



MÉTODOS ANALÍTICOS PARA EL DIAGNÓSTICO DE LOS ANTIOXIDANTES DEL VINO

Blanca Fernández de Mesa González. Trabajo Fin de Grado Facultad de Farmacia UCM.

INTRODUCCIÓN

LA OXIDACIÓN

Es uno de los procesos más importantes en el deterioro de los productos alimenticios. Parte del oxígeno consumido por un organismo va a la formación de **radicales libres** de oxígeno. Cuando estos radicales superan el número de antioxidantes, se produce daño por lesión química de estructuras biológicas (**estrés oxidativo**).



- **Atrapadores** de radicales libres.
- Agentes **quelantes** de iones de metales de transición.
- Localizándose sobre la superficie de las LDL disminuyendo el consumo de sus antioxidantes propios.
- Inhibiendo, activando o protegiendo enzimas específicas del organismo.

COMPUESTOS POLIFENÓLICOS

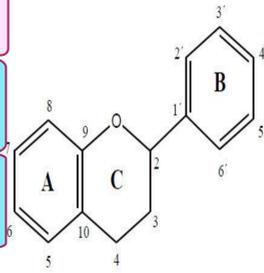
FLAVONOIDES

ANTOCIANOS

TANINOS

FLAVONOLES

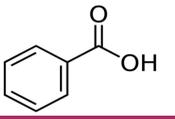
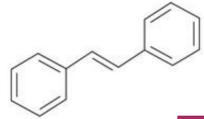
FLAVONAS



NO FLAVONOIDES

ESTILBENOS

ÁCIDOS FENÓLICOS



OBJETIVOS

1. Estudio bibliográfico de la metodología analítica adecuada para la determinación de compuestos fenólicos presentes en el vino.
2. Revisión y comparación de las distintas técnicas analíticas que pueden ser utilizadas para determinar la capacidad antioxidante de un vino.
3. Estudio de los distintos polifenoles del vino

MÉTODOS ANALÍTICOS

DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE COMPUESTOS FENÓLICOS

DETERMINACIÓN DE POLIFENOLES TOTALES

MÉTODO FOLIN-CIOCALTEU (IFC) OXIDORREDUCCIÓN

- Reactivo (molibdato y tungstato sódico) + fenoles → complejos fosfomolibdínico-fosfotúngstico
- Complejos → Óxidos
- Vino tinto:
 $IFC = A_{750} \times \text{Factor de dilución (25)} \times 20$
- Vino blanco y rosado:
 $IFC = A_{750} \times 20$

ÍNDICE DE POLIFENOLES TOTALES $IPT = A_{280} \times 50$

NANOPARTÍCULAS DE CERIO

Sensor electroquímico inmovilizado sobre un electrodo → **OXIDACIÓN**

Nanopartículas Ce IV inmovilizadas sobre papel de filtro → **REDUCCIÓN** a Ce III

DETERMINACIÓN DE LOS DISTINTOS POLIFENOLES

HPLC

Separación de los componentes a partir de las diferencias de velocidad a la que son transportados a través de una fase estacionaria por una fase móvil, líquida.

HPLC/MS

- Mide la masa individual de átomos y moléculas.
- Elevada sensibilidad

UPLC

- Estrecha columna con partículas muy pequeñas.
- Altas presiones.
- Mejor tiempo retención y sensibilidad.

DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE

HAT



MÉTODO ORAC

- Radical iniciador : AAPH
- Disminución fluorescencia de la fluoresceína

OXIDACIÓN DE LAS LDL

1. Lag-phase
2. Propagación → dienos
3. Descomposición → disminución absorbancia (234nm)

MÉTODO HRSA

- Desoxirribosa + radicales hidroxilo → malondialdehído
- Abs 532nm
- % Inhibición = $[(A_{blanco} - A_{muestra}) / A_{blanco}] \times 100$

SET



MÉTODO FRAP

- Aumento de la absorbancia a 593nm
 - Formación complejos tripiridil-S-tiazina con férrico (II)
- $$mM Fe(II) = 1.535 \times Dif A - 0.0137$$

MÉTODO CUPRAC

- Reactivo: cobre(II) neocuproina
- Abs 450nm

MÉTODO TEAC

- Descenso de abs a 658nm
- Radical ABTS
- Solución patrón Trolox

MÉTODO DPPH

- Descenso de absorbancia a 515nm
- $$AE = \frac{1}{EC50 \times EC50}$$

ESPECTROFOTOMETRÍA

$$\begin{aligned} \text{Ác. Hidroxicinámicos} &= A_{320} \times 100 \\ C \text{ Antocianos (mg/L)} &= 875 \times (AA - AB) \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Flavonoles} &= A_{365} \times 100 \\ C \text{ Taninos (mg/L)} &= 19,33 \times (AA - AB) / 5 \end{aligned}$$

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

FOLIN-CIOCALTEU

Reducción de fosfomolibdico
Espectrofotómetro UV
7 pasos. 2 horas
Determinación de polifenoles totales en vinos y extractos

SENSOR NP CERIO

Reducción del Cerio
Filtro, óxido de cerio y escáner
1 paso. 10 min
Capacidad antioxidante, identificación de antioxidantes, IPT.

MÉTODOS DE CAPACIDAD ANTIOXIDANTE

- Evaluar reacciones SET Y HAT
- Especificar el sustrato de oxidación
- Medir reacciones químicas
- Ser sencillo
- Instrumentación disponible
- Adaptable para medir antioxidantes hidrofílicos y lipofílicos

CONCLUSIONES

- ✓ El método clásico de Folin-Ciocalteu se está sustituyendo por método más modernos, debido a que estos, además de poder ser realizados en un tiempo mucho menor, también sirven para identificar los distintos antioxidantes.
- ✓ Para determinar la capacidad antioxidante se necesita combinar varios de los métodos existentes.
- ✓ El consumo moderado de vino, debido a sus compuestos polifenólicos con capacidad antioxidante, es beneficioso para la salud, pues reduce el riesgo de padecer la gran mayoría de enfermedades actuales.

BIBLIOGRAFÍA

1. Rebolo López Sandra. Estudio de la composición polifenólica de vinos tintos gallegos con D.O: Ribeiro, Valdemorras y Ribeira Sacra. Lugo: Universidad de Santiago de Compostela Facultad de Ciencias Campus de Lugo; 2007.
2. Andrei V., Sharpe E., Vasilescu A., Andreescu S. (2016). A single use electrochemical sensor based on biomimetic nanoceria for the detection of wine antioxidants. Talanta, 156-157, 112-118
3. Camussoni G, Carnevali E. Determinación comparativa del contenido de polifenoles en vinos tintos de origen argentino. Invenio.2004;151-159.