 0.06
Glukosa, g/L	11.4 ± 0.7	0.12 ± 0.01	0.10 ± 0.01	0.21 ± 0.05	0.05 ± 0.05
Sakarosa, g/L	30 ± 2	28.85 ± 0.05	4.70 ± 0.05	0.92 ± 0.03	0.14 ± 0.03
Azukre totala, g/L	117 ± 2	29.06 ± 0.05	5.16 ± 0.05	1.61 ± 0.05	0.53 ± 0.09
Glizerola, g/L	0.5 ± 0.2	2.0 ± 0.1	1.9 ± 0.2	2.1 ± 0.1	1.8 ± 0.1
Konposatu lurrinkorrak^b					
Akroleina, mg/L	ND	ND	ND	ND	ND
Azetaldehidoa, mg/L	ND	ND	7 ± 1	ND	ND
Etanola, % v/v	ND	5.0 ± 0.4	6.7 ± 0.2	6.8 ± 0.2	6.9 ± 0.2
Etil azetatoa, mg/L	ND	ND	7 ± 1	8 ± 1	ND
Metanola, mg/L	ND	21 ± 3	25 ± 1	36 ± 2	38 ± 2

^aBi neurketaren batez bestekoa ± desbideratze estandarra

^bHiru neurketaren batez bestekoa ± desbideratze estandarra

A: Absorbantzia

A_{280 nm} : polifenol totalen indizea

A_{320 nm} : azido hidroxizimikoak

ND: Detektatu gabea (not detected)

URTEBI TXIKI-2013. Polifenolak (mg/L) eta PLS modeloetan erabilitako parametro fisikokimikoak

Parametroa/konposatua	Hartidura egunak eta data				
	0	7	16	219	237
	2013/10/22	2013/10/29	2013/11/07	2014/05/29	2014/06/16
Azido hidroxiznamikoak^a					
Azido hidrokafeikoa	ND	ND	ND	ND	30 ± 1
Azido kafeikoa	ND	ND	ND	13 ± 1	ND
Azido klorogenikoa	115 ± 2	190 ± 1	185 ± 1	149 ± 2	99 ± 1
Azido <i>p</i> -kumarikoa	ND	ND	0.2 ± 0.1	2.5 ± 0.1	0.5 ± 0.1
Azido 4- <i>p</i> -kumaroilkinikoa	61 ± 1	83 ± 1	80 ± 2	60 ± 1	69 ± 1
Azido <i>trans</i> -ferulikoa	ND	ND	ND	ND	1.9 ± 0.2
Flaban-3-olak^a					
(-)-epikatekina	13 ± 2	70 ± 2	59 ± 10	55 ± 2	49 ± 1
(+)-katekina	ND	7.6 ± 0.5	6.3 ± 0.8	7.7 ± 0.5	6.2 ± 0.7
Prozianidina B1	4.0 ± 0.4	18.7 ± 0.8	16.6 ± 0.2	22.0 ± 0.5	19.0 ± 0.1
Prozianidina B2	1.5 ± 0.2	6.0 ± 0.4	6.7 ± 0.9	2.3 ± 0.3	ND
Prozianidina B5	0.7 ± 0.2	2.0 ± 0.1	1.2 ± 0.1	1.6 ± 0.1	ND
Dihidroalkonak^a					
Floretin 2'- <i>O</i> -xiloglukosidoa	16 ± 1	30 ± 1	30 ± 1	29 ± 1	29 ± 2
Floridzina	11 ± 2	25 ± 1	17 ± 2	20 ± 2	12 ± 2
Flabonolak^a					
Abikularina	ND	ND	ND	ND	ND
Hiperina (hiperosidoa)	ND	ND	ND	ND	ND
Isokertzitrina	ND	ND	ND	ND	ND
Kertzitrina	0.25 ± 0.04	0.42 ± 0.02	0.38 ± 0.06	0.50 ± 0.07	0.74 ± 0.03
Azido bentzoikoak^a					
Azido galikoa	ND	ND	ND	ND	ND
Azido <i>p</i> -hidroxibentzoikoa	ND	ND	ND	ND	0.73 ± 0.02
Azido protokatekuikoa	ND	0.92 ± 0.03	0.84 ± 0.01	0.80 ± 0.02	0.70 ± 0.03
Brett izaerakoak^a					
4-Etilfenola	ND	ND	ND	ND	ND
4-Etilguaiakola	ND	ND	ND	ND	ND
4-Etilkatekola	ND	ND	ND	ND	ND
Besteak^a					
Katekola	ND	ND	ND	ND	ND
Tirosola	ND	10.3 ± 0.4	10.6 ± 0.1	10.4 ± 0.2	10.1 ± 0.9
Parametro fisikokimikoak^b					
FRAP, Trolox mmol/L	3.5 ± 0.9	7.2 ± 0.4	4.7 ± 0.2	4.5 ± 0.9	4.4 ± 0.3
ABTS, Trolox mmol/L	6.4 ± 0.7	9.2 ± 0.8	9.8 ± 0.5	8.3 ± 0.9	11.0 ± 0.7
FC, azido taniko g/L	1.4 ± 0.2	1.5 ± 0.2	1.3 ± 0.1	1.3 ± 0.1	1.5 ± 0.1
FC, azido galiko g/L	1.1 ± 0.3	1.3 ± 0.1	1.0 ± 0.1	1.0 ± 0.1	1.3 ± 0.2
PPC, A _{510 nm}	0.45 ± 0.01	0.53 ± 0.01	0.49 ± 0.01	0.37 ± 0.01	0.41 ± 0.01
PPC, azido taniko g/L	0.51 ± 0.02	0.58 ± 0.01	0.54 ± 0.01	0.44 ± 0.02	0.47 ± 0.01
Iluntzea, A _{420 nm}	1.767 ± 0.014	1.067 ± 0.018	0.916 ± 0.026	0.633 ± 0.015	0.679 ± 0.010
Uhertasuna, NTU	474 ± 6	1460 ± 21	969.5 ± 5	112 ± 1	103 ± 1
E, mV	311 ± 1	186 ± 2	168 ± 1	177 ± 1	202 ± 3

^aBi neurketaren batez bestekoa ± desbideratze estandarra

^bHiru neurketaren batez bestekoa ± desbideratze estandarra

FRAP: loi ferrikoa erreduzitzeko indar antioxidatzailea

ABTS: 2,2'-Azino-bis-(azido 3 etilbenzotiazolin-6-sulfonikoa)

FC: Folin-Ciocalteu indizea

PPC: Proteinekin hauspeatzeko gaitasuna

A: Absorbantzia

E: Erredox potentziala

ND: Detektatu gabea (not detected)

URTEBI TXIKI-2013. Interes enologikoa duten parametro fisikokimikoak eta konposatuak

