



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS

CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN BIOTECNOLOGÍA

**CONTENIDO DE CATEQUINAS Y RESVERATROL EN VINOS TINTOS
COMERCIALES PARA LA PRODUCCIÓN DE JABONES CON
PROPIEDADES ANTIOXIDANTES**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:

**MAESTRO EN INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO DE PLANTAS
MEDICINALES**

Presenta:

Biol. Mary Carmen Reyes Castillo

Directores de tesis

Dr. Alexandre Toshirrico Cardoso Taketa (tutor)

Dra. Anabel Ortiz Caltempa (cotutor)

CUERNAVACA, MORELOS. NOVIEMBRE 2022.

AGRADECIMIENTOS

A LOS DOCTORES:

Dra. María Luisa Villarreal. Responsable del Laboratorio de Plantas Medicinales

Dr. Alexandre Toshirrico Cardoso Taketa - Tutor (CEIB-UAEM)

Dra. Anabel Ortiz Caltempa - Cotutora CEIB-UAEM)

Dr. Isaac Tello Salgado (Miembro de comité sinodal del posgrado CIB-UAEM)

Dr. Ashutosh Sharma (Miembro del comité sinodal del posgrado TEC-Querétaro)

Dr. Rodolfo Abarca Vargas (Miembro del comité sinodal del posgrado MEDICINA -UAEM)

Dra. Ma. De Lourdes Acosta Urdapilleta (Miembro del comité sinodal del posgrado (CIB-UAEM)

Dra. Maura Téllez (Por su aportación intelectual y técnico en los análisis de ABTS y DPPH de este proyecto)

M. en B. Mónica Itzel Ramos Adame. (Por su aportación intelectual y técnico en los análisis de HPLC)

Biol. Rita Barreto González (Por su aportación técnico en los análisis de ABTS y DPPH de este proyecto)

M. en B. Ariadna Zenil Rodríguez Por su aportación técnico en los análisis de HPLC)

CONACYT por la beca N° 643282 otorgada para el desarrollo del presente proyecto

A mis amistades: M. en C. Roberto Trejo Albarrán, Dra. Patricia Trujillo Jiménez y Biol. Nuria Castañeda Castillo por sus invaluable cartas de recomendación.

A mi esposo Francisco Javier García Solano, por financiar e impulsarme siempre, mi compañero de vida.

A mi madre Juliana Castillo Balderas, QEPD y a mis socias por creer en este proyecto y en mi persona.

A mis hijos Javier Maurilio y Kevin Edmundo por animarme y apoyarme en todo momento.

Y a todos los Profesores, trabajadores técnicos y administrativos del CEIB, ya que cada uno de ellos apoyó en algún momento la realización de la presente tesis.

“Nunca es tarde para retomar el camino y seguir con tus sueños”

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Crecimiento de la industria cosmética en México (El Economista, 2019). Página 17

Figura 2. Ruta del vino en la antigüedad. Página 18

Figura 3. Estructura de la epidermis (imagen de Peter Lamb, Blamb illustrators). Página 25

Figura 4. Preparación de los seis vinos tintos para el análisis de ABTS Y DPPH. Página 34

Figura 5. Fotografía de los seis vinos seleccionados para el análisis de polifenoles. Página 35

Figura 6. Perfiles cromatográficos en capa fina de los seis vinos tintos. Página 41

Figura 7. Perfil cromatográfico de los seis vinos tinto donde se identifica la presencia de catequinas. Página 43

Figura 8. Perfiles cromatográficos en HPLC de las seis muestras de vinos tintos, que se emplearon para la cuantificación de resveratrol. Página 47

Figura 9. Liofilización de seis vinos tinto. Página 48

Figura 10. Registro de marca ante el IMPI. Página 52

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Derivados fenólicos y ejemplos de metabolitos. Página 20-21

Tabla 2. Contenido de compuestos fenólicos mayoritarios de vino rojo y blanco, expresados en miligramos de ácido gálico equivalente (mg/GAE/L). Página 22

Tabla 3. Vinos tintos seleccionados para el análisis de polifenoles. Página 32

Tabla 4. Vinos seleccionados supermercados en la ciudad de Cuernavaca Morelos para el análisis de polifenoles. Página 38

Tabla 5. Análisis Tukey Fenoles. Página 39

Tabla 6. Cuantificación de catequinas presentes en los seis vinos tintos. Página 44

Tabla 7. Valores de área del pico y de la concentración de resveratrol en las seis muestras de vinos tintos. Página 46

Tabla 8. Análisis Tukey ABTS. Página 49

Tabla 9. Análisis Tukey de la Prueba DPPH. Página 50

Tabla 10. Resumen de los datos de cuantificación de catequinas y resveratrol, así como valores de inhibición de los radicales ABTS y DPPH en seis muestras de vinos tintos. Página 51

ÍNDICE DE GRÁFICAS.

Gráfica 1. Concentración de fenoles totales de los seis vinos tintos. Página 39

Gráfica 2. Concentración de catequinas en los seis vinos tintos. Página 45

Gráfica 3. Determinación de resveratrol en las seis muestras de vino tinto. Página 46

Gráfica 4. Porcentaje de inhibición de radical ABTS•+ en vinos seleccionados. Página 49

Gráfica 5. Actividad depuradora del radical DPPH. Página 50

ABREVIATURAS

IMPI: Instituto Mexicano de la Propiedad Industrial

SAT: Sistema de Administración Tributaria

USA: (United States of America) Estados Unidos de América.

EEUU: Estados Unidos de Norte América

S.C. de R.L. de C.V. Sociedad Cooperativa de Responsabilidad Limitada de Capital Variable.

PIB: Producto Interno Bruto.

CIID 2020: Centro Internacional de Investigación y Desarrollo 2020

INEGI: Instituto Nacional de Estadística y Geografía

COVID: Enfermedad provocada por el coronavirus SARS-CoV-2

US: dólar

a.c. Antes de Cristo

p.ej: Por ejemplo

re co per. Recopilación personal

mg/GAE/L: miligramos de ácido gálico por litro

mg/L: miligramos por litro

LDL: Lipoproteína de baja densidad

ROS: Reactive oxygen species (Especies activas del oxígeno)

ml: mililitro

pH: Potencial de hidrógeno

UV: Ultravioleta

RLO: Radical libre de oxígeno

ADN: Ácido Desoxirribonucleico

HPLC: High performance Liquid Chromatography traducido al español. Cromatografía líquida de alto rendimiento.

ABTS: ácido 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico). Es un compuesto utilizado para producir el catión radical ABTS•+ en el ensayo antioxidante

DPPH: 2,2-difenil-1-picrilhidracil. Radical libre empleado en ensayo antioxidante

VTSE: Vino tinto Santa Elena

VTCS: Vino tinto Cabernet Sauvignon

VTLR: Vino tinto La Redonda

VTSC: Vino tinto Sangre de Cristo

VT4S: Vino tinto Cu4tro soles

VTCL: Vino tinto Castillo de Liria

CAMAG: Empresa Suiza que desarrolla instrumentos de cromatografía planta de alta resolución.

nm: nanómetro

Rf: Chemical element rutherfordium

μl: Microlitros

μg: Microgramos

μm: Micrómetro

min: minutos

Agua MQ : Agua ultra pura

°C: Grados centígrados

RESUMEN

La sociedad humana está cada vez más consciente del cuidado del medio ambiente y de su salud, por lo que se exigen productos de calidad en el mercado. Uno de los productos más utilizados por la humanidad es el jabón, el cual es un producto generalmente realizado con productos químicos sintéticos lo que repercute muchas ocasiones con el cuidado de la piel, por lo que es necesario realizar nuevas alternativas de jabón que cumpla con el propósito de no solo limpiar la piel, sino también nutrirla y protegerla de diversos factores, como el sol y las agresiones causadas por contaminantes presentes en el ambiente. Es por esto que en este proyecto se propone la elaboración de un jabón a partir de vinos tintos de una materia prima estandarizada en lo que es su actividad antioxidante, así como la presencia de compuestos como catequinas y resveratrol.

El objetivo del presente trabajo fue determinar la presencia y la concentración de polifenoles como catequinas y resveratrol, así como determinar el potencial antioxidante en seis marcas de vinos tintos, para poder realizar la estandarización, elaboración y producción de un jabón con interés en la cosmetología para la empresa “Reinas de Casa Agro Artesanas” S.C. DE R.L. DE C.V.

A partir de seis vinos tinto se obtuvieron sus extractos crudos, por evaporación del alcohol y liofilización del agua. La determinación del contenido total de compuestos fenólicos se llevó a cabo por medio de la técnica del método Folin-Ciocalteu. Además, se realizaron estudios de la actividad antioxidante de los extractos a través de los modelos de inhibición de radical ABTS y la actividad depuradora del radical DPPH. También se identificó y se cuantificó la presencia de (+)-catequina, (+)-epicatequina, (-)-epicatequina y (-)-epicatequina galato, así como del resveratrol mediante Cromatografía Líquida de Alta Eficacia (HPLC).

Para la cuantificación de los compuestos se realizaron curvas de calibración, utilizando diferentes concentraciones de cada uno de ellos (12.5 a 400 $\mu\text{g/mL}$) para establecer la

linealidad entre el área del pico y la concentración de los analitos. Todas las curvas mostraron buena linealidad (r) con un coeficiente de correlación (r^2) entre 0.9922 y 0.9977.

La presencia de (+)-catequina varió de 0.17 a 0.71 mg/litro de vino tinto, siendo que el Vino tinto Carbenet Sauvignon de La Cetto (VTCS) fue el que presentó mayor concentración de la catequina, así como de la (+)-epicatequina (0.63 mg/L). Ambas catequinas fueron mayoritarias en las muestras VTCS y en menor concentración en el Vino tinto Santa Elena (VTSE).

Los límites de detección y cuantificación fueron de 0.58 $\mu\text{g/mL}$ para (+)-catequina para VTSE y 0.63 $\mu\text{g/mL}$ para (+) epicatequina para VTCS; 0.58 $\mu\text{g/mL}$ para (–)epicatequina y 0.04 $\mu\text{g/mL}$ para (–)epicatequina galato. Cabe destacar que el vino VTCS presento una mayor actividad en la inhibición de ABTS y en la actividad del radical DPPH los vinos presentaron un porcentaje de inhibición muy semejante (78 a 82 %, sin embargo; el vino VT4S con un porcentaje de 85 % de inhibición.

Los resultados obtenidos en este proyecto de investigación aportan informaciones relevantes sobre la presencia de los diferentes compuestos antioxidantes en las diferentes muestras de vinos tintos analizados, lo que aporta información sobre la calidad de la materia prima para la elaboración de jabones artesanales que elabora la empresa Reinas de Casa Agro Artesanas”.

ABSTRACT

Human society is increasingly aware of caring for the environment and its health, which is why quality products are demanded in the market. One of the products most used by humanity is soap, which is a product generally made with synthetic chemicals, which often affects skin care, so it is necessary to make new soap alternatives that comply with the purpose of not only cleaning the skin, but also nourishing and protecting it from various factors, such as the sun and the aggressions caused by pollutants present in the environment. That is why this project proposes the elaboration of a soap from red wines of a standardized raw material in terms of its antioxidant activity, as well as the presence of compounds such as catechins and resveratrol.

The objective of this work was to determine the presence and concentration of polyphenols such as catechins and resveratrol, as well as to determine the antioxidant potential in six brands of red wines, in order to carry out the standardization, elaboration and production of a soap with interest in cosmetology for the company "Reinas de Casa Agro Artesanas" S.C. DE R.L. DE C.V.

From six red wines, their crude extracts were obtained by evaporation of the alcohol and freeze-drying of the water. The determination of the total content of phenolic compounds was carried out by means of the Folin-Ciocalteu method technique. In addition, studies of the antioxidant activity of the extracts were carried out through the ABTS radical inhibition models and the DPPH radical scavenging activity. The presence of (+)-catechin, (+)-epicatechin, (-)-epicatechin and (-)-epicatechin gallate, as well as resveratrol, were also identified and quantified by High Performance Liquid Chromatography (HPLC).

For the quantification of the compounds, calibration curves were made, using different concentrations of each of them (12.5 to 400 $\mu\text{g}/\text{mL}$) to establish the linearity between the

peak area and the concentration of the analytes. All the curves showed good linearity (r) with a correlation coefficient (r^2) between 0.9922 and 0.9977. The presence of (+)-catechin varied from 0.17 to 0.71 mg/liter of red wine, with the Carbenet Sauvignon red wine from La Cetto (VTCS) presenting the highest concentration of catechin, as well as (+) -epicatechin (0.63 mg/l). Both catechins were the majority in the VTCS samples and in lower concentration in the Santa Elena red wine (VTSE).

The detection and quantification limits were 0.58 $\mu\text{g}/\text{mL}$ for (+)-catechin for VTSE and 0.63 $\mu\text{g}/\text{mL}$ for (+) epicatechin for VTCS; 0.58 $\mu\text{g}/\text{mL}$ for (-)epicatechin and 0.04 $\mu\text{g}/\text{mL}$ for (-) epicatechin gallate. It should be noted that the VTCS wine presented a greater activity in the inhibition of ABTS and in the activity of the DPPH radical, the wines presented a very similar percentage of inhibition (78 to 82%, however; the VT4S wine with a percentage of 85% of inhibition.

The results obtained in this research project provide relevant information on the presence of the different antioxidant compounds in the different samples of red wines analyzed, which provides information on the quality of the raw material for to production of handmade soaps produced by the Reinas company. from Casa Agro Artesanas”.

I. INTRODUCCIÓN

El vino es una bebida que acompaña la historia de la humanidad desde tiempos remotos, su composición química es única, principalmente, por el tipo de uva, el suelo donde crece, manejo y procesamiento que impactan directamente en sus características organolépticas. El vino posee propiedades benéficas que promueven la salud de aquellos que lo consumen, siendo uno de los principales componentes de la paradoja de la dieta mediterránea. (Keys 1945). El carácter curativo del vino no es un conocimiento que pertenece al hombre moderno, ya que, en las antiguas civilizaciones, así como en la Edad Media se le atribuía propiedades medicinales para el tratamiento de diferentes padecimientos (Grivetti, 2005).

“Hay dos líquidos que son especialmente agradables para el cuerpo, el vino adentro y el aceite afuera” (Plinio el Viejo, 23-79 AC).

“El vino tomado con moderación induce el apetito y es beneficioso para la salud ... El vino es la mejor de las medicinas. Donde falta vino, las drogas son necesarias”
(Talmud: tratado Barajot, siglo II-IV).

El vino tinto, en el contexto de una dieta sana y equilibrada, ha demostrado aportar ciertos beneficios para la salud y en particular efectos preventivos y paliativos en procesos neurodegenerativos. La catequina, la epicatequina, la quercetina y el resveratrol son compuestos polifenólicos presentes en el vino tinto, que poseen propiedades antioxidantes, antiinflamatorias y moduladoras de la expresión de genes (Peña y Jiménez, 2017).

