



**Universidad de Valladolid**

**Facultad de Medicina**

**Área de Nutrición y Bromatología**

**Departamento de Pediatría, Inmunología, Obstetricia-  
Ginecología, Nutrición y Bromatología, Psiquiatría e Historia**

## **TRABAJO DE FIN DE GRADO**

**Grado Nutrición Humana y Dietética**

**Curso académico 2015/2016**

### **ANTIOXIDANTES DE ORIGEN VEGETAL.**

***Efecto sobre el envejecimiento***

**Autora: Virginia Descalzo Perea**

**Tutora: Pilar Jiménez López**

## RESUMEN

---

Este trabajo consiste en una revisión bibliográfica sobre diferentes tipos de antioxidantes de origen vegetal que podemos encontrar en los alimentos, así como sus características y efectos principales. Los radicales libres más frecuentes son los derivados del oxígeno y se producen como consecuencia de las reacciones de oxidación, que constituyen una parte esencial del metabolismo. Cuando la producción de radicales libres excede a la defensa antioxidante se da un desequilibrio y, como consecuencia, se produce un estado de estrés oxidativo en el cuál los radicales libres atacan a las macromoléculas biológicas, lo que origina la patogénesis de diferentes enfermedades y procesos como el envejecimiento. Se asume que una de las mejores formas de protección frente al daño producido por los radicales libres es la ingestión de antioxidantes, encontrando en los alimentos de origen vegetal una buena fuente de los mismos. A través de la ingesta dietética obtenemos antioxidantes en forma de vitaminas, minerales y otros como los compuestos fenólicos o los terpenos; pero además el organismo posee sistemas de defensa frente a los radicales libres como las enzimas antioxidantes. Es importante conocer los efectos de la manipulación y el cocinado sobre los antioxidantes, ya que algunos de los alimentos de los que provienen requieren de estos procesos para su consumo. Ha sido demostrada la relación entre el envejecimiento y el aumento de radicales libres, lo que impulsa el consumo de antioxidantes dietéticos asociados a un estilo de vida saludable como estrategia de prevención; es el caso de las dietas antiaging. Aunque la ingesta de suplementos antioxidantes se postula como otra estrategia frente al daño oxidativo, el papel prooxidante que adquieren a determinadas dosis debido al efecto hormético provoca controversia en su utilización.

**Palabras clave:** antioxidante, daño oxidativo, alimentos, plantas, envejecimiento

## ÍNDICE

---

<b>RESUMEN</b> .....	<b>1</b>
<b>ÍNDICE</b> .....	<b>2</b>
<b>JUSTIFICACIÓN E INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>3</b>
<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>4</b>
<b>DESARROLLO</b> .....	<b>5</b>
1. Definición .....	5
2. Clasificación .....	7
3. Determinación de la actividad antioxidante y antirradicalaria.....	7
4. Enzimas antioxidantes celulares .....	9
5. Hormesis .....	11
6. Agentes reguladores .....	13
6.1. Vitaminas .....	13
6.2. Agentes reguladores no vitamínicos .....	19
7. Otros antioxidantes de alimentos y especias .....	28
8. Efectos del procesamiento y manipulación culinaria en el contenido de antioxidantes .....	30
9. Dietas Antiaging .....	32
<b>CONCLUSIONES</b> .....	<b>34</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA</b> .....	<b>35</b>

## JUSTIFICACIÓN E INTRODUCCIÓN

---

Actualmente los antioxidantes constituyen un tema de gran importancia social. Son numerosos los estudios que relacionan el consumo de dietas ricas en antioxidantes con efectos beneficiosos sobre el desarrollo y la prevención de ciertas enfermedades crónicas y el envejecimiento, motivo principal de la realización de este trabajo.

Además de la disposición básica de energía y micronutrientes esenciales, los alimentos vegetales también contienen miles de fitoquímicos biológicamente activos y se piensa que su interacción podría ser esencial en la prevención de la enfermedad y la promoción de la salud.

El estrés oxidativo se origina cuando la producción de radicales libres en el organismo excede la capacidad de defensa frente a estos. En este estado de estrés oxidativo los radicales libres producen daño en diversas macromoléculas biológicas importantes como lípidos, proteínas e incluso el ADN. Se asume que una de las formas de protección frente al ataque de radicales libres es la ingestión de antioxidantes, los cuales se encuentran distribuidos ampliamente en los alimentos de origen vegetal.

Existen muchos tipos de antioxidantes, dentro de la dieta se consumen en forma de vitaminas, minerales y otros compuestos con capacidad antioxidante como los compuestos fenólicos o los terpenos. Pero además de la ingesta dietética, el organismo posee mecanismos de defensa antioxidante, siendo los más importantes las enzimas antioxidantes.

Aunque no hay un mecanismo claro de actuación, se ha comprobado la asociación entre el aumento de los radicales libres y el proceso de envejecimiento. Esta asociación impulsa la suplementación con antioxidantes, a través de la dieta o a partir de suplementos, como una posible forma de frenar el envejecimiento y estimular la longevidad. No podemos olvidar que algunos antioxidantes poseen actividad prooxidante a determinadas dosis debido al efecto hormético, lo que origina controversia en cuanto a la toma de suplementos antioxidantes y promueve el beneficio de dietas ricas en estos compuestos de forma natural, desplazando así el uso de antioxidantes sintéticos e induciendo la búsqueda y el estudio detallado de compuestos antioxidantes de origen natural.