Parametroa/konposatua	Hartzidura egunak eta data				
	0	7	16	219	237
	2013/10/22	2013/10/29	2013/11/07	2014/05/29	2014/06/16
Parametro fisikokimikoak^a					
A _{280 nm}	22.0 ± 0.2	27.9 ± 0.7	24.9 ± 0.5	24.7 ± 0.3	22.9 ± 1.0
A _{320 nm}	16.0 ± 0.1	19.9 ± 0.5	18.3 ± 0.1	17.7 ± 0.8	14.2 ± 0.5
Azidotasan totala, H ⁺ mmol/L	105.0 ± 0.1	57.5 ± 0.1	54.3 ± 0.1	49.0 ± 0.1	50.4 ± 0.3
Brix graduak	10.8 ± 0.1	4.3 ± 0.1	3.7 ± 0.1	3.3 ± 0.1	3.2 ± 0.2
Dentsitatea, g/L	1041.4 ± 0.1	1003.1 ± 0.1	998.8 ± 0.1	995.6 ± 0.1	995.7 ± 0.1
pH	3.36 ± 0.03	3.70 ± 0.02	3.62 ± 0.05	3.76 ± 0.03	3.71 ± 0.05
Azido organikoak^a					
Azido azetiko, g/L	ND	ND	0.14 ± 0.03	0.13 ± 0.06	0.26 ± 0.01
Azido L-(+)-laktikoa, g/L	0.06 ± 0.01	5.12 ± 0.10	5.66 ± 0.02	4.76 ± 0.21	4.46 ± 0.10
Azido D-(+)-laktikoa, g/L	0.11 ± 0.03	0.07 ± 0.04	0.09 ± 0.01	0.17 ± 0.01	1.16 ± 0.01
Azido laktiko totala, g/L	0.17 ± 0.03	5.2 ± 0.1	5.7 ± 0.0	4.9 ± 0.2	5.6 ± 0.1
Azido L-(-)-malikoa, g/L	9.33 ± 0.02	0.91 ± 0.03	0.83 ± 0.10	0.18 ± 0.02	0.06 ± 0.01
Azukreak eta glizerola^a					
Fruktosa, g/L	54.9 ± 0.7	0.16 ± 0.01	0.36 ± 0.02	0.05 ± 0.02	0.03 ± 0.02
Glukosa, g/L	21.9 ± 0.8	0.05 ± 0.01	0.16 ± 0.01	0.07 ± 0.02	0.05 ± 0.01
Sakarosa, g/L	15.4 ± 0.9	12.6 ± 0.3	5.10 ± 0.02	ND	ND
Azukre totala, g/L	92 ± 1	12.8 ± 0.3	5.62 ± 0.03	0.12 ± 0.01	0.07 ± 0.02
Glizerola, g/L	ND	1.4 ± 0.1	1.5 ± 0.1	1.7 ± 0.1	1.7 ± 0.2
Konposatu lurrinkorrak^b					
Akroleina, mg/L	ND	ND	ND	ND	ND
Azetaldehidoa, mg/L	ND	7 ± 1	13 ± 1	ND	ND
Etanola, % v/v	ND	4.3 ± 0.1	5.1 ± 0.1	5.7 ± 0.1	5.6 ± 0.1
Etil azetatoa, mg/L	ND	ND	8 ± 1	12 ± 1	10 ± 1
Metanola, mg/L	ND	ND	ND	ND	ND

^aBi neurketaren batez bestekoa ± desbideratze estandarra

^bHiru neurketaren batez bestekoa ± desbideratze estandarra

A: Absorbantzia

A_{280 nm} : polifenol totalen indizea

A_{320 nm} : azido hidroxizimikoak

ND: Detektatu gabea (not detected)

ARITZA-2014. Polifenolak (mg/L) eta PLS modeloetan erabilitako parametro fisikokimikoak

Parametroa/konposatua	Hartzidura egunak eta data			
	0	31	108	153
	2014/10/03	2014/11/03	2015/01/19	2015/03/05
<i>Azido hidroxiznamikoak^a</i>				
Azido hidrokafeikoa	ND	ND	ND	ND
Azido kafeikoa	7 ± 2	32 ± 1	46 ± 4	42 ± 1
Azido klorogenikoa	269 ± 12	201 ± 1	188 ± 1	190 ± 2
Azido <i>p</i> -kumarikoa	ND	0.3 ± 0.1	0.6 ± 0.1	0.8 ± 0.2
Azido 4- <i>p</i> -kumaroilkinikoa	73 ± 3	75 ± 1	74 ± 2	75 ± 2
Azido <i>trans</i> -ferulikoa	1.0 ± 0.1	1.1 ± 0.2	1.4 ± 0.1	1.4 ± 0.3
<i>Flaban-3-olak^a</i>				
(-)-epikatekina	38 ± 4	47 ± 4	49 ± 3	49 ± 2
(+)-katekina	6.7 ± 0.9	6.7 ± 0.4	6.6 ± 0.6	6.2 ± 0.7
Prozianidina B1	27.2 ± 0.6	27.7 ± 0.1	28.0 ± 0.5	29.4 ± 0.3
Prozianidina B2	152 ± 2	157 ± 1	149 ± 4	3 ± 0
Prozianidina B5	5.5 ± 0.3	5.0 ± 0.1	3.9 ± 0.2	4.4 ± 0.2
<i>Dihidroalkonak^a</i>				
Floretin 2'- <i>O</i> -xiloglukosidoa	20 ± 1	21 ± 1	20 ± 1	21 ± 1
Floridzina	13 ± 1	15 ± 1	15 ± 2	15 ± 1
<i>Flabonolak^a</i>				
Abikularina	0.33 ± 0.04	0.28 ± 0.01	0.16 ± 0.04	0.28 ± 0.06
Hiperina (hiperosidoa)	0.46 ± 0.02	0.44 ± 0.01	0.37 ± 0.04	0.44 ± 0.03
Isokertzitrina	0.70 ± 0.04	0.68 ± 0.03	0.64 ± 0.08	0.65 ± 0.03
Kertzitrina	1.9 ± 0.1	1.8 ± 0.2	1.5 ± 0.3	1.7 ± 0.2
<i>Azido bentzoikoak^a</i>				
Azido galikoa	ND	ND	0.24 ± 0.01	ND
Azido <i>p</i> -hidroxibentzoikoa	ND	ND	ND	ND
Azido protokatekuikoa	ND	0.58 ± 0.02	0.80 ± 0.01	0.81 ± 0.04
<i>Brett izaerakoak^a</i>				
4-Etilfenola	ND	ND	0.5 ± 0.1	1.2 ± 0.7
4-Etilguaiakola	ND	ND	0.45 ± 0.04	0.39 ± 0.02
4-Etilkatekola	ND	ND	ND	1.9 ± 0.6
<i>Besteak^a</i>				
Katekola	ND	ND	ND	ND
Tirosola	ND	9.2 ± 0.2	8.6 ± 0.3	10.0 ± 0.9
<i>Parametro fisikokimikoak^b</i>				
FRAP, Trolox mmol/L	7.6 ± 0.5	7.0 ± 0.6	6.7 ± 0.4	7.9 ± 0.6
ABTS, Trolox mmol/L	13.0 ± 0.9	13.1 ± 0.7	14.0 ± 1.0	15.6 ± 0.9
FC, azido taniko g/L	2.3 ± 0.1	1.8 ± 0.1	1.8 ± 0.2	1.9 ± 0.1
FC, azido galiko g/L	2.0 ± 0.1	1.8 ± 0.1	1.8 ± 0.2	1.7 ± 0.1
PPC, A _{510 nm}	0.72 ± 0.01	0.66 ± 0.01	0.65 ± 0.03	0.65 ± 0.02
PPC, azido taniko g/L	1.06 ± 0.02	0.96 ± 0.02	0.94 ± 0.03	0.94 ± 0.02
Iluntzea, A _{420 nm}	0.689 ± 0.016	0.481 ± 0.023	0.399 ± 0.016	0.476 ± 0.025
Uhertasuna, NTU	308 ± 1	732 ± 25	46.0 ± 0.4	29.5 ± 0.1
E, mV	324 ± 7	282 ± 7	260 ± 8	300 ± 8