Existen reportes en la literatura que indican los efectos protectores del resveratrol contra el estrés oxidativo mediado por la radiación ultravioleta y los daños cutáneos, incluido el cáncer de piel, debido a que muchos de los problemas de piel son resultados de la radiación ultravioleta y el estrés oxidativo (Ndiaye, 2011). El resveratrol es ampliamente

usado en la cosmética contra una amplia gama de trastornos cutáneos, entre ellos el envejecimiento de la piel. Derivado de esto podemos encontrar en el mercado una serie de productos cosméticos que contienen estos compuestos en sus formulaciones. En la empresa “Reinas de Casa Agro Artesanas S.C. de C.V.”, la cual represento, se ha desarrollado un jabón de vino tinto destinado al cuidado de la piel para evitar su deterioro y prevenir la aparición de manchas y arrugas. Estos jabones se necesitan estandarizar para generar un producto de alta calidad por lo que en este proyecto se seleccionaron una serie de seis vinos tinto para analizar los compuestos químicos como polifenoles, además de su potencial antioxidante mediante métodos de inhibición radicalaria, con el fin de buscar materia prima de calidad, para generar un jabón formulado bien caracterizado con sus componentes y llevar al mercado con un producto mayormente certificado.

2. ANTECEDENTES

2.1. La empresa

La empresa “Reinas de Casa Agro Artesanas” S.C. DE R.L. DE C.V. es una empresa de carácter comunitario, que está constituida por 8 mujeres de la ciudad de Cuernavaca Morelos, fue fundada el 03 de septiembre del 2019, ante notario público número 1 de Temixco Morelos, alta en el SAT el 20 de septiembre del 2020.

Esta empresa nace a partir de la necesidad de disponer de cosméticos orgánicos, libres de grasa animal y parabenos, de productos eficientes que ayuden al cuidado de la piel y que sean amigables con el medio ambiente.

La producción de jabones artesanales, con formulaciones naturales y originales, es una meta de la empresa, ya que nuestra preocupación es ofrecer productos cosméticos (clasificados como cosmeceúticos en USA), principalmente en la forma de jabones que poseen características funcionales que contribuyen a la salud de la piel de nuestros clientes.

La empresa actualmente produce los siguientes jabones.

- jabón de vino tinto (ayuda a eliminar líneas de expresión)
- jabón de café molido (energizante y exfoliante)
- jabón de avena y miel (aclara la piel y exfolia)
- jabón de chocolate (energizante)
- jabón de coco (exfolia y nutre)
- jabón de caléndula (cicatrizante y antibacteriano)
- jabón de alga espirulina (antiestrías)
- jabón de carbón activado (eliminar barros y espinillas)
- jabón de arcilla verde (exfoliante)
- jabón de perejil (aclarante de piel)
- jabón de rosas (relajante)

- jabón de arcilla roja (exfolia y nutre)
- jabón de cúrcuma (psoriasis)
- jabón de manzanilla (desinflama y suaviza la piel)

Consciente de la importancia de garantizar la calidad de la materia prima que empleamos en la producción de nuestros jabones, se ha decidido realizar la presente propuesta de investigación para cuantificar en el vino tinto las concentraciones de resveratrol y catequinas, que son moléculas antioxidantes ampliamente estudiadas.

2.2. El uso del vino en la cosmética

Está demostrado que las propiedades antioxidantes del vino se deben a sus componentes fenólicos (Abu-Amsha *et al.*, 1996). El contenido total de polifenoles de un vino se correlaciona directamente con su capacidad antioxidante (Rice-Evans *et al.*, 1997). Las propiedades antioxidantes del vino tinto, unido a las propiedades del aceite de semilla de uva, dan como resultado un poderoso jabón que ayuda a eliminar las líneas de expresión (Farris, 2013).

2.3. La industria cosmética

Reinas de Casa Agro Artesanas S.C de R.L. de C.V. destaca principalmente la venta de jabones elaborados con vino tinto, ya que los resultados en la piel son positivos cuando este se utiliza con frecuencia. Los clientes por lo general acuden a fuentes poco fiables como la publicidad de blogs y sitios web de Internet y por último acuden a su médico para que les brinde consejos creíbles sobre qué productos a elegir (Farris, 2014). Datos estadísticos de la industria cosmética mexicana, mencionan que la producción de cosméticos ocupa el tercer lugar, seguido de EE. UU y Brasil, lo que a la empresa Reinas de Casa nos motiva a innovar y mejorar la calidad de nuestros productos. En México, el mercado a nivel interno aporta el 0.7% de la industria manufacturera y el 4.2% del PIB de la industria química. En 2009, generó 24 mil empleos directos, que equivalen al 10.7% de la

industria química, además de los empleos indirectos que incluyen a los vendedores y distribuidores.

La industria cosmética y de cuidado personal trabaja para crear y mejorar productos, que utilizamos en el cuidado personal como, por ejemplo, jabones y productos de cuidado dental, perfumes, maquillajes, cremas, etc. Los principales insumos son productos químicos, tanto orgánicos como inorgánicos, grasas animales y algunos minerales. Los procesos productivos son variados, aunque la mayoría se caracteriza por la mezcla física de diversas materias primas y envasado.

Las principales plantas de producción se encuentran en: Ciudad de México, Estado de México, Guanajuato, Jalisco, Morelos, Nuevo León, Querétaro y Tamaulipas. México exporta cosméticos a más de 100 países en todo el mundo, principalmente a EE.UU. y América Latina de acuerdo a la secretaría de Economía, 2012.

Estos datos son importantes para impulsar la empresa Reinas de Casa Agro Artesanas. Es importante resaltar el estudio publicado por el periódico el Economista del 13 de agosto del 2019, donde menciona el crecimiento y tendencia de la industria cosmética en México (Figura 1). A nivel internacional se toma conciencia y se da preferencia a productos amigables con el medio ambiente, con una gran conciencia social y ecológica, la protección a los animales y la interacción entre los que colaboran para llevar a las manos de los clientes el producto, el ser humano retoma valores y en ello prefiere productos como el nuestro. (re co per. Congreso interamericano CIID 2020).



Figura 1. Crecimiento de la industria cosmética en México (El Economista, 2019).

A pesar de que la industria cosmética en el país sufrió una baja del 4.55% de ventas anuales durante la época de la pandemia por SARS-COV-2, durante el año de 2020, a partir de 2021 empezó un proceso de recuperación, cerrando el año con un crecimiento del 10% en ventas, con una facturación de 200 mil millones de pesos según la Cámara Nacional de la Industria de Productos Cosméticos (Canipecc), (Solucion, 2021).

2.4. El vino

La primera evidencia arqueológica constituye un conjunto de vasijas de cuello estrecho y alargado en la aldea Hajji Firuz Tepe (Figura 2), situada en Irán, datadas entre los 5.400 y 5.000 años A.C. A partir de diversos análisis químicos se pudo determinar la existencia de ácido tartárico en sus paredes, propio del vino. Por mencionar la relación del vino y la salud, a lo largo de la historia, la antigua cultura egipcia recomendaba el consumo

de esta bebida acompañando los alimentos. Según dijo Hipócrates, padre de la medicina, "el vino es bueno para el hombre si, tanto en salud como en la enfermedad, si se administra en su justa medida" (Díaz Araujo, 2020). Estudios confirman que existía menor influencia de desarrollar cáncer, en personas que consumían medio litro de vino al día, en comparación con los grandes bebedores o los abstemios (Villajizan, 2000). Si bebemos diariamente con moderación vino rico en polifenoles, nos beneficiamos del efecto antioxidante de los flavonoides y de la protección contra la aparición del cáncer. Sin embargo, el fenómeno se invierte cuando la cantidad de alcohol aumenta, ya que la acción de los polifenoles se muestra ineficaz para contener la formación de radicales libres, dado al exceso de alcohol (Villajizan, 2000).

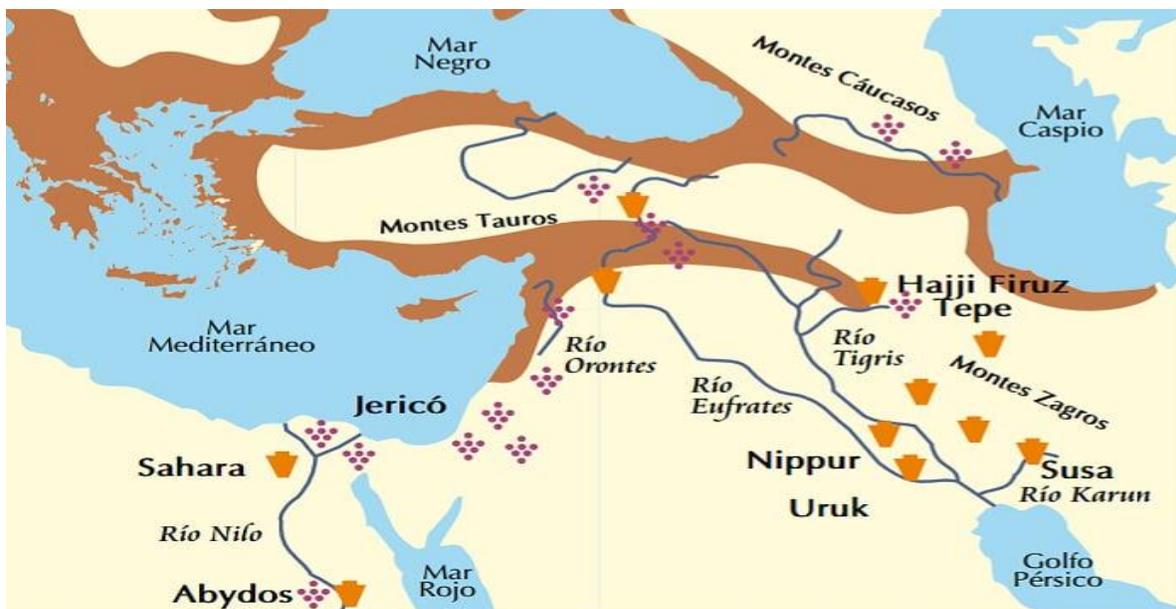


Figura 2. Ruta del vino en la antigüedad. Fuente: www.museum.upenn.edu

2.4.1. La composición química de los vinos

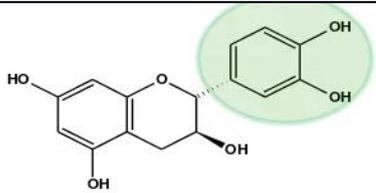
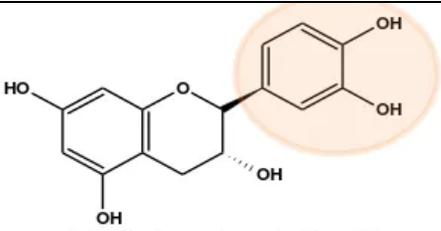
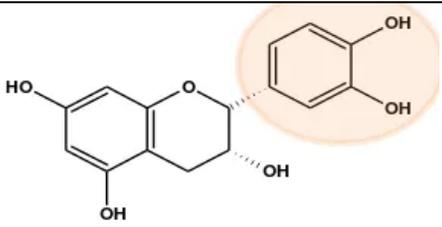
Los compuestos fenólicos de la uva se encuentran en la piel, especialmente en las células epidérmicas y en las pepitas, su concentración es baja en la pulpa. El proceso de elaboración de los vinos comienza con la obtención del vino base procedente de uvas blancas o tintas. Los vinos base blancos y rosados se obtienen cuando la fermentación tiene

lugar sin el contacto entre hollejo y mosto. En cambio, los tintos se elaboran en contacto con los hollejos y su color dependerá del tiempo y la intensidad de la maceración (Hidalgo *et al.*, 2004). Durante la vinificación del vino tinto, el jugo de uva se fermenta de 3 a 21 días en contacto con las partes sólidas de la uva, las cuales presentan mayor concentración de polifenoles y estos se dispersan en el jugo. Sin embargo, durante la vinificación del vino blanco, el zumo se separa de las partes sólidas inmediatamente después de la molienda de la uva. El proceso para el vino rosado es intermedio. Por lo tanto, el contenido de polifenoles será más alto en el vino tinto, más bajo en el vino blanco e intermedio en vinos rosados (Neveu, *et al.*, 2010).

Los compuestos fenólicos o polifenoles constituyen un amplio grupo de sustancias químicas, con diferentes estructuras y propiedades químicas y actividad biológica, englobando más de 8,000 compuestos distintos. Químicamente los polifenoles son un grupo de compuestos presentes en la naturaleza que poseen anillos aromáticos con sustituyentes hidroxilos. Compuestos en su mayoría por potentes antioxidantes necesarios en el funcionamiento de las células vegetales. Se encuentran en frutas y verduras y en bebidas como té y vino (Kinsella *et al.*, 1993). Todos ellos poseen una estructura común: un anillo fenólico, es decir, un anillo aromático que lleva al menos un sustituto hidroxilo. Los flavonoides son los polifenoles que poseen al menos 2 subunidades fenólicas; los compuestos que tienen 3 o más subunidades fenólicas se denominan taninos. Los flavonoides son unos derivados hidroxilados, metoxilados y glicosilados del 2-fenilbenzopirano. En base a su estructura, los flavonoides se subdividen en ocho grupos principales: flavonas, flavanonas, isoflavonas, flavonoles, flavan-3-oles, antocianinas, chalconas y dihidrochalconas, que comprenden alrededor de 4,000 compuestos identificados. Además del grupo de flavonoides, existen otros compuestos fenólicos con propiedades antioxidantes, pero que no mantienen la estructura del 2-fenilbenzopirano, como son los fenoles sencillos (ácidos benzoicos, ácidos cinámicos) y los estilbenos (resveratrol, piceatanol).

Los polifenoles también son subdivididos en taninos hidrolizables, que son ésteres de ácido gálico de glucosa y otros azúcares; y fenilpropanoides, como la lignina, flavonoides y taninos condensados.

La subdivisión de polifenoles en taninos, ligninas y flavonoides deriva de la variedad de unidades simples polifenoles derivadas de los metabolitos secundarios de las plantas de la ruta del ácido shikímico, así como en las divisiones clásicas basadas en la importancia relativa de cada componente base en los diferentes campos de estudio. La química de los taninos se originó debido a la importancia del ácido tánico para la industria del curtido; las ligninas por la química del suelo y la estructura de plantas; y los flavonoides por el estudio de los metabolitos secundarios de plantas en la defensa de los vegetales y en el color de las flores (p. ej. antocianinas), los polifenoles son también agrupados y clasificados por el tipo y número de derivados fenólicos presentes (tabla 1).