## OBJETIVOS

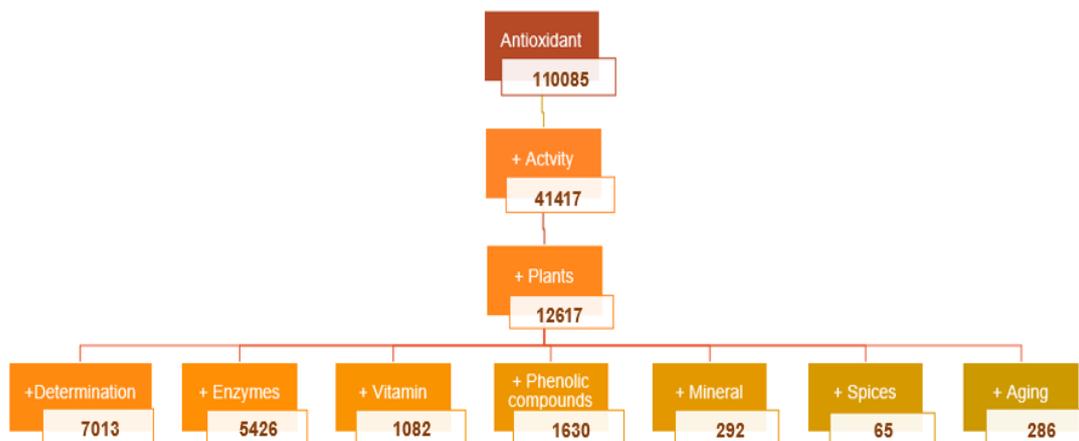
---

Los objetivos del presente trabajo son los siguientes:

- Revisar la importancia de los antioxidantes en el contexto de los beneficios asociados a la prevención de la enfermedad y promoción de la salud.
- Dar a conocer los métodos más empleados para determinar la capacidad antioxidante.
- Comprender los mecanismos de actuación de los radicales libres y el estrés oxidativo y de los sistemas de defensa antioxidante.
- Advertir de los posibles efectos prooxidantes y conocer el proceso por el que ocurren.
- Realizar una revisión de los antioxidantes de origen vegetal más característicos.
- Estudiar los efectos de los tratamientos culinarios y del procesamiento sobre el contenido de antioxidantes en los alimentos.
- Dar a conocer los efectos de los antioxidantes frente al envejecimiento.

Para la consecución de tales objetivos se ha realizado una búsqueda bibliográfica, utilizando la base de datos PubMed, a través de una serie de palabras clave. Se ha comenzado la búsqueda con la palabra más general para el trabajo, Antioxidant, a la que se añadieron sucesivamente Activity y Plants. Posteriormente, se añadieron otras palabras como Determination, Enzymes, Vitamin, Spices, etc., como se observa en el *Esquema 1*.

Se han empleado tanto artículos como revisiones bibliográficas para la realización del trabajo.



*Esquema 1. Árbol de búsqueda realizada en la base de datos PubMed, número de artículos encontrados.*

# DESARROLLO

---

## 1. Definición

La patogénesis de diversas enfermedades de los animales en general, y del ser humano en particular, va acompañada de la producción de radicales libres, especialmente los del oxígeno.

- Los radicales libres son especies químicas extraordinariamente reactivas debido a que tienen uno o más electrones desapareados en sus orbitales extremos capaces de reaccionar con una gran variedad de biomoléculas de la célula, tendiendo a captar un electrón de las mismas para alcanzar una estabilidad electroquímica. La molécula que cede el electrón se va a convertir en un radical libre, iniciándose así una reacción en cadena.

Los radicales libres más frecuentes son los derivados del oxígeno y colectivamente se denominan ROS (acrónimo de "reactive oxygen species"). Dentro de los radicales libres del oxígeno los más importantes son el oxígeno singulete ( $^1\text{O}_2$ ), el radical superóxido ( $\text{O}_2^-$ ), el peróxido de hidrógeno ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), el hidroxilo ( $\text{HO}^\cdot$ ) el radical nitrosilo ( $\text{NO}^\cdot$ ), el peroxi nitrito ( $\text{ONOO}^-$ ) y el ozono ( $\text{O}_3$ ). Otros radicales importantes son los del cloro, el azufre y el fósforo, estos últimos son contaminantes ambientales producidos por la polución causada por los coches.

Estos radicales libres se producen pues como consecuencia de las reacciones metabólicas en las cuales se oxidan sustratos.

- La oxidación es una reacción química en la que uno o más electrones se transfieren de una sustancia a un agente oxidante.

Las reacciones de oxidación son una parte esencial del metabolismo porque el oxígeno es el aceptor final de electrones en la cadena de transporte mitocondrial. Además de esta fuente endógena de radicales libres, podemos encontrar una fuente exógena a partir de contaminantes ambientales, farmacológicos y nutricionales.