^aBi neurketaren batez bestekoa ± desbideratze estandarra

PPC: Proteinekina hauspeatzeko gaitasuna

^bHiru neurketaren batez bestekoa ± desbideratze estandarra

A: Absorbantzia

FRAP: loi ferrikoa erreduitzeko indar antioxidatzailea

E: Erredox potentziala

ABTS: 2,2'-Azino-bis-(azido 3 etilbenzotiazolin-6-sulfonikoa)

ND: Detektatu gabea (not detected)

FC: Folin-Ciocalteu indizea

ARITZA-2014. Interes enologikoa duten parametro fisikokimikoak eta konposatuak

Parametroa/konposatua	Hartzidura egunak eta data			
	0	31	108	153
	2014/10/03	2014/11/03	2015/01/19	2015/03/05
Parametro fisikokimikoak^a				
A _{280 nm}	35.4 ± 0.2	35.1 ± 0.9	37.0 ± 0.5	38.1 ± 0.2
A _{320 nm}	24.7 ± 0.8	24.6 ± 0.7	26.1 ± 0.9	26.8 ± 0.7
Azidotasan totala, H ⁺ mmol/L	113.7 ± 0.5	78.5 ± 0.2	50.0 ± 0.1	51.4 ± 0.1
Brix graduak	9.5 ± 0.1	3.7 ± 0.1	3.1 ± 0.1	2.8 ± 0.1
Dentsitate, g/L	1036.7 ± 0.1	1000.1 ± 0.1	996.7 ± 0.1	997.5 ± 0.1
pH	3.43 ± 0.02	3.60 ± 0.03	3.72 ± 0.04	3.74 ± 0.04
Azido organikoak^a				
Azido azetiko, g/L	0.11 ± 0.03	0.14 ± 0.04	0.08 ± 0.02	0.36 ± 0.07
Azido L-(+)-laktiko, g/L	0.08 ± 0.02	2.96 ± 0.09	5.75 ± 0.11	5.71 ± 0.08
Azido D-(+)-laktiko, g/L	0.07 ± 0.01	0.06 ± 0.01	0.29 ± 0.06	0.30 ± 0.02
Azido laktiko totala, g/L	0.15 ± 0.03	3.03 ± 0.09	6.04 ± 0.12	6.01 ± 0.08
Azido L-(-)-malikoa, g/L	8.82 ± 0.01	3.98 ± 0.09	ND	ND
Azukreak eta glizerola^a				
Fruktosa, g/L	49 ± 2	0.78 ± 0.03	0.13 ± 0.02	0.16 ± 0.02
Glukosa, g/L	17.8 ± 0.8	0.32 ± 0.01	0.04 ± 0.01	0.06 ± 0.01
Sakarosa, g/L	8.6 ± 0.6	4.3 ± 0.1	ND	ND
Azukre totala, g/L	75 ± 2	5.4 ± 0.1	0.17 ± 0.03	0.21 ± 0.03
Glizerola, g/L	ND	1.3 ± 0.2	1.5 ± 0.1	1.5 ± 0.1
Konposatu lurrinkorrak^b				
Akroleina, mg/L	ND	ND	ND	ND
Azetaldehidoa, mg/L	ND	6 ± 1	ND	ND
Etanola, % v/v	ND	4.0 ± 0.2	4.6 ± 0.1	4.4 ± 0.2
Etil azetatoa, mg/L	ND	ND	ND	ND
Metanola, mg/L	ND	7 ± 1	7 ± 1	ND

^aBi neurketaren batez bestekoa ± desbideratze estandarra

^bHiru neurketaren batez bestekoa ± desbideratze estandarra

A: Absorbantzia

A_{280 nm} : polifenol totalen indizea

A_{320 nm} : azido hidroxizimikoak

ND: Detektatu gabea (not detected)

ERREZILA-2014. Polifenolak (mg/L) eta PLS modeloetan erabilitako parametro fisikokimikoak

Parametroa/konposatua	Hartzidura egunak eta data			
	0	26	83	130
	2014/10/30	2014/11/25	2015/01/21	2015/03/09
<i>Azido hidroxizininamikoak^a</i>				
Azido hidrokafeikoa	ND	ND	31 ± 2	30 ± 1
Azido kafeikoa	8.0 ± 0.8	2.6 ± 0.1	0.6 ± 0.1	ND
Azido klorogenikoa	29 ± 2	67.52 ± 0.04	ND	ND
Azido <i>p</i> -kumarikoa	0.5 ± 0.1	0.3 ± 0.1	ND	ND
Azido 4- <i>p</i> -kumaroilkinikoa	24 ± 1	26 ± 2	22 ± 1	22 ± 2
Azido <i>trans</i> -ferulikoa	ND	ND	ND	0.97 ± 0.05
<i>Flaban-3-olak^a</i>				
(-)-epikatekina	8 ± 2	12 ± 1	7 ± 1	ND
(+)-katekina	ND	4.2 ± 0.5	2.7 ± 0.3	ND
Prozianidina B1	ND	ND	ND	ND
Prozianidina B2	ND	ND	ND	ND
Prozianidina B5	ND	ND	ND	ND
<i>Dihidroalkonak^a</i>				
Floretin 2'- <i>O</i> -xiloglukosidoa	41 ± 1	40 ± 1	23 ± 1	8.8 ± 0.1
Floridzina	10.4 ± 0.1	16.4 ± 0.1	20.5 ± 0.3	24.9 ± 0.8
<i>Flabonolak^a</i>				
Abikularina	ND	ND	ND	ND
Hiperina (hiperosidoa)	ND	ND	0.16 ± 0.01	ND
Isokertzitrina	ND	ND	ND	ND
Kertzitrina	0.44 ± 0.01	0.55 ± 0.02	0.40 ± 0.02	0.36 ± 0.01
<i>Azido bentzoikoak^a</i>				
Azido galikoa	ND	ND	ND	ND
Azido <i>p</i> -hidroxibentzoikoa	ND	0.37 ± 0.02	0.16 ± 0.01	1.17 ± 0.01
Azido protokatekuikoa	ND	0.68 ± 0.08	0.59 ± 0.01	0.87 ± 0.01
<i>Brett izaerakoak^a</i>				
4-Etilfenola	ND	ND	1.9 ± 0.1	1.9 ± 0.1
4-Etilguaiakola	ND	ND	0.66 ± 0.01	0.47 ± 0.01
4-Etilkatekola	ND	ND	7.4 ± 0.2	6.9 ± 0.1
<i>Besteak^a</i>				
Katekola	ND	ND	0.95 ± 0.06	0.99 ± 0.02
Tirosola	ND	20.9 ± 0.7	20.7 ± 0.3	20.7 ± 0.2
<i>Parametro fisikokimikoak^b</i>				
FRAP, Trolox mmol/L	2.4 ± 1.0	2.9 ± 0.3	3.4 ± 0.2	3.2 ± 0.1
ABTS, Trolox mmol/L	5.1 ± 0.4	5.7 ± 0.7	6.6 ± 0.6	7.3 ± 0.8
FC, azido taniko g/L	0.9 ± 0.1	0.8 ± 0.1	0.7 ± 0.1	0.7 ± 0.1
FC, azido galiko g/L	0.9 ± 0.1	0.8 ± 0.1	0.7 ± 0.1	0.7 ± 0.1
PPC, A _{510 nm}	0.31 ± 0.02	0.21 ± 0.01	0.17 ± 0.01	0.17 ± 0.02
PPC, azido taniko g/L	0.48 ± 0.03	0.36 ± 0.01	0.32 ± 0.01	0.33 ± 0.03
Iluntzea, A _{420 nm}	1.759 ± 0.019	0.982 ± 0.015	0.496 ± 0.024	0.510 ± 0.026
Uhertasuna, NTU	536 ± 1	1385 ± 21	76.2 ± 0.4	69.0 ± 0.1
E, mV	362 ± 1	312 ± 9	245 ± 6	261 ± 13