Estructura	Nombre
	<p>(+)-Catequina</p>
	<p>(-)-Catequina</p>
	<p>(-)-Epicatequina</p>

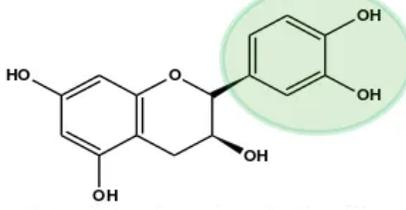
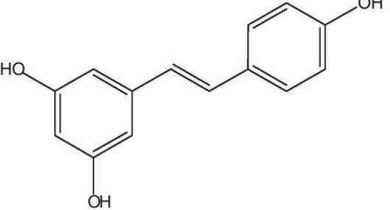
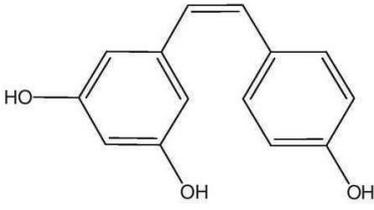
	<p>(+)-Epicatequina</p>
	<p><i>Trans</i>-resveratrol</p>
	<p><i>Cis</i>-resveratrol</p>

Tabla 1. Derivados fenólicos y ejemplos de metabolitos

Los compuestos fenólicos de la uva se localizan mayoritariamente en las partes sólidas: piel, semilla y tejido vascular. A diferencia de los flavonoles presentes en uva blanca y tinta. Los antocianos se encuentran únicamente en la piel de la uva tinta siendo responsables del color rojo característico de estos vinos. Los flavan-3-oles se localizan en las semillas de las uvas. En el grupo de flavan-3-oles incluye monómeros y también oligómeros, perteneciendo a estos últimos las procianidinas, presentes en la semilla. En los vinos blancos los fenoles mayoritarios son aquellos procedentes de la pulpa, mientras que, en los tintos, la maceración alcohólica de los hollejos y las semillas permite la liberación y solubilización en el vino. Los compuestos fenólicos no coloreados en piel más abundantes son: flavan-3-oles en forma monómero tales como la catequina y epicatequina, así como en oligómeros, formas poliméricas, también llamados proantocianidinas o taninos condensados, que están presentes principalmente en las semillas de uva. Estos compuestos pueden contener subunidades de ácido gálico, epigallocatequina de galato y de epicatequina por destacar algunos, tabla 2. Las antocianinas son los pigmentos principales de las uvas rojas ubicadas en la piel; aparecen durante el proceso de maduración, siendo

las principales responsables del color del vino tinto. Las principales antocianinas que se encuentran en las uvas se derivan de cianidina, peonidina, delphinidina, petunidina y malvidina, y por lo general se producen como glicósidos y acil glicósidos; malvidina-3-O-glucósido es el más abundante (Latorre, 2016).

Compuestos fenólicos	Vino rojo mg/GAE/L	Vino blanco mg/GAE/L
Catequinas	191	35
Epicatequinas	82	21
Ácido gálico	95	7
Cianidina-3-glucósido	3	0
Malvidina-3-glucósido	24	1
Rutina	9	0
Quercetina	8	0
Mircetina	9	0
Ácido cafeico	7.1	2.8
Resveratrol	1.5	0
Contenido fenólico total	2567	239

Tabla 2. Contenido de compuestos fenólicos mayoritarios de vino rojo y blanco, expresados en miligramos de ácido gálico equivalente (mg/GAE/L) Abreviatura: GAE, por sus abreviaturas en inglés (gallic acid equivalent). *Lingua MS y col.* 2016

La cantidad total de polifenoles en los vinos tintos se ha estimado en un rango de 2000 a 6000 mg/L, 20 como se muestra en la tabla anterior. Los principales polifenoles bioactivos en los vinos tintos son en particular, flavanoles, flavonoles, antocianinas y resveratrol. Los flavonoides, que representan más del 85% de los componentes fenólicos del vino tinto, incluyen diferentes familias moleculares, tales como flavonoles, por ejemplo, monomérico (catequina, epicatequina), compuestos oligoméricos y poliméricos

(proantocianidinas, también llamados taninos condensados)], flavonas, antocianinas, flavan-3-oles, catequinas y epicatequina- (López-Miranda y col 2016). El papel de los polifenoles. Estudios in vitro y preclínicos

Los modelos de estudio farmacológico han demostrado la asociación de los polifenoles del vino con la activación de antioxidantes y mecanismos antiinflamatorios, con la identificación de flavonoides, particularmente quercetinas, catequinas, taninos y resveratrol. (Khurana et al, 2013). El resveratrol, es un compuesto fenólico categorizado como fitoalexina, que es uno de los principales responsables de la actividad antioxidante en vinos y zumos de uva (Bustos et al., 2012). El resveratrol tiene varias propiedades, ya que es antioxidante, antiagregante plaquetario, antiinflamatorio, vasodilatador, e inhibe la proliferación celular (Masis, et al., 2013). La concentración de resveratrol oscila en vinos tintos entre 0,001 y 10 mg/L, en vinos rosados entre 0.05 y 1,2 mg/L y en blancos desde trazas hasta 0,019 mg/L (Cenusa, 2016). Para tratar de ubicar el trans-resveratrol a nivel celular en las plantas, debe considerarse en primer lugar cómo y por qué se genera esta molécula. Puede deducirse que el trans-resveratrol es un anabolito generado en las células de las plantas con el objeto de cumplir una misión específica, ser un pesticida natural a través del cual y junto con otros anabolitos defiendan a la planta de agresiones externas (Adrián y col 1996)

2.4.2. Efectos benéficos del vino en la salud

Los efectos de los polifenoles son fundamentalmente consecuencia de sus propiedades antioxidantes. Concretamente, se ha demostrado que el resveratrol, uno de los principales polifenoles del vino, previene la oxidación de las LDL y disminuye la citotoxicidad producida por las LDL oxidadas en células endoteliales (Vinson, 2001). Los polifenoles son, en realidad, los principales antioxidantes de la dieta, y su ingesta es 10 veces superior a la de la vitamina C y 100 veces superior a la de la vitamina E y los carotenoides (Rice-Evans, 1996).

Sabemos que algunos alimentos se destacan por su alto contenido en polifenoles, entre ellos el té, el vino y el cacao. Los polifenoles contenidos en estos alimentos son altamente efectivos como defensa antioxidante (Pannala, 1997).

Flavonoides como la catequina o la quercetina pueden directamente neutralizar especies reactivas de oxígeno (ROS), como el O_2^- , el H_2O_2 o el HClO. La quercetina y la miricetina, seguidas por el kampferol, son los flavonoides que poseen mayor actividad neutralizadora de radicales libres (Pannala, 1997).

2.5. La piel humana

La piel es el órgano que reviste nuestro cuerpo, brindando una protección de barrera con el medio externo, minimizando las pérdidas hídricas y de temperatura, y protegiéndonos de la radiación ultravioleta y de agentes infecciosos. Está constituida por una capa más externa, denominada epidermis, conformada por tejido epitelial (varias capas de células unidas como ladrillos conformando un muro), figura 3. Las células de este tejido van madurando desde la base hacia la periferia, transformándose en células que conforman el estrato córneo de la piel, llenas de queratina, formando una película protectora que limita mucho la permeabilidad de la piel. Bajo la epidermis, se encuentra la dermis, tejido conectivo, rico en colágeno (proteínas fibrosas que le dan resistencia a la piel), elastina (proteínas que le dan elasticidad a la piel) y proteoglicanos (moléculas que anclan colágeno y elastina), además de vasos sanguíneos, receptores nerviosos, glándulas sudoríparas y sebáceas, y folículos pilosos. La epidermis es un tejido epitelial estratificado que constituye la parte más externa de la piel, recubriendo nuestro cuerpo. Consta de varias partes, siendo la más profunda el estrato basal, línea de células en constante división en lo más profundo de la epidermis, separadas por una membrana basal denominada dermis.

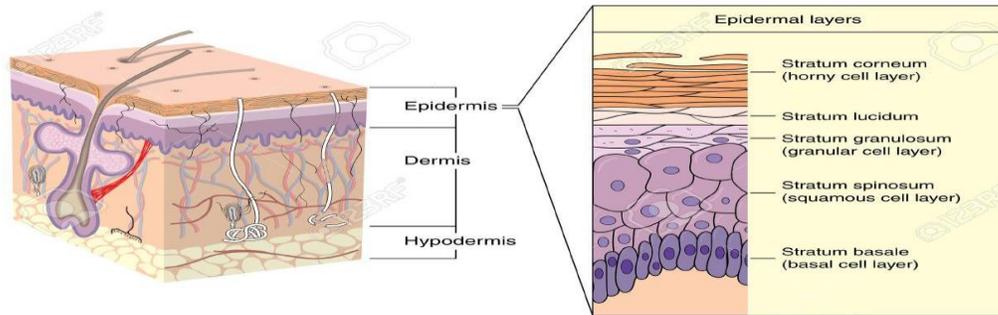


Figura 3. Estructura de la epidermis (imagen de Peter Lamb, Blamb ilustrators).

La piel tiene gran poder de absorción hídrica, debido al “Factor Humectante Natural”, conformado por aminoácidos producto de degradación de proteínas intracelulares muy hidrofílicas, que retienen gran cantidad de agua. La estructura general del estrato córneo simula una pandereta de ladrillos, compuestos por los queratinocitos y el cemento los lípidos extracelulares. Existen aquí varios tipos de lípidos, como colesterol o ceramidas, y la correcta función que cumplen parece depender de una proporción adecuada. El uso de jabones comunes remueve los lípidos de la piel, disminuyendo su función de barrera, resecaándola.

La epidermis se encuentra en constante recambio, reemplazándose por completo en un período de 3 a 4 semanas. Este recambio se hace más lento con los años, lo que explica que las células epidérmicas de los ancianos están envejecidas y no cumplen correctamente con sus funciones. En síntesis, el queratinocito madura desde el estrato basal hasta el estrato córneo llenándose de queratina y muriendo. Estas células muertas deben descamarse desde la superficie de la piel, proceso conocido como exfoliación. Al contrario de lo que podría pensarse, la exfoliación no es espontánea, sino que, como se ha mencionado, es un proceso altamente regulado, que depende en parte de la humectación y del pH de la piel, siendo guiado por enzimas que desprenden los corneocitos. Esto explica en parte el aspecto escamoso de la piel envejecida, con alteración del proceso de exfoliación normal.

La principal célula de la dermis es el fibroblasto, una célula productora de todas las sustancias presentes en la matriz extracelular. El principal componente de la matriz

extracelular es el colágeno, proteína fibrosa compuesta por 3 subunidades que se entrelazan formando una “cuerda”. Es muy resistente a la tracción y le otorga resistencia y flexibilidad a la piel. Las fibras se anclan a la epidermis, manteniéndola firmemente pegada a la dermis, y al tejido celular subcutáneo. Los principales tipos de colágeno son el tipo I (alrededor del 80%) y el tipo III (alrededor del 10 a 15%). El colágeno tipo I parece ser el más importante en cosmética, dado que es el que disminuye con foto daño y aumenta tras tratamientos que estimulan su producción, como la microdermoabrasión. El colágeno se encuentra en permanente síntesis y destrucción, en un proceso equilibrado entre enzimas que lo desdobra llamadas metaloproteinasas y una sustancia llamada “Inhibidor tisular de las metaloproteinasas”. En la juventud existe una tendencia a la producción por sobre la degradación de colágeno; el contenido de colágeno es máximo entre los 3 y 7 años de edad, y tiene otro repunte en la adolescencia. Al pasar de los años esto se revierte, lo que resulta en una pérdida progresiva de colágeno en la piel, lo cual está directamente asociado al envejecimiento cutáneo. Le sigue en importancia al colágeno la elastina, proteína que le otorga elasticidad y resiliencia a la piel.

Un factor importante en la piel humana es el sol, ya que acelera en forma importante el envejecimiento cutáneo, debido a que se requieren dosis mínimas de luz ultravioleta (1/10 de la necesaria para producir enrojecimiento de la piel) para activar las metaloproteínas. La luz UV produce además daño directo del colágeno, a través de la formación de radicales libres, que son moléculas altamente nocivas a las células. La neutralización de los radicales libres puede darse a partir de la acción protectora de las moléculas antioxidantes (Tortora y Derrickson, 2013).

2.6. Mecanismos de reparación celular

Se conoce como renovación celular a la capacidad que tiene el organismo de lograr un equilibrio entre la división de las células (que permite producir nuevas células) y la muerte de éstas. Esta renovación celular es un proceso dinámico que implica la producción de nuevas células que son idénticas a las células madre; mientras tanto, otras células mueren.

Existe una tasa de renovación celular para cada clase de célula. En algunos casos, la renovación celular es veloz y las células que mueren se “reemplazan” o se “recuperan” a gran velocidad. En otros casos, en cambio, la renovación celular resulta lenta.

Esto quiere decir que, pese a que la totalidad de los órganos cuenta con células que pueden renovarse, la tasa de renovación celular varía en cada caso. Por lo general, a mayor especialización del órgano, la capacidad de la renovación de sus células será menor.

La renovación celular no sólo está vinculada a la anatomía: la herencia genética también es importante. Por otra parte, los hábitos son relevantes en la renovación celular, ya que la alimentación, la actividad física y el consumo de sustancias como alcohol o tabaco afectan el proceso.

Un ejemplo de renovación celular ocurre en la piel cuando una persona se broncea y luego va perdiendo el color adquirido. Esto se debe a que las células de la piel se renuevan con el paso de los días y, de este modo, el tono que produjo la acción de los rayos solares se elimina de forma paulatina.

Nuestro cuerpo es más joven que nosotros. Según el biólogo sueco llamado Jonas Frisen, no todas las células del cuerpo tienen la misma edad, y la diferencia es verdaderamente considerable. Sin importar la edad de una persona, su cuerpo tiene muchos años menos: entre 7 y 10, para ser más precisos. Esto se debe a que gran parte de nuestros tejidos se encuentran en una renovación celular constante (Pérez y Gardey, 2014). Para inducir la apoptosis, el resveratrol también activa la vía ceramida / esfingomielina, que promueve la generación de ceramida y la activación de las cascadas de quinasa. El resveratrol puede activar vías alternativas a la muerte celular, como las que conducen a la autofagia, la senescencia o la catástrofe mitótica. Además, se han realizado numerosos intentos utilizando análogos de resveratrol para mejorar la capacidad de la molécula para bloquear la proliferación celular e inducir la muerte celular. Se espera que la modificación estructural de los fenólicos naturales produzca análogos que pueden ser herramientas útiles para estudiar las relaciones estructura-actividad. Por último, en varios tipos de cáncer, el resveratrol se comporta como un quimiosensibilizador que reduce el

umbral de inducción de muerte celular por los agentes anticancerígenos clásicos y contrarresta la quimiorresistencia de las células tumorales (Delmas, 2011).

2.7. Productos reparadores de la piel

El uso de derivados del vino tinto en la cosmética se ha puesto de moda debido a los polifenoles, que son moléculas con una potente acción antioxidante, siendo efectiva contra los radicales libres del oxígeno (RLO), causantes tanto del envejecimiento como de otras patologías que afectan al organismo, incluidas aquellas que inciden en el sistema cardiovascular y determinadas patologías oncológicas.

El daño oxidativo que estas especies pueden producir en las macromoléculas biológicas es de consecuencias críticas, que reaccionan con lípidos, proteínas, carbohidratos y ADN en el interior de las células y con componentes de la matriz extracelular, por lo que pueden desencadenar un daño irreversible que, si es muy extenso, puede llevar a la muerte celular. Entre las numerosas patologías asociadas a estrés oxidativo están las dos principales causas de muerte en los países desarrollados: la arterioesclerosis y el cáncer, como así también otras condiciones patológicas como cataratas, artritis reumatoidea, diabetes y enfermedad de Alzheimer. El proceso biológico de envejecimiento se acelera en función de la magnitud del estrés oxidativo al que están sometidos organismos de muy diferentes especies (Camussoni y Carnevali, 2004).

