
Capacidad antioxidante y principales ácidos fenólicos y flavonoides de algunos alimentos

CÓDIGO DE PROYECTO # 10012004003

ANTIOXIDANT CAPACITY AND MAIN PHENOLIC ACIDS AND FLAVONOIDS OF SOME FOODS

Juana Zavaleta¹, Ana María Muñoz, Teresa Blanco, Carlos Alvarado-Ortiz, Bertha Loja²

RESUMEN

El presente estudio busca determinar la existencia de los antioxidantes: ácido clorogénico, cafeico y ferúlico, de los flavonoides rutina, quercetina y morina, así como la capacidad antioxidante de ocho alimentos peruanos. La identificación y cuantificación de los extractos hidroalcohólicos se realizó por Cromatografía Líquida de Alta Performance a 370 nm con fase móvil de agua pH 2,5 y acetonitrilo en gradiente utilizando un estándar externo.

Se encontró mayor cantidad de ácido clorogénico en el sachaculantro (13,7mg/g) y en el huacatay (1,8mg/g); el sachatome, el tumbo, el olluco, el aguaymanto, la sachapapa morada y la pituca presentaron concentraciones mucho más pequeñas. El ácido ferúlico también se encontró en mayor cantidad en el huacatay (16,60mg/g) y en el sachaculantro (15,99mg/g), el olluco, el sachatome, el tumbo, la sachapapa morada y la pituca mostraron cantidades mucho menores. Mayor concentración de ácido cafeico tuvieron el huacatay (3,98 mg/g) y el sachaculantro (0,95mg/g), el sachatome, el tumbo, el aguaymanto, la sachapapa morada y la pituca registraron cantidades menores. El flavonoide rutina se presentó con mayor concentración en el huacatay (1,80 mg/g), en el sachaculantro (288,7ug/g) y en el olluco (142,22ug/g), el sachatome, el aguaymanto, la pituca y la sachapapa morada tuvieron concentraciones menores. La quercetina se presentó en gran cantidad en el huacatay (2,996mg/g) y en menor cantidad en el sachaculantro (113,8 ug/g), tumbo, sachatome y pituca mostraron cantidades menores. La morina sólo se presentó en huacatay (3,21mg/g) y en el sachaculantro (0,094mg/g).

Para evaluar la capacidad antioxidante se determinó el coeficiente de inhibición al 50% del radical libre DPPH (1,1 difenilpicrilhidrazilo) siendo el huacatay el producto más potente en este aspecto (9,44mg/mL) seguido del aguaymanto (41mg/mL), la pituca (95,53mg/mL), el tumbo (101,1mg/mL), la sachapapa morada (109,27mg/mL), el sachatome (140mg/mL), el olluco (147,29mg/mL) y el sachaculantro (213,86mg/mL).

Se comprobó que los alimentos estudiados presentan evidente capacidad antioxidante y que contienen la gran mayoría de los compuestos fenólicos estudiados.

Palabras clave: Antioxidantes, extractos hidroalcohólicos, ácido ferúlico, flavonoides, quercetina, ácido fenólico.

ABSTRACT

This study looks for the existence of antioxidants: chlorogenic, caffeic and ferulic acids aside from rutin, quercetin and morine flavonoids and for the expression of the anti oxidant capacity of eight Peruvian foods. The identification and quantification of hidroalcoholic extracts was carried out by High Performance Liquid Chromatography at 370 nm with mobile phase of water at pH 2,5 and acetonitrile in gradient using an external standard.

Chlorogenic acid was found in greater quantities in Sachaculantro (13,7mg/g) followed and huacatay (1,8mg/g), sachatome, tumbo, olluco, aguaymanto, sachapapa morada and pituca. Ferulic acid content was higher in huacatay (16,60mg/g) and sachaculantro (15,99mg/g), followed by aguaymanto,

1 Graduada de la Maestría en Bioquímica y Nutrición de la Facultad de Medicina Humana, USMP.

2 Miembros del Centro de Investigación en Bioquímica y Nutrición de la Facultad de Medicina Humana, USMP.

olluco, sachatomate, tumbo, sachapapa morada and pituca. The biggest concentration of caffeic acid was in the huacatay (3,98 mg/g) and in sachaculantro (288, 7ug/g), followed by olluco, sachatomate, aguaymanto, pituca, sachapapa morada. Quercetin was present in huacatay (2,996mg/g) and in sachaculantro (113,8 ug/g) where as tumbo, sachatomate and pituca had fewer quantities. Morine was present in huacatay (3,21mg/g) and in sachaculantro (0,094mg/g).

To evaluate the antioxidant capacity, the 50% inhibition coefficient of the DPPH (1,1 difenil-2pictilhidrazilo) free radical was determined showing that huacatay (9,44mg/mL) was the more potent followed by aguaymanto (41mg/mL), pituca (95,53mg/mL), tumbo (101,1mg/mL), sachapapa morada (109,27mg/mL), sachatomate (140mg/mL), olluco (147,29mg/mL), sachaculantro (213,86mg/mL).

