

UNIVERSIDAD DE SONORA

DIVISIÓN DE CIENCIAS E INGENIERÍA

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS QUÍMICO BIOLÓGICAS Y
AGROPECUARIAS

COMPARACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DEL EXTRACTO
ETANÓLICO DEL ESPÁRAGO (*Asparagus officinalis*), TOCOFEROL Y
TBHQ UTILIZANDO EL MÉTODO RANCIMAT



TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICO BIÓLOGO EN ANÁLISIS CLÍNICOS

PRESENTA

ESPINOZA GÁMEZ FERNANDA

H. CABORCA, SONORA

MARZO DE 2017

Universidad de Sonora

Repositorio Institucional UNISON



**"El saber de mis hijos
hará mi grandeza"**



Excepto si se señala otra cosa, la licencia del ítem se describe como openAccess

FORMA DE APROBACIÓN

Los miembros del Jurado designado para revisar la tesis de Espinoza Gamez Fernanda, la han encontrado satisfactoria y recomiendan que sea aceptada como requisito parcial para obtener el Título de Químico Biólogo Clínico.

Dr. Jesús Ortega García
Presidente

Dra. Dora Edith Valencia Rivera
Secretaria

M.C. Ramón Efraín Lugo Sepúlveda
Vocal

M.E. Yessica Enciso Martínez
Suplente

AGRADECIMIENTOS

Expreso mi más sincero agradecimiento a mi tutor de proyecto y guía en esta tesis el Dr. Jesús Ortega García, por darme la oportunidad de colaborar con él en este proyecto tan maravilloso y de gran impacto en el ámbito científico y de investigación actual, también por compartirme sus conocimientos sobre el tema, por haber tenido la amabilidad, paciencia y toda la disponibilidad de tiempo para explicarme las dudas que iban surgiendo a lo largo del proyecto, por ver en mi potencial y confiar en mi como persona y como estudiante para llevar a cabo este proyecto. También por ser un pilar importante a lo largo de mi carrera de Químico Biólogo Clínico, por contar incondicionalmente con sus asesorías, aunque no fueran de materias impartidas por él.

Un agradecimiento muy especial a la Dra. Dora Edith Valencia Rivera, por su grata colaboración y por contar con todo su apoyo moral, por todos sus consejos y ánimos para seguir realizando mi trabajo de investigación. Por estar al pendiente en todo momento y tener una actitud de amabilidad al explicarme y ayudarme a realizar la parte experimental.

Quiero agradecer también a los demás colaboradores, encargados de revisar y corregir este trabajo, al M.C. Ramón Efraín Lugo Sepúlveda y a la M.E. Yessica Enciso Martínez. Por toda la dedicación y ganas puestas en este trabajo.

DEDICATORIA

A mis padres Luis Alfonso y Alma Yesenia, por contar con su apoyo incondicional a lo largo de mi carrera, alentándome cada día para ser mejor persona, estudiante, superarme para lograr esta meta y seguir con mis proyectos como profesionalista.

A mi novio José Aguiar, por alentarme a seguir adelante, y ser ese pilar tan importante en mis momentos de estrés y nerviosismo.

CONTENIDO

	Página
AGRADECIMIENTOS	iii
DEDICATORIA	iv
INDICE DE CONTENIDO	v
LISTA DE TABLAS	vii
LISTA DE FIGURAS	viii
RESUMEN	ix
1. INTRODUCCIÓN	1
2. ANTECEDENTES	2
2.1. Importancia de los Lípidos.....	2
2.2. Reacciones de Deterioración de los Lípidos.....	2
2.2.1. Rancidez Hidrolítica.....	4
2.2.2. Rancidez Oxidativa.....	4
2.2.2.1. Auto-oxidación.....	7
2.2.2.2. Foto-oxidación.....	11
2.3. Evaluación de la Estabilidad Oxidativa de los Lípidos.....	11
2.3.1. Oxidación por Luz.....	12
2.3.2. Oxidación Acelerada por Metales.....	12
2.3.3. Pruebas a Temperatura Ambiente.....	13
2.3.4. Pruebas a Temperaturas Altas.....	13
2.3.5. Métodos de la Ganancia en Peso.....	13
2.3.6. Prueba de Schaal.....	14
2.3.7. Métodos del Oxígeno Activo (AOM) y Rancimat.....	14
2.4. Importancia de los Antioxidantes.....	15
2.4.1. Mecanismo de Acción de los Antioxidantes.....	16
2.5. Antioxidantes Sintéticos.....	26
2.5.1. Ter-butilhidroquinona (TBHQ).....	26
2.5.2. Butilhidroxianisol (BHA).....	30
2.5.3. Butilhidroxitolueno (BHT).....	32
2.6. Antioxidantes Naturales.....	34
2.6.1. Ácido Ascórbico.....	34
2.6.2. Carotenos.....	37
2.6.3. Compuestos Fenólicos.....	39
2.6.3.1. Tocoferoles.....	42
2.6.3.2. Ácidos Fenólicos.....	43
2.6.3.3. Flavonoides.....	44
2.6.3.4. Estilbenos.....	51
2.6.3.5. Taninos.....	52
2.6.3.6. Lignanos.....	53
2.7. Tipos y Distribución de Antioxidantes Naturales en Espárrago.....	56

2.8. Actividad Biológica de los Antioxidantes Naturales del Espárrago.....	56
3. HIPÓTESIS.....	59
4. OBJETIVOS.....	60
4.1. Objetivo General.....	60
4.2. Objetivos Específicos.....	60
5. METODOLOGÍA DE ANÁLISIS.....	61
5.1. Materia Prima.....	61
5.2. Caracterización del Aceite de Soya.....	61
5.2.1. Perfil de Ácidos Grasos.....	61
5.2.2. Cuantificación de Tocoferoles en el Aceite de Soya.....	62
5.2.3. Determinación de Metales Traza.....	63
5.3. Preparación de las Muestras de Espárrago.....	63
5.4. Extracción de los Compuestos Fenólicos.....	64
5.5. Cuantificación de Fenoles Totales.....	64
5.6. Actividad Antioxidante.....	65
5.7. Análisis de Estadístico.....	65
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	66
6.1. Caracterización del Aceite de Soya.....	66
6.2. Valor de Peróxidos y Valor de <i>p</i> -anisidina.....	66
6.3. Perfil de Ácidos Grasos.....	66
6.4. Cuantificación de Tocoferoles.....	67
6.5. Contenido de Elementos Traza en el Aceite, Extracto Etanólico y Liofilizado.....	67
6.6. Contenido de Fenoles Totales en el Extracto de Espárrago.....	73
6.7. Actividad Antioxidante del Extracto de Espárrago.....	73
6.8. Método Rancimat.....	74
7. CONCLUSIONES.....	75
8. RECOMENDACIONES.....	76
9. BIBLIOGRAFÍA.....	77

LISTA DE TABLAS

Tabla		Página
1.	Factores que influyen en la oxidación de lípidos.....	9
2.	Principales especies de radicales libres y no radicales.....	18
3.	Enzimas involucradas en la remoción de ROS y productos de oxidación.....	25
4.	Contenido de ácido ascórbico en alimentos.....	36
5.	Alimentos con fuentes de α -carotenos y β -carotenos.....	41
6.	Principales fuentes de flavonoides en alimentos.....	48
7.	Perfil de ácidos grasos del aceite de soya (mg/100mg de aceite).....	69
8.	Contenido de tocoferoles en el aceite de soya (ppm).....	71
9.	Actividad antioxidante (Test Rancimat) del extracto del espárrago comestible, antioxidantes sintéticos y naturales.....	74

LISTA DE FIGURAS

Figura		Página
1.	Representación química de rancidez hidrolítica.....	6
2.	Representación auto – oxidativa.....	10
3.	Mecanismo de acción antioxidante – radicales libres.....	19
4.	Mecanismo HAT – SET.....	22
5.	Fórmula de ter-butilhidroquinona (TBHQ).....	28
6.	Forma estructural del Butilhidroxianisol (BHA).....	31
7.	Estructura del Butilhidroxitolueno (BHT).....	33
8.	Estructura del ácido ascórbico y transformación.....	35
9.	Estructura general de los carotenos.....	38
10.	Estructura general de los flavonoides.....	45
11.	Estructura del estilbeno.....	49
12.	Fotoisomerización del estilbeno dependiendo de la longitud de la onda de excitación (los productos son isómero trans (<i>E</i>) o cis (<i>Z</i>)).....	50
13.	Estructura química de algunos lignanos.....	55
14.	Cromatograma parcial del perfil de ácidos grasos del aceite de soya.....	70
15.	Cromatograma parcial de tocoferoles en el aceite de soya...	72

RESUMEN

El espárrago (*Asparragus Oficinalis*), es un cultivo de gran importancia en la región de Caborca, Sonora, tanto por su alta producción, así como por los antioxidantes naturales (compuestos fenólicos) que contiene. El uso de los antioxidantes naturales, así como su efecto se puso a prueba por el índice de estabilidad oxidativa (OSI) sobre el aceite de soya refinado (RBD) para lo cual se utilizó el equipo Rancimat. Los compuestos fenólicos del espárrago se extrajeron con etanol/agua 95:5 (v:v). La actividad antioxidante del extracto hidroalcohólico del espárrago se comparó con la Ter-butilhidroquinona (TBQH) y mezcla de tocoferoles, en aceite de soya comestible libre de antioxidantes sintéticos, el cual cumplió con las características químicas y de composición de un aceite comestible puro de soya. El contenido de fenoles totales en el extracto del espárrago fue similar al encontrado en diferentes frutas y espárragos de otros países. El aceite con el extracto etanólico de espárrago a concentraciones mayores de 0.3% (p/p) presentó tiempos de inducción mayores ($p < 0.05$) que los antioxidantes naturales (tocoferoles) y sintéticos (TBHQ) a las concentraciones analizadas, lo cual indica que el espárrago es de gran importancia como fuente de antioxidantes naturales.

1. INTRODUCCIÓN

La adición de antioxidantes es la práctica más común que se utiliza para retrasar la oxidación de grasas, aunque los antioxidantes sintéticos son ampliamente utilizados en la industria alimentaria, su utilización ha sido cuestionada debido a preocupaciones de toxicología (Ixtaina y col., 2012), por lo tanto, diversos investigadores han reconocido la necesidad de identificar nuevos antioxidantes naturales para utilizarse como aditivos confiables en la industria alimentaria.

La peroxidación lipídica, además de deteriorar el sabor y olor de los alimentos que contienen aceite, también causa enfisema, mutagénesis, enfermedades del corazón y carcinogénesis (Addis, 1991; Takahashi, 1992).

Existe una preocupación creciente a cerca de tener una forma de dieta que contenga no sólo nutrientes, sino también componentes "bioactivos" que han demostrado producir efectos benéficos sobre la salud humana. El valor nutrimental de los alimentos de origen vegetal como una fuente de minerales, vitaminas esenciales, carbohidratos, proteínas, y fibra está bien reconocido (Fukushi, 2010; Hafizur y col., 2012).

Por otra parte, estudios epidemiológicos han informado de que existe una asociación inversa entre el consumo de vegetales y la reducción de las enfermedades crónicas, tales como diferentes tipos de cáncer y enfermedades cardiovasculares. Se ha demostrado que los fitoquímicos en los vegetales son el componente activo responsable del efecto protector son los antioxidantes. Por lo tanto, la bioactividad de los componentes de los alimentos generalmente se prueba por su capacidad antioxidante (Bazzano, 2002; Shreiner, 2004).

Los principales componentes bioactivos del espárrago son fenoles (flavonoides y ácidos hidroxicinámicos) y saponinas, aunque otros compuestos, tales como los

esteroles, oligosacáridos, aminoácidos y carotenoides, también pueden contribuir a las propiedades funcionales de este vegetal (Chin, 2002; Jang y col., 2004). Además de estos compuestos solubles, el espárrago es rico en fibra dietética, con efectos potenciales favorables (Heredia y col., 2003).

Numerosos ensayos se han desarrollado para la evaluación de la actividad antioxidante y la capacidad de atrapar radicales libres en los alimentos y sistemas biológicos. Sin embargo, no hay métodos universales que puedan medir la capacidad antioxidante de otros productos con precisión y de manera cuantitativa (He y col., 2012).

Uno de los métodos utilizado con éxito para medir el índice de estabilidad oxidativa (OSI) de los antioxidantes sintéticos y naturales es el método Rancimat (Hasenhuettl, 1992; Gámez-Meza y col., 1999). Este método mide los incrementos en la conductividad eléctrica que surge cuando las grasas y aceites se oxidan a ácidos grasos libres más cortos (ácido fórmico) principalmente en condiciones aceleradas de calor y aireación (Kolb y col., 2002).

El propósito de esta investigación fue evaluar la actividad antioxidante del extracto etanólico del espárrago (*Asparragus officinalis*) comparándolo con el ter-butilhidroquinona (TBHQ), que es un antioxidante sintético bien conocido en la industria aceitera, así como con el uso de antioxidantes naturales como son los tocoferoles, utilizando el método del Índice de Estabilidad Oxidativa (OSI) mediante el equipo Rancimat.

2. ANTECEDENTES

2.1. Importancia de los Lípidos

Los lípidos incluyen a las grasas, aceites, ceras, fosfolípidos, esfingolípidos y lípidos neutros como el colesterol y los triacilgliceroles, en una dieta normal los lípidos aportan entre 25 y 30% del valor calórico total. La importancia de los lípidos en la alimentación viene dada por ser combustible metabólico, suministrar los ácidos grasos esenciales (AGE); el ácido linoleico y el ácido linolénico son los dos AGE aportados en la dieta, ninguno puede ser sintetizado por el organismo y sin ellos se sufrirá una deficiencia en ácidos grasos esenciales con importantes repercusiones orgánicas. (Addis, P. 1991)

Los lípidos también son vehículos de vitaminas liposolubles: las vitaminas A, D, E y K son solubles en lípidos y solventes orgánicos, se encuentran en la dieta en pequeñas cantidades y requieren de los ácidos grasos para una eficiente absorción intestinal. En el organismo los lípidos se utilizan como aislantes térmicos en los tejidos subcutáneos o alrededor de los órganos, pues las grasas son almacenadas en el tejido adiposo, los lípidos se comportan como aislantes eléctricos y como depósitos de energía, debido a que constituyen el 80% de las reservas, es decir cerca de 140,000 Kcal, que provienen de carbohidratos no oxidados directamente y pueden ser convertidos en grasa. Precursores de esteroides, dentro de los que se encuentran los ácidos biliares, hormonas suprarrenales, hormonas sexuales, vitamina D, glucósidos cardíacos, etc. (AOCS, 2012).

2.2. Reacciones de Deterioración de los Lípidos

Las grasas y los aceites pueden sufrir diferentes transformaciones, que reducen el valor nutritivo de los alimentos, producen compuestos volátiles e imparten olores y sabores desagradables, lo cual se debe al enlace éster de los acilglicéridos que es

susceptible a la hidrólisis química y enzimática, los AGI son sensibles a reacciones de oxidación. Los AGI que más se afectan son de origen marino, seguidos por los aceites vegetales y finalmente por las grasas animales. (Bazzano, L. 2002).

2.2.1. Rancidez Hidrolítica

Este deterioro se produce en grasas y aceites que contienen ácidos grasos de cadena corta. Es común en aceitunas, leche, crema, mantequilla y nueces, producida por acción enzimática (lipasas) o por calentamiento en presencia de agua dando como resultado la ruptura del enlace éster de los triacilglicéridos liberando a los ácidos grasos que lo conformaban, esta reacción da como resultado la rancidez hidrolítica que genera los aromas característicos de la leche (Figura 1). La fuente de origen de las lipasas puede ser el propio alimento, como en el caso de la leche, o bien una contaminación, por levaduras, hongos y bacterias. La hidrólisis de los triacilglicéridos produce ácidos grasos de cadena corta que confieren olores desagradables en los alimentos, y la formación de acroleína. (Chin, 2002).