3. Justificación

Con la edad, la piel se vuelve más fina y frágil, acumula defectos de pigmentación y le cuesta más curarse en caso de heridas. Una de las maneras de prevenir y retardar los signos de la edad en la piel es el uso de compuestos quimioprotectores, como los antioxidantes. En este sentido la industria cosmética mundial ha concentrado sus esfuerzos en la investigación de nuevos productos para el cuidado de la piel. La presencia de antioxidantes en una formulación cosmética ha sido la clave del éxito de las estrategias de marketing, donde éstos son inmediatamente reconocidos por la población como símbolos de seguridad, eficacia y salud, confiriendo características especiales a un producto.

En la actualidad, la sociedad demanda una apariencia joven y sana, como símbolo de bienestar y éxito. Por ello cada vez más las mujeres en etapa laboral invierten en su apariencia física, con una mayor conciencia de salud personal y bienestar ecológico. El cuidado de la piel, en especial el rostro y del medio en que se vive es cada vez más generalizado, siempre teniendo en cuenta la Ley de Salud, donde el Art. 269 de la Ley General de Salud define: se considera producto cosmético las sustancias o formulaciones destinadas a ser puestas en contacto con las partes superficiales del cuerpo humano, epidermis, sistema piloso y capilar, uñas, labios y órganos genitales externos o con los dientes y mucosas bucales con el fin exclusivo o principal de limpiarlos, perfumarlos, ayudar a modificar su aspecto, protegerlos y mantenerlos en buen estado o corregir los olores corporales o atenuar o prevenir deficiencias o alteraciones en el funcionamiento de la piel sana. No pueden presentarse como terapéuticos, preventivos, rehabilitadores, modificar el cuerpo o ser vital. Esta leyenda se debe cuidar en la publicidad.

Es por esto que la empresa Reinas de Casa Agro Artesanas S.C. de C.V. de R.L. busca el desarrollo de un jabón de vino tinto con un contenido estandarizado de antioxidantes, para así lograr un producto eficaz y con mayor calidad en el mercado.

4. Hipótesis de trabajo.

La cuantificación de polifenoles, especialmente de catequinas y del resveratrol en diferentes marcas de vinos tipos, permitirá seleccionar aquellos con mayor potencial antioxidante para la fabricación de jabones.

5. Objetivo general

Determinar la concentración de polifenoles como catequinas y el resveratrol, así como el potencial antioxidante de seis marcas de vinos tintos.

5.1. Objetivos específicos

1. Elegir seis marcas de vino tinto disponibles en el mercado mexicano, en función de su disponibilidad y costo.
2. Determinar del contenido total de polifenoles presentes en seis vinos tintos.
3. Evaluar la actividad antioxidante de los extractos de vinos mediante el método ABTS.
4. Evaluar la actividad antirradicalaria de los extractos de vinos mediante el método DPPH.
5. Cuantificar la presencia de catequinas en muestras de vinos tintos mediante Cromatografía Líquida de Alta Eficiencia.
6. Cuantificar la presencia del resveratrol en muestras de vinos tintos mediante Cromatografía Líquida de Alta Eficiencia.

6. METODOLOGÍA

6.1. Selección de Vinos tintos para el análisis de polifenoles.

Se analizaron 6 marcas de vinos tinto diferentes, para identificar y cuantificar la presencia de catequinas y del resveratrol, así como la determinación de catequinas totales, que son necesarios en el control de calidad del Jabón de vino tinto, con el objetivo de indicar su potencial antioxidante, así como estandarizar la presencia de dichos polifenoles. Los vinos seleccionados fueron marcas comerciales de vinos tintos de presencia constante y disponibles en los diferentes supermercados de Cuernavaca Morelos. Los vinos seleccionados fueron aquellos que se encontraban en el mercado y que presentaban un volumen de 750 ml, los vinos seleccionados fueron los que se muestran en la tabla 3.

Marca	Origen
Santa Helena (VTSE)	Chile
Cabernet Sauvignon La Cetto (VTCS)	Baja California, México.
La Redonda (VTLR)	Querétaro, México
Sangre de Cristo (VTSC)	Coahuila, México.
Cu4tro Soles (VT4S)	Aguascalientes, México.
Castillo de Liria. (VTCL)	España

Tabla 3. Vinos tintos seleccionados para el análisis de polifenoles.

6.1.1. Obtención de los extractos crudos de vino tinto.

De las botellas de vino tinto se tomó 1 ml de cada uno y se colocaron en viales independientes los cuales fueron etiquetados respectivamente, estas muestras se tomaron para analizarlas en el HPLC las catequinas, posteriormente se tomaron 150 ml de cada uno

de los vinos para secado y liofilización hasta llegar a un secado casi total, para ser analizados por el método de DPPH Y ABTS, por último se tomaron nuevamente viales de un mililitro directo de la botella para ser analizados en HPLC el resveratrol.

Las muestras de 150 ml de vino tinto se evaporaron en campana de extracción por 6 días, hasta reducirse a un 15%, posteriormente se procedió a congelarlo y liofilizarlo hasta la eliminación total del agua. El extracto crudo se almacenó en viales de color ámbar figura 7. Las muestras se resguardaron en un ultracongelador a 70 °C.

6.2. Determinación del contenido total de polifenoles presentes en seis vinos tinto.

El contenido de polifenoles totales de los extractos de vino tinto se determinó a través del método Folin-Ciocalteu (Garcia y col 2015). El reactivo Folin-Ciocalteu es una mezcla del ácido fosfotúngstico ($H_3PW_{12}O_{40}$) y del ácido fosfomolibdico ($H_3PMo_{12}O_{40}$), que se reduce a óxidos azules de tungsteno (W_8O_{23}) y molibdeno (Mo_8O_{23}) durante la oxidación de fenol. Esta reacción ocurre en condiciones alcalinas proporcionadas por el carbonato de sodio (Na_2CO_3). La intensidad del color azul refleja la cantidad de compuestos polifenólicos, que se midió en un espectrofotómetro SpectraMax® iD3). Se empleó el ácido gálico como referencia para determinar los polifenoles totales, que se expresaron en mg/g equivalentes de ácido gálico (EAG). El ácido gálico (0.5 g) se pesó con precisión en un matraz volumétrico de 10 ml y fue disuelto en 10 ml de metanol absoluto, siendo que la solución se aforó a 100 ml con 80% del mismo solvente, lo que conformó la solución madre.

Para la construcción de la curva estándar se tomaron volúmenes de 0, 1, 2, 3, 4 y 5 ml de la solución madre, que se aforaron en un matraz de 100 ml, para resultar en 0, 50, 100, 150, 400 y 500 mg/l de ácido gálico, respectivamente. Posteriormente, 0.5 ml de cada muestra se transfieren a tubos de ensayo y se mezclaron con 2.5 ml del reactivo de Folin-Ciocalteu diluido diez veces y 2 ml de carbonato de sodio al 7.5%. Los tubos se cubren con papel de aluminio y se deja reposar durante 30 minutos a temperatura ambiente antes de leer la absorbancia a 765 nm. Las muestras se prepararon por triplicado para cada análisis (Geremu et al., 2016).

6.3. Actividad antioxidante mediante el método ABTS

La actividad depuradora del radical ABTS se estimó según Re *et al.* (1999). El catión radical ABTS (ABTS) (2,2'-azino-bis(ácido 3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico) se obtuvo después de la reacción de ABTS (7 mM) con persulfato de potasio (final concentración de 2.6 mM). La mezcla se mantuvo en la oscuridad a temperatura ambiente, durante 12-16 horas, después de eso, la solución ABTS*+ se diluyó hasta obtener una absorbancia de 0.700 ± 0.2 (734 nm). La mezcla de reacción (10 μ l de cada extracto y 990 μ l del radical ABTS*+) se mantuvo en la oscuridad durante seis min. La disminución de absorbancia (734 nm) se expresó como porcentaje de inhibición del radical ABTS*+.

Posteriormente se tomaron 3 g de cada extracto crudo de vino tinto y se adicionó agua ultrapura (Mq) para llevar a 20 ml la dilución, que se sonificó por 15 minutos y se procedió al análisis, diluyendo las muestras (1/100 ml) para poder a leer a 734 nm.

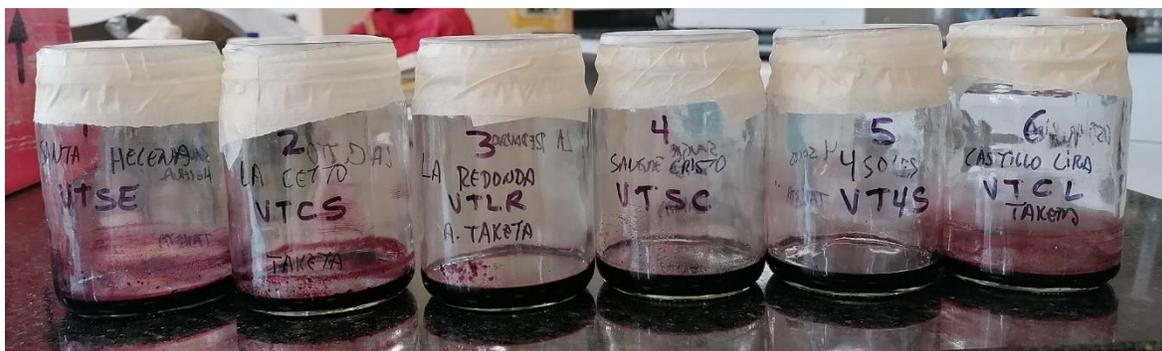


Figura 4. Preparación de los seis vinos tintos para el análisis de ABTS Y DPPH

6.4. Actividad depuradora del radical DPPH

La actividad depuradora del radical DPPH, se determinó midiendo la disminución de la absorbancia de la mezcla de reacción después de incubar por 45 min en oscuridad y se expresó como el porcentaje de inhibición de Radical DPPH. La mezcla de reacción contenía 0.5 ml de extracto, 3ml de metanol y 0,3 ml de 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo 0,5 mM (DPPH) solución de radicales en metanol (Morales-de-Souza *et al.*, 2008). Posteriormente se

realizaron diluciones 1/100 de cada una de las muestras leyendo a una absorbancia de 517 nm.

6.5 Análisis de polifenoles por cromatografía en capa fina utilizando el equipo CAMAG.

Con la finalidad de analizar el perfil de compuestos presente en los extractos etanólicos de diferentes marcas de vino tinto se llevó a cabo mediante la cromatografía en capa fina. Las seis muestras de vino tinto (3 ml) se llevaron a sequedad total y posteriormente se suspendieron en 1 ml de metanol para posterior análisis cromatográfico (figura 5).

Se emplearon cromatoplasmas recubiertas con gel de sílice 60 F254, que fueron eluidas con las siguientes fases móviles: A) ác. acético-ác. fórmico-agua (10:0.5:1.5); B) butanol-ác. acético-agua (8:2:4); C) ác. acético-acetato de etilo-agua (10:1.5:1). Además, se cromatografiaron los controles (+)-catequina, (-)-epicatequina y (-)-epicatequina galato. Las placas fueron analizadas bajo luz ultravioleta con longitud de onda larga (366 nm) y corta (254 nm).



Figura 5. Fotografía de los seis vinos seleccionados para el análisis de polifenoles

6.6. Análisis de catequinas y resveratrol por cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC)

Los compuestos de catequinas, en específico la (+) catequina, (+) epicatequina, (-) epicatequina y (-) epicatequina galato, así como el resveratrol fueron utilizados como estándares de referencia para su identificación y cuantificación en las seis muestras de vinos tintos. Se empleó un equipo HPLC Agilent, y como fase estacionaria se utilizó una columna analítica de fase reversa LiChrospher® RP 18, con 5 µm de partícula. Los disolventes empleados fueron grado HPLC.

6.6.1. Cuantificación de catequinas.

Se empleó el sistema cromatográfico compuesto por la fase móvil agua:MeOH (70:30), con un detector de ultravioleta a 280 nm.

Para la construcción de una curva de calibración se prepararon soluciones a diferentes concentraciones de los compuestos puros la (+)-catequina, (+)-epicatequina, (-)-epicatequina y (-)-epicatequina galato, que fueron obtenidos por Ramos (2021). Las concentraciones utilizadas fueron de 12.5 a 400 µg/mL para establecer la linealidad entre el área del pico y la concentración de los analitos.

6.6.2. Cuantificación del resveratrol.

Para la fase móvil se utilizó un sistema binario que consistió en: solvente A: 1% de ácido acético/agua y solvente B: metanol. Se empleó un sistema gradiente que consistió en 0-5 min (60% A), 5-10 min (35% A), 10-15 min (10% A) y 15-17 min (60% A). El volumen de inyección fue de 20 µl y el flujo de 0.8 ml/minuto. La temperatura de la columna se mantiene constante a 25 ° C. La detección se realizó a una longitud de onda de 313 nm (Peñarrieta et al., 2012).

El sistema HPL utilizado estuvo compuesto por un detector UV Pekin-Elmer 785 A con provisión para escaneo de flujo detenido (190-360 nm), una bomba PE serie 200, una interfaz de la serie PE 900 y un desgasificador de vacío PE Serie 200. Una columna octadecilo de 250 mm de largo. se utilizó, con un diámetro de partícula de 5 microlitros, 4,6 mm i d (Browlee, Norwalk, eluyente y luego se inyectó directamente a través de un bucle de 20 microlitros en una pre-columna C18.

La fase reversa del HPLC estuvo conformada por una solución socrática preparo con metanol grado HPLC. Se pesaron 5.8 gr de resveratrol y resuspendió en 2.9 ml de metanol, para constituir la solución madre. Para la construcción de la curva de calibración se prepararon diluciones con 500 μ l de solución madre más de 500 μ l metanol, de esta forma subsecuentemente, se tomaron 500 μ l de cada muestra para la siguiente dilución, hasta obtener 13 viales con soluciones que se inyectaron a 20 μ l en le HPLC, y así obtener el área bajo la curva para el resveratrol. Se tomaron muestras directas de cada vino tinto y se analizaron por triplicado.



7.1. Vinos tintos seleccionados.

Los vinos seleccionados para esta investigación fueron vinos tintos de marcas comerciales y disponibles en los diferentes supermercados de Cuernavaca Morelos. Se seleccionaron aquellos vinos que estuvieran en un rango de \$100.00 a \$200 pesos mexicanos ya que se pretende utilizarlos para la elaboración de un jabón que sea rentable para el productor y poder ofrecer un producto de precio accesible para el consumidor, además de presentar una buena cantidad de compuestos con actividad antioxidante.