^aBi neurketaren batez bestekoa ± desbideratze estandarra

PPC: Proteinekina hauspeatzeko gaitasuna

^bHiru neurketaren batez bestekoa ± desbideratze estandarra

A: Absorbantzia

FRAP: loi ferrikoa erreduitzeko indar antioxidatzailea

E: Erredox potentziala

ABTS: 2,2'-Azino-bis-(azido 3 etilbenzotiazolin-6-sulfonikoa)

ND: Detektatu gabea (not detected)

FC: Folin-Ciocalteu indizea

ERREZILA-2014. Interes enologikoa duten parametro fisikokimikoak eta konposatuak

Parametroa/konposatua	Hartzidura egunak eta data			
	0	26	83	130
	2014/10/30	2014/11/25	2015/01/21	2015/03/09
Parametro fisikokimikoak^a				
A _{280 nm}	18.6 ± 0.3	19.8 ± 0.9	18.7 ± 0.2	20.3 ± 0.8
A _{320 nm}	13.1 ± 0.8	13.0 ± 0.5	10.0 ± 0.7	11.0 ± 0.5
Azidotasan totala, H ⁺ mmol/L	108.8 ± 0.1	65.2 ± 0.2	67.7 ± 0.1	71.3 ± 0.5
Brix graduak	14.0 ± 0.1	5.4 ± 0.1	5.0 ± 0.1	4.7 ± 0.1
Dentsitatea, g/L	1056.8 ± 0.1	999.7 ± 0.1	996.6 ± 0.1	998.1 ± 0.1
pH	3.57 ± 0.03	3.80 ± 0.02	3.86 ± 0.03	3.87 ± 0.03
Azido organikoak^a				
Azido azetikoak, g/L	0.04 ± 0.01	0.25 ± 0.09	0.84 ± 0.02	1.02 ± 0.10
Azido L-(+)-laktikoak, g/L	0.10 ± 0.02	5.48 ± 0.09	3.24 ± 0.08	3.48 ± 0.06
Azido D-(+)-laktikoak, g/L	0.09 ± 0.07	0.10 ± 0.01	3.49 ± 0.04	3.62 ± 0.10
Azido laktiko totala, g/L	0.19 ± 0.07	5.58 ± 0.09	6.73 ± 0.09	7.10 ± 0.10
Azido L-(-)-malikoak, g/L	8.70 ± 0.07	1.43 ± 0.10	0.03 ± 0.01	ND
Azukreak eta glizerola^a				
Fruktosa, g/L	79 ± 1	0.50 ± 0.08	0.63 ± 0.09	0.69 ± 0.07
Glukosa, g/L	19.1 ± 0.5	0.13 ± 0.01	0.04 ± 0.01	0.04 ± 0.01
Sakarosa, g/L	21.2 ± 0.6	5.1 ± 0.4	0.25 ± 0.04	0.12 ± 0.01
Azukre totala, g/L	119 ± 1	5.7 ± 0.4	0.92 ± 0.09	0.85 ± 0.07
Glizerola, g/L	ND	3.4 ± 0.2	1.9 ± 0.1	1.7 ± 0.1
Konposatu lurrinkorak^b				
Akroleina, mg/L	ND	ND	12.5 ± 0.2	13.8 ± 0.8
Azetaldehidoa, mg/L	10 ± 1	31 ± 2	28 ± 1	14 ± 1
Etanola, % v/v	ND	6.9 ± 0.1	7.1 ± 0.1	6.4 ± 0.2
Etil azetatoa, mg/L	ND	ND	10 ± 2	ND
Metanola, mg/L	22 ± 1	30 ± 1	28 ± 1	27 ± 2

^aBi neurketaren batez bestekoa ± desbideratze estandarra

^bHiru neurketaren batez bestekoa ± desbideratze estandarra

A: Absorbantzia

A_{280 nm} : polifenol totalen indizea

A_{320 nm} : azido hidroxizimikoak

ND: Detektatu gabea (not detected)

FRANTZES SAGARRA-2014. Polifenolak (mg/L) eta PLS modeloetan erabilitako parametro fisikokimikoak

Parametroa/konposatua	Hartidura egunak eta data			
	0	31	111	157
	2014/10/03	2014/11/03	2015/01/22	2015/03/09
Azido hidroxizininamikoak^a				
Azido hidrokafeikoa	ND	ND	30 ± 1	31 ± 1
Azido kafeikoa	6.6 ± 0.4	31.4 ± 0.6	4.0 ± 0.2	1.0 ± 0.1
Azido klorogenikoa	167 ± 9	106 ± 1	101 ± 3	102 ± 7
Azido <i>p</i> -kumarikoa	ND	0.5 ± 0.1	ND	ND
Azido 4- <i>p</i> -kumaroilkinikoa	40 ± 1	39 ± 1	37 ± 1	35 ± 2
Azido <i>trans</i> -ferulikoa	3.1 ± 0.1	3.0 ± 0.1	2.3 ± 0.1	2.1 ± 0.1
Flaban-3-olak^a				
(-)-epikatekina	12 ± 1	13 ± 2	12 ± 1	10 ± 1
(+)-katekina	ND	3.0 ± 0.1	ND	2.9 ± 0.4
Prozianidina B1	2.4 ± 0.2	5.4 ± 0.3	ND	ND
Prozianidina B2	ND	ND	ND	ND
Prozianidina B5	ND	ND	0.7 ± 0.1	ND
Dihidroalkonak^a				
Floretin 2'- <i>O</i> -xiloglukosidoa	11 ± 3	17 ± 1	17 ± 2	17 ± 2
Floridzina	9.8 ± 0.9	12.6 ± 0.3	12.2 ± 0.1	9.3 ± 0.9
Flabonolak^a				
Abikularina	0.12 ± 0.01	ND	0.16 ± 0.02	0.16 ± 0.01
Hiperina (hiperosidoa)	ND	ND	ND	0.26 ± 0.02
Isokertzitrina	ND	ND	ND	ND
Kertzitrina	0.36 ± 0.03	0.58 ± 0.02	0.64 ± 0.05	0.47 ± 0.05
Azido bentzoikoak^a				
Azido galikoa	ND	ND	0.17 ± 0.01	ND
Azido <i>p</i> -hidroxibentzoikoa	ND	ND	ND	ND
Azido protokatekuikoa	ND	ND	1.52 ± 0.03	2.03 ± 0.01
Brett izaerakoak^a				
4-Etilfenola	ND	ND	1.7 ± 0.1	1.5 ± 0.2
4-Etilguaiakola	ND	ND	0.73 ± 0.02	0.75 ± 0.01
4-Etilkatekola	ND	ND	ND	ND
Besteak^a				
Katekola	ND	ND	ND	0.58 ± 0.01
Tirosola	ND	17.3 ± 0.4	14.8 ± 0.6	15.8 ± 0.2
Parametro fisikokimikoak^b				
FRAP, Trolox mmol/L	3.5 ± 0.2	3.6 ± 0.3	3.6 ± 0.1	4.2 ± 0.4
ABTS, Trolox mmol/L	8.0 ± 0.7	7.2 ± 0.7	7.1 ± 1.1	8.8 ± 0.6
FC, azido taniko g/L	1.1 ± 0.1	0.9 ± 0.2	0.8 ± 0.1	0.9 ± 0.1
FC, azido galiko g/L	1.1 ± 0.1	0.9 ± 0.1	0.9 ± 0.2	0.9 ± 0.2
PPC, A _{510 nm}	0.34 ± 0.01	0.21 ± 0.03	0.18 ± 0.01	0.18 ± 0.02
PPC, azido taniko g/L	0.51 ± 0.01	0.37 ± 0.04	0.34 ± 0.01	0.33 ± 0.02
Iluntzea, A _{420 nm}	1.521 ± 0.010	0.608 ± 0.024	0.474 ± 0.016	0.479 ± 0.028
Uhertasuna, NTU	637 ± 21	1154 ± 6	63 ± 1	40 ± 1
E, mV	358 ± 6	256 ± 7	217 ± 3	233 ± 2