El efecto nocivo que los radicales libres ejercen sobre las macromoléculas es el siguiente<sup>1</sup>:

- Sobre los lípidos se produce la peroxidación lipídica, la cual afecta especialmente a los ácidos grasos poliinsaturados, importantes en el adecuado funcionamiento de las membranas celulares. Tras el inicio de la peroxidación

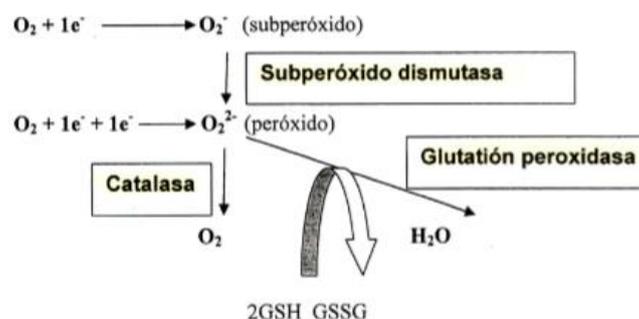
lipídica, el proceso adquiere forma de cascada, denominada propagación, originando una lesión en las membranas con producción de radicales libres que llevan a la formación de peróxidos orgánicos y otros productos a partir de los ácidos grasos insaturados, siendo responsables de los efectos citotóxicos.

- En el caso de los efectos sobre las proteínas lo que ocurre es que se produce la oxidación de un grupo de aminoácidos, se realizan entrecruzamientos de cadenas peptídicas y se forman grupos carbonilos sobre las proteínas.
- Sobre el ácido desoxirribonucleico, o ADN, se producen diferentes fenómenos tales como mutaciones y carcinogénesis, pérdida de la expresión o síntesis de proteínas por daños genéticos específicos, modificaciones oxidativas de las bases, deleciones, fragmentaciones, interacciones estables ADN-proteínas, reordenamientos cromosómicos y desmetilación de citosinas del ADN que provoca la activación de los genes.

Se asume que una de las formas de protección frente a la oxidación por los radicales libres es la ingestión de sustancias que sean capaces de captar y neutralizar estos radicales libres. Estas sustancias son los antioxidantes, que se ingieren habitualmente en la dieta, aunque las células tienen también un sistema antioxidante endógeno.

- ▶ Un antioxidante es una molécula capaz de prevenir o retardar la oxidación (pérdida de uno o más electrones) de otras moléculas generalmente sustratos biológicos como lípidos, proteínas o ácidos nucleicos.

Además de los antioxidantes dietarios, las células tienen sistemas de eliminación de los radicales libres, como el siguiente:



*Figura 1. Sistemas de eliminación de radicales libres endógenos<sup>3</sup>.*

Las enzimas catalasa, superóxido dismutasa y glutatión peroxidasa en colaboración con el glutatión reducido transforman los radicales libres del oxígeno (ROS) en agua.

Por todo ello, cuando el equilibrio de la producción de radicales libres excede la defensa antioxidante, las especies reactivas predominan provocando un estado de estrés

oxidativo. En este estado los radicales atacan a macromoléculas biológicas, es decir, lípidos, proteínas y ADN, induciendo así la oxidación y causando daño en las membranas, la inactivación de enzimas y daño en el ADN.

En estas condiciones, es necesaria una fuente de antioxidantes para combatir el estrés oxidativo ya que estos juegan un papel importante en la terminación de las reacciones que provocan los radicales libres donando electrones a estos y a sus intermediarios<sup>2</sup>.

## 2. Clasificación

En la naturaleza los seres vivos han adquirido mecanismos para protegerse de los efectos nocivos de los radicales libres, como es la ingesta de antioxidantes.

Así encontramos que existen diferentes tipos de antioxidantes según su origen, que actúan conjuntamente para neutralizar los radicales libres en los sistemas biológicos.

En primer lugar nos encontramos con los antioxidantes **endógenos**, formados principalmente por los enzimas antioxidantes, entre los que destacamos: glutathion peroxidasa, catalasa y superóxido dismutasa.

Pero por otro lado, también encontramos antioxidantes **exógenos**, formados por sustancias con carácter antioxidante que se ingieren en la dieta. Este grupo de antioxidantes es muy variado pero entre los más importantes se encuentran las vitaminas A, E y C, las sustancias fenólicas como flavonoides, ácido cafeico y sus derivados, ácido clorogénico y ácido rosmarinico, o minerales como el selenio o el zinc.

## 3. Determinación de la actividad antioxidante y antirradicalaria y determinación de polifenoles<sup>3</sup>

Para conocer la capacidad antioxidante y antirradicalaria existen diferentes métodos que se emplean en investigación. Dentro de todos estos métodos existentes cabe destacar los siguientes:

### 3.1. Método CUPRAC

Este método se denomina CUPRAC porque proviene del acrónimo inglés “copper reducing antioxidant capacity”.