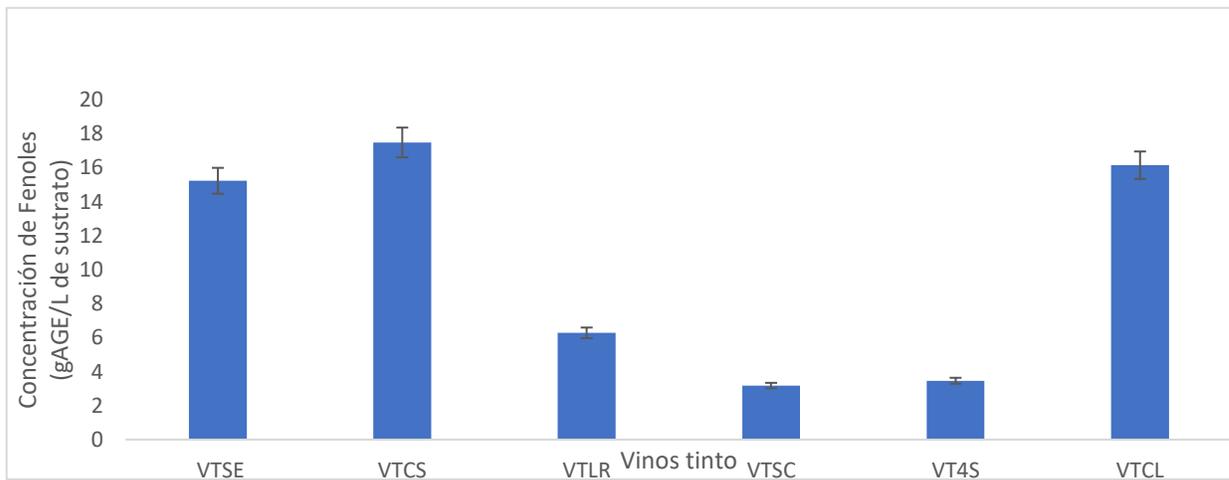
La disposición de los seis vinos seleccionados se encuentra en al menos 3 supermercados en la ciudad de Cuernavaca Morelos. El precio de estos vinos oscila entre \$95 y \$383 pesos mexicanos como se muestra en la tabla 4, siendo el más económico el vino Castillo de Lira (VTCL), con un precio de 95 pesos mexicanos, mientras que para los cinco vinos restantes su precio oscila entre los \$100 y \$150 pesos mexicanos. Sin embargo, fue necesario el análisis químico de cada uno de los vinos para determinar el perfil de los compuestos de interés con actividad antioxidante.

Marca y origen	Supermercado/Precio (\$ pesos mexicanos)		
	Chedraui	Superama	Walmart
Santa Helena (VTSE), Chile	\$123.00	\$123.00	\$123.00
Cabernet Sauvignon La Cetto (VTCS), Baja California México	\$163.00	\$161.00	\$383.00
La redonda (VTLR), Querétaro, México	\$195.00	\$142.00	\$139.00
Sangre de Cristo. (VTSC), Coahuila, México	\$139.00	\$139.00	\$139.00
Cuatro soles. (VT4S), Aguas calientes, México	\$121.00	\$126.00	\$126.00
Castillo de Liria. (VTCL), España	\$125.50	\$95.00	\$120.00

Tabla 4. Vinos seleccionados supermercados en la ciudad de Cuernavaca Morelos para el análisis de polifenoles.

7.2. Contenido de fenoles totales de los seis vinos tinto.

La concentración de fenoles totales de los seis vinos tinto, mostraron concentraciones muy diferentes, destacando el vino VTCS y VTCL con una concentración arriba de 18 gAGE/L de sustrato, mientras que para el vino VTSE su concentración fue de 15 gAGE/L, y los que menor contenido fenólicos reportaron fue para los vinos VTRL, VT4S y VTSC con concentraciones por debajo de 5 gAGE/L, como se muestra en la gráfica 1.



Gráfica 1. Concentración de fenoles totales de los seis vinos tintos

	vino 1	vino 2	vino 3	vino 4	vino 5	vino 6
vino 1		-2255.56	8950.00	12050.00	11766.67	-916.67
vino 2			11205.56	14305.56	14022.22	1338.89
vino 3				3100.00	2816.67	-9866.67
vino 4					-283.33	-12966.67
vino 5						-12683.33
vino 6						

Tabla 5. Análisis Tukey Fenoles

vino 1-6 No hay diferencia significativa

vino 2-6 No hay diferencia significativa

vino 4-5 No hay diferencia significativa

NOTA: las que están coloreadas SI tienen diferencia significativa

7.3. Perfiles cromatográficos en capa fina de las seis muestras de vinos tintos

Se observó la presencia de metabolitos en los extractos de los seis vinos tintos en las placas cromatográficas utilizando tres fases móviles con diferente polaridad, donde cada una favoreció la separación de algunos grupos de compuestos en cada extracto. El resultado ayudó a la elección de la fase móvil para obtener el mejor perfil cromatográfico para cada muestra de vino tinto.

La fase móvil ác. acético-ác. fórmico-agua (10:0.5:1.5), placa 1 de la figura 6, permitió el desarrollo de un buen perfil cromatográfico. Las muestras en los carriles 3 (VTLR), 4 (VTSC) y 5 (VT4S) presentaron bandas similares, de menor polaridad, con un R_f de 0.96, que también aparecieron en las placas que migraron en los otros dos sistemas cromatográficos. Estas bandas tienen un perfil de migración parecidas a las de las catequinas aplicadas en los carriles 7, 8 y 9, que también fueron observados con luz ultravioleta de onda corta, pero que no fluorescen en presencia de luz a 366 nm. Además, todas las muestras de vinos presentan en onda larga compuestos con R_f 0.45 que son comunes en todas las muestras. En el punto de aplicación se puede notar la acumulación de compuestos más polares que no migraron en este sistema de elución. Sin embargo, dichos compuestos migraron, con R_f s entre 0.3-0.4, sin una resolución adecuada, posiblemente por una sobrecarga de extracto en el punto de aplicación, en el sistema butanol-ác. acético-agua (8:2:4), que por su polaridad posiblemente podría tratarse de antocianidinas, que también se observaron en el sistema ác. acético-acetato de etilo-agua (10:1.5:1), con R_f s de 0.1 a 0.15 (figura 6).

Se puede concluir que los sistemas utilizados, tanto las diferentes fases móviles, cuanto la fase estacionaria de sílica pueden optimizarse, quizás utilizando una fase reversa para una mejor resolución cromatográfica de los compuestos de interés, como las catequinas, resveratrol (aún no se contaba con el estándar en el momento del análisis por cromatografía en capa fina), así como las antocianidinas.

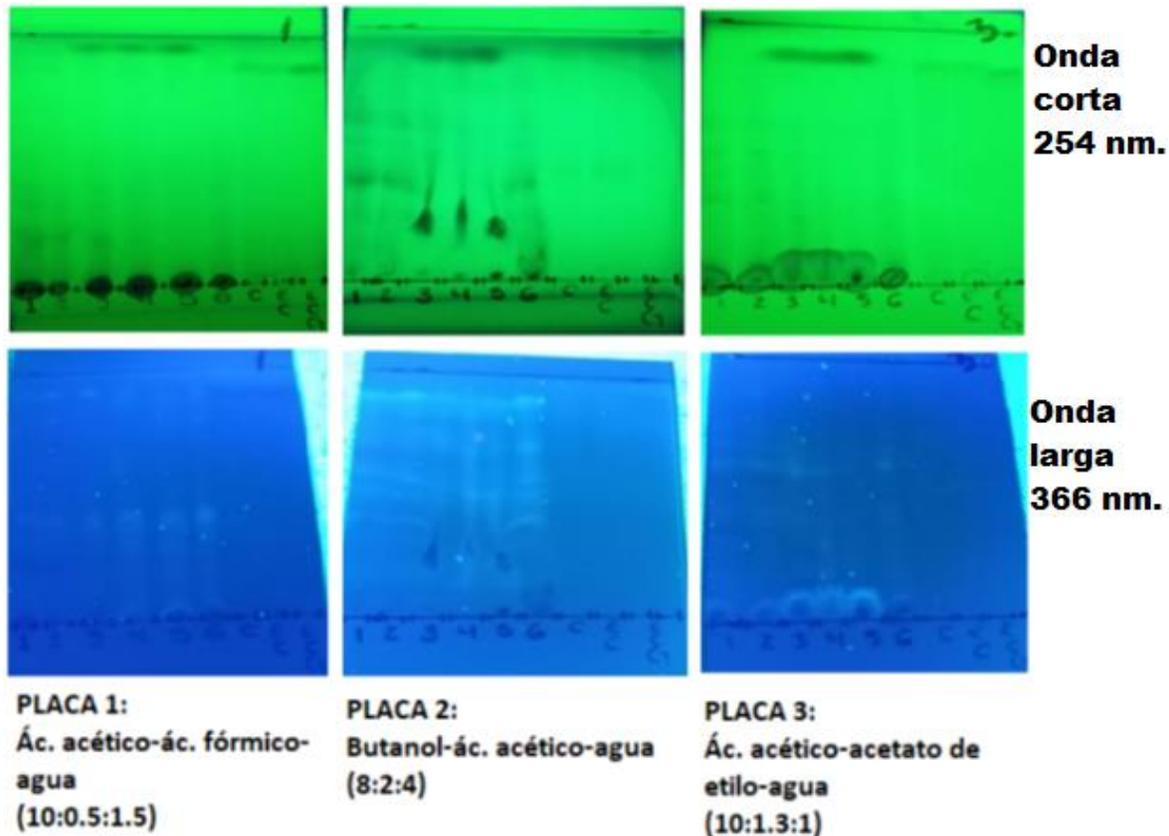


Figura 6. Perfiles cromatográficos en capa fina de los seis vinos tintos. Carriles: 1) VTSE, 2) VTCS, 3) VTLR, 4) VTSC, 5) VT4S, 6) VTCL, 7) (+)-catequina, 8) (-)-epicatequina y 9) (-)-epicatequina galato.

Las placas en la parte superior fueron observadas en luz ultravioleta con longitud de onda corta (254 nm) y las placas de la parte inferior a longitud de onda larga (366 nm).

7.4. Análisis de catequinas por cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC)

Para el estudio catequinas presentes en las seis muestras de vinos, la técnica de HPLC permitió la identificación y cuantificación de (+)-catequina, (+)-epicatequina, (-)-epicatequina y (-)-epicatequina galato, que son compuestos con reconocida actividad antioxidante y que se encuentran en diferentes plantas, con especial destaque en el té

verde (*Camellia sinensis*), una de las bebidas más consumidas en todo el mundo (Scoparo y col. 2014).

Para este análisis se empleó una columna C18, que retiene los analitos menos polares, permitiendo que el orden de su elución sea del más polar al menos polar. Los cromatogramas de HPLC son resultados de la inyección directa de muestras de los seis vinos tintos, que permitieron la identificación de las cuatro catequinas analizadas, siendo que la (+)-catequina y la (-)-epicatequina fueron los compuestos que mejor se pudieron apreciar en las muestras analizadas. El experimento se realizó por triplicado, con la reproducción de los mismos resultados.

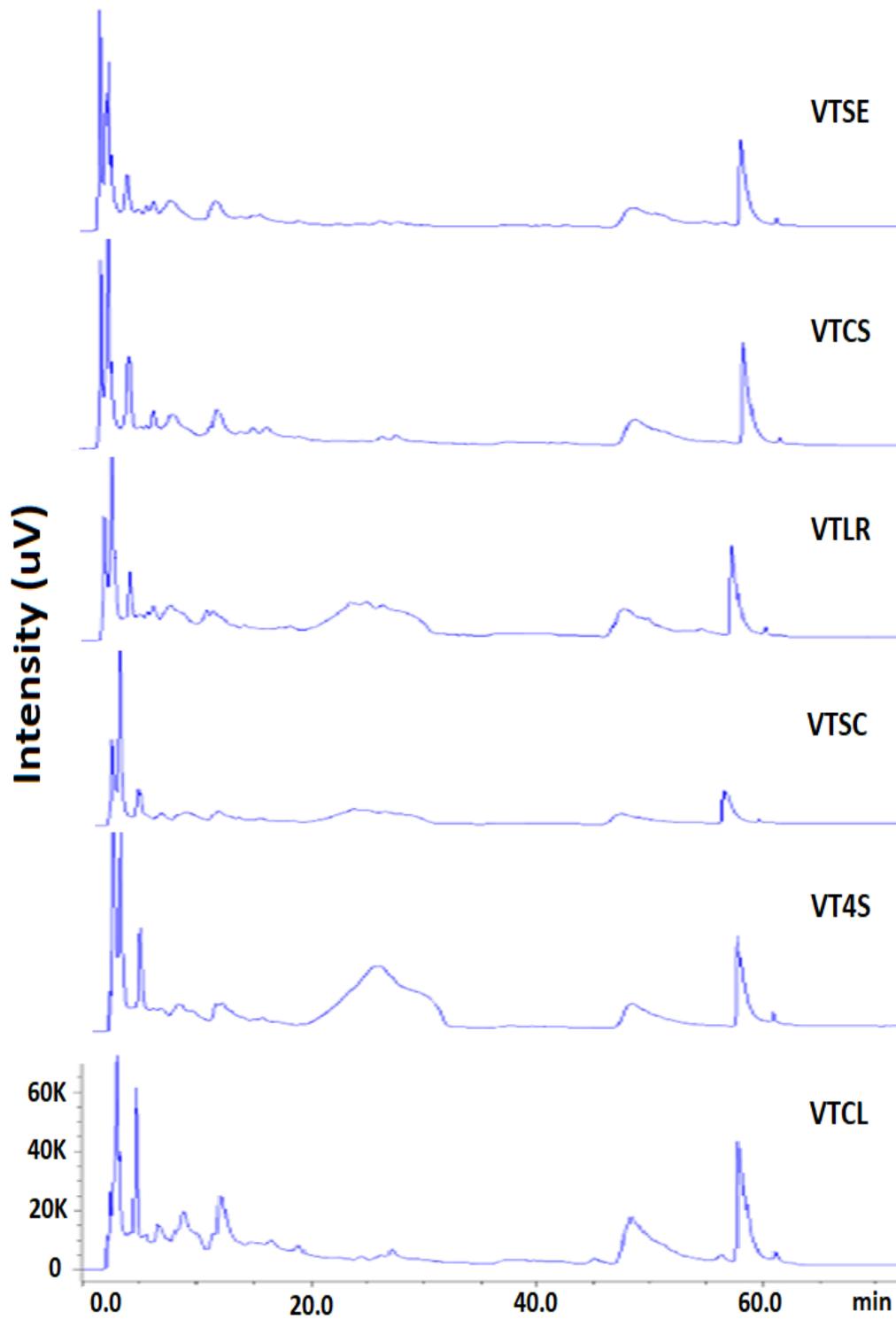
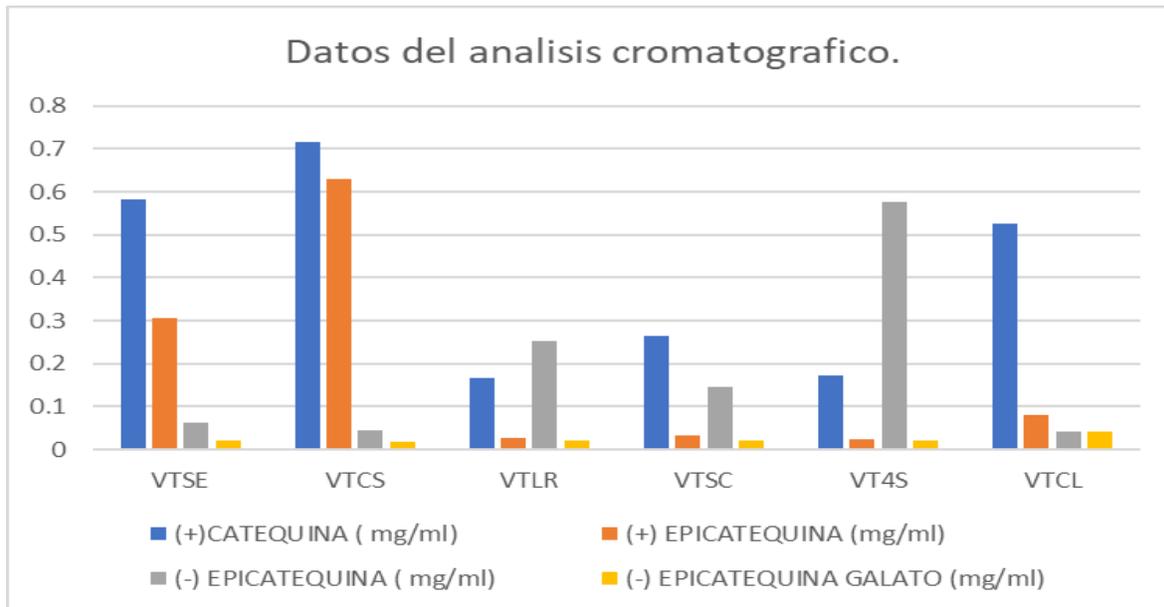


Figura 7. Perfil cromatográfico de los seis vinos tinto donde se identifica la presencia de catequinas.