^aBi neurketaren batez bestekoa ± desbideratze estandarra

PPC: Proteinekina hauspeatzeko gaitasuna

^bHiru neurketaren batez bestekoa ± desbideratze estandarra

A: Absorbantzia

FRAP: loi ferrikoa erreduitzeko indar antioxidatzailea

E: Erredox potentziala

ABTS: 2,2'-Azino-bis-(azido 3 etilbenzotiazolin-6-sulfonikoa)

ND: Detektatu gabea (not detected)

FC: Folin-Ciocalteu indizea

FRANTZES SAGARRA-2014. Interes enologikoa duten parametro fisikokimikoak eta konposatuak

Parametroa/konposatua	Hartzidura egunak eta data			
	0	31	111	157
	2014/10/03	2014/11/03	2015/01/22	2015/03/09
Parametro fisikokimikoak^a				
A _{280 nm}	23.2 ± 0.8	22.5 ± 0.3	23.3 ± 0.4	24.6 ± 0.3
A _{320 nm}	20.7 ± 0.7	19.9 ± 0.1	18.5 ± 0.4	19.2 ± 0.7
Azidotasun totala, H ⁺ mmol/L	136.8 ± 0.1	88.6 ± 0.6	73.4 ± 0.1	72.8 ± 0.2
Brix graduak	10.6 ± 0.1	4.0 ± 0.1	3.8 ± 0.1	3.7 ± 0.1
Dentsitatea, g/L	1041.8 ± 0.1	1000.4 ± 0.1	997.4 ± 0.1	997.4 ± 0.1
pH	3.40 ± 0.03	3.65 ± 0.01	3.78 ± 0.04	3.82 ± 0.01
Azido organikoak^a				
Azido azetiko, g/L	ND	0.22 ± 0.02	0.75 ± 0.05	1.07 ± 0.01
Azido L-(+)-laktiko, g/L	0.04 ± 0.01	4.03 ± 0.09	5.99 ± 0.10	6.06 ± 0.01
Azido D-(+)-laktiko, g/L	ND	0.06 ± 0.01	0.28 ± 0.04	0.32 ± 0.05
Azido laktiko totala, g/L	0.04 ± 0.01	4.08 ± 0.09	6.26 ± 0.10	6.37 ± 0.05
Azido L-(-)-malikoa, g/L	10.05 ± 0.03	3.45 ± 0.07	0.06 ± 0.02	ND
Azukreak eta glizerola^a				
Fruktosa, g/L	50 ± 1	0.34 ± 0.03	0.30 ± 0.02	0.31 ± 0.02
Glukosa, g/L	11 ± 2	0.14 ± 0.02	0.06 ± 0.01	0.04 ± 0.01
Sakarosa, g/L	27 ± 3	2.8 ± 0.1	ND	ND
Azukre totala, g/L	88 ± 3	3.29 ± 0.06	0.36 ± 0.03	0.34 ± 0.03
Glizerola, g/L	ND	2.1 ± 0.2	2.4 ± 0.1	2.5 ± 0.2
Konposatu lurrinkorrak^b				
Akroleina, mg/L	ND	ND	ND	ND
Azetaldehidoa, mg/L	8 ± 1	13 ± 1	ND	ND
Etanola, % v/v	ND	4.8 ± 0.1	5.0 ± 0.1	5.3 ± 0.2
Etil azetatoa, mg/L	ND	ND	ND	15 ± 2
Metanola, mg/L	ND	17 ± 1	28 ± 1	29 ± 1

^aBi neurketaren batez bestekoa ± desbideratze estandarra

^bHiru neurketaren batez bestekoa ± desbideratze estandarra

A: Absorbantzia

A_{280 nm} : polifenol totalen indizea

A_{320 nm} : azido hidroxizimikoak

ND: Detektatu gabea (not detected)

MANTTONI-2014. Polifenolak (mg/L) eta PLS modeloetan erabilitako parametro fisikokimikoak

Parametroa/konposatua	Hartzidura egunak eta data			
	0	24	69	154
	2014/10/03	2014/10/27	2014/12/11	2015/03/06
Azido hidroxizininamikoak^a				
Azido hidrokafeikoa	ND	ND	18 ± 2	16 ± 1
Azido kafeikoa	0.6 ± 0.1	0.8 ± 0.1	ND	ND
Azido klorogenikoa	ND	ND	ND	ND
Azido <i>p</i> -kumarikoa	ND	0.3 ± 0.1	ND	ND
Azido 4- <i>p</i> -kumaroilkinikoa	24 ± 2	26 ± 1	25 ± 2	21 ± 1
Azido <i>trans</i> -ferulikoa	0.27 ± 0.03	0.77 ± 0.01	0.29 ± 0.08	0.32 ± 0.01
Flaban-3-olak^a				
(-)-epikatekina	ND	4.0 ± 0.3	ND	ND
(+)-katekina	ND	1.7 ± 0.1	ND	ND
Prozianidina B1	ND	ND	ND	ND
Prozianidina B2	ND	ND	ND	ND
Prozianidina B5	ND	ND	ND	ND
Dihidroalkonak^a				
Floretin 2'- <i>O</i> -xiloglukosidoa	5.8 ± 0.3	8.5 ± 0.1	8.7 ± 0.1	8.3 ± 0.2
Floridzina	0.5 ± 0.1	6.2 ± 0.2	4.6 ± 0.9	3.3 ± 0.1
Flabonolak^a				
Abikularina	ND	ND	ND	ND
Hiperina (hiperosidoa)	ND	ND	ND	0.11 ± 0.02
Isokertzitrina	ND	ND	ND	ND
Kertzitrina	ND	0.23 ± 0.03	0.14 ± 0.06	0.25 ± 0.05
Azido bentzoikoak^a				
Azido galikoa	ND	ND	ND	ND
Azido <i>p</i> -hidroxibentzoikoa	ND	ND	1.34 ± 0.01	1.51 ± 0.02
Azido protokatekuikoa	ND	0.55 ± 0.01	ND	ND
Brett izaerakoak^a				
4-Etilfenola	ND	ND	1.0 ± 0.1	1.2 ± 0.1
4-Etilguaiakola	ND	ND	ND	0.62 ± 0.02
4-Etilkatekola	ND	ND	1.6 ± 0.7	1.1 ± 0.3
Besteak^a				
Katekola	ND	ND	1.85 ± 0.02	1.81 ± 0.01
Tirosola	ND	16.0 ± 0.2	17.3 ± 0.1	17.3 ± 0.3
Parametro fisikokimikoak^b				
FRAP, Trolox mmol/L	2.4 ± 0.7	2.3 ± 0.1	2.4 ± 0.7	2.9 ± 0.4
ABTS, Trolox mmol/L	4.7 ± 0.5	6.1 ± 0.4	4.3 ± 0.9	7.2 ± 0.5
FC, azido taniko g/L	0.6 ± 0.1	0.5 ± 0.1	0.4 ± 0.1	0.4 ± 0.1
FC, azido galiko g/L	0.6 ± 0.1	0.6 ± 0.2	0.5 ± 0.1	0.8 ± 0.3
PPC, A _{510 nm}	0.25 ± 0.02	0.18 ± 0.01	0.13 ± 0.01	0.15 ± 0.03
PPC, azido taniko g/L	0.40 ± 0.03	0.33 ± 0.01	0.28 ± 0.01	0.30 ± 0.03
Iluntzea, A _{420 nm}	1.860 ± 0.021	1.036 ± 0.024	0.423 ± 0.010	0.398 ± 0.016
Uhartasuna, NTU	1050 ± 1	1000 ± 4	230 ± 3	91 ± 1
E, mV	365 ± 9	345 ± 1	233 ± 4	274 ± 5