2.2.2. Rancidez Oxidativa.

El origen de esta oxidación es la acción directa del oxígeno sobre los dobles enlaces de los AGI, con la consecuente producción de hidroperóxidos. La acción enzimática de lipoxigenasa y del alcohol deshidrogenasa es una reacción química provocada por un agente oxidante, como el oxígeno, el cual ataca a los ácidos grasos insaturados en sus dobles enlaces produciendo compuestos como aldehídos y compuestos con dobles enlaces. Existen varios factores que propician y aceleran la reacción de oxidación, tales como la luz, concentración de oxígeno, tipo de ácido graso en especial en lo referente a la cantidad de insaturaciones o la presencia de metales que actúen como catalizadores de la reacción. (Chacón de León, 2004).

Se han utilizado una serie de métodos que permiten analizar diversos

intermediarios o productos de oxidación, entre los que se encuentran principalmente los métodos químicos clásicos como el índice de peróxido, índice de yodo, índice de *p*-anisidina, ácido tiobarbiturico y el índice de acidez (Mathews, C.V. 2002).

Métodos físicos como la cromatografía de gases para determinar la composición de los ácidos grasos presentes, antes y después de someter al lípido a condiciones de deterioro. Igualmente, la determinación del contenido de productos secundarios de oxidación concretos, como aldehídos volátiles, son buenos indicadores del grado de oxidación de las grasas (Delgado, D. 2005).

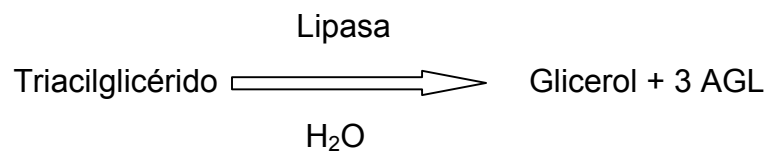


Figura 1. Representación química de rancidez hidrolítica.

Fuente: Allen, J. (1992). Lipid Oxidation in food. Pp. 14 – 23.

USA: American Chemical Society.

2.2.2.1. Auto – Oxidación.

La auto-oxidación se presenta en lípidos con alto contenido de ácidos grasos insaturados, es el deterioro más común de las grasas utilizadas en la industria de los alimentos. Esquema elemental de reacción en cadena por radicales libres (periodo de inducción), y posterior aumento exponencial de la velocidad de reacción. Los compuestos resultantes de los tratamientos térmicos oxidativos de las grasas son muy tóxicos para el ser humano, comparado con otro tipo de compuestos tóxicos en los alimentos. (Chase, 1994).

Existen ciertos métodos para proteger a los aceites de la oxidación:

- 1.- Hidrogenación
- 2.- Eliminación del aire
- 3.- Protección de la luz
- 4.- Aditivos
 - Antioxidantes sintéticos
 - Antioxidantes naturales.

La hidrogenación reduce el grado de insaturación y por lo tanto la velocidad de oxidación, incrementándose la estabilidad del sabor en el producto.

Modifica las características físicas, especialmente el comportamiento de fusión y cristalización del aceite. La auto-oxidación requiere de catálisis como la luz, ciertos metales, oxígeno singulete y pigmentos vegetales y animales (Tabla 1) (Badui, 2006).

Mecanismo de oxidación:

- 1.- Reacciones de iniciación:

Dan lugar a la formación de radicales libres a partir de ácidos grasos insaturados.

2.- Reacciones de propagación:

Se caracterizan por una cierta acumulación de peróxidos lipídicos. Se crean tantos radicales libres como se consumen. Es la etapa de oxidación de los ácidos grasos insaturados.

3.- Reacciones de terminación:

Los radicales libres provenientes de la descomposición de hidroperóxidos, se asocian para formar productos no radicales (aldehídos de bajo peso molecular) (Figura 2).

Tabla 1. Factores que influyen en la oxidación de lípidos.

ACELERADA POR:	INHIBIDA POR:
Peróxidos de otras grasas rancias	Escaldado
Lipoxidasas	Antioxidantes
Luz UV	Envases opacos
Alta temperatura	Refrigeración
Metales (Cu, Fe, etc.)	Secuestrantes de iones
Radiaciones ionizantes	Exclusión de oxígeno
Catalizadores orgánicos de hierro (Hb, etc.)	Secuestrantes de iones metálicos

Fuente: Allen, J. (1992). Lipid Oxidation in food. Pp. 14 – 23. USA: American Chemical Society.

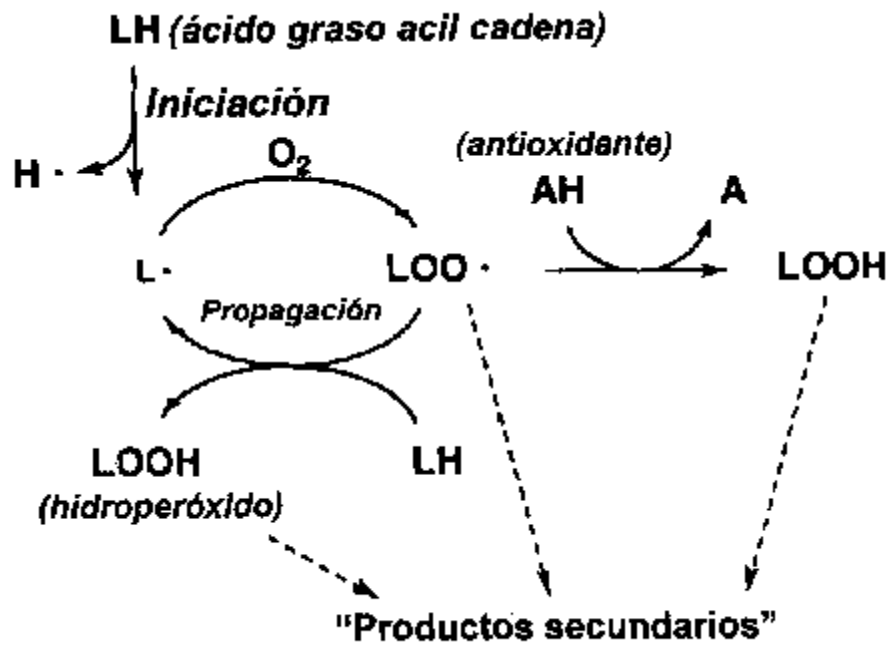


Figura 2. Representación auto – oxidativa.

Fuente: Allen, J. 1992.

2.2.2.2. Foto-Oxidación.

La foto – oxidación se da por pigmentos naturales, se han propuestos dos posibles mecanismos depende de la estructura de sensibilizador y ácidos grasos a ser oxidados. En reacciones de oxidación inducidas por la luz los procesos de oxidación más comunes son la pérdida de uno o más electrones de una especie química como resultado de la foto excitación de esa especie. (Cornelli, 2009).

En alimentos, algunas sustancias pueden actuar como foto-sensibilizadoras para producir O₂.

- Clorofila
- Feofitina
- Riboflavina
- Mioglobina
- Hemoglobina

2.3. Evaluación de la Estabilidad Oxidativa de los Lípidos

La estabilidad oxidativa es una prueba predictiva que evalúa la resistencia de las grasas y los aceites a reacciones de oxidación y da indicación de su vida de anaquel, dependiendo de las condiciones de manejo, almacenamientos y procesamiento. La estabilidad oxidativa es un indicador importante en el desempeño y la vida de anaquel de la grasa. Depende de la composición de la muestra y de las condiciones a las que está sujeta (Badui, S. 2006).

La exposición al aire libre, altas temperaturas, a la luz, trazas de metales (hierro y cobre) y la humedad refuerzan la oxidación (Lee J. y col., 2004, Naz S. y col., 2004 – 2005). Igualmente, la composición de la grasa, contenido de ácidos grasos insaturados, número y posición de los dobles enlaces, tipo de isomería (*cis*- y *trans*-) (Delgado, D. 2005), y el contenido de antioxidantes (Badui, S. 2006) influyen en el proceso de oxidación.

La estabilidad oxidativa, se define como la resistencia a la oxidación bajo condiciones establecidas y se expresa como el periodo de tiempo necesario para alcanzar un punto final, el cual es seleccionado conforme a diferentes criterios, por ejemplo, el desarrollo de la rancidez, pero usualmente corresponde a un inesperado incremento en la reacción de oxidación (Delgado, D. 2005). Como la oxidación normalmente procede lentamente hasta que ese punto se alcance, este es conocido como periodo de inducción. (Mathews, 2002).

El cual se determina, midiendo un parámetro físico (conductividad eléctrica) o químico con el tiempo a través de un calentamiento de la muestra a temperatura constante. Dicho parámetro relaciona el grado de oxidación de la misma y puede usarse para evaluar, el momento en el cual la grasa llega a un nivel de oxidación adecuado para el consumo humano (Badui, 2006).

2.3.1. Oxidación por luz

Los átomos de carbono de los ácidos grasos polinsaturados situados al lado de un doble enlace, en presencia de luz y oxígeno atmosférico son víctimas de un proceso de oxidación por radicales libres que lleva consigo un conjunto de reacciones que se inician por la adición del oxígeno atmosférico a un ácido graso y que posteriormente llevan a la formación de compuestos volátiles, como aldehídos, que confieren al aceite malos olores y sabores. El final de este tipo de reacciones se produce con la formación de compuestos poliméricos perjudiciales o la intervención de algún antioxidante liposoluble. La luz actúa como catalizador de las reacciones de oxidación de las grasas por medio de radicales libres. Para conservar las propiedades de una grasa debe mantenerse totalmente protegida de la luz. (Mathews, 2002).

2.3.2. Oxidación Acelerada por Metales

La acción de los iones metálicos no implica ninguna reacción química. La importancia del ataque depende de la solubilidad del metal sólido atacado en el

metal líquido y del grado de la disolución.

La oxidación de los metales se puede dar de dos formas:

1.- Oxidación química:

Se da cuando un metal se combina con el oxígeno, por lo tanto, hay una pérdida de electrones, transformándose en un óxido.

2.- Oxidación electroquímica:

Se produce por la aparición de una pila electroquímica, en la cual el metal actúa como ánodo y se disuelve. (Badui, 2006).

2.3.3. Pruebas a Temperatura Ambiente

Estas pruebas se realizan de manera similar a la prueba de Schaal, excepto en que el almacenamiento es a temperatura ambiente. Las pruebas deben llevarse a cabo durante un largo periodo de tiempo debido a la lentitud del proceso de oxidación, consecuentemente son muy costosas y necesitan mucho tiempo (Simopoulus, A.P. 2002).

2.3.4. Pruebas a Temperaturas Altas

Algunos metales expuestos a gases oxidantes en condiciones de muy altas temperaturas, pueden reaccionar directamente con ellos, sin la necesaria presencia de un electrolito. También se le llama empañamiento y puede incluir otros tipos de corrosión como la oxidación, la sulfatación y la carbonización. (Chin, 2002).

2.3.5. Métodos de la Ganancia en Peso

Consiste en determinar la cantidad proporcionada de un elemento, radical o

compuesto presente en una muestra, eliminando todas las sustancias que interfieren y convirtiendo el constituyente o componente deseado en un compuesto de composición definida, que sea susceptible de pesarse. Los cálculos se realizan con base en los pesos atómicos y moleculares, y se fundamentan en una constancia en la composición de sustancias puras y en las relaciones ponderales de las reacciones químicas. (Egan, 1991).

2.3.6. Prueba de Schaal

Esta prueba es conocida como la prueba del horno, la cual involucra el calentamiento de la muestra (50-60°C), hasta que se presentan olores y sabores a rancio. La evaluación del punto final se basa en el valor de peróxidos (VP), dienos conjugados o valor de carbonilo (Frankel, 1998). Los resultados de esta prueba son los que mejor se relacionan con la vida media de un aceite, ya que el punto final de la prueba representa valores bajos de la oxidación. La determinación de valor de peróxidos (VP), dienos conjugados o valor de carbonilo de los aceites son más significativos con aceites calentados a 60°C o por debajo de esta temperatura, ya que a 100°C o temperaturas más altas, los resultados de las determinaciones son cuestionables y difíciles de interpretar por que los hidroperóxidos se descomponen térmicamente y los productos de la degradación se forman en cantidades significativas (Frankel, 1998).

2.3.7. Métodos del Oxígeno Activo (AOM) y Rancimat

El método de oxígeno activo (AOM) se basa en medir el tiempo de viraje que necesita un indicador de pH, el verde de bromo cresol Merck, al hacerle llegar, por arrastre con una corriente de aire a velocidad constante y a 100 °C, los ácidos grasos volátiles se forman por hidrólisis de los peróxidos de la grasa rancia. Cuantas más horas demore en virar el indicador, mayor será entonces la resistencia del líquido a la oxidación y a la rancidez. (Farías, 2014).

El Rancimat es un método de medida de estabilidad oxidativa de aceites y grasas en condiciones aceleradas, basado en la inducción de la oxidación de la muestra por exposición a elevadas temperaturas y flujo de aire. De esta manera permite estimar el tiempo de inducción o tiempo de estabilidad oxidativa, siendo este el momento a partir del cual la muestra ha superado el tiempo en el que permanece estable, y siendo por tanto indicativo de una pérdida de calidad y vida útil de la muestra. El método Rancimat es por tanto una herramienta fundamental en la valoración tecnológica y de garantía de seguridad de aceites y grasas; permitiendo además la evaluación y optimización de estrategias de estabilización de aceites y grasas mediante compuestos antioxidantes. (Chacón de León, 2004).

2.4. Importancia de los Antioxidantes

Los antioxidantes son sustancias naturales o artificiales, capaces de neutralizar aquellos productos oxidados de nuestro cuerpo que el organismo no requiere y pueden ser tóxicos, impide la oxidación de otra, entendiéndose por oxidación no solo el ataque del oxígeno a una sustancia sino, más bien una reacción química por la cual se transfieren electrones desde una sustancia donante de electrones a otra susceptible de aceptarlos. La oxidación es por tanto, una pérdida de electrones y tiene que ir acoplada a una reducción o aceptación de los electrones cedidos. (Chase, 1994).

Los antioxidantes de los alimentos son esenciales para mantener el estado oxidativo normal de un individuo, así mismo, son nutrientes que se encargan de neutralizar el exceso de radicales libres, liberando electrones en la sangre para que sean captados por los radicales libres y se vuelvan moléculas estables. (Farías, 2014).

Los radicales libres juegan un papel importante en los sistemas biológicos, como por ejemplo la destrucción de las bacterias por las células fagocíticas como los granulocitos y los macrófagos y también están implicados en la transmisión intracelular de señales. Pero, adicionalmente, son la causa de muchas reacciones indeseables como la alteración del ADN produciendo mutaciones que a su vez

causan el cáncer, o el desarrollo de las placas de ateroma que producen la arteriosclerosis. Los radicales libres presentes en el humo de tabaco son la causa de la inactivación de la α -1-antitripsina pulmonar con el desarrollo del enfisema pulmonar. Una de las teorías más aceptadas sobre el envejecimiento es la que atribuye la degeneración de los órganos y tejidos asociada a la edad a un daño continuo producido por los radicales libres (Allen, 1992).