VINOS	(+)CATEQUIN (mg/ml)	(+) EPICATEQUINA (mg/ml)	(-) EPICATEQUINA (mg/ml)	(-) EPICATEQUINA GALATO (mg/ml)	TOTAL DE CATEQUINAS (mg/ml)
VTSE	0.58	0.31	0.06	0.02	0.97
VTCS	0.72	0.63	0.04	0.02	1.41
VTLR	0.17	0.03	0.25	0.02	0.46
VTSC	0.26	0.03	0.15	0.02	0.46
VT4S	0.17	0.02	0.57	0.02	0.79
VTCL	0.52	0.08	0.04	0.04	0.69

Tabla 6. Cuantificación de catequinas presentes en los seis vinos tintos.

Los extractos mostraron compuestos de diferente polaridad en sus perfiles cromatográficos, pero los extractos AcOEt y MeOH mostraron una mayor separación. A partir del extracto de AcOEt se aislaron cuatro compuestos. Los compuestos aislados dieron como resultado la identificación de cuatro flavonoides pertenecientes al grupo de las catequinas; el compuesto identificado como (+) catequina, los compuestos como isómeros de epicatequina, el compuesto (+) epicatequina y el compuesto (-) epicatequina y por último, el compuesto (-) epicatequina galato. Para la cuantificación de los compuestos se realizaron curvas de calibración en el HPLC utilizando diferentes concentraciones de cada uno de ellos (12.5 a 400 $\mu\text{g}/\text{mL}$) para establecer la linealidad entre el área del pico y la concentración de los analitos. Todas las curvas mostraron buena linealidad (r) con un coeficiente de correlación (r^2) de 0.9977, 0.9946, 0.9922 y 0.9952. Los límites de detección y cuantificación fueron de 0.58 $\mu\text{g}/\text{mL}$ para (+)-catequina para VTSE y 0.63 $\mu\text{g}/\text{mL}$ para (+)-epicatequina para VTCS; 0.58 $\mu\text{g}/\text{mL}$ para (-)-epicatequina y 0.04 $\mu\text{g}/\text{mL}$ para (-)-epicatequina galato. Cabe destacar que el vino VTCS presento una mayor actividad de actividad en la inhibición de ATBS y la actividad del radical DPPH los vinos presentaron un porcentaje de inhibición muy semejante (78 a 82 %, sin embargo; el vino VT4S con un porcentaje de 85 % de inhibición (Grafica 2).

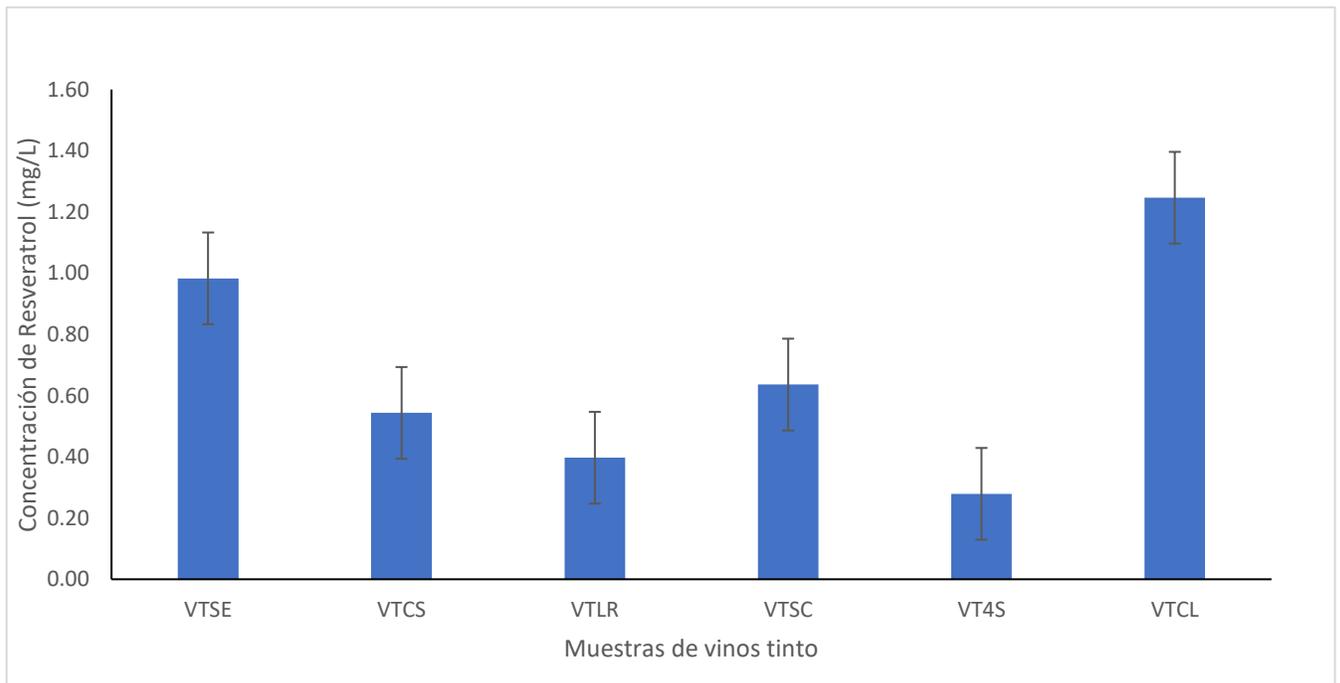


Gráfica 2. Concentración de catequinas en los seis vinos tintos.

7.5. Análisis de resveratrol por cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC)

El resveratrol es otro de los compuestos químicos más importantes de los vinos por su alta actividad de protección en la salud humana. Se logró un desarrollo cromatográfico en HPLC que permitió observar el pico del resveratrol con un tiempo de retención de 13 minutos. Como se muestra en la tabla 6, se destacan una alta concentración de resveratrol en el vino VTCL con una concentración de 1.20 mg/L, dato que coincide con el análisis de fenoles totales al ser este vino el que presentó mayor concentración de resveratrol y (+) catequina.

Seguido del vino tinto VTCL, la muestra VTSE fue la segunda con mayor concentración del resveratrol, lo que también coincide con la que también presentó la segunda mayor concentración de (+)-catequina.



Gráfica 3. Determinación de resveratrol en las seis muestras de vino tinto

VINOS	PROMEDIO AREA	CONC POR LITRO
VTSE	98297.67	0.98
VTCS	54353.67	0.54
VTLR	39713.67	0.40
VTSC	63607.00	0.64
VT4S	27919.67	0.28
VTCL	124640.67	1.25

Tabla 7. Valores de área del pico y de la concentración de resveratrol en las seis muestras de vinos tintos

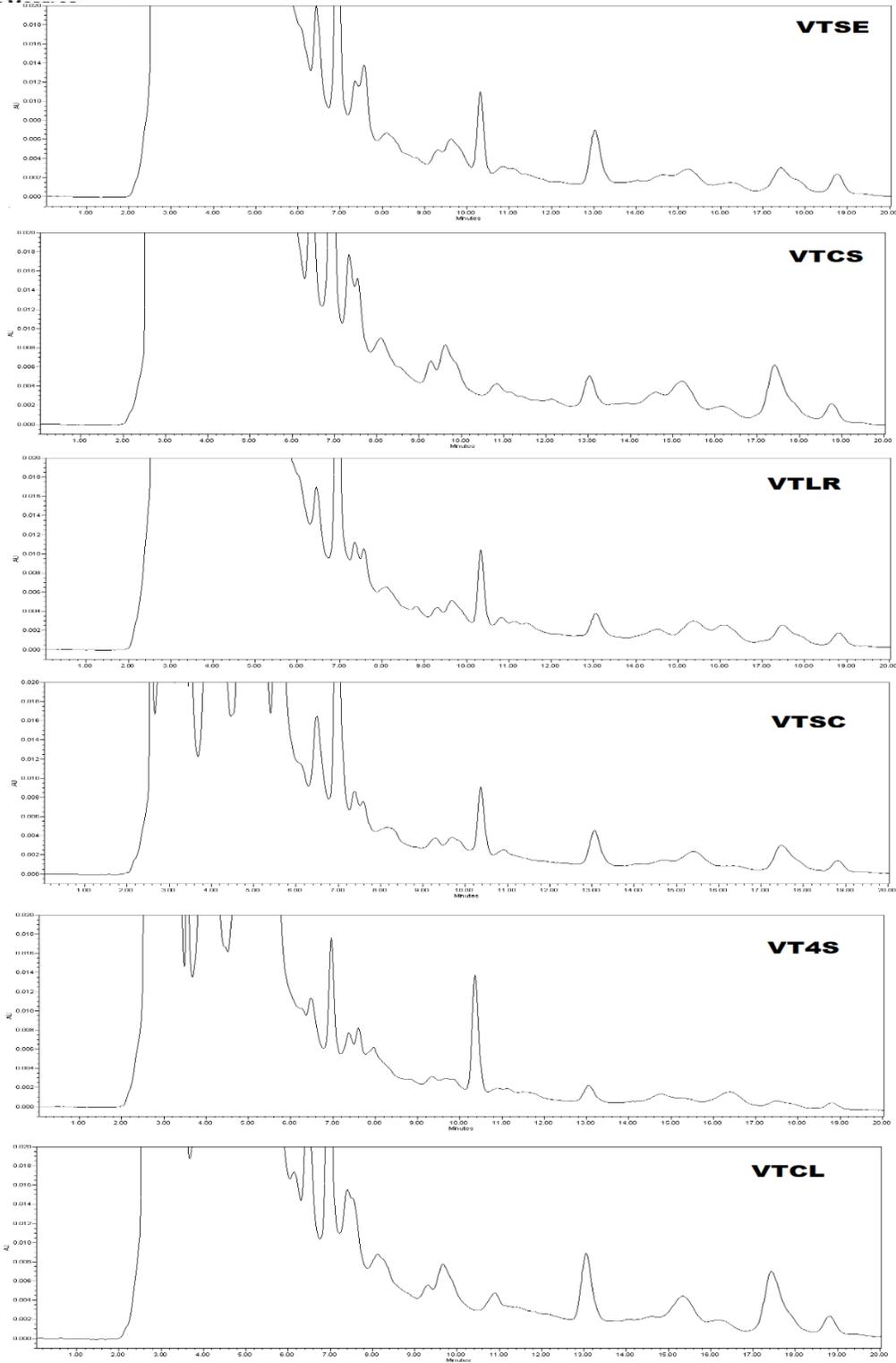


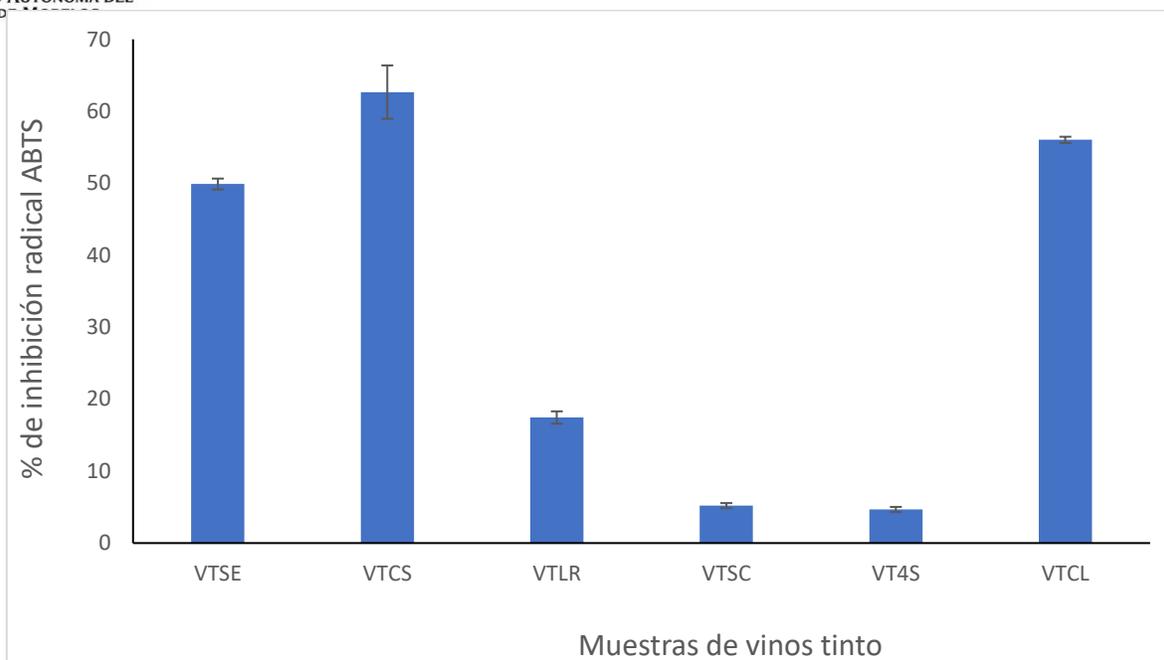
Figura 8. Perfiles cromatográficos en HPLC de las seis muestras de vinos tintos, que se emplearon para la cuantificación de resveratrol.

7.6. Actividad antirradicalaria en el modelo ABTS



Figura 9. Liofilización de seis vinos tinto

La actividad antioxidante de las muestras de vinos tintos se llevó a cabo a través del modelo ABTS, que mostró resultados muy interesantes. Se obtuvieron porcentajes de inhibición del radical ABTS^{•+} alrededor del 60 % para el vino VTCS y VTCL, seguido del VTSE con un 50 % de inhibición y del VTLR con un 18%. Sin embargo, los vinos VTSC y VT4S su porcentaje de inhibición fue menor al 5 %, como se muestra en la tabla 3 y 4, lo que destaca que existe una variación importante en la actividad antirradicalaria, siendo que factores como el proceso y origen son importantes. Los vinos tintos con valores más altos de inhibición del radical ABTS^{•+}, como el VTCS, VTCL y el VTLR, presentaron una mayor concentración de (+)-catequina.



Grafica 4. Porcentaje de inhibición de radical ABTS+ en vinos seleccionados.