We demonstrate that the studied foods present antioxidant capacity and that they contain the great majority of the phenolic compounds studied.

Key words: Antioxidants, hidralcoholic extracts, ferulic acids, flavonoid, quercetin, phenolic acids.

INTRODUCCION

Los polifenoles son un conjunto heterogéneo de moléculas que comparten la característica de poseer en su estructura varios grupos bencénicos sustituidos por funciones hidroxílicas; se encuentran en muchas plantas, algunas de uso común¹³. Según HARBONE¹¹, los compuestos fenólicos se pueden agrupar en diferentes clases dependiendo de su estructura siendo los más importantes:

- Los ácidos fenólicos derivados del ácido hidroxicinámico son los ácidos cafeico, ferúlico, p-cumárico y sináptico que por regla general se hallan presentes en forma de derivados².
- Los flavonoides constituyen el grupo más importante dentro de los polifenoles, siendo los más hallados en las plantas, con bajo peso molecular que comparten el esqueleto común de difenil piranos. Esta estructura básica les permite presentar una multitud de sustituciones y variaciones dando lugar a flavonoles, flavonas, flavanonas, flavanololes, isoflavonoides, catequinas, calconas, dihidrocalcona, antocianidinas, leucoantocianidinas o, flavandioli, proantocianidinas o taninos condensados (taninos no hidrolizables). Dentro de todos ellos, las flavonas (p.e. apigenina, luteolina y diosmetina) y los flavonoles (p.e. quercetina, mirecítina, kampferol) son los compuestos más abundantes en los vegetales¹⁹, donde se encuentran preferentemente en las capas más superficiales de verduras, frutas, cereales y otras semillas, para proteger de la oxidación los tejidos de las capas inferiores⁸.

Numerosas investigaciones han evaluado la capacidad antioxidante de los flavonoides frente a los radicales libres. Casi todos los resultados coinciden en que los flavonoides con sustituyentes dihidroxílicos en posiciones 3' y 4' en el anillo B se muestran más activos como antioxidantes y que este efecto es potenciado por la presencia de un doble enlace entre los carbonos 2 y 3, un grupo hidroxilo libre en la posición 3 y un grupo carbonilo en la posición 4; como sucede con la quercetina. Morazzoni y Malandrind⁵ pusieron de manifiesto que la rutina seguida de la quercetina se comportan como los secuestradores más fuertes de radicales libres.

Existe consenso que la actividad antioxidante de los flavonoides resulta de una combinación de sus propiedades quelantes de hierro y secuestradoras de radicales libres^{4,7,11}.

La capacidad antioxidante descrita para distintos polifenoles se puede considerar como la actividad biológica responsable del efecto preventivo que se les atribuye sobre determinadas enfermedades frecuentes en los países desarrollados como son las enfermedades cardiovasculares y el cáncer^{12,14,19,28}. La protección que las frutas y vegetales brindan contra las enfermedades degenerativas como cáncer y enfermedades cardiovasculares y cerebrovasculares, ha sido atribuida a su alto contenido de varios antioxidantes¹⁸.

Existe interés en organizaciones internacionales de salud por conocer y difundir las propiedades terapéuticas que tienen los alimentos de consumo habitual, especialmente por su aporte de moléculas protectoras (nutracéuticos) contenidas en frutas y hortalizas y que son el resultado del metabolismo secundario que poseen todos los vegetales^{6,9,10}. Algunas de esas sustancias, como los ácidos fenólicos, flavonoides o polifenoles del tipo C6C3C6, además de otras propiedades

bioquímicas, son potentes antioxidantes en las células animales. Por tales razones resulta de particular interés investigar el poder antioxidante, así como la concentración de algunos polifenoles en vegetales de nuestro medio.

MATERIAL Y MÉTODOS

Las muestras fueron colectadas de diferentes zonas de Perú. En Tingo María se colectó tumbo Pasiflora quadrangularis L, sachaculantro Eryngium foetidum L, sachapapa morada Dioscorea trifida L, pituca Colocasia esculenta L. Schott. En la región de Huancayo huacatay; Tagetes terniflora H.B.K; aguaymanto; Physalis pubescens var pubescens L, olluco; Ullucus tuberosus Caldas y en el departamento de La Libertad sachatomate; Cyphomandra betacea Cavo Sendt.

El presente trabajo de investigación se llevó a cabo en el Centro de Investigación en Bioquímica y Nutrición del Instituto de Investigación de la Facultad de Medicina Humana de la Universidad de San Martín de Porres.

Tratamiento de las muestras

Las muestras para la determinación de la actividad antioxidante fueron evaluadas en fresco. Las mismas se sometieron a una trituración o reducción de tamaño para obtener partículas mucho más uniformes y luego fueron sometidas a agitación con etanol en un agitador vortex durante 30 minutos. Posteriormente se centrifugó respectiva a 3500 rpm durante 15 minutos. El sobrenadante se filtró con papel whatman 40. La concentración del stock fue 500mg/mL.