Entre los antioxidantes más poderosos a nivel mundial se encuentran el Fitoplancton marino y el ácido alfa lipóico, este último con gran impacto en las personas diabéticas. Al consumir antioxidantes el cuerpo humano está completo y perfectamente nutrido, somos promotores de nuestra propia restauración biológica, practicar la nutrición celular, omitir el paso hepático, luchar contra la vejez, proteger nuestro corazón, vasos sanguíneos y cerebro, lograr un estado óptimo en nuestro sistema inmunológico, y por supuesto tener un sistema metabólico con grandes expectativas (Tabla 2) (Allen, 1992).

Los antioxidantes son fuente de juventud, por lo tanto, retardan el envejecimiento. Si bien es cierto que los Antioxidantes no cumplen el papel común de aporte de energía, sino que son componentes de alimentos con un valor agregado para la salud al neutralizar el efecto del oxígeno en el organismo, cualquier persona puede ingerir Antioxidantes por medio de la comida, aunque en ocasiones son necesarios los suplementos dietarios (Figura 3) (Allen, 1992).

2.4.1. Mecanismo de Acción de los Antioxidantes

El mecanismo de acción de los antioxidantes contribuye a la acción beneficiosa que desarrollan a nivel celular como lo son estabilización de la membrana celular, protegiéndolas del daño de los radicales libres, protección de las células pulmonares del daño oxidativo producido por la contaminación del aire, prevención del cáncer, que inducen los radicales libres, prevención de la formación de placas en las arterias, protección general de la integridad de los tejidos. Sin embargo, no todos los efectos de los antioxidantes son beneficiosos y un exceso en el aporte de los mismos puede ser contraproducente. Por ejemplo, un exceso de ácido

ascórbico puede producir cálculos renales y el tocoferol puede producir ictus en pacientes propensos (Farías, 2014).

Tabla 2. Principales especies de radicales libres y no radicales

Radicales libres		Especies reactivas no-radicales	
Superóxido	$O_2 \cdot$	Peróxido de hidrógeno	H_2O_2
Hidroxilo	$HO \cdot$	Hidroperóxidos	$ROOH$
Alcoxi	$RO \cdot$	Hipoclorito	$ClO \cdot$
Peroxi	$ROO \cdot$	Oxígeno singulete	1O_3
Carbonato	$CO_3^{-2} \cdot$	Ozono	O_3
Óxido nítrico	$NO \cdot$	Peroxinitrito	$ONOO \cdot$
Dióxido nítrico	$NO_2 \cdot$		

Fuente: Delgado, D. 2005.

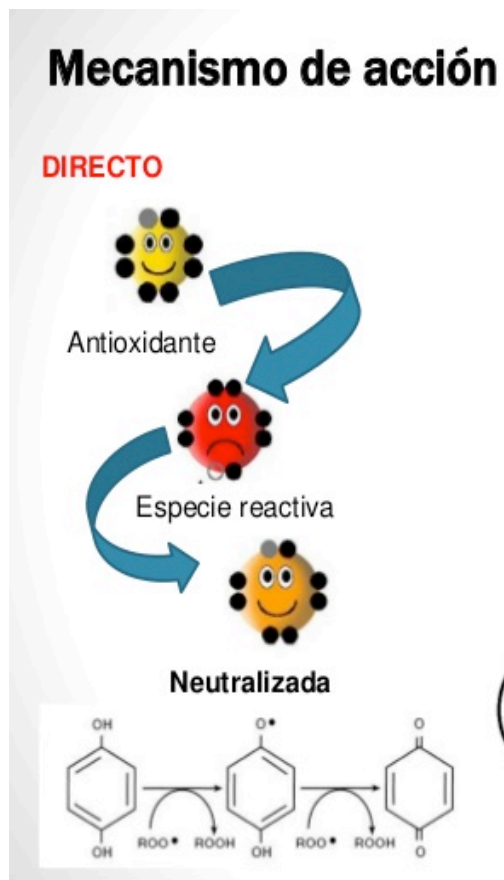


Figura 3. Mecanismo de acción antioxidante – radicales libres.

Fuente: González, F. 1991.

Interacción directa con especies reactivas: El mecanismo más conocido, aunque no necesariamente el más relevante a la acción, se refiere a la capacidad que tienen muchos antioxidantes para actuar como “estabilizadores o apagadores de diversas especies reactivas”. Esto último supone la conocida actividad “scavenger” de radicales libres que tienen muchas moléculas antioxidantes. En el caso de los radicales libres, tal acción implica su estabilización a través de la cesión de un electrón a dichas especies reactivas. Tal mecanismo, definido como “SET” (single electron transfer), permite que el radical libre pierda su condición por “pareamiento” de su electrón desapareado. Una consecuencia para el antioxidante es que, como resultado de ceder un electrón, éste se convierte en un radical libre y termina oxidándose bajo una forma que es de baja o nula reactividad hacia su entorno. Junto al mecanismo SET, muchos antioxidantes pueden estabilizar radicales libres a través de un mecanismo que implica la transferencia directa de un átomo de hidrógeno (esto es un electrón con su protón). Tal mecanismo es definido como “HAT” (hydrogen atom transfer) (Figura 4). En este último caso, el radical libre también queda estabilizado electrónicamente. (Bazzano, 2002).

Los antioxidantes cuya acción es promovida a través de mecanismos SET y/o HAT son mayoritariamente los antioxidantes no-enzimáticos, sean estos normalmente bio-sintetizados por el organismo humano, o bien que ingresen al organismo a través de la dieta. La mayor parte de los antioxidantes que actúan a través de estos mecanismos presentan en su estructura química, como grupos funcionales, hidroxilos fenólicos (ejemplo, todos los polifenoles y los tocoferoles). No obstante, otros antioxidantes, no fenólicos, como el glutatión, la melatonina, y los ácidos ascórbicos, dihidro-lipóico y úrico, son también ejemplos de moléculas cuya acción es promovida por mecanismos SET y/o HAT (Vázquez, C., 2000). Junto a los mecanismos SET y HAT, ciertos antioxidantes pueden actuar también estabilizando especies reactivas a través de un mecanismo que implica “la adición directa del radical a su estructura”. Ejemplo de este tipo de acción antioxidante es la promovida por carotenos como beta-caroteno. Como resultado de tal reacción, el radical libre (ej. peroxilo) pierde su condición, y el caroteno es modificado covalentemente, convirtiéndose en un radical libre que a través de reacciones

sucesivas es oxidado y convertido en derivados epóxido y carbonilos de notablemente menor reactividad (Vázquez, 2000). Como es de esperar, la interacción directa entre un antioxidante y una especie reactiva prevendrá ya sea el inicio y/o la propagación de procesos oxidativos que afectan a los sustratos biológicos (Farías, 2014)



Figura 4. Mecanismo HAT – SET.

Fuente: Allen, J. 1992.

Prevención de la formación enzimática de especies reactivas: Algunos antioxidantes pueden actuar previniendo la formación de ROS y RNS. Lo hacen inhibiendo, ya sea la expresión, la síntesis o la actividad de enzimas pro-oxidantes involucradas en la generación de especies reactivas, como la NADPH-oxidasa (NOX), la xantina-oxidasa (XO), la mieloperoxidasa (MPO) y la óxido nítrico sintetasa (NOS). Este tipo de acción antioxidante no demanda que un antioxidante exhiba en su estructura características que típicamente se asocian a los mecanismos de acción ET o HAT. Ejemplos de inhibidores de la actividad de estas enzimas son, para compuestos provenientes de la dieta, ciertos poli fenoles capaces de inhibir la NOX, la MPO y la XO, y algunos agentes empleados en la terapia de la gota, como alopurinol, y febuxostat que inhiben la xantina oxidasa (Mathews, C.V. 2002)

Prevención de la formación de especies reactivas dependiente de metales: Un segundo mecanismo que también implica la inhibición de la formación de especies reactivas se relaciona con contraponer la capacidad que tienen ciertos metales de transición, como hierro y cobre (ambos en su estado reducido), para catalizar (actividad redox) la formación de radicales superóxido a partir de la reducción de oxígeno y de radicales hidroxilos, a partir de peróxido de hidrógeno (Reacción de Fenton). Aquellas moléculas que tienen la habilidad de unir tales metales, formando complejos o quelatos, logran inhibir la actividad redox de éstos, previniendo la formación de las especies reactivas anteriormente mencionadas. Se incluyen en este grupo de antioxidantes: ciertos péptidos y proteínas normalmente bio-sintetizadas por el organismo y cuya función fisiológica les implica transportar, almacenar y/o excretar hierro (como ferritina) o cobre (como metalotioneína y ceruloplasmina), ciertos polifenoles que acceden al organismo a través de la dieta y cuya característica distintiva es presentar en su estructura flavonoides un grupo catecol en el anillo B, y algunos agentes que son empleados en la terapia de remoción de metales como desferroxamina que atrapa hierro, y penicilamina o tetratiomolibdato que atrapan cobre (Delgado, D. 2005).

Activación o inducción de la actividad de enzimas antioxidantes:

Como parte de la defensa antioxidante, el organismo humano bio-sintetiza ciertas enzimas cuya función es remover especies reactivas, principalmente ROS. Entre las que destaca el superóxido dismutasa (SOD, en sus isoformas Cu/Zn y Mn-dependientes) que reduce radicales superóxido a peróxido de hidrógeno, catalasa (CAT, hierro-dependiente) que reduce peróxido de hidrógeno a agua, glutatión peroxidasa (GSpx; Se-dependiente) que reduce lipo-hidroperóxidos a sus alcoholes correspondientes, glutatión-S-transferasa (GST) en su tipo peroxidasa que actúa reduciendo peróxidos orgánicos, glutatión reductasa que reduce glutatión oxidado (GSSG) a reducido (GSH), y sulfoxi-metionina-reductasa que regenera metionina a partir de su metabolito sulfoxi-oxidado (Tabla 3) (Simopoulos, A.P. 2002).

La acción antioxidante de todas estas enzimas se traduce en una disminución del estado redox celular. Entre las enzimas mencionadas, dos casos ameritan un comentario adicional. El primero, la SOD se distingue pues si bien su acción remueve un radical libre (superóxido), como producto de su acción se forma una especie que también es reactiva, peróxido de hidrógeno. Esto último pone de manifiesto la importancia que tiene otras enzimas capaces de remover peróxido de hidrógeno, como son la CAT y la GSpx. La segunda enzima que amerita comentario es la glutatión reductasa pues su acción antioxidante es doble ya que ésta cataliza no solo la remoción de un ROS sino que además, como resultado de ello, da lugar a la formación de GSH, un importante antioxidante celular. Existe evidencia de que ciertos compuestos presentes en la dieta humana podrían inducir la expresión de genes que codifican para la síntesis de algunas de las enzimas antioxidantes como las descritas en la Tabla 3. Ejemplos de dichos compuestos son algunos polifenoles presentes en frutas y hortalizas, diversos isotiocianatos (como sulforafano) presentes en crucíferas (brócoli, coliflor) y algunos curcuminoides (como curcumina) de la cúrcuma. Estos compuestos son conocidos como inductores de enzimas bio-transformantes del tipo fase II, es decir aquellas enzimas que conjugan xenobióticos electrófilos. (Cornelli, 2009).

Tabla 3. Enzimas involucradas en la remoción de ROS y productos de oxidación.

Superóxido dismutasa	$O_2 \cdot^- \longrightarrow H_2O_2$
Catalasa	$H_2O_2 \longrightarrow H_2O$
Glutación peroxidasa	$LOOH \longrightarrow LOH$
Glutación s-transferasa	$ROOH \longrightarrow ROH$
Glutación reductasa	$GSSG \longrightarrow GSH$
Metionin-SO ₂ reductasa	$Met-SO_2 \longrightarrow Met$

Fuente: Vázquez, C.. (2000). Alimentación y nutrición – manual teórico y práctico. 2da edición. México.

2.5. Antioxidantes Sintéticos

En el área de alimentos, el mercado ofrece una variedad de antioxidantes sintéticos y naturales con distintas eficiencias. El uso de antioxidantes, no solo permite mantener la calidad normal del producto, sino también extender su vida útil. Se han utilizado muchas sustancias con este fin como lo son BHT, BHA, TBHQ, galatos, etc. BHA y BHT son dos de los antioxidantes sintéticos con mayor efectividad para el control de la oxidación en la grasa animal (Delgado, D. 2005).

A pesar de que los antioxidantes naturales poseen la función principal de asegurar la calidad de los alimentos, los antioxidantes sintéticos conservan ventajas que los distinguen (Badui, 2006).

Todos estos en la actualidad son utilizados en la industria alimentaria como antioxidantes lipídicos. Hoy en día siendo muy cuestionado su uso, dado que publicaciones y estudios clínicos han demostrado que algunos de ellos ocasionan efectos nocivos para animales de experimentación, como lo son los roedores.

Sumado a esto, los consumidores a nivel mundial han provocado una tendencia a consumir alimentos naturales y a eliminar de la dieta todos aquellos productos que no posean estas características de origen (Mathews, 2002)

2.5.1. *Ter-butilhidroquinona (TBHQ)*

El *ter*-butil Hidroquinona (TBHQ), también conocido como el antioxidante E-319, es considerado como el mejor antioxidante sintético para las aplicaciones de fritura (Figura 5). Junto con otros antioxidantes como el Butil Hidroxi Anisol (BHA), Butil Hidroxi Tolueno (BHT) y éster Propílico del ácido Gálico o Propil Galato (PG), tiene la capacidad de retardar o prevenir la oxidación de moléculas, es decir, reacciona químicamente al transferir los electrones de una sustancia a un agente oxidante. Esto prolonga la vida del alimento retardando la rancidez o color (Badui, S. 2006).

El TBHQ es un sólido blanco o marrón rojizo, cristalino y muy poco soluble en agua (aproximadamente 5% a 100°C), se disuelve en etanol al 100%, ácido acético, acetato de etilo, éter, aceite vegetal y grasas animales. Es un componente

orgánico aromático y tiene la ventaja de que no forma un complejo con el hierro y el cobre porque no requiere especial presencia de agentes quelantes en el medio para impedir complejos coloreados. También se le conoce como 2-(1,1-dimetiletil)-1, 4-benzenodiol, mono-t-butilhiroquinona o Tenox; su masa molecular es de 295 y su fórmula es $(\text{CH}_3)_3\text{CC}_6\text{H}_3(\text{OH})_2$ (Vázquez, C., 2000).

El TBHQ ha sido empelado como un poderoso antioxidante fenólico, especialmente de aceites vegetales poliinsaturados, grasas animales y alimentos que contengan grasas. No causa decoloración ni en presencia de hierro y cobre además de que no modifica el sabor, color u olor de la materia sobre la que actúa (Delgado, D. 2005).

Es un ingrediente común en alimentos procesados de todo tipo, pero también se puede encontrar en barnices, lacas, pesticidas, así como cosméticos y perfumes para reducir la tasa de evaporación y mejorar la estabilidad. De igual manera es más efectivo en los aceites vegetales que el BHA o BHT (Cornelli, 2009).

(Chacón de León, 2004) demostró que el TBHQ es el antioxidante más estable en cuatro aceites vegetales: oleína de palma, aceite de soya, aceite de algodón y aceite de girasol por muy arriba de la capacidad del BHA y BHT, todo en gran parte por su resistencia a las altas temperaturas. Estudios como éste han permitido argumentar la utilidad del TBHQ para la industria.

El TBHQ está permitido para usarse principalmente en alimentos con lípidos en su composición, aceites vegetales, bebidas no alcohólicas, margarina, manteca, crema de nuez o cacahuate, cereales secos, carne de cerdo fresca, salsas de carne, carne de res prefrita o seca, derivados del cacao, pizzas procesadas, grasas animales, alimentos para mascotas e incluso goma de mascar (Delgado, D. 2005).