^aBi neurketaren batez bestekoa ± desbideratze estandarra

PPC: Proteinekina hauspeatzeko gaitasuna

^bHiru neurketaren batez bestekoa ± desbideratze estandarra

A: Absorbantzia

FRAP: loi ferrikoa erreduitzeko indar antioxidatzailea

E: Erredox potentziala

ABTS: 2,2'-Azino-bis-(azido 3 etilbenzotiazolin-6-sulfonikoa)

ND: Detektatu gabea (not detected)

FC: Folin-Ciocalteu indizea

MANTTONI-2014. Interes enologikoa duten parametro fisikokimikoak eta konposatuak

Parametroa/konposatua	Hartzidura egunak eta data			
	0	24	69	154
	2014/10/03	2014/10/27	2014/12/11	2015/03/06
Parametro fisikokimikoak^a				
A _{280 nm}	15.2 ± 0.1	13.9 ± 0.3	14.5 ± 0.1	15.5 ± 0.7
A _{320 nm}	10.7 ± 0.1	9.7 ± 0.9	8.8 ± 0.1	9.3 ± 0.3
Azidotasan totala, H ⁺ mmol/L	64.4 ± 0.4	35.7 ± 0.7	54.1 ± 0.1	60.4 ± 0.5
Brix graduak	9.6 ± 0.1	3.3 ± 0.1	3.0 ± 0.1	2.9 ± 0.1
Dentsitatea, g/L	1036.8 ± 0.1	997.5 ± 0.1	995.3 ± 0.1	994.8 ± 0.1
pH	3.66 ± 0.02	3.71 ± 0.04	3.71 ± 0.04	3.68 ± 0.03
Azido organikoak^a				
Azido azetikoak, g/L	ND	0.31 ± 0.07	1.05 ± 0.03	1.71 ± 0.10
Azido L-(+)-laktikoak, g/L	0.04 ± 0.01	3.55 ± 0.09	2.35 ± 0.06	1.87 ± 0.09
Azido D-(+)-laktikoak, g/L	0.11 ± 0.03	0.13 ± 0.02	1.63 ± 0.03	1.79 ± 0.01
Azido laktiko totala, g/L	0.15 ± 0.03	3.67 ± 0.09	3.98 ± 0.07	3.66 ± 0.09
Azido L-(-)-malikoak, g/L	5.22 ± 0.01	ND	ND	ND
Azukreak eta glizerola^a				
Fruktosa, g/L	57 ± 1	0.07 ± 0.03	0.19 ± 0.07	0.10 ± 0.02
Glukosa, g/L	16.8 ± 0.7	0.04 ± 0.01	0.07 ± 0.02	ND
Sakarosa, g/L	15.3 ± 0.8	4.6 ± 0.2	ND	ND
Azukre totala, g/L	89 ± 1	4.7 ± 0.2	0.26 ± 0.08	0.10 ± 0.02
Glizerola, g/L	ND	2.3 ± 0.1	1.7 ± 0.1	ND
Konposatu lurrinkorrak^b				
Akroleina, mg/L	ND	ND	ND	ND
Azetaldehidoa, mg/L	ND	10 ± 1	ND	ND
Etanola, % v/v	ND	4.6 ± 0.1	5.1 ± 0.3	5.2 ± 0.2
Etil azetatoa, mg/L	ND	9 ± 1	ND	13 ± 3
Metanola, mg/L	ND	ND	9 ± 1	9 ± 2

^aBi neurketaren batez bestekoa ± desbideratze estandarra

^bHiru neurketaren batez bestekoa ± desbideratze estandarra

A: Absorbantzia

A_{280 nm} : polifenol totalen indizea

A_{320 nm} : azido hidroxizimikoak

ND: Detektatu gabea (not detected)

MOLOZOA-2014. Polifenolak (mg/L) eta PLS modeloetan erabilitako parametro fisikokimikoak

Parametroa/konposatua	Hartidura egunak eta data	
	0	40
	2014/10/03	2014/11/12
Azido hidroxizanamikoak^a		
Azido hidrokafeikoa	ND	12 ± 1
Azido kafeikoa	24.3 ± 0.2	14.8 ± 0.3
Azido klorogenikoa	557 ± 8	361 ± 2
Azido <i>p</i> -kumarikoa	ND	ND
Azido 4- <i>p</i> -kumaroilkinikoa	201 ± 1	205 ± 1
Azido <i>trans</i> -ferulikoa	7.0 ± 0.1	4.8 ± 0.1
Flaban-3-olak^a		
(-)-epikatekina	19 ± 1	57 ± 3
(+)-katekina	ND	ND
Prozianidina B1	6.6 ± 0.6	27.2 ± 0.6
Prozianidina B2	41 ± 3	99 ± 6
Prozianidina B5	0.5 ± 0.3	2.0 ± 0.3
Dihidrokalonak^a		
Floretin 2'- <i>O</i> -xiloglukosidoa	54 ± 2	61 ± 1
Floridzina	5.6 ± 0.1	20 ± 3
Flabonolak^a		
Abikularina	0.13 ± 0.01	0.87 ± 0.08
Hiperina (hiperosidoa)	0.44 ± 0.01	0.82 ± 0.09
Isokertzitrina	0.64 ± 0.03	0.94 ± 0.05
Kertzitrina	0.8 ± 0.1	2.0 ± 0.4
Azido bentzoikoak^a		
Azido galikoa	ND	ND
Azido <i>p</i> -hidroxibentzoikoa	ND	ND
Azido protokatekuikoa	ND	ND
Brett izaerakoak^a		
4-Etilfenola	ND	5.7 ± 0.9
4-Etilguaiakola	ND	ND
4-Etilkatekola	ND	60 ± 1
Besteak^a		
Katekola	ND	0.60 ± 0.02
Tirosola	ND	13.2 ± 0.2
Parametro fisikokimikoak^b		
FRAP, Trolox mmol/L	8.6 ± 0.5	9.7 ± 1.0
ABTS, Trolox mmol/L	17.8 ± 0.4	17.3 ± 0.7
FC, azido taniko g/L	2.9 ± 0.1	2.7 ± 0.1
FC, azido galiko g/L	2.7 ± 0.1	2.3 ± 0.2
PPC, A _{510 nm}	1.27 ± 0.02	1.12 ± 0.01
PPC, azido taniko g/L	2.32 ± 0.05	1.90 ± 0.02
Iluntzea, A _{420 nm}	4.158 ± 0.014	3.240 ± 0.021
Uhertasuna, NTU	894 ± 34	469 ± 6
E, mV	314 ± 7	305 ± 1