Para la evaluación de ácidos fenólicos y flavonoides, las muestras fueron sometidas a una reducción de tamaño y luego deshidratadas por aire comprimido a 60° C 118 horas^{2]}. Luego se realizó la extracción con una solución hidro alcohólica en el agitador vortex, centrifugación y filtración semejante al caso anterior para luego ser inyectadas en los viales de aproximadamente 2.0 mL. haciendo uso de un filtro RC 0,45 m.

Actividad antioxidante

Se evaluó la actividad antioxidante con el método propuesto por YOKOZAWA et al.²⁹, frente a una solución 1 mM de DPPH en etanol al 95 %. Las reacciones fueron usando 50 L de la muestra confrontada con 950 L del radical DPPH a 100 M. Se monitoreó durante 30 minutos a intervalos de 5 minutos, a 515 nm.

Determinación de ácidos fenólicos y flavonoides

Se utilizó el método propuesto por CIUDAD Y VALENZUELA⁶, utilizando la cromatografía líquida de alta performance (HPLC); (Cromatógrafo HPLC Merck Hitachi modelo Lachrom 7000), cuantificando los ácidos fenólicos: cafeico, ferúlico y clorogénico; y los flavonoides: morina, rutina y quercetina.

Las condiciones cromatográficas fueron:

Gradientes:

Canal (A) Agua a pH 2,5 con ácido ortofosfórico.
Canal (C) Acetonitrilo
Canal (D) Agua

Columna:

RP SELET B 250X 4mm. Tamaño de partícula 5.

Longitud de Onda:

370 nm

Se programó de la manera mostrada en Tabla N°1.

TABLA N° 1
Programa de Gradiente

Tiempo	% ortofosfórico	% Metanol	% Acetonitrilo	Flujo ml /min
0,0	100	0	0	1000
3,0	80	0	20	1000
23,0	60	0	40	1000
28,0	100	0	0	1000

RESULTADOS

ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE

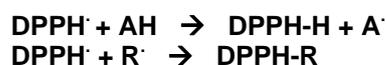
En las Tablas N° 2 y N° 3, se muestra los resultados del coeficiente de inhibición de las muestras en estudio, los modelos para el cálculo del parámetro IC₅₀. y las máximas inhibiciones expresadas en función a la equivalencia con ácido ascórbico.

TABLA N° 2
Coeficiente de inhibición 50% para los alimentos de origen peruano

ALIMENTOS	IC 50 (mg/mL) *	MODELO	R2
Huacatay	9,44±0,97 (a)	y = 85,328e-0,0566x	0,9761
Olluco	147,29±1,01 (e)	y = 0,0004x ² - 0,3396x + 91,342	0,9852
Sachatomate	140,09±1,60 (e)	y = -0,2329x + 82,627	0,9964
Sachapapa morada	109,27±1,02 (d)	y = 0,0011x ² - 0,508x + 92,37	0,9406
Pituca	95,53±0,62 (c)	y = 89,549e-0,0061x	0,9701
Sachaculantro	213,86±0,51(f)	y = 90,997e-0,0028x	0,9695
Aguaymanto	41,17±1,08 (b)	y = 96,614e-0,016x	0,9880
Tumbo	101,10±0,88 (d)	y = 98,435e-0,0067x	0,9892

* Valores representan el promedio SD, n = 3. Letras unidas (a-e), a las columnas representan la diferencia significativa a p<0.05, según la prueba de Tukey.

La capacidad para secuestrar los radicales DPPH está en función al contenido del principio activo presente en cada una de las plantas en estudio. La reducción de la concentración del DPPH está indicada como el decremento de la absorbancia en el tiempo. La reacción producida es la siguiente³:



Fuente: BRAND-WILLIANS et al, (1995)

CONTENIDO DE ÁCIDOS FENÓLICOS y FLAVONOIDES

El contenido de ácidos fenólicos y de flavonoides en las plantas estudiadas se aprecia en las Tablas N° 4 y N° 5. Las Figuras N° 1, N° 2, N° 3, N° 4, N° 5 y N° 6 corresponden a los Cromatogramas tanto de los estándares generales de ácidos fenólicos y flavonoides como de los extractos hidroalcohólicos de huacatay, sachaculantro, sachatomate, olluco y sachapapa morada.

TABLA N° 3

Máximas inhibiciones expresadas en función al ácido ascórbico equivalente (uM AAE)

ALIMENTOS	CONC. (mg/mL)	ABS máx.	PORCENTAJE %	
			INHIBICIÓN	(µM AAE) *
Huacatay	60	0,160	84,76	33,90
Olluco	60	0,760	27,62	10,91
Sachatomate	60	0,740	29,56	11,69
Sachapapa morada	60	0,640	39,05	15,51
Pituca	60	0,650	38,10	15,12
Sachaculantro	60	0,800	23,81	9,38
Aguaymanto	60	0,420	60,00	23,94
Tumbo	60	0,690	34,29	13,59

* Valores expresados en (M ácido ascórbico equivalente) se utilizó la curva patrón de ácido ascórbico del (Instituto de Investigación Bioquímica y Nutrición, 2004) $Y = 2,4855X - 0,5052$, $R^2 = 99,67$. Las lecturas fueron tomadas a los 30 minutos de monitoreo.