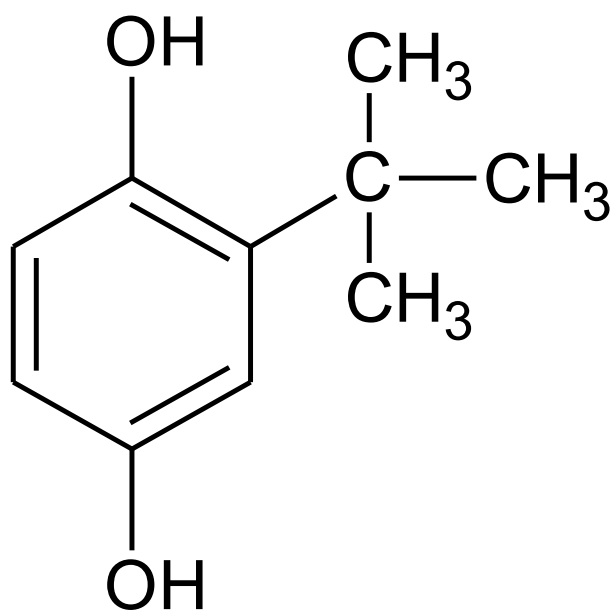


Figura 5. Fórmula de ter-butilhidroquinona (TBHQ)

Fuente: Farías, V.M. 2014.

Allen (1992) encontró que ratas que consumieron 5.7 mg/kg de peso de TBHQ durante 17 días mostraron restos de éste en hígado, riñones, cerebro y grasa de aproximadamente 15%. El mismo autor evaluó las cantidades de TBHQ excretadas en orina de humanos después de un consumo de 125 y 100 mg, encontrando en promedio 34 y 8 mg de TBHQ por litro 3 horas después de su consumo, respectivamente. Más tarde, hallaron que ratas que consumieron más de 400 mg/kg de TBHQ manifestaron ataxia (descoordinación en el movimiento) y que únicamente 66% del TBHQ fue excretado por orina. Lo anterior indica que el TBHQ, como posiblemente cualquier otro aditivo, no es 100% excretado después de consumirse.

A partir de estas y muchas más evidencias se determinó que dosis de 1 a 4 g pueden llegar a generar síntomas como náuseas, vómitos, zumbidos de oídos, sofocación, delirio, asfixia y colapso; mientras que posiblemente en niños puede causar inquietud, ansiedad y agravamiento de los síntomas del síndrome del espectro autista (Vázquez, 2000).

El TBHQ ha demostrado ser uno de los mejores antioxidantes sintéticos y su constante presencia en las listas de ingredientes de alimentos procesados es la evidencia de su vasta utilización. La alimentación moderna incluye muchas grasas procesadas, por lo que el consumo de antioxidantes es igualmente elevado. El TBHQ está permitido por la FDA, el USDA y el Codex Alimentarius y, en consecuencia, en México. Sin embargo, no es así en Europa y Japón, hecho que debe invitar a la reflexión, ya que son muchas las evidencias que respaldan el daño potencial del TBHQ. Un alimento por sí solo puede proveer al cuerpo una cantidad permitida de TBHQ; no obstante, dado el contexto de vida actual, una persona podría acumular cantidades de este antioxidante e incluso sobrepasar el consumo recomendado por la combinación de varios alimentos con este componente (Simopoulus, 2002).

Aunque en humanos los efectos nocivos del TBHQ no han sido comprobados a largo plazo, en animales de laboratorio sí hay evidencias de toxicidad y mutaciones a nivel celular que van desde la formación de células cancerosas hasta mutaciones en el ADN de bacterias, por lo que se debe suponer que existe

el riesgo de toxicidad al consumir a largo plazo productos que contengan como aditivo el TBHQ (Allen, 1992).

El hecho de que el TBHQ sea el mejor antioxidante sintético no lo convierte en el más conveniente para la salud. Por tanto, la recomendación es evitar en la medida de lo posible el consumo de alimentos procesados y elegir los que contienen antioxidantes naturales, además de revisar las fechas de caducidad. Con esta revisión se pretende contribuir a la promoción de la investigación en México sobre los efectos de los antioxidantes sintéticos en la salud y tomar medidas más serias para legislar el uso de aditivos que pueden representar daños, para así preservar la seguridad alimentaria y nutricional (Delgado, D. 2005).

2.5.2. Butilhidroxianisol (BHA)

Este antioxidante sintético tiene poca eficiencia en aceites vegetales, pero mayor eficiencia en grasas animales y panificación, alta solubilidad en grasas y aceites, insoluble en agua. Comercialmente disponible como una mezcla de dos isómeros (Figura 6).

Ambos son muy solubles en las grasas y exhiben escasa actividad antioxidante en los aceites vegetales, especialmente en los que son ricos en antioxidantes naturales o en los refinados (Badui, 2006).

El E320 o hidroxianisol butilada (BHA) es un aditivo que se acumula en la grasa corporal. Se sabe que causa cáncer en animales y distorsiona el balance hormonal. Los estudios de laboratorio han mostrado que el BHA causa cáncer y resulta en el efecto de detrimento reproductivo en ratas. Está prohibido en alimentos para infantes y niños en Australia, y ha sido prohibido en Japón desde 1958. Los comités oficiales de expertos recomendaron que sea prohibido en el Reino Unido, sin embargo, esto no ha sido así debido a la presión de la industria. (Delgado, D. 2005).

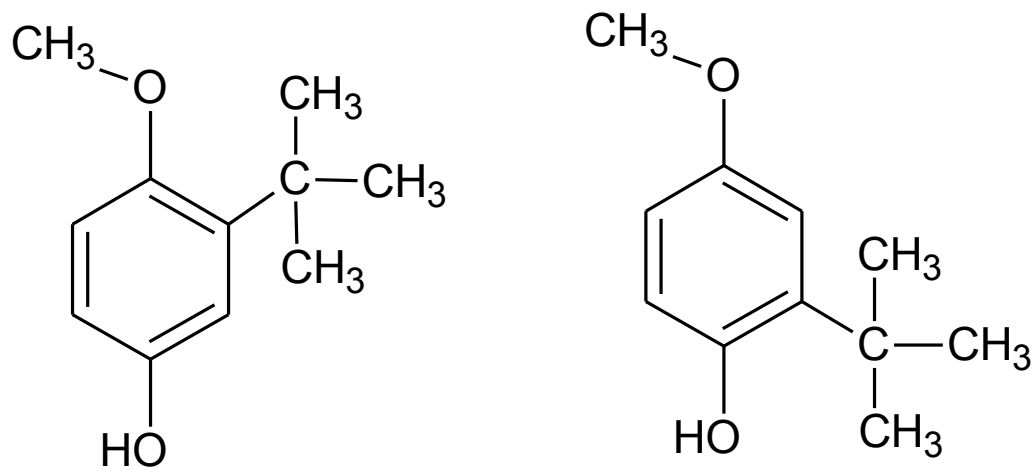


Figura 6. Forma estructural del Butilhidroxianisol (BHA).

Fuente: Romano, A.D. (2010). Oxidative stress and aging. USA: Nephrol.

2.5.3. Butilhidroxitolueno (BHT)

Es un antioxidante sintético procedente de la industria petrolera. Se utiliza prácticamente siempre mezclado con el BHA (E-320). Es capaz de modificar la acción de algunos carcinógenos (Figura 7).

Algunas de las características de este tipo de antioxidante artificial son que posee baja eficiencia en aceites vegetales, tiene alta solubilidad en aceites, es insoluble en agua y se volatiliza fácilmente (Simopoulos, 2002).

Esta sustancia no es mutagénica, pero como el BHA, es capaz de modificar la acción de ciertos carcinógenos. Se elimina en la orina combinado a otras sustancias, por una vía metabólica común a muchos otros compuestos extraños al organismo. El BHT a dosis muy altas, produce lesiones hemorrágicas en ratas y ratones, pero no en otras especies animales. Esto puede ser debido fundamentalmente a que interfiere con el metabolismo de la vitamina K, a cuya carencia son especialmente sensibles estos roedores (Farías, 2012).

El BHT, a dosis relativamente altas, afecta la reproducción en la rata, especialmente el número de crías por camada y la tasa de crecimiento durante el período de lactancia. En función de estos datos, la OMS ha rebajado recientemente la ingestión diaria admisible. Según la OMS el BHT puede producir "retrasos en el crecimiento" (Mathews, 2002).

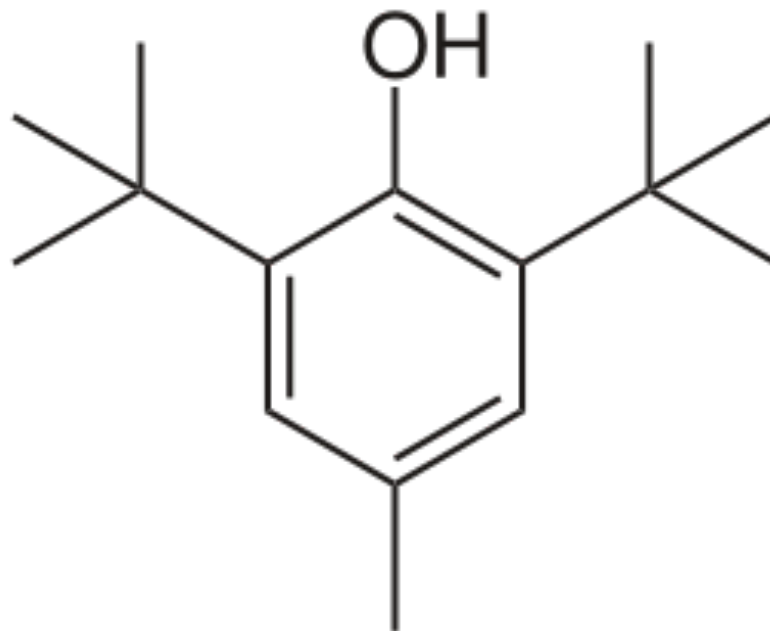


Figura 7. Estructura del Butilhidroxitolueno (BHT).

Fuente: ATSDR en Español - ToxFAQs: Tolueno Departamento de Salud y Servicios Humanos de EE. UU.

2.6 Antioxidantes Naturales

La presencia de antioxidantes naturales en los alimentos es importante, no sólo porque estos compuestos contribuyen a definir las características organolépticas y a preservar la calidad nutricional de los productos que los contienen, sino, además, porque al ser ingeridos, ayudan a preservar -en forma considerable- la salud de los individuos que los consumen. En efecto, la recomendación de aumentar la ingesta de alimentos ricos en antioxidantes naturales es, en la actualidad, considerada una de las formas más efectivas de reducir el riesgo de desarrollo de aquellas enfermedades crónicas no transmisibles que más limitan la calidad y expectativas de vida de la población mundial. (Cornelli, 2009).

Presentes en la mayoría los alimentos vegetales, los antioxidantes bloquean el efecto perjudicial de los radicales libres en el organismo. Los antioxidantes se encuentran contenidos en el olivo, ajo, arroz integral, café, coliflor, brócoli, berenjena, jengibre, perejil, cebolla, cítricos, semolina, tomates, aceite de semilla de la vid, té, romero, entre otros muchos alimentos (Vázquez, 2000).

2.6.1. Ácido Ascórbico

El ácido ascórbico o Vitamina C (Figura 8) es un compuesto hidrosoluble que cumple importantes funciones como antioxidante en el organismo. Como tal, tiene el potencial para proteger proteínas, lípidos, carbohidratos y ácidos nucleicos (ADN y ARN) contra el daño oxidativo, causado por diversos radicales libres y especies reactivas (Vázquez, 2000).

Desde el punto de vista nutricional, el ácido ascórbico es esencial en la dieta.

Se encuentra en frutas y verduras, frescas y crudas, como guayaba, kiwi, mango, piña, caqui, cítricos, melón, fresas, bayas, pimientos, tomate, brasicáceas, frutas y hortalizas en general (Parry, 2004) (Tabla 4).

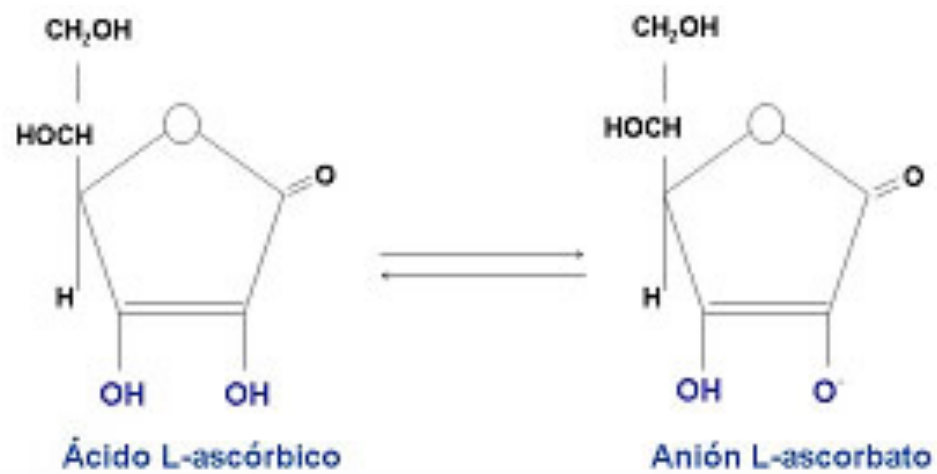


Figura 8. Estructura del ácido ascórbico y transformación.

Fuente: Badui, S. 2006.

Tabla 4. Contenido de ácido ascórbico en alimentos.

Alimentos	Porción	Vitamina C (mg)
Naranja	Fruta entera (131 g)	69.7
Pomelo blanco	Media fruta (118 g)	39.3
Pomelo rosado	Media fruta (123 g)	38.4
Frutillas fresca	1 taza (166 g)	97.6
Tomate fresco	Entero (123 g)	16.9
Brócoli cocido	1 taza (156 g)	101.2
Brócoli crudo	1 taza (88 g)	78.5
Papa cocida c/piel	Entera (136 g)	17.7

Fuente: Allen, J. 1992.

La vitamina C es necesaria para la síntesis de colágeno (un componente estructural de los vasos sanguíneos, tendones), de ligamentos, y de los huesos. También juega un rol importante en la síntesis de la noradrenalina, carnitina (necesaria para obtener energía a partir del metabolismo de los lípidos), y posiblemente en la conversión metabólica de colesterol en ácidos biliares. La deficiencia severa de vitamina C puede dar lugar al escorbuto. Las frutas y las verduras son, en general, una buena fuente de vitamina C. Si bien el contenido de ácido ascórbico en tales alimentos puede variar enormemente en función de la especie y variedad del fruto o verdura (Allen, 1992).

2.6.2. Carotenos

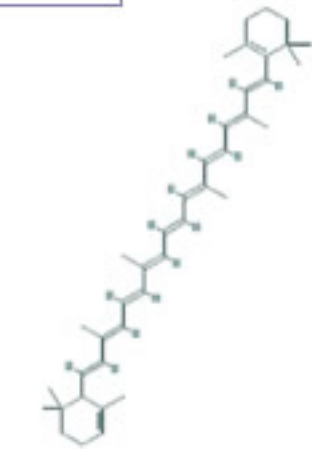
Los carotenoides son pigmentos sintetizados por las plantas, donde actúan como “quenchedores” (desactivadores) del oxígeno singlete. (Figura 9). Este último es un ROS formado durante el proceso de fotosíntesis. Si bien el oxígeno singlete tiene una importancia muy menor en el desarrollo del estrés oxidativo generado por el organismo humano, tal como se indica más abajo, la actividad antioxidante de los carotenoides no se limita a la remoción de dicho ROS (Allen, 1992).