Análisis Tukey de la Prueba ABTS

	VTSE	VTCS	VTLR	VTSC	VT4S	VTCL
VTSE		-12.77	32.44	44.68	45.22	-6.14
VTCS			45.22	57.45	57.99	6.63
VTLR				12.24	12.77	-38.58
VTSC					0.53	-50.82
VT4S						-51.36
VTCL						

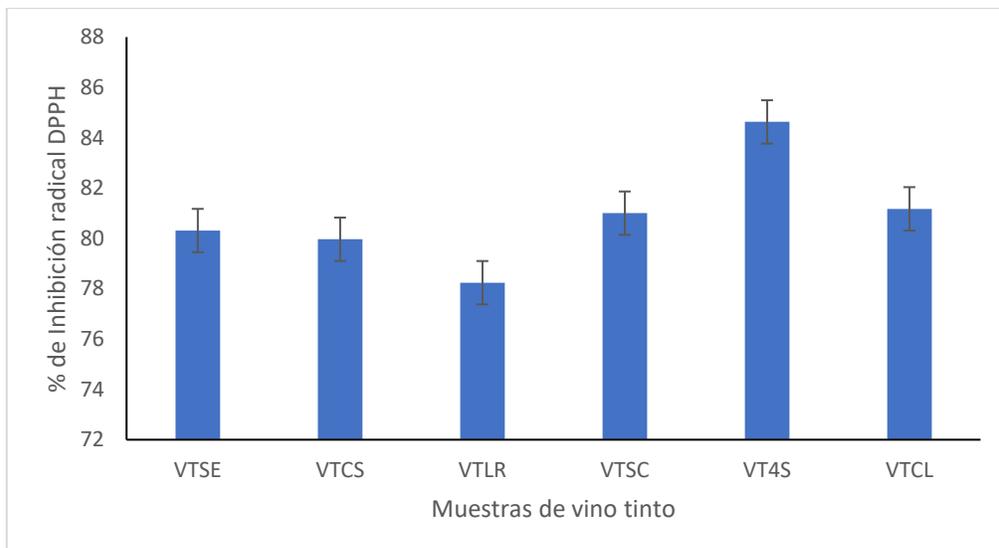
Tabla 8. Análisis Tukey ABTS, en todos los vinos hay diferencia significativa de alfa =0.05. excepto entre el VTSC Y VT4S no son significativos en la prueba de ABTS.

NOTA: los recuadros que están coloreados sí presentan diferencia significativa entre ellos.

7.7. Actividad depuradora del radical DPPH

La actividad depuradora del radical DPPH mostró resultados muy importantes, ya que los seis vinos analizados presentaron porcentajes de inhibición del radical DPPH muy semejantes, arriba del 78.2%, destacando el vino VT4S con un porcentaje más alto de 84.6

%, seguido del 81.2% (VTCL), 81.0% (VTSC), 80.3% (VTSE), 80.0% (VTCS) y 78.2% (VTRL), como se muestra en la grafica 5.



Gráfica 5. Actividad depuradora del radical DPPH.

	VTSE	VTCS	VTRL	VTSC	VT4S	VTCL
VTSE		0.35	2.07	-0.69	-4.32	-0.86
VTCS			1.73	-1.04	-4.66	-1.21
VTRL				-2.76	-6.39	-2.94
VTSC					-3.63	-0.17
VT4S						3.45
VTCL						

Tabla 9. Análisis Tukey de la Prueba DPPH.

De acuerdo con la prueba de Tukey en una significancia del 0.05. Solo hay diferencia significativa entre el vino 5, vino 1 y vino 2. y entre las demás muestras no hay diferencia significativa

En la tabla 10 se presenta el resumen de los resultados referentes a la cuantificación de (+) catequina, (+) epicatequina, (-) epicatequina y (-) epicatequina galato, además del

resveratrol en las seis muestras de vinos tintos, que están expresados en miligramo por litro (mg/L). Se muestran los datos de los porcentajes de inhibición de los radicales libres ABTS y DPPH, siendo que se suman ambos resultados para tener el %total del potencial antirradicalario.

Se conoce que no existe un único compuesto polifenólico responsable de las propiedades antioxidante de un vino tino, sino que múltiples compuesto actúan de manera conjunta, ya que la actividad antioxidante de los polifenoles depende del número y la localización de los grupos hidroxilo en su estructura química (Fernández-Pachón, 2006).

Compuestos fenólicos de vinos seleccionados	VTSE mg/L	VTCS mg/L	VTLR mg/L	VTSC mg/L	VT4S mg/L	VTCL mg/L
(+)CATEQUINA	581.58	714.84	166.44	264.81	171.50	524.96
(+) EPICATEQUINA	306.89	630.17	26.05	32.25	25.14	80.17
(-) EPICATEQUINA	61.58	44.88	253.10	146.77	575.22	41.08
(-) EPICATEQUINA GALA	21.00	19.50	19.81	464.19	792.11	41.50
SUMA GENERAL	971.04	1409.39	465.39	908.02	1563.97	687.72
FENOLES	15.23	17.49	6.28	3.18	3.46	16.15
RESVERATROL	0.98	0.54	0.40	0.64	0.28	1.25
ACTIVIDAD %						
ABTS	49.89	62.66	17.45	5.21	4.67	56.03
DPPH	80.31	79.97	78.24	81.00	84.63	81.17
SUMA % OXIDATIVO	130.20	142.63	95.68	86.21	89.30	137.20

Tabla 10. Resumen de los datos de cuantificación de catequinas y resveratrol, así como valores de inhibición de los radicales ABTS y DPPH en seis muestras de vinos tintos.

Se marcan en amarillo los valores más elevados, tanto de concentración de los polifenoles analizados, así como del potencial antirradicalario; en color naranja se evidencian los valores en segundo lugar; y en verde los resultados en tercer lugar.

7.8 El registro del logotipo ante la empresa IMPI

Es el expediente: 2551443 clase 1, registrado el 21 de mayo del 2021 con vigencia al 06 de agosto del 2031. Una vez obtenidos los resultados en la presente maestría se procederá al registro de la patente del “jabón de vino tinto Reinas de casa” ante el IMPI (Figura 10).



IMPI INSTITUTO MEXICANO DE LA PROPIEDAD INDUSTRIAL **TITULO DE REGISTRO DE MARCA** **Registro 2282845**

REINAS DE CASA AGRO ARTESANAS S.C.



EXPEDIENTE: **2551443** FECHA DE PRESENTACIÓN: **21/Mayo/2021 10:34:21 AM**
FECHA DE VIGENCIA: **6/Agosto/2031**

TITULAR: **MARY CARMEN REYES CASTILLO**

DOMICILIO DEL TITULAR: **CALLE BEGONIA NUM. EXT. 2, VICENTE ESTRADA CAJIGAL CUERNAVACA, MORELOS 62460 MEXICO**

CLASE: **1**

SE APLICA A: **PREPARACIONES BIOLÓGICAS PARA LA INDUSTRIA Y LA CIENCIA; ANTIOXIDANTES PARA SER UTILIZADOS EN LA FABRICACION DE COSMETICOS; ANTIOXIDANTES PARA SER UTILIZADOS EN LA FABRICACION DE PRODUCTOS FARMACEUTICOS; ANTIOXIDANTES PARA SER UTILIZADOS EN EL PROCESO DE FABRICACION.**

TOTAL DE VIENA **12**
CODIGOS DE VIENA **2.3.8, 5.5.2, 5.5.21, 17.1.1, 17.1.7, 24.9.3, 24.9.5, 24.9.9, 24.15.3, 24.15.5, 27.1.1, 27.1.12**

La impresión del signo distintivo en este título, puede presentar variaciones en el tono de los colores respecto al presentado en la solicitud de registro.
El registro de referencia se otorga con fundamento en los artículos 1, 2, fracción I, 5, fracción I, 230 y 231 de la Ley Federal de Protección a la Propiedad Industrial.
De conformidad con el artículo 178 de la Ley Federal de Protección a la Propiedad Industrial, el presente registro tiene una vigencia de diez años contados a partir de la fecha de su otorgamiento y podrá renovarse por periodos de la misma duración, en términos de lo establecido en los artículos 233 y 237 del mismo Ordenamiento Legal.
Quien suscribe el presente título lo hace con fundamento en los artículos PRIMERO y CUARTO TRANSITORIOS, 2, fracción I, 5, fracción I, 9, 10, 17, 18 y 21 de la Ley Federal de Protección a la Propiedad Industrial; 3, 4, 5 B15, 13, 14 y 15 del Reglamento de la Ley de la Propiedad Industrial; 3, fracción V, inciso b), subíndice i), primero y segundo guion, subíndice ii), primero y segundo guion, subíndice iii), primero, segundo y tercer guion, subíndice iv), primero y segundo guion, según corresponda; 4, 5, 11, fracción II y último párrafo, así como 13, fracción III del Reglamento del Instituto Mexicano de la Propiedad Industrial; 1, 3, 4, 5, fracción V, inciso b), subíndice i), primero y segundo guion, subíndice ii), primero y segundo guion, subíndice iii), primero, segundo y tercer guion, subíndice iv), primero y segundo guion, según corresponda; 15, fracción II, así como último párrafo, 17, fracción III, 26, 28 y 31 del Estatuto Orgánico de este Instituto; y PRIMERO TRANSITORIO, 1, 3 y 6, fracción II, así como párrafos antepenúltimo y penúltimo del Acuerdo Delegatorio de Facultades del Instituto Mexicano de la Propiedad Industrial.
Los Ordenamientos Legales antes citados, así como sus respectivos Decretos, Acuerdos, Aclaraciones y Notas Aclaratorias que los reformaron, adicionaron o derogaron, según corresponda, fueron debidamente publicados en el Diario Oficial de la Federación, precisando que los mismos se encuentran vigentes a la fecha de emisión del presente título.
El presente documento electrónico ha sido firmado mediante el uso de la firma electrónica avanzada por el servidor público competente, amparada por un certificado digital vigente a la fecha de su elaboración, y es válido de conformidad con lo dispuesto en los artículos 7 y 9, fracción I de la Ley de Firma Electrónica Avanzada; 12 de su Reglamento, así como 69-C de la Ley Federal de Procedimiento Administrativo.

CIUDAD DE MÉXICO, A 6 DE AGOSTO DE 2021
COORDINADOR DEPARTAMENTAL DE EXAMEN DE MARCAS 'A'

  **20211011556**

VaRv/BvV2P4YERa1e/h/P6QRY50V386Ly8F1x3rye13E0wATjYX1ppp158a3JmZrh1ey92k1T
KwBbaq506v2Jq8Mlnr4pAL20M1mz2zund201305P48M17p3k2u1p0z28v1V0v0Eg7F2Z
p010w0u02Mx/y10a10b0x118cyf142AVP8E1v6s36svd8M2z2p612T08A1CAL2p-w8Lx
z11kLr1qKqpp/rRcT015d8P80g71L91DE81/ukexv1f49JpW80et80w1191846uZAUHvE
00x125c01m1f908y5ur248826a212858jhg=

1 de 2 LIC. EMMANUEL MOYA OSORIO

Figura 10. Registro de marca ante el IMPI

8. DISCUSIÓN

La composición de polifenoles y complejos fenólicos, su cantidad, propiedades antioxidantes y antirradicalarias del vino dependen de una serie de factores: variedades de uva, ubicación de los viñedos, condiciones climáticas, tipo de suelo y tecnología de vinificación. (Kharadze et al., 2018). Esto queda evidenciado al realizar las presentes pruebas, ya que no son contenidos constantes en todos los vinos tintos, siendo que cada uno mostró variaciones en los resultados de cuantificación. De ellos se destacaron tres con mayor concentración de catequinas y resveratrol, mientras que otros quedaron con valores inferiores de los compuestos antioxidantes analizados.

Las catequinas fueron los compuestos más abundantes, con relación al resveratrol, siendo la (+)-catequina la mayor en tres de las seis muestras de vinos analizados. Los valores más elevados de catequinas y resveratrol, que fueron de 792.11 mg/L y 1.25 mg/L, respectivamente, son consistentes con los reportados en la literatura para el vino tinto (Deseva et al., 2020).

El resveratrol es un compuesto ampliamente utilizado en la venta de suplementos, además de su incorporación en formulaciones cosméticas debido a su potente actividad antioxidante. Es común que la mercadotecnia utilice la presencia de esta molécula como estrategia de mercado, ya que su presencia en el vino se ha relacionado con la paradoja de la dieta mediterránea, compuesta por metabolitos con reconocida actividad antioxidante. El resveratrol (trans 3,4',5-trihydroxystilbeno) es un polifenol estilbeno no flavonoide sintetizado por las plantas como un mecanismo protector ante radiaciones ionizantes e infecciones, sobre todo fúngicas. En las uvas es abundante, que, en conjunto con el vino, son el principal aporte dietético (Pastor et al., 2019). La muestra de vino que presentó mayor concentración de resveratrol fue el VTCL (1.25 mg/L), seguido del VTSE (0.98 mg/L).

Es importante notar que la presencia de catequinas no contribuye significativamente para la actividad antirradicalaria observada para la muestra (VT4S), que fue la que presentó la mayor concentración de catequinas, pero la menor actividad ABTS y DPPH. Sin embargo, el

contenido de resveratrol parece relacionarse con el potencial antirradicalario de los vinos analizados, ya que las tres muestras de vinos con la mayor concentración del compuesto fueron las que presentaron mejor inhibición radicalaria en los dos modelos evaluados.

La relación costo/beneficio indica que el vino Castillo de Lira (VTCL), que presentó el menor precio en el mercado, de \$95.00 pesos, mostró la mayor concentración de resveratrol (1.25 mg/L), así como el segundo vino con mayor inhibición de los radicales ABTS (137.20%) y DPPH (81.17%).

Estos resultados son relevantes, ya que está bien documentado que las especies reactivas de oxígeno (ROS) actúan por medio de diferentes vías moleculares para así desempeñar papeles importantes en distintos procesos asociados al envejecimiento, donde se incluyen ciertos tipos de cáncer, hipertensión, inflamación, trastornos neurológicos, diabetes, enfermedad renal crónica y enfermedades cardiovasculares. En general, se ha descrito que los compuestos fenólicos son antioxidantes secundarios que se incluyen como terminadores de radicales libres, son excelentes donadores de hidrógeno o electrones y su radical fenoxi es relativamente estable por la deslocalización por resonancia de electrones no apareados alrededor del anillo aromático. Se ha demostrado que el consumo de vino y jugo de uva aumentan la actividad antioxidante (Moreno-Arribas, 2009). Son justamente estas propiedades que interesan en el presente análisis, que tiene como finalidad producir un jabón de vino tinto con acción antioxidante, ya que la piel es el órgano más grande del cuerpo humano, además de ser una barrera protectora que está expuesta constantemente a agresiones físicas y químicas del medio externo. Existen varias evidencias de que los materiales fenólicos del vino tinto son representantes ideales de una fuente adecuada de protección exógena (Stephan et al., 2017), donde no apenas el resveratrol y las catequinas juegan un papel importante, sino también otros compuestos fenólicos, como la proantocianidinas.