TABLA N° 4

Contenido de ácidos fenólicos presentes en las plantas en estudio (mg o g/g de alimento)

ALIMENTOS	CLOROGÉNICO	FERÚLICO	CAFEICO
Huacatay (mg/g)	1,68	16,60	3,98
Olluco (µg/g)	14,71	15,58	ND
Sachatomate (µg/g)	210,91	12,77	8,62
Sachapapa morada (µg/g)	5,40	0,56	0,46
Pituca (µg/g)	0,21	0,21	0,014
Sachaculantro (mg/g)	13,57	15,99	0,95
Aguaymanto (µg/g)	1,37	19,15	3,85
Tumbo (µg/g)	93,26	4,15	5,56

ND no detectado

TABLA N° 5

Contenido de flavonoides presentes en las plantas en estudio

ALIMENTO	RUTINA	MORINA	QUERCETINA
Huacatay (mg/g)	1,80	3,21	2,99
Olluco (µg/g)	142,20	ND	ND
Sachatomate (µg/g)	16,35	ND	0,19
Sachapapa morada (µg/g)	0,18	ND	ND
Pituca (µg/g)	0,15	ND	0,23
Sachaculantro (mg/g)	0,29	0,093	0,11
Aguaymanto (µg/g)	5,93	ND	ND
Tumbo (µg/g)	ND	ND	6,02

ND no detectado

Cromatograma del estándar general de ácidos fenólicos y flavonoides

FIGURA N° 1

Cromatograma del estándar general de ácidos fenólicos y flavonoides

Current
Data De
Vial Num

flavonoles 4 - Vial 1 Inj 1 estandard - Channel 1

Current Data Path: C:\Win32App\HSM\samples\DATA\0373

Data Desc.: IFM CH1 2-D

Vial Number: 1 Inj Number: 1 Sample Name: estandard

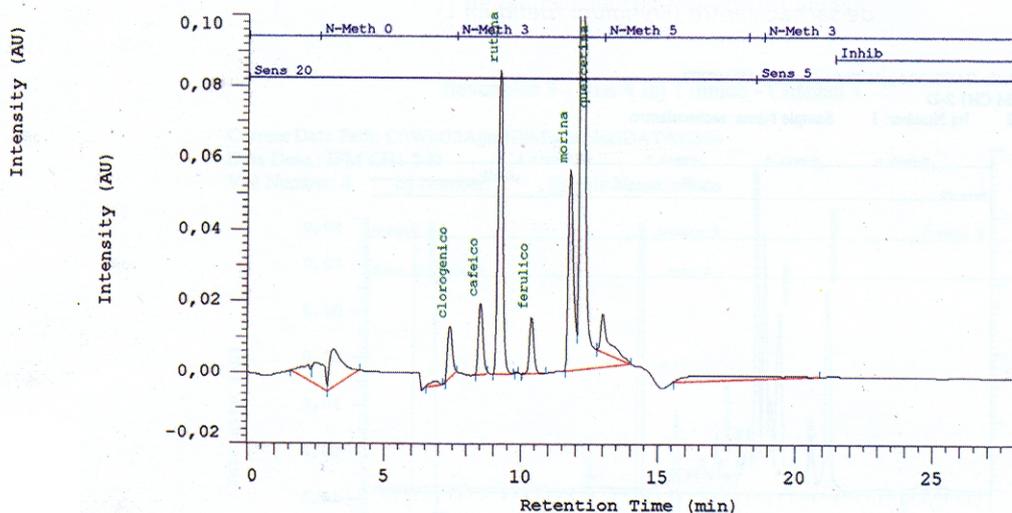


FIGURA Nº 2

Cromatograma (370 nm) del extracto hidroalcohólico de huacatay (*Tagetes terniflora* H.B.K.)

flavonoles 4 - Vial 3 Inj 1 huacatay - Channel 1

Current Data Path: C:\Win32App\HSM\samples\DATA\0373

Data Desc.: IFM CH1 2-D

Vial Number: 3 Inj Number: 1 Sample Name: huacatay

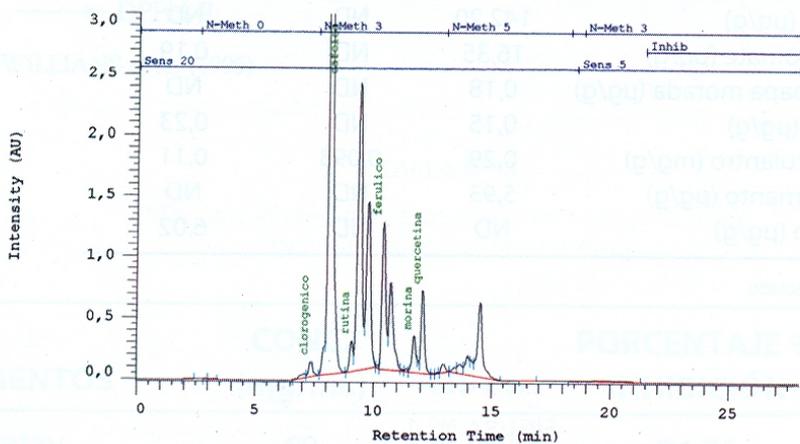


FIGURA Nº 3

Cromatograma (370 nm) del extracto hidroalcohólico de sachaculantro (*Eryngium foetidum* L)