En nuestra dieta, los carotenoides se concentran mayormente (bajo la forma de isómeros todo-trans) en frutas, verduras y cereales, confiriéndoles colores amarillo, naranja o rojo. Desde un punto de vista estructural, los carotenoides se clasifican en: carotenos, representados por el alfa-caroteno, beta-caroteno y licopeno, y en xantofilas, representadas por el beta-criptoxantina, luteína y zeaxantina. Las xantofilas son carotenoides que incluyen uno o más átomos de oxígeno en sus estructuras (Simopoulos, 2002).

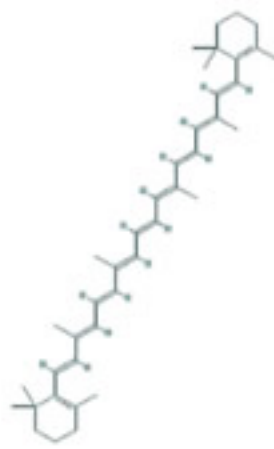
En general, los carotenoides exhiben una baja biodisponibilidad. Esto último se debería, parcialmente, a que estos compuestos se encuentran mayormente unidos a proteínas en sus matrices fito-alimentarias. Los procesos de cortado, homogenización y cocción de alimentos ricos en carotenoides generalmente incrementa su biodisponibilidad. (Egan, 1991).

(LAOX-INTA)

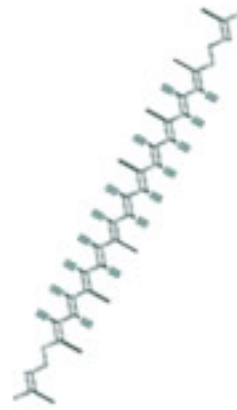
Carotenos



alfa-Caroteno

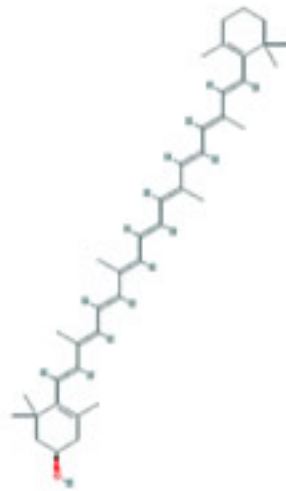


Beta-caroteno

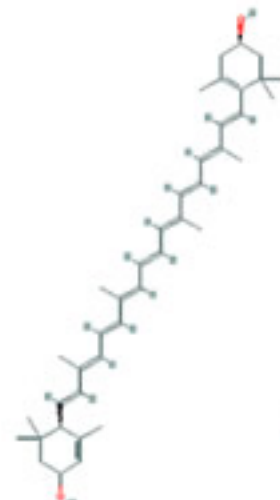


Licopeno

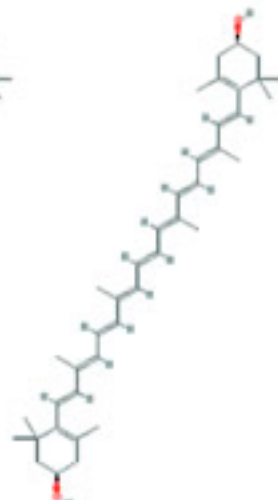
Xantófilas



Beta-criptoxantina



Luteína



Zeaxantina

Figura 9. Estructura General de los Carotenos.

Fuente: Allen, J. 1992.

Para que los carotenoides de la dieta sean absorbidos a nivel intestinal, estos deben ser antes liberados de la matriz del alimento e incorporados a miscelas mixtas (mezcla de sales biliares y varios tipos de lípidos). Por lo tanto, una cantidad mínima de grasas (3-5 g) en una comida es requerida para asegurar su eficiente absorción intestinal (Badui, 2006).

Las verduras y hortalizas de color amarillo o naranja, tales como la zanahoria y el zapallo, son una muy buena fuente de alfa y beta-caroteno. Por su parte, la espinaca es también una buena fuente de beta-caroteno, aunque la clorofila enmascara el pigmento amarillo-naranja presente en sus hojas. Posee conjuntamente las propiedades de la vitamina A y de los antioxidantes que actúan sobre los radicales libres. Recientemente se ha demostrado su papel en la prevención de las cataratas y su efecto beneficioso en procesos inflamatorios y en los relacionados con el envejecimiento (Tabla 5) (Delgado, D. 2005).

2.6.3. Compuestos Fenólicos

Los fenoles o compuestos fenólicos constituyen uno de los grandes grupos de micronutrientes presentes en el reino vegetal, siendo parte importante tanto de la dieta tanto humana como animal. Se trata de sustancias químicas considerados metabolitos secundarios de las plantas con diferentes estructuras químicas y actividad, englobando más de 8.000 compuestos distintos (Delgado, D. 2005).

Los fenoles o compuestos fenólicos se oxidan con mucha facilidad experimentando la oxidación mucho antes que otras sustancias también muy oxidables. Esto le confiere una cualidad especialmente antioxidante a fin de contrarrestar la oxidación producida por radicales libres, productos químicos, la luz, etc., por todo esto, la implicación de los compuestos fenólicos la defensa de las plantas es primordial. Algunos fenoles juegan también un papel fundamental en la tolerancia del estrés oxidativo (Mathews, 2002).

Los llamados compuestos fenólicos tradicionalmente han sido considerados como antinutrientes debido al efecto adverso de uno de sus componentes mayoritarios: los taninos, los cuales son una subdivisión de los polifenoles. Los taninos y los flavonoides son los fenoles o compuestos fenólicos que más abundan (Cornelli, 2009).

Tabla 5. Alimentos con fuentes de α -carotenos y β -carotenos.

Alfa-caroteno (mcg)		
Zapallo cocido	1 taza (245 g)	853
Naranja	1 taza (185 g)	20
Mandarina	1 (84 g)	85
Tomate	1 taza (180 g)	182
Zanahorias frescas	1 (72g)	2.503
Zanahorias cocidas	1 taza (156 g)	5.891
Beta-caroteno (mcg)		
Zanahorias frescas	1 (72 g)	5.965
Zanahorias cocidas	1 taza (156 g)	12.998
Zapallo cocido	1 taza (245 g)	5.135
Espinacas, cocidas	1 taza (180 g)	11.318
Espinacas, cruda	1 taza (30 g)	1.688
Camote horneado	1 (146 g)	16.803
Sandia	1 corte (286 g)	867

Fuente: Delgado, D. 2005.

2.6.3.1. Tocoferoles

Tocoferoles es el nombre genérico para una familia formada por 8 compuestos con actividad de vitamina E. La forma más común es el tocoferol alfa, que se suele añadir a los suplementos vitamínicos y que se utiliza también como antioxidante. Así que los tocoferoles, además de sus propiedades en cuanto a la salud, poseen actividad funcional en los alimentos protegiéndolos de la oxidación (Allen, J. 1992). Los Tocoferoles son los antioxidantes más ampliamente distribuidos en la naturaleza y los más importantes de los que naturalmente contienen los aceites vegetales. Se conocen 8 estructuras de isómeros de tocoferoles. Ejercen su eficacia máxima a concentraciones relativamente bajas, aproximadamente iguales a las que ofrecen los aceites vegetales. Si se añaden en concentraciones más altas pueden actuar como prooxidantes (Vázquez y Molina, 2012).

Se encuentran en el germen de trigo, aceite de soja, germen de cereales o cereales de grano entero, aceite de oliva, vegetales de hoja verde y frutos secos. La vitamina E, es la vitamina de la juventud y de la belleza, de gran importancia en la producción de energía. La vitamina E (α -tocoferol), necesita de las sustancias grasas para ser digerida y absorbida, se acumula fundamentalmente en el tejido adiposo, hígado y musculatura. Para la absorción de la vitamina E es necesario una correcta producción de bilis y jugos pancreáticos. La vitamina E o Tocoferol no la destruye la cocción, pero sí en cambio el aire y las grasas poliinsaturadas, las frituras, la exposición a la luz y la hidrogenación. (Cornelli, 2009).

La vitamina E o Tocoferol es el más antiguo antioxidante que protege a las células de toda agresión externa como la contaminación, pesticidas, humo del tabaco y el estrés, principal causa del envejecimiento prematuro, tiene un papel activo en los trastornos nerviosos y en la inmunidad aumentando el número de leucocitos y previniendo infecciones, mejora la circulación de la sangre, protege al corazón, disminuye el colesterol dañino, rebaja los triacilgliceroles elevados y evita la formación de coágulos, estabiliza y regula la producción de hormonas femeninas. Su consumo es beneficioso para los órganos genitales, facilita el embarazo y el parto (Gómez, 2007).

En general, en los alimentos de origen animal encontramos cantidades mínimas, no así en los aceites vegetales de primera presión en frío.

- Aceites: germen de trigo (130 – 190 ppm), soja (30 – 80 ppm), girasol (30 – 50 ppm), sésamo (35 ppm) y oliva (159 mg/L)
- Frutos secos y semillas: lino (57 ppm), avellana (28 ppm), almendra (25 ppm), girasol (22 v) y sésamo (6 v)
- Legumbres: soja (14 ppm)
- Germinados (30 – 40 ppm)

2.6.3.2. Ácidos Fenólicos

Los ácidos fenólicos son compuestos orgánicos que poseen como mínimo función carboxílica y un hidróxido fenólico, derivados del ácido benzoico y del ácido cinámico, tienen propiedades químicas o analíticas poco diferentes y un interés farmacológico limitado. Distintas categorías están compuestas de ácidos monohidroxibenzoicos (parabeno, metilparabeno, propilparabeno), ácidos dihidroxibenzoicos (ácido gentísico, ácido protocatecuico), ácidos trihidroxibenzoicos (ácido gálico, ácido floroglucínico). Este tipo de ácidos fenólicos (en particular el ácido gálico) forman parte de los taninos hidrolizables. El ácido siríngico, el ácido eudésmico y el ácido salicílico son también ácidos fenólicos (Cornelli, 2009).

El ácido fenólico puede encontrarse en muchas especies de plantas. Su presencia en frutos secos puede ser alta. Los ácidos fenólicos pueden encontrarse en especies de setas. También forma parte de las sustancias húmicas, los

constituyentes orgánicos principales del humus, también pueden encontrarse en la orina humana (Gómez, 2007).

2.6.3.3. Flavonoides

Los flavonoides, cuya estructura (difenilpropano, C₆-C₃-C₆, (Figura 10) comprende dos anillos aromáticos (A y B) que se encuentran unidos entre sí por un heterociclo formado por tres átomos de carbono y uno de oxígeno (C), para los cuales se han descrito más de cinco mil compuestos en el reino vegetal. Como se describe más adelante, a su vez, los flavonoides se subdividen en los siguientes seis grupos de compuestos: antocianidinas, flavonoles, flavanonas, flavonas e isoflavonas. Comprenden a los flavonoles, los antocianidoles y a las flavonas, colorantes naturales con acción antioxidante que constituyen el grupo más importante de la familia de los polifenoles, muy presentes en el mundo vegetal (Simopoulos, 2002).

Protegen el sistema cardiovascular y activan las enzimas glutatión peroxidasa y catalasa, antioxidantes presentes de forma natural en nuestro organismo. Están en la familia de las coles, las verduras de hoja verde, las frutas rojas y moradas y los cítricos. Según la American Cancer Society, reducen el riesgo de cáncer colorrectal (Allen, J. 1992).

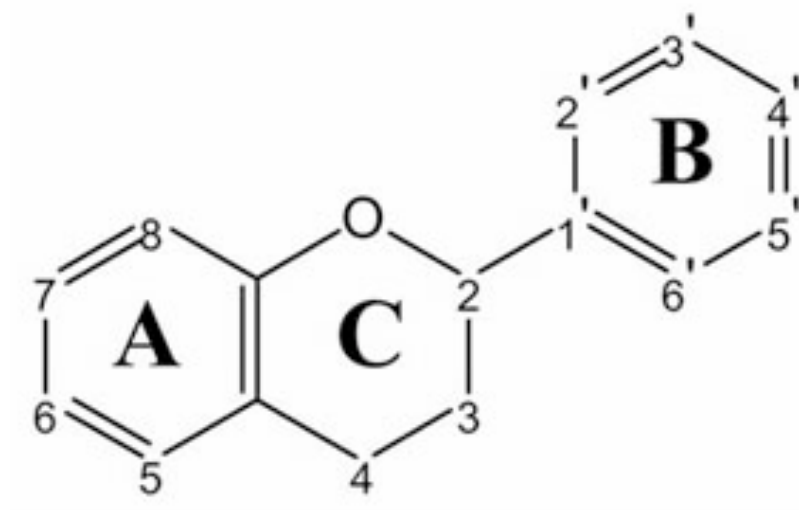


Figura 10. Estructura general de los flavonoides.

Fuente: Cornelli, U. (2009). Antioxidant use in nutraceuticals. Clinics in Dermatology Volume 27. Pages 217-224. USA: Pearson Educación

Los flavonoides son una “familia muy diversa” de 6 clases principales de compuestos fenólicos constituidos por pigmentos responsables de dar coloración a la planta, hojas, flores, o frutas. Participan activamente en la vida de la planta y el metabolismo de esta. Además, ejerce papeles protectores de insectos y de los rayos UV a la par que ejercen un papel importante como antioxidantes. Cabe mencionar enorme importancia de estos compuestos fenólicos, sobretodo de los del grupo antocianósidos (antocianidinas) que son pigmentos que confieren de color azul y rojo a las flores y que, como característica especial, son altamente solubles en agua (Badui, 2006) (Tabla 6).

Los estilbenos son hidrocarburos aromáticos de fórmula molecular $C_{14}H_{12}$ de este hidrocarburo se pueden diferenciar dos formas isómeras (Figura 11).

trans- 1,2 – difeniletileno (E- Estilbeno).

cis – 1,2 – difeniletileno (Z-estilbeno).

El *cis*-estilbeno (*Z*), puede ser convertido por fotólisis en su isómero *trans*-estilbeno (*E*) el cual posee una fluorescencia azul. El estilbeno es de color amarillo, y se encuentra en dos formas diastereoisómeras, en formas *E* y *Z*, siendo esta última la menos estable debido a impedimentos estéricos y con un punto de fusión entre 5° y 6°C, mientras que la forma *E* tiene un punto de fusión de alrededor de 125°C (Romano, 2010) (Figura 12).

Tabla 6. Principales fuentes de flavonoides en alimentos

Flavonoides / Grupo	Compuestos	Principales Fuentes Alimentarias
Antocianidinas	Cianidina, delphinidina, malvidina, pelargonidina, peonidina, petunidina.	Berries color rojo, azul y púrpura; uvas rojas y moradas; manzana roja, vino tinto.
Flavanoles	<p>Monómeros (Catequinas): catequina, epicatequina, epigallocatequina, epicatequingalato, epigallocatequingalato.</p> <p>Dímeros y polímeros: Teaflavinas, tearubiginas, proantocianidinas.</p>	<p>Catequinas: Té verde, cacao, uvas, berries, manzanas.</p> <p>Teflavinas, tearubiginas: Té negro y Oolong.</p> <p>Proantocianidinas: Cacao, manzanas, berries, uvas rojas, vino tinto.</p>
Flavanonas	Hesperetina, naringenina, eriodictiol.	Frutas cítricas y sus jugos (naranjas, pomelos, melones).
Flavonoles	Quercetina, quempferol, miricetina, isoramnetina.	Cebolla amarilla, cebollín, col rizada, brócoli, manzanas, berries, té.
Flavonas	Apigenina, luteolina.	Perejil, tomillo, apio, ají,

		orégano.
Isoflavonas	Daidzeína, genisteína, gliciteína.	Soja, alimentos de soja, leguminosas.

Fuente: Gómez, J.M. 2007.