9. CONCLUSIONES

- Este estudio químico permitió el análisis de seis vinos tinto, de los cuales el vino VTCS, TVCL y VTSE presentan una alta concentración de fenoles totales a concentraciones mayores de 15 g/L.
- Los compuestos mayormente analizados fueron cuatro catequinas importantes como (+)-Catequina, (+)-epicatequina, (-) -epicatequina y (-) epicatequina galato. Destacando por presentar una mayor concentración de (+)- catequina el vino VT4S seguido de VTCS.
- Los análisis de actividad antioxidante mostraron altos porcentajes de inhibición del radical ABTS los vinos VTCS y VTCL, seguido de VTSE los cuales fueron por arriba del 50%
- La actividad de radical DPPH fueron muy semejantes entre los seis vinos tintos analizados, se destacando por arriba del 80% el vino VT4S, con un porcentaje más alto de 85.
- La cuantificación del resveratrol indicó una alta concentración el vino VTCL 1.25 mg/L.
- El vino Cabernet Sauvignon La cetto (VTCS) es el mejor candidato para ser utilizado como materia prima para la producción de un jabón, ya que presenta de manera constante buenas concentraciones de catequinas (1409.39mg/L), resveratrol (0.54 mg/L), así como alta inhibición de los radicales ABTS y DPPH (142.63). Segunda opción VTSE Y VTCL

10. PERSPECTIVAS

El desarrollo de este proyecto conlleva a proponer las siguientes propuestas:

- Realizar la actividad antioxidante de las muestras de vinos tintos en un modelo *in vivo*.
- Elaboración de jabones para el cuidado de la piel por La empresa “Reinas de Casa Agro Artesanas” S.C. DE R.L. DE C.V., ya con una materia prima estandarizada en referencia a la presencia y actividades de compuestos antioxidantes como VTCS.
- Realizar la identificación de resveratrol y catequinas, así como evaluaciones del potencial antioxidante del jabón de vino tinto.
- Desarrollo de una etiqueta con descripción de contenido estandarizado de ingredientes y antioxidantes
- Registro de patente de formulación de jabón de vino tinto Reinas de casa.

11. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abu-Amsa, R.; Croft, K.D.; Puddey, I.; Proudfoot, J.M.; Beilin, L.J. (1996). Phenolic content of various beverages determines the extent of inhibition of human serum and low density lipoprotein oxidation in vitro: identification and mechanism of action of some cinnamic acid derivatives from red wine. *Clin. Sci.* 91(4):449-58.
- Adrian, M., Jeandet, P., Bessis, R., and Joubert, J. M. 1996. Induction of resveratrol synthesis in grapevine leaves treated with aluminum chloride. *J. Agric. Food Chem.* 44:1979-1981.
- Babu, S.K.; Kumar, K.V.; Subbaraju, G.V. (2005). Estimation of trans-Resveratrol in Herbal Extracts and Dosage Forms by High-Performance Thin-Layer Chromatography. *Chem. Pharm. Bull.* 53(6):691-693 (2005).
- Camussoni, G; Evangelina Carnevali., E. (2004). Determinación comparativa del contenido de polifenoles en vinos tintos de origen argentino. *Inventio*, 151-159.
- Canipec), (Solunion, 2021). <https://www.solunion.mx/blog/la-industria-cosmetica-y-su-fuerza-pese-a-la-pandemia/>
- Delmas, D.; Solary, E.; Latruffe, N. (2011). Resveratrol, a phytochemical inducer of multiple cell death pathways: apoptosis, autophagy and mitotic catastrophe. *Curr. Med. Chem.* 18(8):1100-21.
- Díaz Araujo, E. (2020). La historia de la vid y el vino, de los orígenes a nuestros días. Fondo Vitivinícola.

-El Economista, 13 de agosto de 2019.

<https://www.economista.com.mx/gestion/La-belleza-de-la-industria-cosmetica-20190813-0116.htm>

-Farris, P.; Krutmann, J.; Li, Y.H.; McDaniel, D.; Krolj, Y. (2013). Resveratrol: A Unique Antioxidant Offering a Multi-Mechanistic Approach for Treating Aging Skin. *Journal of Drugs in Dermatology* 12(12)1-6.

-Farris Patricia Cosmeceuticals and Cosmetic Practice (2014) Clinical Associate Professor Tulane University School of Medicine New Orleans, LA, USA.

- Frankel EN, Waterhouse AL, Teissedere PL, Principal Phenolic phytochemicals in select ed California wines and their antioxidant, activity in inhibiting oxidation of human low-density lipoproteins *J. Agric Food Chem.* 1995;43;890-894

- García Martínez, Eva (evgarmar@tal.upv.es) Fernández Segovia, Isabel (isferse1@tal.upv.es) Fuentes López, Ana (anfuelo@upvnet.upv.es) Departamento de Tecnología de Alimentos Centro ETSIAMN. Universidad Politécnica de València 2015

-Geremu, M.; Bekele , Y.; Sualeh, A. (2016). Extraction and determination of total polyphenols and antioxidant capacity of red coffee (*Coffea arabica* L.) pulp of wet processing plants. *Chem. Biol. Technol. Agric.* 3(25):1-6.

-Grivetti, E. (2005). Wine: The Food with Two Faces. En: The origins and ancient history of wine. Editores McGovern, P:E., Fleming S.J., Katz, S.H. Ed. Taylor & Francis

-Hidalgo, J.; Borrás, M.; Garvey, J.S.; Armario, A. (1990). Liver, brain, and heart metallothionein induction by stress. *J Neurochem*, 55, 651-654.

-Kinsella, J.E.; Frankel, E.; German, B.; Kanner, J. (1993). Possible mechanisms for the protective role of antioxidants in wine and plant food. *FAO*, 47:85-89.

- Keys, Ancel Brozek, Josef Henschel, Austin Mickelsen, Olaf Taylor, Henry L. Simonson, Ernst Wells, Samuel Experimental Starvation in Man Report Date: 1945-10-15

-Khurana S, Venkataraman K, Hollingsworth A, Piche M, Tai TC. Polyphenols: benefits to the cardiovascular system in health and in aging. *Nutrients*. 2013; 5(10):3779–3827

-Latorre, M. (2016). Polifenoles de la uva. Tesis. Facultad de Farmacia de la Universidad Complutense Madrid. <https://eprints.ucm.es/49802/1/MARIA%20LATORRE%20LEAL.pdf>

-Lingua MS, Fabani MP, WonderlinDA, Baroni MV, From grape to wine: Changes in phenolic composition and its influence on antioxidant activity *Food chem* 2016: 208:208-238.

- López-Miranda S, Serrano-Martínez A, Hernández-Sánchez P, et al. Use of cyclodextrins to recover catechin and epicatechin from red grape pomace. *Food Chem*. 2016; 203:379–385.

-Morales de Souza R.A. T.L.C. Oldoni, M.A.B. Regitano-d’Arce and S.M. Alencar: Antioxidant activity and phenolic composition of herbal infusions consumed in Brazil *Cienc. Tecnol. Aliment.*, 6, 41-47 (2008).

-Ndiaye, M.; Philippe, C.; Ahmad, N. (2011). The grape antioxidant resveratrol for skin disorders: promise, prospects, and challenges. *Arch. Biochem. Biophys*. 508(2):164-170.

-Neveu, V., Perez-Jimenez, J., Vos, F., Crespy, V., Du Chaffaut, L., Mennen, L., y otros. (2010). Phenol-Explorer: An Online Database on Polyphenol Contents in Foods.

Database, DOI: 10. Recuperado el 10 de 05 de 2014, de Phenol-Explorer:
<http://www.phenol-explorer.eu/reports/38>

- Pascual-Teresa S, Moreno DA, García-Viguera C. Flavanols and anthocyanins in cardiovascular health: a review of current evidence. *Int J Mol Sci.* 2010;11: 1679–1703

- Peña Armada, Rocío Jiménez De La (2017) El efecto neuroprotector del vino tinto. Universidad Complutense de Madrid

-Peñarrieta, M.; Bustos A. T.; Calisaya, J.C.; Paredes, C.; Durán, G.; Taquichhiri, M.; Alvarado, J.A. (2012). Cuantificación del resveratrol en vinos mediante HPLC. *Revista Boliviana de Química.* 29(2):161-166.

-Ponte Da boga Adegas (2018). <http://www.pontedaboga.es/blog/vinoterapia-el-vino-y-la-belleza/>

-Pannala, A.S.; Chan, T.S.; O’Brein, P.J.; Rice-Evans, C.A. (1997). Flavonoid B-Ring Chemistry and Antioxidant Activity: Fast Reaction Kinetics. *Bioch. Biophys. Res. Comm.* 282(5):1161-1168.

-Rice-Evans, C.A.; Miller, N.J. (1996). Antioxidant activities of flavonoids as bioactive components of food. *Biochem. Soc. Trans.* 24:790-795.

-Secretaría de economía (2012) <http://www.2006-2012.economia.gob.mx/economia-para-todos/abc-de-economia/mercado-interno/356-industria-cosmetica>

-Solución (2021). <https://www.solucion.mx/blog/la-industria-cosmetica-y-su-fuerza-pese-a-la-pandemia/>

-Tortora, G.J; Derrickson, B. (2013). Principios de anatomía y fisiología. 13 ed.
Editora Panamericana.

-Vinson, J.A.; Teufel, K.; Wu, N. (2001). Red wine, dealcoholized red wine, and
especially grape juice, inhibit atherosclerosis in a hamster model. *Atherosclerosis*
156: 67-72.

-Peña Armada, Rocío Jiménez De La (2017) El efecto neuroprotector del vino tinto.
Universidad Complutense Madrid



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS



Cuernavaca, Morelos, a 24 de noviembre del 2022.

VOTOS APROBATORIOS DE TESIS

Los integrantes de la Comisión Revisora de la tesis titulada: **"CONTENIDO DE CATEQUINAS Y RESVERATROL EN VINOS TINTOS COMERCIALES PARA LA PRODUCCIÓN DE JABONES CON PROPIEDADES ANTIOXIDANTES"**.", que presenta la **C. MARY CARMEN REYES CASTILLO**, del Programa de Posgrado Maestría en Investigación y Desarrollo de Plantas Medicinales, bajo la dirección del DR. ALEXANDRE TOSHIRRICO CARDOSO TAKETA y codirección de la DRA. ANABEL ORTIZ CALTEMPA, han determinado que el documento reúne los requisitos académicos para su defensa oral en el examen de grado, por lo que emiten su **VOTO APROBATORIO**.

Comisión Revisora de Tesis (Firma electrónica)

Dr. Alexandre Toshirrico Cardoso Taketa (director de tesis, CEIB UAEM)

Dra. Anabel Ortiz Caltempa (codirectora de tesis, CEIB UAEM)

Dr. Isaac Tello Salgado (ACYPRAOVEMI SP DE RL)

Dr. Rodolfo Abarca Vargas (Fac. Medicina UAEM)

Dr. Porfirio Juárez López (Fac. Ciencias Agropecuarias UAEM)



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

Sello electrónico

ANABEL ORTIZ CALTEMPA | Fecha:2022-11-24 08:49:35 | Firmante

Y63XdhTlvcEzuGOF+B4d6fJbZPlsJUqxKQ8xDw/WdfYcHZOVhC3Uka15zntC5M+F51lloUn+wWnjOaDzkkA04i/y4TssEHG7lvm0GE0zu0si8UUVUQhxMmOHpATDww380MKIRbBVdlQthvzyA397Fs2Pj2jGRlKwWrvMyyRPxyZt7XH4mexn4NK03JFeUEIMz2uwED3XauJu5JwmtmjhJdzXlvg70ck40TWj3JnzjUDgoo73olq1mg1bhBeMqDVCmz+1dkYNijfMV/C3CPFwGxgZER1+ndebjnzQBmQ7DAZiPUFLx27uG3l2BtjFZ6iFZLoPR1BU0lx0vMSoZtDKZeQ==

ALEXANDRE TOSHIRRICO CARDOSO TAKETA | Fecha:2022-11-24 09:18:37 | Firmante

RuD6R/O6gGSBKckbaDH2Vnu+MSM/1S+fgDdimXSH1VqEso9CzPcCMFruqipKQyD5m+KJ42gyIULV41JEFiYIC2wCCjZwELq1ZMjYnPWYgWNVy1851/+P8o95iw5RYKFLVZyB6pyPNbxBwlnz/KhFrXA94hlmryzNE5KMhBkCPH6Xr0WpFVQUcynLqsp7wCGJ/kgjuZ83Sj755Vv7Wex3xHu1mXbBFtj/PDXI4i4z0QINWLH8zoaTrBeFJdWTzofmsWYjDGZMeOMm5uJSl5lCQHDTqPi6jlr7q/JlfWVrr7qgyW63hME4MF7Ffp39KVifQbwAvb2pco3O3LzXA==

ISAAC TELLO SALGADO | Fecha:2022-11-24 09:48:20 | Firmante

cAOYLNsScCZKqQvC337Bs+ZvpVU/ss7txrJQo9noLgja+QgbypidTstJxpcT0m6MGYHyEu1Etwc8AMjOhgaGuuxRMe9HPFcCqb51AwLHROeB5dzvVoEccrXWzz8sUaHrER2PuEjp9JheWF4QpYhZJwSGzinzU8B7Nk7HXoM2MzSnQzCd0CKR4Getzx91/PJomYtQJBawUT6DBwoqN3jAlMo1SnsGB5UFphlcbueSmemv3sjpS+Dx2zlsGY/ia1UlnYnWCKZVm mjtZUyAEkw78qcoFId7H7IwV3hS9JnQ3hoTyVGgUvAz+6OPI8PtBpETo78Yy90Xu3F+Ld4FWfQ==

PORFIRIO JUAREZ LOPEZ | Fecha:2022-11-24 10:13:48 | Firmante

c/NZvM41JMqLHCN/p+0BeZ38Udic3da50L23LiUpd/OBFWx1rEH5fOWZAntcmW+XHYL4jshYRre4P/TdwXBS9Fg3ESTdotf5jAP/pb+e0cGJDIPVO2VqmQgQNIrPvayrv/KSXq1AWAXvCtR2C5QAS4O8ZbSYxZjvqBNziHhNcwtDLB15SiC2Nk8ilMHgtKISPOELFv8BIATnbY79SFilNKKeNwmtIM2k9SIHcFrap9Dn9jcBI1GFZksadCpY/ryolnA/RnJayXpJKt7K0552PQRgiR5IPxF7Ko1VZxdlf9cuA6Fdhyp/ivY5SOENtt+dNGtQF/RcBx8YSrNMQ==

RODOLFO ABARCA VARGAS | Fecha:2022-11-24 11:20:05 | Firmante

PvM+NPgGoKynBWqCiMKE4HlvyMUgGZxIsCR3CHjoSAlvzJ6ODvkQFanOSxTkjqlphueYVvcEPsoKV3KuQmPc/tQ9K+pBC1CuPGDY2HfidDLILNUV6fjKCFrybg6skx9Hs1blzV7U/zjq4VuxovlqW+ClohrmwpRw/NaaDF1Qds+2w0yPKEG9dwa17zcJlj2VVqVsi5hko+Qwk0dGeqO0/RzNbg2FZHRRlvzX4AbWxKoCZfQ8QZnske4UjHLTnlpx+9bhOEZrS/b7J6J/Hwj2qGgFNWeOno1XfoA7O9TpN86fl/XbJKwp4MXVxuowtmF+4ppnR1bqnmwuGUWntYWHQ==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



RSpzKbcxu

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/Q1aPjnyNZNYrWzDxrpSH9WzkugxSQV6>