Current Data Path: C:\Win32App\HSM\samples\DATA\0373

Data Desc.: IFM CH1 2-D

Vial Number: 2 Inj Number: 1 Sample Name: sachaculantro

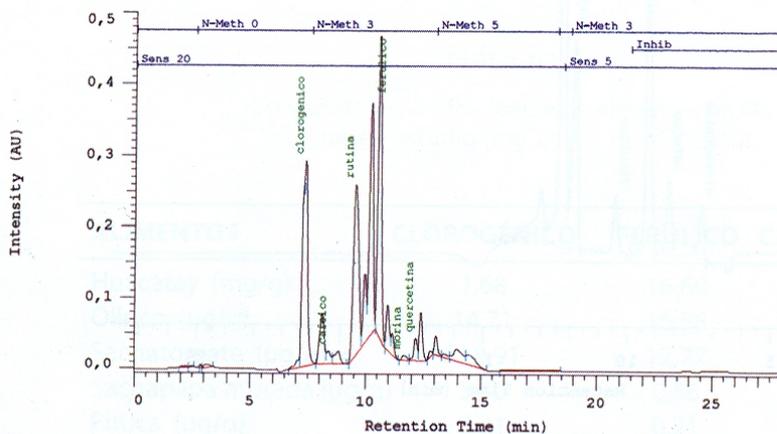


FIGURA N° 4

Cromatograma (370 nm) del extracto hidroalcohólico de Pituca (*Colocasia esculenta* L.Schott)

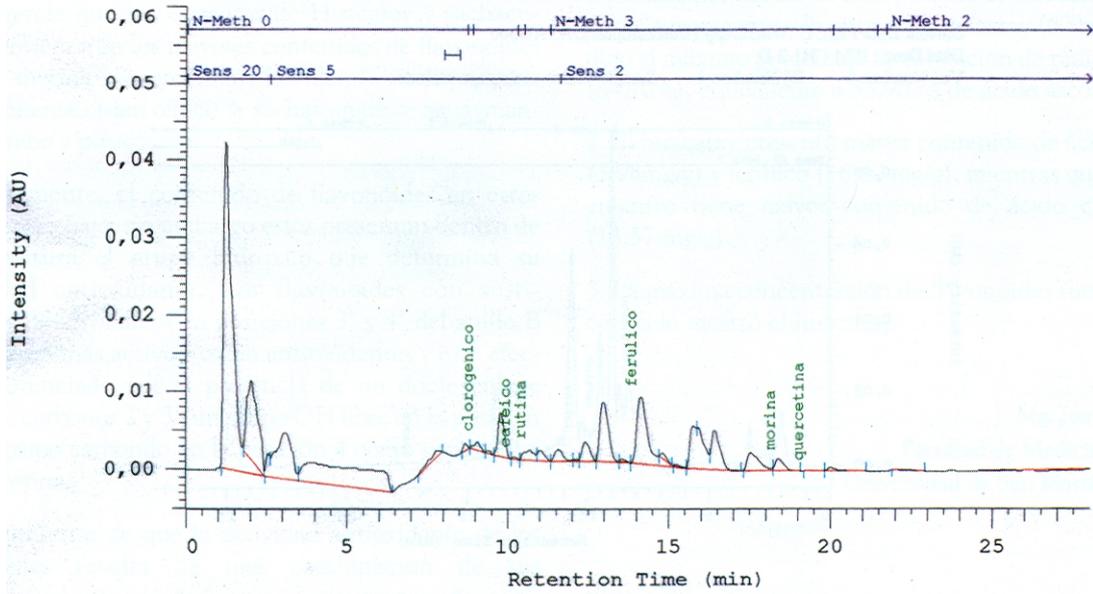


FIGURA N° 5

Cromatograma (370 nm) del extracto hidroalcohólico de olluco (*Ullucus tuberosus* Caldas)

flavonoles 3 - Vial 4 Inj 1 olluco - Channel 1

Current Data Path: C:\Win32App\HSM\samples\DATA\0384
Data Desc.: IFM CH1 2-D
Vial Number: 4 Inj Number: 1 Sample Name: olluco