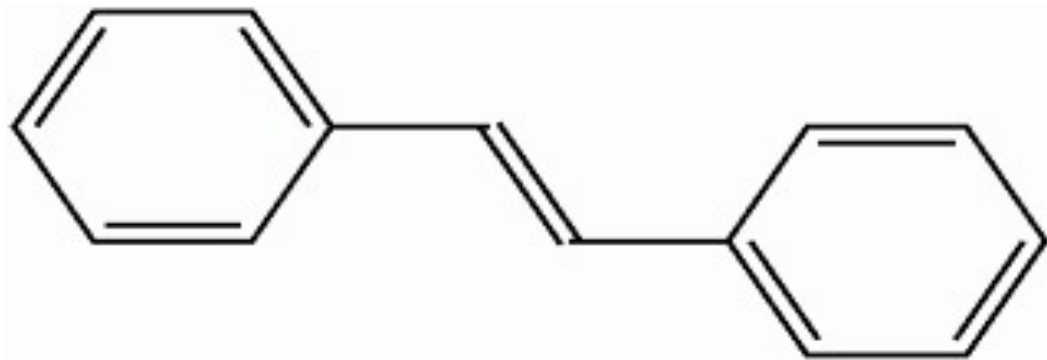


Figura 11. Estructura del Estilbeno.

Fuente: Allen, J (1992).

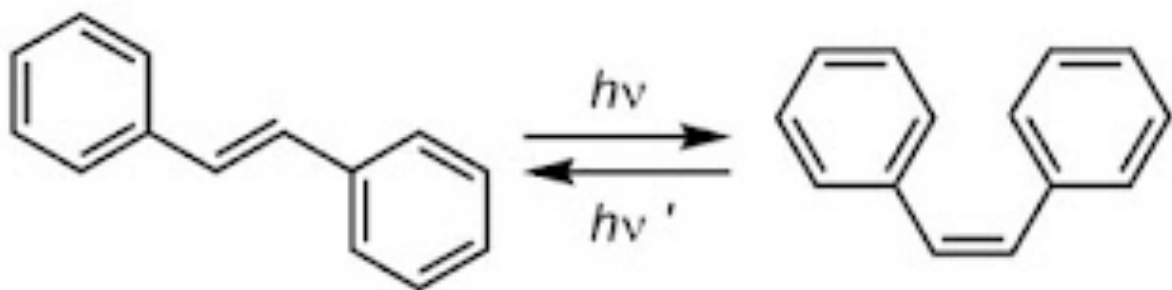


Figura 12. Fotoisomerización del estilbena dependiendo de la longitud de la onda de excitación (los productos son isómero *trans* (*E*) o *cis* (*Z*)).

Fuente: Badui, S. 2005.

2.6.3.4. Estilbenos

Con el mismo nombre de estilbenos se designan también a los derivados hidroxilo y alcoxi del estilbeno simple, así como sus formas de heterósido y polímeros. Se ha demostrado que los estilbenos permiten comprender porque algunas variedades del género *vitis* son más o menos resistentes a los ataques de hongos. Se ha demostrado que las hojas de algunas especies de *vitis* infectadas con el hongo mildiu (*Plasmopara viticola*) produce estilbenos a nivel local después de unas horas. Estas hojas sintetizan primero resveratrol en grandes cantidades, pero la cantidad de este compuesto puede variar según las variedades de vid (*vitis*). En otras palabras, los estilbenos son producidos por algunas plantas de la familia de las *vitaceae* en respuesta al ataque de algunos hongos, estas especies son altamente utilizadas para la producción de uva, la que también se usa en la producción de vino (Cornelli, 2008).

Por otro lado, los estilbenos se pueden encontrar en plantas tanto como monómeros, ya sea a la forma libre o conjugados a azúcares o como dímeros u oligómeros. El más conocido y estudiado es el resveratrol. Sus propiedades antioxidantes ayudan a la prevención y tratamiento de enfermedades oncológicas y neurodegenerativas. También se está evaluando su potencial para el tratamiento de las enfermedades como asma, depresión, Parkinson, Alzheimer y recientemente diabetes y obesidad (Mathews, 2004).

Los estilbenos también son utilizados en la industria para la fabricación de tintes, que son proporcionados por los grupos cromóforos de color amarillo o naranja. Son empleados como medio de emisión de láseres de colorante, también como centelleador cristalino, con una capacidad del 60% del antraceno (Mathews, 2004).

2.6.3.5. Taninos

Los taninos originalmente fueron utilizados para curtir pieles crudas de los animales. De hecho “curtido” en inglés se dice *tanning*. Estos compuestos fenólicos se utilizan en el curtido porque tienen la capacidad de reaccionar con las proteínas de colágeno que abundan en las pieles de los animales uniéndolas entre ellas, aumentando así su resistencia al calor, a la putrefacción natural de lo orgánico y al ataque de microorganismos. Ese efecto sobre las proteínas hacía que no se consideraran como producto beneficioso para el cuerpo (Gómez, 2007).

Se extraen de las plantas con agua o con una mezcla de agua y alcohol, que luego se decanta y se deja evaporar a baja temperatura hasta obtener el producto final. Podemos encontrar taninos en aquellos alimentos que al comerlos producen sensación de aspereza, sequedad y amargor, como es el caso de la fruta inmadura. Tienen efectos buenos para la salud, aunque pueden comportarse también, como antinutrientes al reducir su absorción (Delgado y Díaz, 2005).

Los taninos son compuestos fenólicos que poseen propiedades astringentes y antiinflamatorias, por lo tanto, son muy útiles ante diarrea o gastroenteritis.

Además, tienen acción antioxidante que protegen a las células ante los radicales libres y permiten reducir el riesgo de enfermedades degenerativas, sin embargo, no debemos abusar de los alimentos ricos en taninos, ya que, en cantidades excesivas, pueden reducir la absorción de nutrientes como el hierro o las proteínas, y ser causantes de carencias (Vázquez, 2001).

Podemos encontrar taninos en el vino tinto, las uvas, el té, el café, las espinacas, la granada, membrillo o manzana. En ésta última, los taninos se presentan cuando la pulpa rallada de la misma se oxida tras sacarle la cáscara, y así, es como se debe consumir en casos de diarrea (Cornelli, 2009).

Los taninos han demostrado tener cierta toxicidad en dosis muy elevadas (cuando los alimentos contienen aproximadamente un 5% de taninos). En las personas los

problemas son muy raros, aunque pueden provocar alguna alteración digestiva, en parte porque los taninos afectan al crecimiento de la flora intestinal normal, también pueden interferir en la absorción de ciertos elementos, especialmente metales como el cobre, el calcio y el hierro. No es conveniente, pues, que las personas con anemia ferropénica abusen de las bebidas y alimentos ricos en taninos, como es el caso del café, el té y el chocolate. Los taninos pueden ocasionar estreñimiento, así como dificultad para la digestión de proteínas, minerales, fibra y carbohidratos (Delgado y Díaz, 2004).

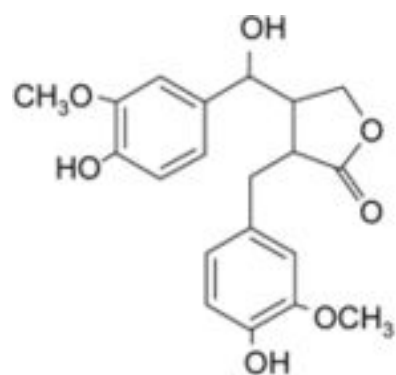
2.6.3.6. Lignanos

Los lignanos son antioxidantes y fitoestrógenos que son investigadas debido a sus propiedades anti-cancerígenas. Los lignanos son llamados fitoestrógenos debido a que son químicos de las plantas que pueden ejercer acciones parecidas a las de los estrógenos en las células de los humanos y los animales (Figura 13).

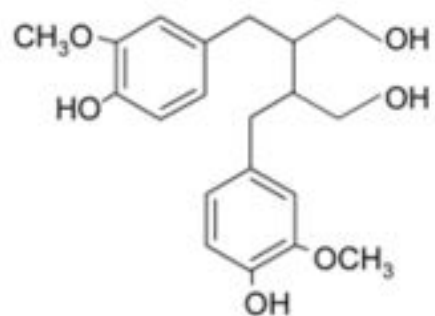
Se encuentran en las plantas, especialmente en la linaza. El lino es una planta llamativa con flores de color púrpura que es originaria del Mediterráneo y de la India. Los lignanos han sido utilizados en la medicina herbaria durante muchos siglos (Gómez, 2007).

Los lignanos contienen ácido alfa-linoleico un tipo de ácido graso Omega 3 que también se encuentra en otros tipos de semilla y en pescados. El ácido alfa-linoleico ayuda a aliviar la inflamación, a fortalecer los huesos, a reducir la cantidad de determinado material que hace coagular la sangre, a detener el crecimiento de los tumores y a equilibrar las hormonas. Debido a sus múltiples beneficios los lignanos se usan en la medicina herbaria para tratar varias dolencias, incluyendo el colesterol elevado, la función renal reducida causada por el lupus, los síntomas de la menopausia, los coágulos sanguíneos, el cáncer de próstata, la diverticulosis y el síndrome del intestino irritable. También se cree que los lignanos ayudan a prevenir la osteoporosis. (Simopoulus, 2002).

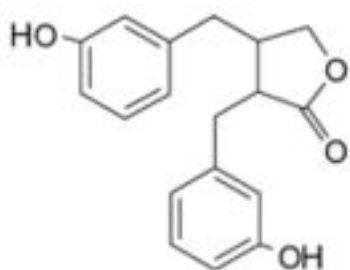
Los lignanos tienen el poder de causar efectos secundarios en algunos pacientes como la hinchazón, gases, dolor abdominal, diarrea, dolor de estómago y náuseas. Tomar linaza con un vaso lleno de agua puede ayudarte a reducir estos efectos secundarios (Simopoulos, 2002).



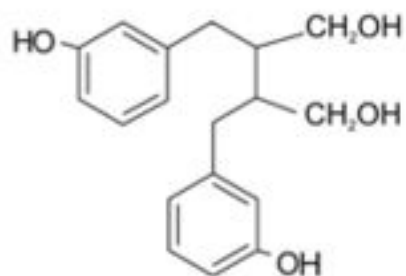
7-hidroximatairesinol



secoisolariciresinol



enterolactona



enterodiol

Figura 13. Estructura química de algunos lignanos.

Fuente: Delgado, D. 2005.

2.7. Tipos y Distribución de Antioxidantes Naturales en Espárrago

Las propiedades nutricionales y nutritivas del espárrago serán sus componentes antioxidantes como la vitamina C, E, la provitamina A y las vitaminas del grupo B como la B1, B2, B3 o B6. Así como los diferentes minerales en los que destaca su contenido en fósforo, magnesio, potasio o sodio (Gómez, 2007).

El espárrago es un vegetal rico en glutatión, el cual es un tripéptido constituido por tres aminoácidos –la glicina, la cisteína y el ácido glutámico- que actúa como potente antioxidante intracelular reduciendo especies reactivas del oxígeno como el peróxido de hidrogeno gracias a la encima glutatión peroxidasa, reconocido como antioxidante anticancerígeno, también contiene saponinas y compuestos bioactivos, a su vez es rico en flavonoides y ácido fólico (Badui, 2006).

2.8. Actividad Biológica de los Antioxidantes Naturales del Espárrago

Los antioxidantes controlan los problemas que pudieran causar los radicales libres en nuestro organismo evitando así posibles enfermedades degenerativas o diferentes tipos de cáncer y antitumorales. El Instituto Nacional del cáncer en Estados Unidos simplifica la definición de antioxidantes de la siguiente manera: “Sustancia que se encuentra en los tejidos vegetales y animales desempeñando numerosas funciones en la célula como la activación de ciertas enzimas y la destrucción de compuestos tóxicos y sustancias químicas que contienen oxígeno, por eso el Instituto para la prevención del cáncer estadounidense , a través del investigador Komninou Despina, lo define a su vez como un “elemento importante en la lucha contra el cáncer “. (Romano, 2011).

Un tipo de antioxidante es el glutatión, el cual ayuda a afrontar el cáncer de tres formas: como preventivo, como herramienta terapéutica frente a las células tumorales y como adyuvante de los tratamientos convencionales al reducir sus efectos secundarios (Farías, 2014).

El espárrago es una muy buena fuente de calcio, que es esencial para los huesos y dientes fuertes. También es rica en vitamina C, que es conocida por apoyar y mantener un sistema inmunológico saludable y la lucha contra las infecciones. Es bien conocido por ser un excelente alimento para ayudar a prevenir el cáncer. El espárrago es también una buena fuente de la vitamina K, que es necesaria para ayudar al cuerpo a sanar, ya que es necesaria para la coagulación de la sangre. También está considerado un excepcional depurativo gracias a su condición de diurético gracias a su contenido en potasio lo que facilitara la eliminación del exceso de líquidos en el organismo, igualmente está indicado para las mujeres embarazadas por su contenido en folatos que colaborara en la correcta formación del futuro bebe además de contribuir a la formación de glóbulos rojos y blancos y el refuerzo del sistema inmunitario. (Galleano, 2010).

Es un excelente alimento, para recibir la fibra dietética que el cuerpo necesita para ayudar a que el sistema digestivo funcione correctamente. El espárrago es rico en hierro, potasio y manganeso, todos los cuales son las vitaminas y minerales esenciales para ayudar con el crecimiento celular adecuado y mantener los glóbulos rojos que transportan oxígeno por todo nuestro cuerpo. Es baja en grasas saturadas y colesterol que hace de este un alimento muy bueno para ayudar a reducir el riesgo de enfermedades relacionadas con el corazón (Badui, 2006).

Para la mayoría es una de las propiedades de los espárragos blancos y trigueros más valoradas. En general todas las verduras tienen un índice bajo de calorías, pero el espárrago en particular aún tiene un índice más bajo. Casi no tiene grasas ni hidratos de carbono, por lo que es ideal si quieres seguir una dieta de adelgazamiento (Galleano, 2010).

Los espárragos también ayudan a mejorar la vista, ya que son ricos en zeaxantina, un flavonoide de color amarillo que se encuentra en gran concentración en la

retina humana, la zeaxantina actúa en conjunto con la luteína en la protección de la vista (AOCS, 2012).

3. HIPÓTESIS

Los extractos etanólicos del espárrago poseen actividad antioxidante superior a los tocoferoles y al TBHQ.

4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo General

Comparar la actividad antioxidante de los extractos etanólicos del espárrago con un antioxidante natural y uno sintético comercial.

4.2. Objetivos específicos

1. Recolectar el vegetal *Asparagus spp.*
2. Extraer los compuestos fenólicos del espárrago.
3. Comparar la actividad antioxidativa del extracto etanólico del espárrago en aceite de soya y sin antioxidantes contra el tocoferol y TBHQ.

5. METODOLOGÍA DE ANÁLISIS

5.1. Materia Prima

Se utilizó espárrago (*Asparragus officinalis*) proveniente de un cultivo de la región de Caborca, Sonora, en el tramo carretero Caborca-Desemboque durante el mes de febrero de 2014, el cual fue conservado a temperatura ambiente, aproximadamente de 20°C, para posteriormente trasladarlo al laboratorio de Investigación de la Universidad de Sonora, Unidad Regional Norte, Campus Caborca, para su almacenamiento y procesamiento.

5.2. Caracterización del Aceite de Soya

Aceite de soya refinado (RBD) se obtuvo de la industria aceitera mexicana (Derivados de Oleaginosas del Valle, Ciudad Obregón, México). La cuantificación de los productos primarios de oxidación, se realizó mediante la determinación del valor de peróxidos (A.O.C.S. Cd 8-53) y para los productos secundarios por el método del valor de *p-anisidina* (A.O.C.S. Cd 18-90).