El procedimiento consiste en utilizar el reactivo Cu(II)-neocuproína[Cu(II)-Nc] como agente oxidante cromogénico. La reacción que tiene lugar es la siguiente:

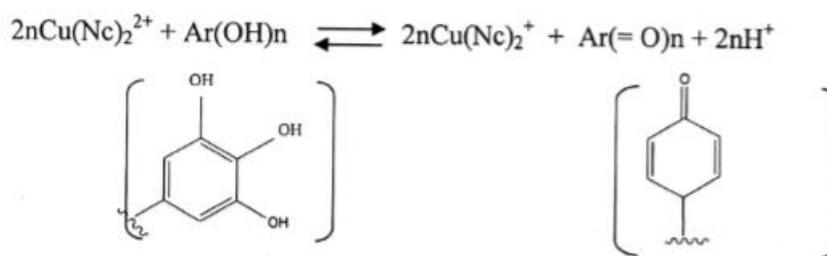


Figura 2. Reacción producida en el método CUPRAC<sup>3</sup>.

Los protones liberados en la reacción se neutralizan con la solución de acetato amónico. En esta reacción los polifenoles (-OH) se oxidan a las correspondientes formas quinónicas (=O) y el Cu(II)-Nc es reducido a Cu(I)-Nc que es muy coloreado y muestra un máximo de absorción a 450nm.

### 3.2. Método del radical DPPH

El DPPH en su forma radical, 2,2-difenil-1-picrylhydrazyl1 posee una banda de absorción a 515 nm, pero sobre la reducción de un antioxidante o una especie radical la absorción desaparece, como se observa en la siguiente fórmula:



Así podemos medir la actividad antirradicalaria como la cantidad de antioxidantes necesarios para reducir la concentración inicial de DPPH en un 50%.

Algunos compuestos reaccionan rápidamente con el DPPH reduciendo las moléculas de este radical a expensas del número de grupos hidroxilos disponibles, sin embargo en otros compuestos el mecanismo de reducción es más complejo<sup>4</sup>.

### 3.3. Determinación de polifenoles con el reactivo de Folin-Ciocalteu

Los polifenoles son un grupo especial de antioxidantes naturales, y como su nombre indica estas sustancias contienen dos o más radicales fenólicos. Son capaces de atrapar radicales libres a través de la siguiente reacción:

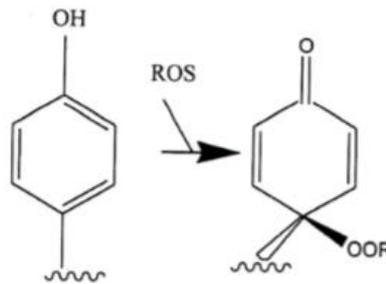


Figura 3. Mecanismo de reacción de los compuestos fenólicos<sup>3</sup>.

En esta reacción el fenol se oxida a quinona y después a peróxido (-OOR). El peróxido más sencillo es el peróxido de hidrógeno. Los peróxidos superiores se forman sustituyendo un hidrógeno del HO-OH por un resto **R** (RO-OH). Cuando el peróxido se forma en una biomolécula, esta pierde su función y ello puede provocar daños serios en el funcionamiento de las células y los tejidos.

El procedimiento por el cual se rige la determinación de polifenoles con el reactivo de Folin-Ciocalteu consiste en que los fenoles reaccionan con este reactivo dando un color azul propio de la reacción con fenoles. El reactivo Folin-Ciocalteu, contiene una mezcla de wolframato sódico y molibdato sódico en ácido fosfórico y reacciona con restos fenólicos presentes en las proteínas (tirosinas) y en compuestos como el ácido gálico y sus derivados, flavonoides, etc. El ácido fosfomolibdotúngstico, de color amarillo, al ser reducido por los grupos fenólicos da lugar a un complejo de color azul intenso, que es el que se mide en este método de determinación de capacidad antioxidante.

#### 4. Enzimas antioxidantes celulares<sup>5</sup>

Existen enzimas cuya función principal es disminuir las concentraciones de especies reactivas del oxígeno. Entre ellas se encuentran la superóxido dismutasa, la catalasa, la glutatión peroxidasa y otras.

##### 4.1. Superóxido dismutasa (SOD)

Las superóxido dismutasas son un grupo de metaloenzimas que catalizan la dismutación del  $O_2^-$  para producir  $H_2O_2$  y  $O_2$ . Poseen una variedad de grupos prostéticos por los cuales se clasifican de la siguiente forma:

- a) CuZnSOD, es una proteína dimérica y la forma prevalente de las SOD. Se ha encontrado en casi todas las células eucariotas. El átomo de cobre es esencial para la actividad catalítica, mientras que el de zinc proporciona estabilidad.
- b) Se ha identificado una superóxido dismutasa que contiene manganeso como grupo prostético, MnSOD, es una proteína tetramérica de subunidades idénticas

y que se localiza preferentemente en la mitocondria para proteger al orgánulo frente al  $O_2^-$  producido durante el transporte de electrones.

- c) Finalmente, encontramos la FeSOD, cuyo grupo prostético es el hierro. Ha sido aislada en bacterias aerobias y plantas pero no en animales.

Un exceso de estas enzimas que no vaya acompañado por la actividad de la catalasa puede ser perjudicial para el organismo, por un cúmulo de peróxido de hidrógeno.