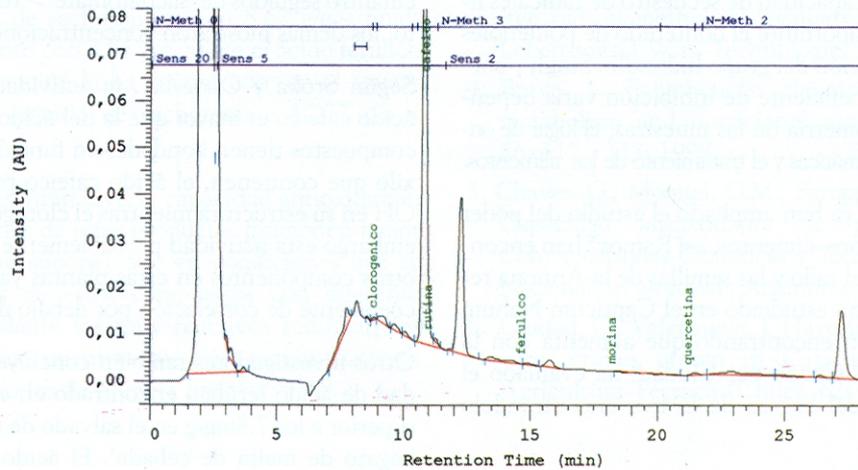


FIGURA N° 6

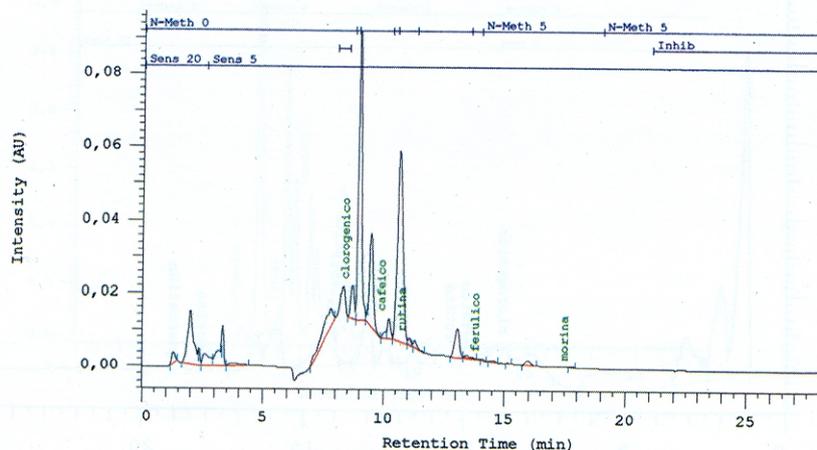
Cromatograma (370 nm) del extracto hidroalcohólico de Sachapapa morada (*Dioscorea trifida* L)

flavonoles 3 - Vial 6 Inj 1 sachapapa mo - Channel 1

Current Data Path: C:\Win32App\HSM\samples\DATA\0366

Data Desc.: IFM CH1 2-D

Vial Number: 6 Inj Number: 1 Sample Name: sachapapa morada



DISCUSIÓN

Los resultados mostrados en las Tablas N° 1 y N° 2, señalan que existe en esos alimentos una variada actividad antioxidante caracterizada por su diferente coeficiente de inhibición. De acuerdo a su actividad oxidante, los alimentos guardan el siguiente orden de mayor a menor valor, Huacatay > Aguaymanto > Pituca > Tumbo > Sachapapa morada > Sachatomate > Olluco > Sachaculantro.

La mayor o menor actividad, no siempre va aparejada con la concentración de polifenoles, así Okawa¹⁶ reporta que cuando se evalúa la capacidad de secuestro de radicales libres no siempre es importante el contenido de polifenoles sino más bien la posición del grupo hidroxilo. Singh y col²² mencionan que el coeficiente de inhibición varía dependiendo de la granulometría de las muestras, el lugar de origen, las condiciones climáticas y el tratamiento de los alimentos.

Otros investigadores ya han ampliado el estudio del poder antioxidante de algunos alimentos, así Ramos²⁰ han encontrado gran poder en el tallo y las semillas de la *Annona reticulata*, Chaves⁵ lo ha estudiado en el *Capsicum Nahum* L o pimiento morrón encontrando que aumenta con la maduración. Rubilar. Citado por Ciudad⁶ ha evaluado el poder antioxidante del bagazo de la uva encontrándolo muy elevado.

Los resultados en Tabla N° 4, muestran que el Huacatay y el sachaculantro presentaron los mayores contenidos de ácido ferúlico, los restantes alimentos se dispusieron en el siguiente orden aguaymanto > olluco > sachatomate, la sachapapa morada, pituca y el tumbo mostraron concentraciones mucho menores. Con respecto al ácido clorogénico, la mayor concentración se presentó también en el sachaculantro y el huacatay, seguidos por el sachatomate, y el tumbo, los demás alimentos mostraron concentraciones mucho menores. Con respecto al ácido cafeico, las mayores concentraciones estuvieron en el huacatay y el sachaculantro seguidos de sachatomate > tumbo > aguaymanto, los demás mostraron concentraciones muy discretas.