^aBi neurketaren batez bestekoa ± desbideratze estandarra PPC: Proteinekin hauspeatzeko gaitasuna

^bHiru neurketaren batez bestekoa ± desbideratze estandarra A: Absorbantzia

FRAP: loi ferrikoa erreduzitzeko indar antioxidatzailea E: Erredox potentziala

ABTS: 2,2'-Azino-bis-(azido 3 etilbenzotiazolin-6-sulfonikoa) ND: Detektatu gabea (not detected)

FC: Folin-Ciocalteu indizea

MOZOLOA-2014. Interes enologikoa duten parametro fisikokimikoak eta konposatuak

Parametroa/konposatua	Hartzidura egunak eta data	
	0	40
	2014/10/03	2014/11/12
Parametro fisikokimikoak^a		
A _{280 nm}	64.0 ± 0.6	59.1 ± 0.3
A _{320 nm}	63.4 ± 0.8	49.1 ± 0.2
Azidotasun totala, H ⁺ mmol/L	24.5 ± 0.1	28.7 ± 0.3
Brix graduak	11.8 ± 0.1	4.7 ± 0.1
Dentsitatea, g/L	1045.3 ± 0.1	999.9 ± 0.1
pH	4.27 ± 0.02	3.93 ± 0.02
Azido organikoak^a		
Azido azetikoa, g/L	ND	0.26 ± 0.09
Azido L-(+)-laktikoa, g/L	0.07 ± 0.03	1.81 ± 0.04
Azido D-(+)-laktikoa, g/L	0.09 ± 0.02	0.60 ± 0.01
Azido laktiko totala, g/L	0.15 ± 0.03	2.41 ± 0.04
Azido L-(-)-malikoa, g/L	2.23 ± 0.11	ND
Azukreak eta glizerola^a		
Fruktosa, g/L	65 ± 1	7.7 ± 0.3
Glukosa, g/L	18 ± 1	0.66 ± 0.04
Sakarosa, g/L	18 ± 1	2.2 ± 0.0
Azukre totala, g/L	101 ± 2	10.5 ± 0.3
Glizerola, g/L	0.3 ± 0.1	1.9 ± 0.1
Konposatu lurrinkorrak^b		
Akroleina, mg/L	ND	ND
Azetaldehidoa, mg/L	ND	7 ± 1
Etanola, % v/v	ND	5.2 ± 0.1
Etil azetatoa, mg/L	ND	ND
Metanola, mg/L	ND	17 ± 1

^aBi neurketaren batez bestekoa ± desbideratze estandarra

^bHiru neurketaren batez bestekoa ± desbideratze estandarra

A: Absorbantzia

A_{280 nm} : polifenol totalen indizea

A_{320 nm} : azido hidroxiznamikoak

ND: Detektatu gabea (not detected)

UDARE MARROI-2014. Polifenolak (mg/L) eta PLS modeloetan erabilitako parametro fisikokimikoak

Parametroa/konposatua	Hartidura egunak eta data			
	0	14	105	154
	2014/10/02	2014/10/16	2015/01/15	2015/03/05
Azido hidroxizininamikoak^a				
Azido hidrokafeikoa	ND	ND	15 ± 1	31 ± 1
Azido kafeikoa	2.7 ± 0.7	3.0 ± 0.6	2.4 ± 0.1	3.3 ± 0.4
Azido klorogenikoa	127 ± 6	184 ± 1	115 ± 2	104 ± 8
Azido <i>p</i> -kumarikoa	ND	ND	ND	ND
Azido 4- <i>p</i> -kumaroilkinikoa	20 ± 1	24 ± 1	20 ± 1	18 ± 1
Azido <i>trans</i> -ferulikoa	0.8 ± 0.3	3.4 ± 0.1	2.7 ± 0.1	2.6 ± 0.2
Flaban-3-olak^a				
(-)-epikatekina	5.3 ± 0.1	9.1 ± 0.3	9.0 ± 0.1	7.8 ± 0.1
(+)-katekina	ND	2.8 ± 0.1	2.1 ± 0.1	3.6 ± 0.1
Prozianidina B1	ND	ND	ND	ND
Prozianidina B2	ND	ND	ND	ND
Prozianidina B5	ND	ND	ND	ND
Dihidroalkonak^a				
Floretin 2'- <i>O</i> -xiloglukosidoa	14 ± 3	28 ± 1	26 ± 2	27 ± 1
Floridzina	0.7 ± 0.1	14.1 ± 0.9	12.7 ± 0.1	11.7 ± 0.2
Flabonolak^a				
Abikularina	ND	ND	ND	ND
Hiperina (hiperosidoa)	ND	ND	ND	ND
Isokertzitrina	ND	ND	ND	ND
Kertzitrina	ND	0.51 ± 0.05	0.54 ± 0.07	0.47 ± 0.05
Azido bentzoikoak^a				
Azido galikoa	ND	0.13 ± 0.01	ND	0.15 ± 0.02
Azido <i>p</i> -hidroxibentzoikoa	ND	ND	ND	ND
Azido protokatekuikoa	ND	0.62 ± 0.02	1.31 ± 0.06	1.10 ± 0.04
Brett izaerakoak^a				
4-Etilfenola	ND	ND	1.6 ± 0.2	1.5 ± 0.4
4-Etilguaiakola	ND	ND	0.55 ± 0.02	0.50 ± 0.04
4-Etilkatekola	ND	ND	ND	ND
Besteak^a				
Katekola	ND	ND	ND	ND
Tirosola	ND	12.5 ± 0.9	13.6 ± 0.8	13.1 ± 0.6
Parametro fisikokimikoak^b				
FRAP, Trolox mmol/L	3.0 ± 1.1	3.8 ± 0.7	3.4 ± 0.8	3.7 ± 0.2
ABTS, Trolox mmol/L	7.5 ± 0.8	7.9 ± 0.9	7.5 ± 0.9	7.9 ± 0.6
FC, azido taniko g/L	1.0 ± 0.1	0.9 ± 0.1	0.6 ± 0.1	0.6 ± 0.1
FC, azido galiko g/L	1.0 ± 0.1	0.8 ± 0.1	0.9 ± 0.2	0.8 ± 0.1
PPC, A _{510 nm}	0.42 ± 0.01	0.17 ± 0.03	0.15 ± 0.01	0.15 ± 0.03
PPC, azido taniko g/L	0.61 ± 0.01	0.33 ± 0.04	0.31 ± 0.01	0.30 ± 0.04
Iluntzea, A _{420 nm}	2.541 ± 0.014	0.620 ± 0.010	0.610 ± 0.012	0.470 ± 0.011
Uhertasuna, NTU	936 ± 1	705.5 ± 1	839 ± 11	17.9 ± 0.5
E, mV	399 ± 4	255 ± 6	314 ± 4	275 ± 7

^aBi neurketaren batez bestekoa ± desbideratze estandarra

PPC: Proteinekina hauspeatzeko gaitasuna

^bHiru neurketaren batez bestekoa ± desbideratze estandarra

A: Absorbantzia

FRAP: loi ferrikoa erreduitzeko indar antioxidatzailea

E: Erredox potentziala

ABTS: 2,2'-Azino-bis-(azido 3 etilbenzotiazolin-6-sulfonikoa)