#### **4.2. Catalasa (CAT)**

La catalasa es una hemoproteína que cataliza la reducción del  $H_2O_2$  a  $H_2O$  y  $O_2$  y forma parte del sistema antioxidante junto a la superóxido dismutasa. Está constituida por cuatro subunidades, cada una de las cuales contiene un grupo hemo como parte de su grupo activo.

Posee una amplia distribución en el organismo humano y se localiza a nivel celular en mitocondrias, citosol y peroxisomas; y se encuentra en alta concentración en la linfa del riñón.

Presenta dos funciones fundamentales: catalítica y peroxidativa, y forma parte del sistema antioxidante CAT/SOD que actúa a elevadas concentraciones de peróxido de hidrógeno.

#### **4.3. Glutación peroxidasa (SeGSHpx)**

La glutación peroxidasa se trata de una proteína miembro de la familia de las peroxidases que cataliza la reducción del peróxido de hidrógeno y de hidroperóxidos orgánicos empleando el glutati6n como cosustrato. Posee una alta afinidad pero baja actividad catalítica.

Es una enzima selenio dependiente, formada por una proteína tetramérica que contiene cuatro átomos de selenio unidos como selenocisteína, los cuales le otorgan la actividad catalítica. Se localiza en el citosol de los eritrocitos de las células eucariotas y en los lisosomas y tiene gran heterogeneidad en su distribución en los tejidos humanos.

Presenta tres formas: GPx-c o forma celular, tiene mayor afinidad por el peróxido de hidrógeno que por el lipoperóxido, GPx-p o forma extracelular, tiene afinidad por ambos sustratos; y GPx-PH tiene afinidad específica por los lipoperóxidos.

Se regula por variedad de estímulos ambientales, especialmente por el selenio dietario.

#### 4.4. Otras enzimas antioxidantes

Existen otras enzimas con efectos antioxidantes como puede ser la glutatión reductasa, la cual interviene en el sistema de defensa antioxidante catalizando la reducción del glutatión oxidado por la SeGSHpx. También acoplada a las actividades de las anteriores enzimas encontramos la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa en la producción de NADPH.

Además existen diversas peroxidasas con afinidad por el peróxido de hidrógeno que han sido identificadas en distintos sistemas biológicos, las cuales pueden tener efecto protector en tejidos carentes de catalasa o glutatión peroxidasa. Pero este efecto protector es limitado y han de tenerse en cuenta posibles efectos prooxidantes.

Por último encontramos enzimas que previenen la formación y/o el metabolismo de especies prooxidantes como la NADPH: quinona óxido reductasa y las epóxido hidrolasas, capaces de reaccionar con diferentes especies epóxido producidas durante la peroxidación lipídica.

### 5. Hormesis <sup>6,7,8</sup>

Durante la evolución los organismos han vivido en ambientes hostiles en los que son expuestos con frecuencia a radicales libres y sustancias tóxicas, por lo que para evitar su extinción han desarrollado mecanismos complejos para hacer frente a estos peligros. Así los organismos son capaces de aprovechar las propiedades químicas de los “agentes tóxicos” en su beneficio, incorporándolas en la señalización celular o las rutas metabólicas.

El término hormesis proviene del griego “hormaein” (estimular; del prefijo horm de hormona) y fue definida como “la respuesta bifásica en que ciertos agentes químicos y físicos afectan a los seres vivos: dosis bajas provocan efectos ‘favorables’ (estimulación), dosis altas provocan efectos ‘adversos’ (inhibición)”.

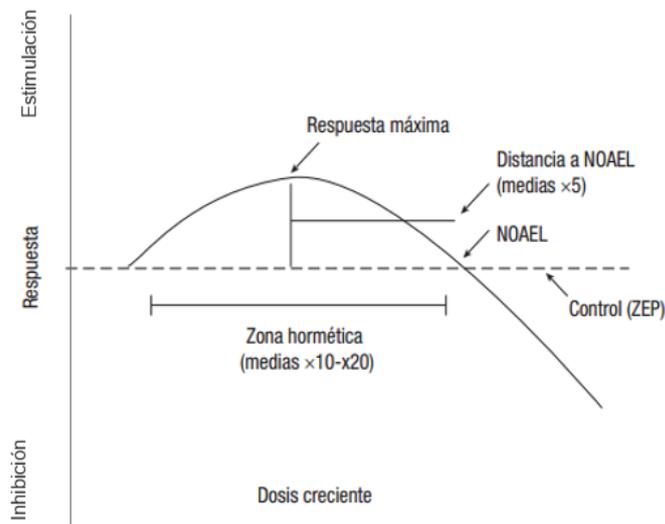
A nivel evolutivo, la hormesis puede ser entendida como una respuesta adaptativa que media el estrés celular en un sinnúmero de actividades preventivas y reparadoras en particular de los sistemas celulares.

Es un concepto básicamente toxicológico, que trasciende a otras áreas de la Ciencia.

La ciencia toxicológica se desarrolló con dos modelos de dosis-respuesta: el de umbral y el lineal.

- El modelo de umbral se aplica a sustancias no cancerígenas y permite asignar un umbral (nivel de efecto adverso no observado, NOAEL) a cada agente tóxico, por encima del cual se producen efectos adversos, las dosis inferiores no producen efectos.
- En el lineal no existen umbrales, porque se considera que cualquier dosis, por baja que sea, produce efectos adversos (p. ej., sustancias cancerígenas).