5.2.1. Perfil de Ácidos Grasos

Esta medición consistió en la separación cuantitativa de mezclas de ácidos grasos saturados e insaturados con un número de carbonos de 8 hasta 24, después de su conversión a metil ésteres mediante el método Ce 2-66 del A.O.C.S. Para esto se utilizó un cromatógrafo de gases Varian 3800 CX (detector de ionización de flama) con un sistema de integración Varian Star 2000. Se utilizó una columna capilar SP-2560 con fase estacionaria 100% de polixiloxano biscianopropil (100 m x 0.25 mm d.i. x 0.2 µm tamaño de partícula, Supelco, Inc., Bellefonte, PA 16823-0048 USA). El programa de temperatura para la columna fue de 140 a 210°C (4°C/min)

y de 210 a 220°C (1°C/min). Se utilizó helio como gas acarreador con un flujo de 20 cm/seg. La temperatura del inyector y detector fue mantenida a 250°C. Se calculó el contenido de ácidos grasos usando el ácido heptadecaenoico (C-17:0) como estándar interno (Sigma Chemical Co., ST Luis MO) y la identificación de los picos se realizó por comparación con los tiempos de retención de los estándares.

Análisis de la composición del aceite de soya realizado en el Lab. de Análisis de Agua y Suelo de la Unidad Santa Ana de la Universidad de Sonora, M.C. Rogelio Martínez Duran y Dr. Edgar Omar Rueda Puente.

5.2.2. Cuantificación de Tocoferoles en el Aceite de Soya

La técnica empleada para la cuantificación de tocoferoles fue cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), utilizándose un cromatógrafo (Varian 9050), equipado con un detector de luz ultravioleta (Varian 3400) y una columna Lichrosorb Si60 (25 cm x 4 mm x 5µ de tamaño de partícula, Supelco, Inc., Bellefonte, PA 16823- 0048 USA). La fase móvil fue una mezcla de hexano:isopropanol (99:1), con un flujo de 3.5 mL/min. La cuantificación se llevó a cabo a 292 nm. Dos gramos de muestra fueron diluidos en 25 mL de hexano (Warner, 1990; Chase, G.W. 1994). La muestra (20 µL) fue inyectada directamente al cromatógrafo por duplicado. Los picos del cromatograma fueron identificados y cuantificados por comparación con el α -tocoferol, β -tocoferol, γ -tocoferol y δ -tocoferol (Sigma Chemical Co., St. Luis MO). Esta determinación se realizó con la finalidad de conocer los niveles de tocoferol presentes de manera natural en el aceite de soya, ya que algunos de los antioxidantes que fueron agregados al aceite pudieron actuar como sinergistas o prooxidantes con los tocoferoles contenidos en el aceite.

Análisis de la composición del aceite de soya realizado en el Lab. de Análisis de Agua y Suelo de la Unidad Santa Ana de la Universidad de Sonora, M.C. Rogelio Martínez Duran y Dr. Edgar Omar Rueda Puente.

5.2.3. Determinación de Metales de Traza.

Los compuestos metálicos presentes en el espárrago liofilizado, extracto de espárrago y en el aceite utilizado fueron determinados. Primeramente, se incineraron 5 mL del extracto etanólico del espárrago este material fue sometido a digestión con ácido clorhídrico, para después por espectrofotometría de absorción atómica detectar la presencia de Mg, Ca, Cu y Fe. En el caso del espárrago liofilizado y pulverizado se pesaron 100 g de la parte verde y se colocó en una mufla por espacio de 2-4 horas a una temperatura de 450-500°C. La muestra seca (1.0 g) fue digerida con ácido clorhídrico, en un plato caliente. El fósforo se analizó mediante el método oficial AOAC 958.01, utilizando un espectrofotómetro ajustado a 650 nm (UV VIS Lambda PE 2S, Perkin-Elmer, Norwalk, CT). El magnesio, el calcio, el cobre y los iones de hierro se determinaron por espectrometría de absorción atómica (PE-3100; Perkin-Elmer). Las longitudes de onda utilizadas para el cobre y el hierro fueron 324.7 y 248.3 nm, respectivamente. Para el caso del aceite se utilizaron 5 g de aceite y se sometieron a digestión con ácido clorhídrico, para después por espectrofotometría de absorción atómica detectar la presencia de Mg, Ca, Cu y Fe. Todos los experimentos se llevaron a cabo en material de vidrio para minimizar la contaminación con otros metales.

Análisis de la composición del aceite de soya realizado en el Lab. de Análisis de Agua y Suelo de la Unidad Santa Ana de la Universidad de Sonora, M.C. Rogelio Martínez Duran y Dr. Edgar Omar Rueda Puente.

5.3. Preparación de las Muestras de Espárrago

El espárrago (1500 g) fue lavado con abundante agua corriente y posteriormente con agua destilada. El espárrago se dividió en dos porciones: la parte comestible que correspondió a la parte verde del vegetal (EPC: 1068 g) y la parte no comestible (la parte blanca en la base del turión) (EPNC: 432 g). Ambas porciones

se cortaron en trozos pequeños (1 cm) y se colocaron por separado en bolsas de plástico con cierre hermético para posteriormente ser congelados a -23°C y después ser liofilizados a una temperatura de -46°C y una presión de 0.370mBar por un periodo de 6 días en un liofilizador Marca LABCONCO. Una vez liofilizado el material se procedió a la trituración de la muestra hasta llevarla a pulverización en un mortero.

5.4. Extracción de los Compuestos Fenólicos

La extracción de los compuestos fenólicos del espárrago se realizó por triplicado para cada muestra utilizando el método propuesto por Onyeneho (1991), el cual utiliza etanol al 95%, como solvente de extracción en una proporción de 1:5 sólido:líquido, por periodos de 2 horas con agitación y cubiertos de la luz, utilizándose para ello una parrilla de agitación marca Labnet. Posteriormente la muestra se centrifugó por 15 minutos a 2500 g en una centrifuga IEC CL 31R Multispeed Thermo Electronic y se decantó para separar el material sólido. Los sobrenadantes resultantes se mezclaron y se filtraron con papel Whatman No. 4. Los extractos de espárrago fueron concentrados en un rotavapor (Buchi Switzerland, modelo R-215) a presión reducida, 130 rpm y a una temperatura de 45°C .

5.5. Cuantificación de Fenoles Totales

Se analizaron colorimétricamente usando el reactivo de Folin-Ciocalteu (Singleton y Rossi 1965) como sigue: a una alícuota (1ml) del extracto, se le agregaron 60 mL de agua y posteriormente se mezcló con 5,0 mL de reactivo de Folin-Ciocalteu y 15 mL de solución de carbonato de sodio al 20%. Después de 5 min y a una temperatura de 25°C , se midió la absorbancia a 750 nm (Espectrofotómetro UV-VIS marca HACH modelo DR 5000). Para la cuantificación se utilizó una curva estándar de catequina de 0-25 mg.

5.6. Actividad Antioxidante

El extracto se diluyó con etanol al 95% y se obtuvieron 3 concentraciones: 0.1, 0.3 y 0.5%. A estas diluciones se le agregó 25 mL de emulsificante (monoglicéridos de aceite de canola) y aceite de soya para terminar con una mezcla de aceite, extracto y emulsificante a una proporción 10:5:5 mL respectivamente. Para probar la efectividad antioxidativa del extracto etanólico del espárrago se aplicó el método oficial de la A.O.C.S. Cd 12b-92, mediante un equipo Rancimat Modelo 892 Professional.

Una cantidad de 3.5 g de aceite de soya con las diferentes concentraciones de extracto más emulsificante fue colocado en las celdas de reacción utilizando un flujo de aire de 20 L/h y una temperatura de 110°C. El tiempo de inducción (medido en horas) de cada muestra fue medido automáticamente por el equipo, y representó el tiempo en el cual la mezcla de aceite-antioxidantes y emulsificante inicio su deterioro produciendo compuestos polares responsables de provocar cambio en la conductividad térmica.

La actividad antioxidante del extracto etanólico del espárrago obtenido en el presente estudio se comparó con la de los antioxidantes sintéticos y naturales comerciales (tocoferol y TBHQ) por medio de la técnica de índice de estabilidad oxidativa usando el equipo Rancimat, utilizando la misma cantidad de aceite. Para estas determinaciones tanto el tocoferol como el TBHQ fueron utilizados a una concentración de 0.02% (concentración utilizada a nivel industrial). El control a utilizar fue un aceite de soya sin ningún tipo de aditivos.

5.7. Análisis Estadístico

Los resultados obtenidos fueron analizados estadísticamente por medio de un análisis de varianza (ANOVA) con una $p > 0.05$ y las medias obtenidas se sometieron a una comparación de medias por la prueba de Tukey, utilizando el paquete estadístico JMP IN ver. 3.2.1 (Statistical Graphic Corp.).

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1. Caracterización del Aceite de Soya

Los análisis a los que se sometió el aceite antes de ser utilizado en los ensayos de estabilidad oxidativa fueron los siguientes:

6.2. Valor de Peróxidos y Valor de *p*-anisidina

El valor de peróxidos fue de 1.0 ± 0.09 mEq/Kg de aceite y el valor de *p*-anisidina de 0.749, esto indica que el aceite se encontraba dentro de los rangos de un aceite de soya recién refinado y sin antioxidantes. Los valores recomendados para un aceite de este tipo son menores de 1.0 mEq/Kg de aceite para peróxidos y menores de 2 para *p*-anisidina. (Egan, 1991).

6.3. Perfil de Ácidos Grasos

El perfil de ácidos grasos del aceite de soya se muestra en la Tabla 7, así como en la Figura 14 se encuentra el cromatograma. El ácido linoleico presentó un valor de 53.53 mg/100mg de aceite y el ácido Linolénico de 7.83 mg/100mg, representando un total de ácidos grasos poliinsaturados (AGPI) mayores de 60. Estos niveles de AGPI (esenciales) confirman que el aceite de soya está constituido por ácidos grasos altamente susceptibles a la oxidación, afectando directamente a la estabilidad oxidativa y al color, factores críticos para la aceptación como aceite comestible (AOCS, 2012). Los antioxidantes naturales incluyendo a la vitamina E y a otros compuestos fenólicos, pueden prevenir la oxidación lipídica en los aceites comestibles tan efectivamente como los antioxidantes sintéticos comúnmente utilizados (TBHQ, BHT y BHA).

6.4. Cuantificación de Tocoferoles

El análisis de tocoferoles en el aceite de soya mostró una concentración total de 885.00 ± 4.62 ppm. Estos resultados concuerdan con los estudios realizados por Medina, *y col.*, 2000. El γ -tocoferol se considera un antioxidante y es el que se encontró en mayor concentración (632.42 ± 9.59 ppm); mientras que el α -tocoferol, se le conoce como una vitamina (71.23 ± 2.89 ppm). Entre los aceites vegetales comestibles, el aceite de soya se considera la fuente principal de tocoferoles. En la Tabla 8 se muestra el perfil de tocoferoles del aceite de soya, así como en la Figura 15 se encuentra su cromatograma. El aceite de soya se considera la fuente principal de tocoferoles de entre el resto de aceites vegetales, además de poseer un contenido significativo de ácidos grasos esenciales n-6 y n-3. Esto lo convierte en un aceite benéfico para la salud. Para no reducir esta característica, es importante tomar en cuenta la adición de antioxidantes naturales, como los flavonoides.

6.5. Contenido de Elementos Traza en el Aceite, Extracto Etanólico y Liofilizado

La actividad antioxidante de los compuestos fenólicos depende de la presencia de metales catalizadores. En el presente estudio el contenido de minerales (fierro, cobre, calcio, magnesio y fosforo) en el aceite de soya que se utilizó en cada una de las pruebas de oxidación fue similar a los valores reportados por Medina, *y col.*, (1998) tanto en su composición de metales como en su contenido para aceites que fueron producidos en México por la industria aceitera. Por otro lado, el contenido de minerales de fierro y cobre del espárrago liofilizado se encontró dentro de los valores encontrados normales para alimentos (tomate, coliflor, cebolla y repollo), según lo reportado por Moreiras *y col.*, (2013). En el caso del contenido de fierro y cobre del espárrago liofilizado y el extracto etanólico se observó una reducción del 21.31 y 50.7% respectivamente, esto debido a la eliminación de la fibra rica en minerales que formaba parte del mismo.

El analizar este tipo de minerales es de gran importancia ya que según lo reportado por Osborn y Akoh (2003) quienes investigaron los efectos del hierro, pH y antioxidantes naturales sobre la oxidación de las emulsiones a base de lípidos estructurados, encontraron que las emulsiones a pH 7.0 eran relativamente estables a la oxidación a lo largo del periodo de almacenamiento. Sin embargo, otros antioxidantes naturales como la quercetina o ácido gálico exhibió un prooxidante con hierro (100 μM) a un pH de 3.0.

La actividad prooxidante puede estar relacionado con la capacidad de los flavonoides para someterse a la autooxidación catalizada por los metales de transición para producir peróxido de hidrógeno y formar radicales hidroxilos (Osborn, 2003). En este estudio, la OSI del control en el aceite de soya (7.10 h) fue significativamente menor ($p < 0,05$) que el aceite de soya más el extracto etanólico con todas las concentraciones ensayadas.

Tabla 7. Perfil de ácidos grasos del aceite de soya (mg/100 mg de aceite).

Ácidos Grasos	Aceite de Soya	Reportado*
Palmítico	10.63 ± 0.23	7.0 - 12.0
Esteárico	3.78 ± 0.11	2.0 - 5.5
Oleico	23.64 ± 0.23	20.0 - 40.0
Linoleico	53.53 ± 0.85	40.0 - 57.0
Araquídico	0.25 ± 0.12	0.0 - 1.0
Linolénico	7.83 ± 0.65	5.0 - 11.0

*NORMA MEXICANA, 2005.

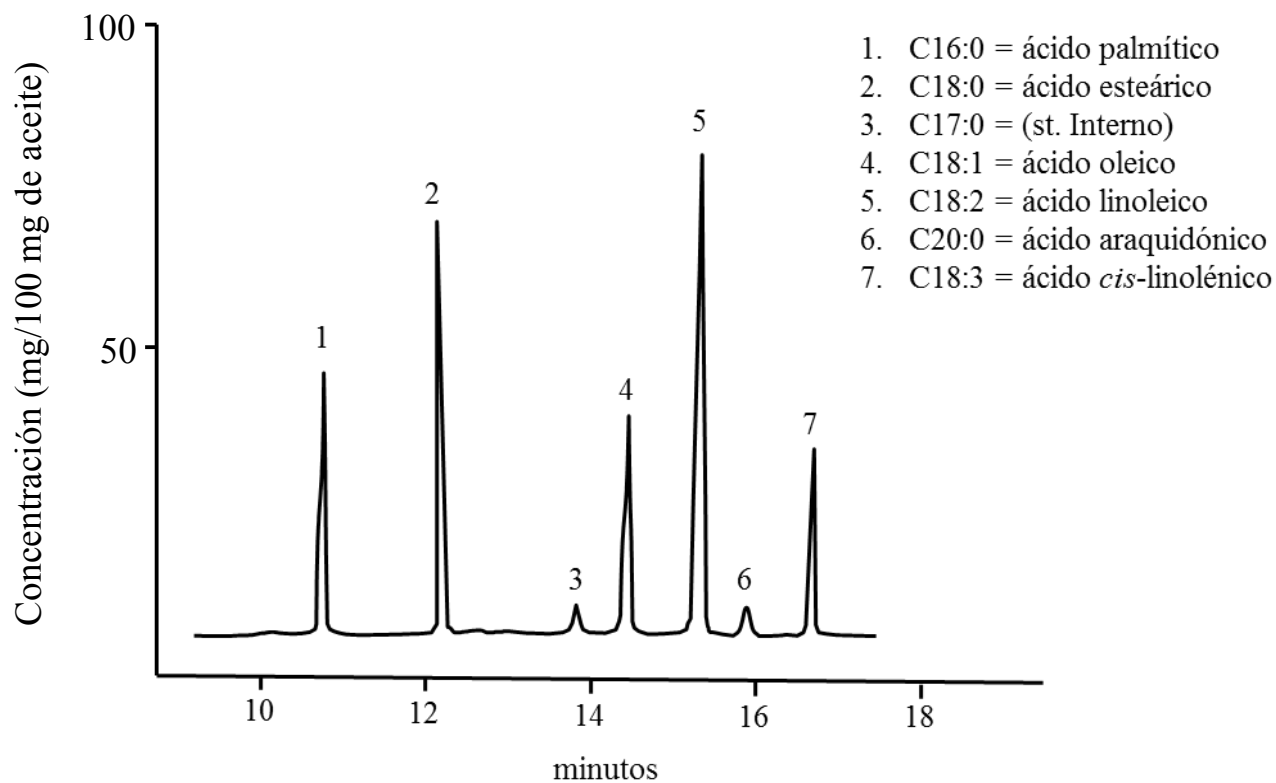


Figura 14. Cromatograma parcial del perfil de ácidos grasos del aceite de soya.