ND: Detektatu gabea (not detected)

FC: Folin-Ciocalteu indizea

UDARE MARROI-2014. Interes enologikoa duten parametro fisikokimikoak eta konposatuak

Parametroa/konposatua	Hartidura egunak eta data			
	0	14	105	154
	2014/10/02	2014/10/16	2015/01/15	2015/03/05
Parametro fisikokimikoak^a				
A _{280 nm}	18.6 ± 0.9	14.4 ± 1.0	21.6 ± 0.6	22.2 ± 0.3
A _{320 nm}	16.6 ± 0.4	15.1 ± 0.2	17.0 ± 0.2	17.3 ± 0.1
Azidotasan totala, H ⁺ mmol/L	136.4 ± 0.1	77.0 ± 0.2	73.5 ± 0.1	73.6 ± 0.1
Brix graduak	11.7 ± 0.1	4.2 ± 0.1	4.1 ± 0.1	4.0 ± 0.1
Dentsitatea, g/L	1047.0 ± 0.1	998.6 ± 0.1	997.2 ± 0.1	997.2 ± 0.1
pH	3.42 ± 0.03	3.74 ± 0.02	3.85 ± 0.03	3.82 ± 0.02
Azido organikoak^a				
Azido azetiko, g/L	ND	0.38 ± 0.03	0.57 ± 0.05	0.51 ± 0.09
Azido L-(+)-laktiko, g/L	0.07 ± 0.02	5.51 ± 0.05	6.34 ± 0.08	6.29 ± 0.06
Azido D-(+)-laktiko, g/L	0.07 ± 0.02	0.18 ± 0.01	0.33 ± 0.04	0.31 ± 0.04
Azido laktiko totala, g/L	0.14 ± 0.03	5.69 ± 0.05	6.67 ± 0.09	6.60 ± 0.07
Azido L-(-)-maliko, g/L	10.37 ± 0.05	2.38 ± 0.02	ND	ND
Azukreak eta glizerola^a				
Fruktosa, g/L	45 ± 2	0.21 ± 0.07	0.20 ± 0.06	0.20 ± 0.06
Glukosa, g/L	11 ± 2	0.08 ± 0.02	ND	0.03 ± 0.01
Sakarosa, g/L	43 ± 3	0.91 ± 0.05	ND	ND
Azukre totala, g/L	99 ± 4	1.20 ± 0.07	0.20 ± 0.06	0.23 ± 0.06
Glizerola, g/L	ND	2.5 ± 0.2	2.4 ± 0.2	2.5 ± 0.2
Konposatu lurrinkorrak^b				
Akroleina, mg/L	ND	ND	ND	ND
Azetaldehidoa, mg/L	15 ± 2	8 ± 1	ND	ND
Etanola, % v/v	ND	6.0 ± 0.1	5.7 ± 0.3	6.2 ± 0.2
Etil azetatoa, mg/L	ND	10 ± 3	17 ± 3	24 ± 1
Metanola, mg/L	9 ± 1	33 ± 2	81 ± 4	87 ± 3

^aBi neurketaren batez bestekoa ± desbideratze estandarra

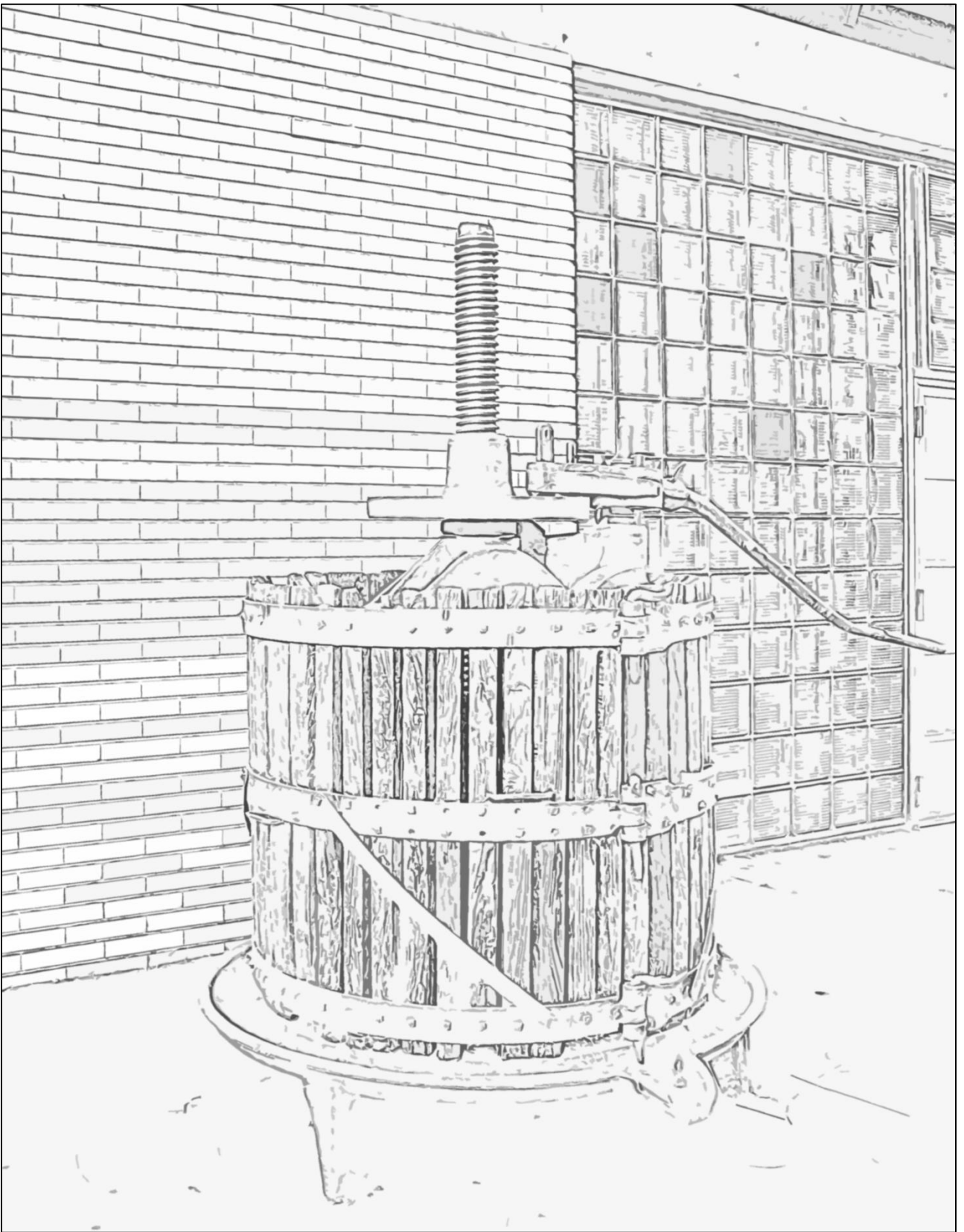
^bHiru neurketaren batez bestekoa ± desbideratze estandarra

A: Absorbantzia

A_{280 nm} : polifenol totalen indizea

A_{320 nm} : azido hidroxizimikoak

ND: Detektatu gabea (not detected)



Sé templado en el beber, considerando que *la sidra demasiada* ni guarda secreto ni cumple palabra - de Cervantes, M. (1605). *El ingenioso hidalgo Don Quijote de la Mancha*. Egokitutako aipua