Sin embargo, y a diferencia de estos dos modelos la curva hormética (*Figura 4*) es descrita como en U, U invertida o J.



*Figura 4. Curva hormética. NOAEL (No Observed Adverse Effects Level): la región de la curva donde los efectos no son medibles; ZEP: punto donde la respuesta cambia de ser estimulativa a ser inhibitoria, como ocurre en los valores del umbral<sup>7</sup>.*

Para que una respuesta bifásica a la dosis sea considerada como hormética, ha de satisfacer una serie de criterios:

1. Debe ser una respuesta bifásica de dosis; en general, provocar una estimulación a dosis bajas y una inhibición a altas dosis.
2. La respuesta a la dosis ha de mostrar una magnitud de estimulación particular.
3. La anchura de la zona de estimulación parece no tener criterios establecidos.
4. No hay un componente de tiempo, aunque este puede ser un parámetro esencial en casos específicos.

Mientras que el fenómeno de la hormesis se considera con más frecuencia en el contexto de la exposición a agentes exógenos o condiciones ambientales, debería ser reconocido también como parte integral de la función fisiológica normal de células y organismos.

Las vías de respuesta hormética más estudiadas son proteínas. Dentro de las diferentes categorías de proteínas de resistencia al esfuerzo hormético que se han identificado encontramos chaperonas, que son un tipo de proteínas de choque térmico, enzimas antioxidantes como la superóxido dismutasa y la glutatión peroxidasa, y factores de crecimiento.

Hay una gran cantidad de componentes de la dieta, como es el caso de los antioxidantes, que muestran curvas dosis-respuesta horméticas. Al conjunto de estos compuestos que poseen actividad biológica beneficiosa para la salud y que actúan para garantizar el mantenimiento, reparación y respuesta al estrés, se denominan hormetinas.

## 6. Agentes reguladores

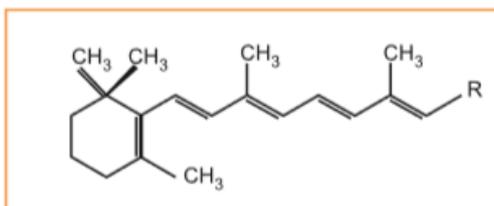
### 6.1. Vitaminas

#### ♦ Vit A y carotenos<sup>9</sup>

Vitamina A es el término genérico que se utiliza para describir los compuestos con la actividad biológica del retinol, como son los retinoides y los carotenoides. Los retinoides (*Figura 5*) con actividad vitamínica A se encuentran en la naturaleza en tres formas: retinol (alcohol), retinal o retinaldehído (aldehído) y ácido retinoico (ácido), por su parte los carotenoides al metabolizarse van a producir retinoides, en su mayor parte retinol por lo que nos referimos a ellos como provitaminas A, siendo el más activo de todos el  $\beta$ -caroteno. Aunque también tienen actividad provitamínica A el  $\gamma$ -caroteno y la  $\beta$ -criptoxantina (*Figura 6*).

Los carotenoides pueden clasificarse en base a su estructura como carotenoides hidrocarbonados o carotenos (no contienen oxígeno) y xantofilas u oxicarotenoides (contienen grupos carboxilo y/o hidroxilos en sus grupos constituyentes).

Estos compuestos vitamínicos pertenecen al grupo de los isoprenoides, estando formados por cuatro unidades de isopreno (*Figura 6*) que contienen cinco enlaces conjugados.