Según Sroka y Cisoeski²³, la actividad antioxidante del ácido cafeico es mayor que la del ácido clorogénico, estos compuestos tienen bondades en función del grupo hidroxilo que contienen, el ácido cafeico presenta dos grupos OH en su estructura mientras el clorogénico sólo uno. Sin embargo esta actividad probablemente se deba también a otros componentes en estas plantas ya que presentan un coeficiente de correlación por debajo de 0.1 %.

Otros investigadores también concluyen en que la cantidad de ácido ferúlico encontrado en el huacatay es muy superior a los 7,5 mg/g en el salvado de trigo y 3,0 mg/g del bagazo de malta de cebadal. El ácido ferúlico que es el ácido hidroxicinánico más abundante en la epidermis, xilema, invasión de la vaina y esclerénquima de la planta. Además de encontrarse en la pared celular, se encuentra en forma soluble en el citoplasma.

De los resultados obtenidos y mostrados en la Tabla N° 5, se desprende que los extractos de Huacatay y sachaculantro presentaron los mayores contenidos de flavonoides (rutina, morina y quercetina). Los demás se dispusieron en el siguiente orden olluco > sachatomate > aguaymanto > tumbo y pituca.

Aparentemente, el contenido de flavonoides en estos alimentos es bajo, sin embargo estos presentan dentro de su estructura el grupo hidroxilo que determina su propiedad antioxidante. Los flavonoides con sustituyentes dihidroxílicos en posiciones 3" y 4" del anillo B se muestran más activos como antioxidantes y este efecto es potenciado por la presencia de un doble enlace entre los carbonos 2 y 3, un grupo OH libre en la posición 3 y un grupo carbonilo en la posición 4 como sucede con la quercetina.

Existe consenso de que la actividad antioxidante de los flavonoides resulta de una combinación de sus propiedades quelantes de hierro y secuestradora de radicales libres¹⁷, es así que Morazzonni y Malandrino¹⁵ pusieron de manifiesto que la rutina seguida de la quercetina se comportan como los secuestradores más fuertes de O₂ generado enzimáticamente.

Pineda¹⁸ ha determinado el contenido de flavonoides y otros compuestos fenólicos en el tomate, alimento perteneciente al grupo de las solánaceas al igual que el sachatomate y el aguaymanto. El ha podido comprobar que la mayor concentración de quercetina la tiene el tomate con 9,7 g/g. En lo que respecta al ácido cafeico el tomate presenta la mayor concentración del mismo con 46,7 g/g, seguido de sachatomate con 8,62 g/g y finalmente el aguaymanto con 3,85 g/g. Sobre el ácido ferúlico la mayor concentración la ha encontrado en el aguaymanto 19,15 g/g seguido de sachatomate 12,77 g/g y tomate 4,0 g/g.

Los polifenoles presentan diversa capacidad antioxidante, el hecho que muchos de estos productos funcionen mejor en mezclas permite suponer que en condiciones que se encuentran varios de estos compuestos con diferente capacidad antioxidante los muy re activos reduzcan los radicales más activos, mientras que otros menos re activos actúen regenerando los de primera línea^{13, 24, 25, 26, 27}.

CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados obtenidos se llegó a las siguientes conclusiones:

1. Los alimentos estudiados demostraron tener capacidad antioxidante, siendo el más potente el huacatay, seguido por el aguaymanto y la pituca. El huacatay (60 mg/ml) produjo el máximo porcentaje de inhibición de radicales libres (84,70%), equivalente a 33,90 M de ácido ascórbico.
2. El huacatay presentó mayor contenido de ácido cafeico (3,98mg/g) y ferúlico (16,60 mg/g), mientras que el sachaculantro tiene mayor contenido de ácido clorogénico (13,57 mg/g).
3. La máxima concentración de flavonoides rutina y quercetina lo mostró el huacatay.

Mg. Juana Zavaleta
Facultad de Medicina Humana
Universidad de San Martín de Porres