Columna capilar SP-2560 (100 m x 0.25 mm d.i. x 0.2 um tamaño de partícula, Supelco). Programa de temperatura para la columna: 140 a 210°C (4°C/min) y de 210 a 220°C (1°C/min). Gas acarreador: Nitrógeno a 20 cm/seg. Temperatura del inyector y detector: 250°C.

Tabla 8. Contenido de tocoferoles en el aceite de soya (ppm).

Tocoferol	Concentración	Reportado*
α	71.23 \pm 2.19	86
β	44.62 \pm 0.32	NR
γ	630.42 \pm 8.59	624
δ	137.62 \pm 7.39	188

*Medina-Juárez, L.A. 2002. NR: No reportado.

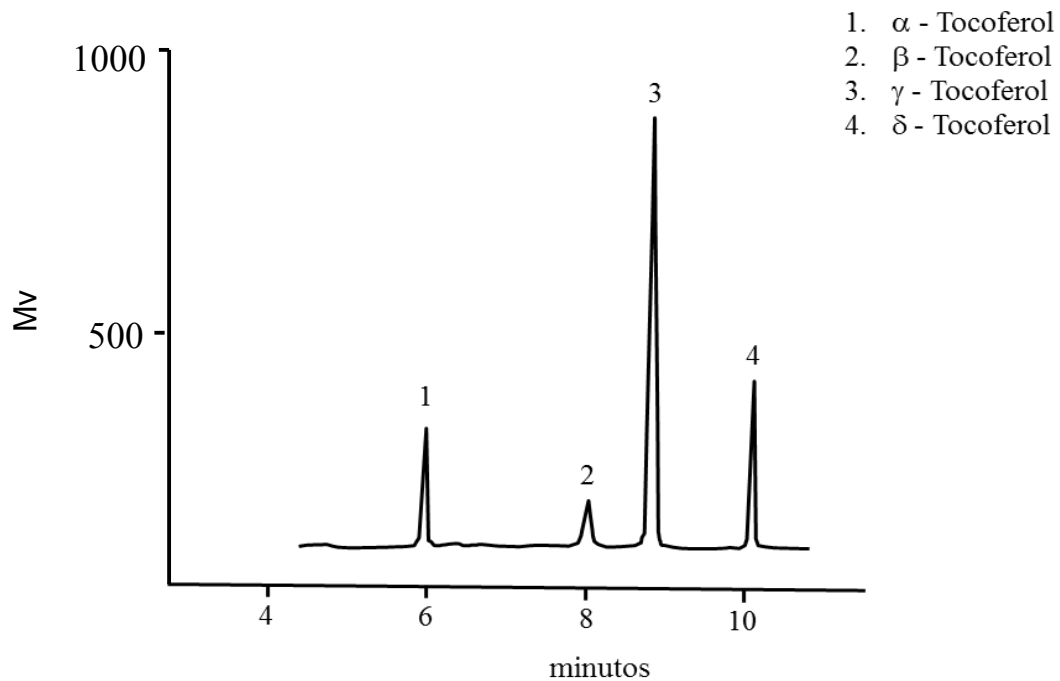


Figura 15. Cromatograma parcial de tocoferoles en el aceite de soya. Columna Lichrosorb Si60 (25 cm x 4mm x 5 μ tamaño de partícula, Supelco). Detector de luz ultravioleta (292 nm). Fase móvil: hexano: isopropanol (99: 1). Flujo: 3.5 mL/min.

6.6. Contenido de Fenoles Totales en el Extracto del Espárrago

En cuanto al contenido de fenoles totales en el espárrago se encontró que fue de $5.07. \pm 0.49$ mg/de peso seco del espárrago, expresado como equivalentes de catequina. El resultado obtenido concuerda con lo reportado por Rui, y *col.* 2015, al realizar un ensayo, utilizando diferentes tipos de solventes. En el caso particular de nuestro experimento se utilizó etanol, por considerarse un extracto para ser utilizado en el área de antioxidantes en alimentos (aceites). De la misma manera los resultados obtenidos tienen importancia ya que el contenido de fenoles es similar al reportado por Siomos en el 2010 para diferentes tipos de frutas.

6.7. Actividad Antioxidante del Extracto de Espárrago

Los tiempos de inducción de los extractos etanólicos de los fenoles totales del espárrago se muestran en la Tabla 9. El aceite control fue el que obtuvo el menor tiempo de inducción, debido a la propia composición de ácidos grasos y al contenido de antioxidantes presentes (tocoferoles). El aceite con extracto a concentración de 0.1 % (p/p) fue similar significativamente ($p < 0.05$) al aceite con tocoferoles, por lo que puede ser un sustituto para este grupo de compuestos. El aceite con extracto a concentraciones mayores de 0.3% (p/p) presentó tiempos de inducción mayores significativamente ($p < 0.05$) que los antioxidantes naturales (tocoferoles) y sintéticos (TBHQ) a las concentraciones analizadas, lo cual es de gran importancia por ser un antioxidante natural proveniente del espárrago.

Tabla 9. Actividad antioxidante (Test Rancimat) del extracto de espárrago comestible, antioxidantes sintéticos y naturales.

Tratamiento	Tiempo de inducción * (H a 110°C)
Aceite de soya (control)	7.10 ± 0.18 ^a
Aceite de soya + 0.1 % de extracto de FTEEE	12.4 ± 0.32 ^b
Aceite de soya + 0.3 % de extracto de FTEEE	25.6 ± 0.98 ^c
Aceite de soya + 0.5 % de extracto de FTEEE	>48.00 ^d
Aceite de soya + 0.02% p/p de tocoferoles	13.5 ± 1.10 ^b
Aceite de soya + 0.02% p/p de TBHQ	22.23 ± 0.58 ^e

FTEEE: Fenoles totales del extracto etanólico del espárrago. TBHQ: Terbutilhidroxiquinona.

*: Los valores son la media + desviación estándar de tres repeticiones. Las medias con diferentes letras en superíndices son diferentes significativamente ($p < 0.05$).

7. CONCLUSIONES

- La extracción con alcohol etílico de los compuestos fenólicos fue rápida y sencilla.
- No se presentaron problemas para la incorporación de los fenoles totales del extracto etanólico del espárrago, al aceite siendo este en donde se realizaron las diferentes pruebas oxidativas.
- El extracto etanólico de espárrago a concentraciones mayores de 0.3% (p/p) presentó tiempos de inducción mayores que los antioxidantes naturales (tocoferoles) y sintéticos (TBHQ) a las concentraciones analizadas.

8. RECOMENDACIONES

- Realizar pruebas con el extracto no comestible para conocer si posee poder antioxidante.
- Realizar la caracterización química (purificar compuestos bioactivos) del espárrago de la región de Caborca, Sonora con el objetivo de aislar e identificar los compuestos responsables de la actividad antioxidante.
- Probar el extracto etanólico en otros tipos de sustratos, en donde se tenga como finalidad medir el poder antioxidante.
- Dado a que el espárrago contiene antioxidantes naturales y posee poder antioxidante, promover consumo del mismo a nivel regional y nacional.

9. BIBLIOGRAFÍA

- Addis, P.B. 1991. The potential herbal aspects of lipid oxidation products in food. In Free Radicals and Food Additives) pp. 77–119. London: Taylor & Francis Ltd.
- Allen, J. 1992. Lipid Oxidation in food. Pp. 14 – 23. USA: American Chemical Society.
- AOCS. 2012. Official methods and recommended practices. 6th edition. American Oil Chemists Society. USA: Firestone.
- Badui, S. 2006. Química de los alimentos. México: Pearson educación.
- Bazzano, L. 2002. Fruit and vegetable intake and risk of cardiovascular disease in US adults: the first national health and nutrition examination survey epidemiologic follow-up study. USA. Clin. Nutr.
- Chacón de León, C. 2004. Determinación del antioxidante sintético más estable contra la oxidación en el estudio comparativo sobre la degradación de diferentes aceites vegetales utilizados como medio de transferencia de calor y de masa. Guatemala: Planeta.
- Chase, G.W. 1994. Analysis of tocopherols in vegetable oils by HPLC: comparison of fluorescence and evaporative light-scattering detection. USA: Oil Chem. Soc.
- Chin, C. K. 2002. Functional elements from asparagus for human health. Proceedings of the Xth ISHS on asparagus Acta Hortic. USA: Pearson Educación.
- Cornelli, U. 2009. Antioxidant use in nutraceuticals. Clinics in Dermatology Volume 27. Pages 217-224. USA: Pearson Educación.
- Delgado, D., Díaz. 2005. Fundamentos de nutrición parenteral. México: Panamericana.
- Egan, H. 1991. Pearson's Chemical Analysis of Foods. USA: Churchill Livingstone.
- Farías, V.M. 2014. Química de lípidos. San Francisco: Planeta.
- Fukushi E. 2010. NMR analysis of tri- and tetrasaccharides from asparagus. USA.

Magn Reson Chem.

- Galleano M. (2010). Antioxidant actions of flavonoids: thermodynamic and kinetic analysis. USA: Biochem Biophys.
- Gómez-Meza, N., Noriega-Rodríguez, J.A., Medina-Juárez, L.A., Ortega-García, J., Cazares-Casanova, R. and Angulo-Guerrero, O. 1999. Antioxidant activity in soybean oil of extracts from Thompson grape bagasse. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 76, 1445–1447.
- Gómez, J.M. (2007). Consecuencias higiénicas de la alteración de los alimentos. Madrid: Pearson.
- Hafizur R.M, Kabir N, Chishti S (2012) Asparagus officinalis extract control s blood glucose by improving insulin secretion and β -cell function in streptozotocin-induced type 2 diabetic rats. *Brit. J. of Nutr.* 108:1586-1595
- Hasenhuettl, G.L. and Wan, P.J. 1992. Temperature effects on the determination of oxidative stability with metrohm rancimat. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 69, 525–527.
- He, L., Zhang, X.F., Xu, H.G., Xu, C., Yuan, F., Knezb, Z., Novak. Z., Gao, Y. X. 2012. Subcritical water extraction of phenolic compounds from pomegranate (*Punica granatum* L.) seed residues and investigation into their antioxidant activities with HPLC-ABTS⁺ assay. *Food Bioprod. Process* 90:215-223.
- Heredia, A.; Jiménez, A.; Fernández-Bolaños, J.; Guillén, R.; Rodríguez, R. 2003. *Fibra alimentaria*. Biblioteca de Ciencias CSIC 4; ISBN 84-00-08108-0.
- Ixtaina, V.Y., Nolasco, S.M., Toma's, M.C. 2012. Oxidative Stability of Chia (*Salvia hispanica* L.) Seed Oil: Effect of Antioxidants and Storage Conditions. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 89:1077–1090.
- Jang, D. S.; Cuendet, M.; Fong, H.; Pezzuto, J. M.; Kinghorn, A. D. 2004. Constituents of *Asparagus officinalis* evaluated for inhibitory activity against cyclooxygenase-2. *J. Agric. Food Chem.* 52, 2218–2222.
- Kolb, T., Loyall, U. and Schäfer, J. 2002. Determination and interpretation of the temperature correlation of oxidative stabilities. *J. Food Market. Technol.* 21, 1–6.
- Mathews, C.V. (2002). *Bioquímica*. Madrid: Pearson Educación.

- Medina-Juárez, L. A. 2002. Determinación de las condiciones de desodorización para obtener aceite de soya de alta calidad nutricional. pp. 10-11, 21, 28-31,89. Tesis de doctorado. Instituto Tecnológico de Veracruz.
- Medina-Juárez, L. A., Gámez-Meza, N., Ortega-García, J., Noriega-Rodriguez, J. A., Angulo-Guerrero O. 2000. Trans fatty acid composition and tocopherol content in vegetable oils produced in Mexico. *J. Am. Oil. Chem. Soc.* 77, 7, 721-724.
- Molina, E. 2012. El papel de los antioxidantes como desaceleradores del envejecimiento. *ReNut.* 6 (3) 1109-1119.
- Normas Oficiales Mexicanas. NMX-F-252-1985. Alimentos. Aceite Comestible Puro de Soya. Foods Edible Pure Soybean Oil. Normas Mexicanas. Dirección General de Normas.
- Onyeneho, S.N. and Hettiarachchy, N.S. 1991. Effect of Navy Bean Hull Extract on the Oxidative Stability of Soy and Sunflower Oils. *J. Agric. Food Chem.* 39, 10, 1701-1704.
- Parry, J. and Yu, L. 2004. Fatty Acid Content and Antioxidant Properties of Cold-pressed Black Raspberry Seed Oil and Meal. *J. Food Sc.* 69, 3, 189-193.
- Romano, A.D. 2010. Oxidative stress and aging. USA: Nephrol.
- Rui, F., Fang, Y., Ning W., Yanxiang, G. 2015. Extraction and analysis of antioxidant compounds from the residues of *Asparagus officinalis* L. *J. Food sci. Technol.* 52 (5): 2690-2700.
- Shreiner, M. 2004. Vegetable crop management strategies to increase the quantity of phytochemicals. *Eur. J. Nutr.* 498, 7, 1-10.
- Simopoulos A.P. 2002. Omega-3 fatty acids in inflammation and autoimmune diseases. *J. Am. Coll. Nutr.* 21:495-505.
- Singleton, V.L. y Rossi, J.A. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdc-phosphotungstic acid reagents. *Am. J. Enol. Vitic.* 16: 144-158.
- Siomos, A. S., Gerasopoulos, D., Tsouvaltzis, P. and Koukounaras, A. 2010. Effects of heat treatment on atmospheric composition and color of peeled white asparagus in modified atmosphere packaging. *Inn. Food Sc. and Em.*

Techn. 1, 118–122.

Takahashi, O. 1992. Hemorrhages due to defective blood coagulation do not occur in mice and guinea pigs fed butylated hydroxy toluene but nephrotoxicity is found in mice. *Food Chem.* 30, 89–97.

Vázquez, C. 2000. *Alimentación y nutrición – manual teórico y práctico*. 2da edición. México: Díaz de Santos.

Warner, K., y Mounts, T.L. 1990. Analysis of tocopherols and phytosterols in vegetable oils by HPLC with evaporative light-scattering detection. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 67(11): 827-829.