*Figura 5. Estructura de los retinoides<sup>9</sup>.*

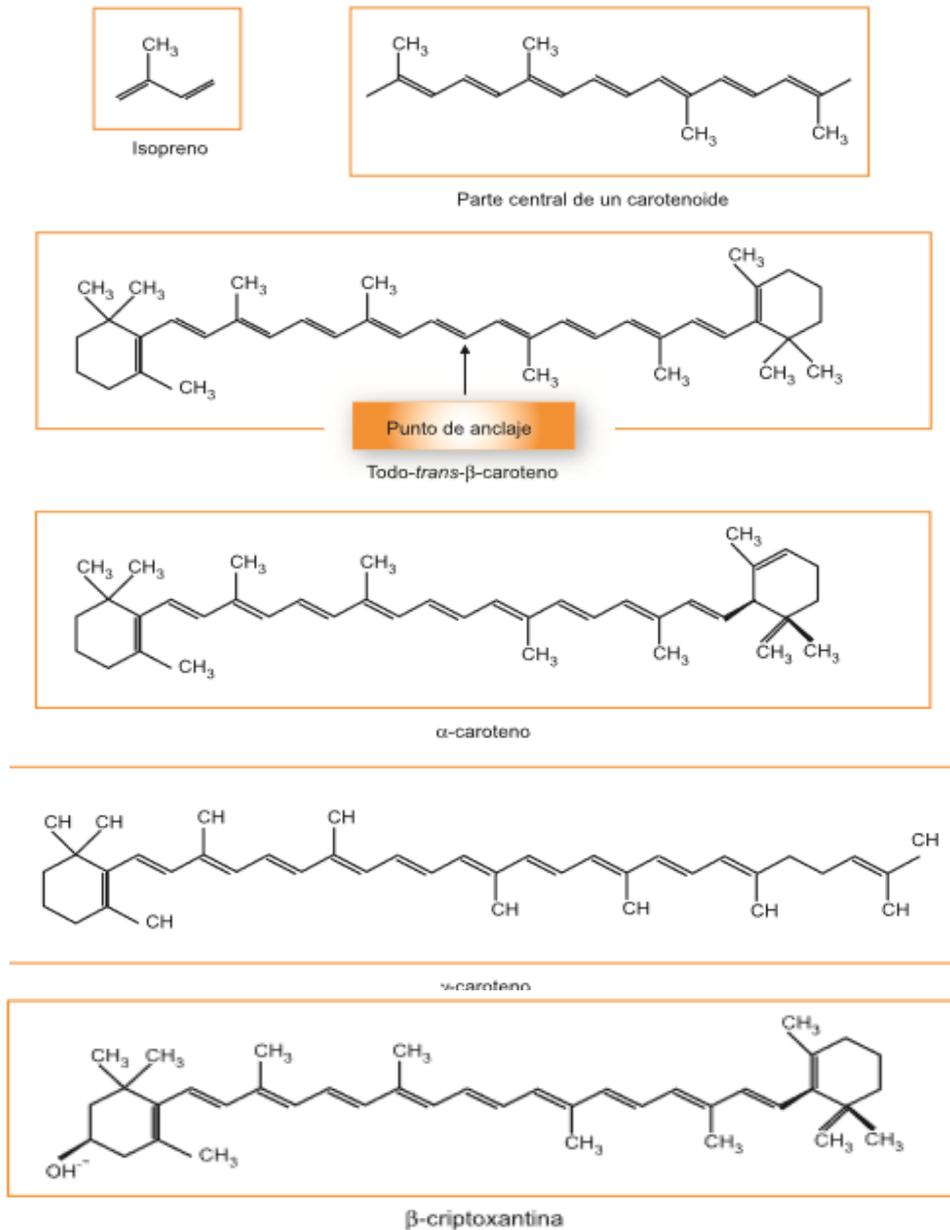


Figura 6. Estructura de los diferentes carotenoides<sup>9</sup>.

La vitamina A se encuentra presente en los alimentos en diversas formas debido a su variedad, así la encontramos en forma de retinoides en los tejidos grasos de los animales, mientras que se encuentra en forma de carotenoides en los pigmentos de muchas plantas, principalmente en las de color verde, rojo, naranja y amarillo. En general, dado que la vitamina A es liposoluble, los alimentos con un mayor contenido de esta vitamina son el hígado, los aceites de pescado, la mantequilla, la leche, el queso, yema de huevo, algunos pescados grasos, las verduras de hoja oscura y las hortalizas muy pigmentadas.

La biodisponibilidad de la vitamina A mejora en presencia de otros antioxidantes como la vitamina E.

La absorción de vitámeros y provitaminas A requiere de su digestión inicial por la acción de enzimas proteolíticas del estómago y el intestino para ser liberadas de las proteínas a las que se encuentran unidas. Una vez liberados, el retinol se absorbe en duodeno y yeyuno por difusión facilitada y por transporte activo y los carotenoides, también en el intestino delgado, pueden absorberse intactos o desdoblados. La eficacia de la absorción no es muy alta estimándose que se absorben del 80-95% del retinol y sólo un 40-60% de los  $\beta$ -carotenos ingeridos. Los restos se eliminan por heces.

El hígado es el principal depósito de vitamina A, aunque también se almacena en pequeñas cantidades en pulmones, riñones y tejido adiposo. La cantidad de vitamina A tiende a incrementar con la edad y depende de la cantidad ingerida y absorbida, este aumento puede formar parte de un proceso autorregulado por parte del organismo para contrarrestar los efectos oxidativos debidos al envejecimiento.

En cuanto a las funciones de la vitamina A, cada una de sus formas funcionales participa en mayor o menor grado en diversas funciones, así el retinol participa principalmente en la reproducción, el retinal en la visión y el ácido retinoico en la diferenciación epitelial. Además de las funciones ya citadas encontramos que la vitamina A interviene en el proceso de crecimiento, en el metabolismo óseo y el desarrollo dentario, en la embriogénesis, la hematopoyesis, la inmunidad, la comunicación intercelular y posee capacidad antioxidante, lo que junto a varias de las funciones previamente citadas le otorga capacidad anticancerígena.

- Aunque tanto retinoides como carotenoides pueden actuar como antioxidantes, los carotenoides son más activos porque su sistema de dobles enlaces es más largo. Además el  $\beta$ -caroteno puede actuar conjuntamente con otros antioxidantes como  $\alpha$ -tocoferol y el ácido ascórbico.