BIBLIOGRAFIA

1. Bartolomé, B.; Foulds, C.B.; Kroon, A.P.; Waldron, K.; Gilbert, H.J.; Hazlewoodgy Williamson, G. An *Aspergillus Níger* esrerase (ferullic acid esterase III and a recombinant *Pseudomonas fluorescen* Subs. *Cellulosa* esterase (*XylD*) release a 5-5 A ferulic dehydromer (diferulic acid) from barley and Wheat cell walls. *Applied and Enviromental Microbiology* 63(1): 208-212; 1997.
2. Belitz, H.D.; Grosch, W *Química de los alimentos*. Editorial Acribia, S.A. Zaragoza; 1988.
3. Brand-Willians, W; Cuvelier, M.E.; Berset, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel Wiss. Technologie*. 28: 25 - 30; 1995.
4. Bravo, L. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism and nutricional significance. *Nutr. Rev.* 56: 317 - 333; 1998.
5. Chaves, G.; Montiel, O.M.; Sgroppo, S.c.; Avanza, J.R. Capacidad antioxidante de pimientos morrones *Comunicaciones Científicas y Tecnológicas*. Universidad Nacional del Nordeste, Argentina; 2000.
6. Ciudad, c.; Valenzuela, J. Flavonol content of Chilean wine grapes grown in Casablanca Valley, Chile. *Agricultura Técnica (Chile)*. 62: 79 - 86; 2000.
7. Decker, E.A. Phenolics: Prooxidants or antioxidants. *Nutritional Reviews*. 55: 396 - 398; 1997.
8. Dreosti, LE. Bioactive ingredientes: Antioxidants and Polyphenols in tea. *Nut Rv.* 54(11): 51-58; 1996.
9. Gonzales T.M.C.; Betancourt, R.M.; Ortiz M.R. Daño oxidativo y antioxidantes. *Bioquímica* 25: 3 - 9; 2000.
10. Hanasaki Y.; Ogawa S.; Fukui S. The correlation between active oxygen and antioxidative effects of flavonoids. *Free RadiBiol Med*. 16: 845-50; 1994.
11. Harborne, J.B. General procedures and measurements of total phenolics. En: Martínez et al. (2000). Significado nutricional de los compuestos fenólicos de la dieta. *Archivos latinoamericanos de Nutrición*. 50: 5 - 18; 1989.
12. Harborne, J.B. *The flavonoids*. Advances in research since 1986. Editorial Chapman and Hall. Londres; 1993.
13. Hernández, M.; Prieto, E.A Plantas que contienen polifenoles. Antioxidantes dentro del estilo de vida. *Rev Cubana Invest Biomed* 18(1): 12-4; 1999.
14. Miliuskas, G.; Venskutonis, P.R.; van Beek, T.A Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. *Food Chemistry*. 85: 231 - 237; 2004.
15. Morazzoni, P.; Malandrina, S. Anthrocyanins and their aglycons as scavengers of free radicals and antilipoperoxidant agents. *Pharmacol Res Crnm*. 20: 254; 1988.
16. Okawa, M.; Kinjo, J.; Nohara, T.; Ono, M. DPPH (1,1 Diphenyl- 2Picrylhydrazyl) Radical Scavenging Activity of Flavonoids Obtained from Some Medicinal Plants. *Biol. Pharm. Bull* 24: 1202-1205; 2001.
17. Pérez, G. 2003. Los flavonoides: antioxidantes o prooxidantes. *Rev. Cubana Invest Biomed*. 22: 48-57.
18. Pineda, AD.; Salucci, M.; Lázaro, R.; Maiani, G.; Ferro-Luzzi, A Capacidad Antioxidante y potencial de sinergismo entre los principales constituyentes antioxidantes de algunos alimentos. *Revista Cubana de Alimentación y Nutrición*. 13: 104 - 111; 1999.
19. Pryor, W. *A Free Radicals in biology*. Academia Press. New York. pp. 1 -3; 1976.

20. Ramos, A; Visozo, A; Piloto, J.; García, A.; Rodríguez, c.; Rivero, R. Screening of antimutagenicity via antioxidant activity in Cuban medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology*. 87: 241 - 246; 2003.
21. Rincón, A.M.; Araujo, c.; Carrillo, E; Martín, E. Evaluación del posible uso tecnológico de algunos tubérculos de las dioscoreas: ñame congo (*Dioscorea bulbifera*) y mapuey (*Dioscorea trifida*). *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*. 50: 286 - 290; 2000.
22. Singh, H.P.; Ravindranath, S.D.; Singh, C. Analysis of tea shoot catechins: Spectrophotometric quantitation and selective visualization on two-dimensional paper chromatograms using diazotized sulfanilamide. *J. Agric. Food Chem.* 47: 1041 - 1045; 1999.
23. Sroka, Z.; Cisowski, W. Hydrogen peroxide scavenging, antioxidant and anti radical activity of some phenolic acids. *Food and Chemical Toxicology*. 41: 753 758; 2003.
24. Thomas, M.J. The role of free radicals and antioxidants. *Nutrition*. 16: 716 - 718; 2000.
25. Thomas, J.A Oxidative stress, oxidant defense and dietary constituents. *Modern nutrition in health and disease*. 8ed. Williams and Wilkins; Philadelphia. 501-12; 1994.
26. Tsimidou, M. Polyphenols and quality of virgin olive oil in retrospect. *Italian J. Food Science*. 2: 99 - 116; 1998.
27. Venereo, J. Daño oxidativo, Radicales libres y Antioxidantes. *Rev Cubana Med Milit*; 31(2): 126-33; 2002.
28. Wang, H.; Cao, G.; Prior, R.L. Total antioxidant capacity of fruits. *J. Agric. Food Chem.* 44: 701 - 705; 1996.
29. Yokozawa, T.; Chen, P.c.; Dong, E.; Tanaka, T. Study on the inhibitory effect tannins and flavonoids against the 1, 1-diphenyl- 2-picrilhydrazyl radical. *Biochem-;Pharmacol.* 56: 213 - 222; 1998.