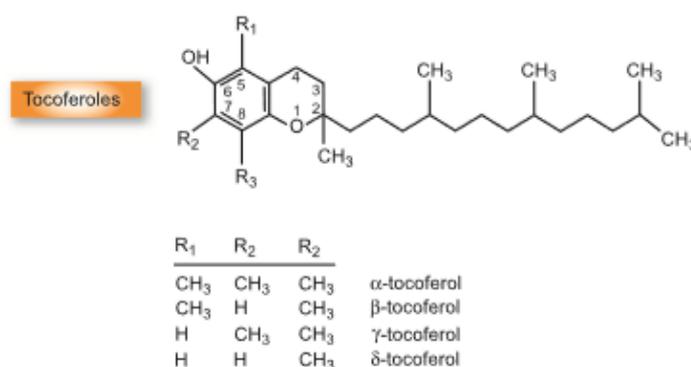
La deficiencia de vitamina A se puede presentar de forma primaria por una ingesta inadecuada de la misma, o bien de forma secundaria por una inadecuada ingesta de otros nutrientes como grasas, proteínas o minerales, por malnutrición, por alteraciones en la absorción biliar o pancreática, enfermedades hepáticas y por estilos de vida no saludables como son el alcoholismo o el tabaquismo.

El exceso de ingesta de esta vitamina puede causar un estado de hipervitaminosis, tanto en adultos como en niños, si se ingieren más de 50000 UI durante varios meses (toxicidad crónica) o bien si se consumen más de 660000UI en una sola dosis (toxicidad aguda). Los efectos tóxicos de los carotenoides son más bajos que los de los retinoides,

pero cabe destacar que el  $\beta$ -caroteno puede actuar como un prooxidante a altas dosis de oxígeno y en atmósfera rica en radicales libres, situación que ocurre en fumadores.

♦ **Vitamina E y tocoferilo**<sup>10</sup>

El término genérico de vitamina E se refiere a un conjunto de compuestos estrechamente relacionados entre sí, denominados tocoferoles, todos ellos derivados del tocol. Esta última molécula consiste en un anillo central de cromanol al que se le une una cadena lateral saturada de fitol. Existen 8 tocoferoles que se diferencian entre sí por el número y la posición de los grupos metilos. De entre estos, el que posee una mayor actividad antioxidante es el  $\alpha$ -tocoferol (*Figura 7*).



*Figura 7. Estructura química de los tocoferoles*<sup>10</sup>.

Como fuentes de vitamina E encontramos aceites vegetales, especialmente aquellos con mayor contenido en PUFAs (*Poly-Unsaturated Fatty Acids*) como el aceite de girasol o maíz, y los productos derivados de estos aceites, además también se encuentra en el germen de trigo, las nueces y otros cereales. En las plantas se localiza en las hojas y partes verdes y en los animales en el tejido adiposo.

La absorción y el metabolismo de esta vitamina dependen de la función pancreática y biliar porque se encuentra ligada a la absorción de la grasa alimentaria. Es distribuida por lipoproteínas plasmáticas y su distribución es paralela a la de los lípidos totales. Su excreción se produce a través de las heces.

El  $\alpha$ -tocoferol actúa como un potente antioxidante lipofílico y supresor del daño oxidativo en membranas biológicas, lipoproteínas y tejidos, mediante la eliminación de radicales libres, tales como el oxígeno singulete, el radical superóxido y el radical hidroxilo.

Los mecanismos de acción de la vitamina E como antioxidante de captación han sido investigados y documentados ampliamente. El  $\alpha$ -tocoferol elimina el radical peroxilo mediante la transferencia de un átomo de hidrógeno, convirtiéndose así en el radical tocoferilo, que pese a no ser tan reactivo es reciclado por el ácido ascórbico. La vitamina

E se sitúa en la membrana con la cola fitol alineada con las colas grasas de los fosfolípidos y el anillo cromanol cerca de la superficie de membrana, así cuando se forma el tocoferilo se proyecta fuera de la región apolar y se sitúa en la zona polar donde interactúa con la vitamina C, situada en la región acuosa, regenerando así la región cromanol de la vitamina E. También puede ser regenerada por otra molécula, la coenzima Q.

El mecanismo antioxidante de los tocoferoles supone su destrucción, por lo que las necesidades dependerán del nivel de agentes oxidantes, de la cantidad de grasa poliinsaturada de la dieta y de la presencia de otros sistemas antioxidantes. Además las necesidades serán mayores al aumentar la edad y en gran variedad de estados patológicos.

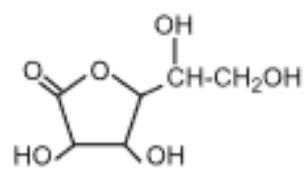
La deficiencia de vitamina E puede provocar diversos trastornos tales como ataxia, trastornos neurológicos e infertilidad. Es rara en humanos, limitándose a cuadros multicarenciales o déficits secundarios de malabsorción grasa.

En cuanto a sus limitaciones encontramos que pese a ser un potente antioxidante en la captación de radicales libres, es ineficaz contra la lipoxigenasa, la ciclooxigenasa, el citocromo P450 y el hipoclorito; que puede implicar estados patológicos como la arterioesclerosis, por ello los efectos de la vitamina E en estos casos son limitados<sup>11</sup>.

#### ♦ **Vit C y acoplamiento con la vit E**<sup>10</sup>

La vitamina C o ácido ascórbico es una molécula que se ha encontrado intracelularmente y extracelularmente en la mayor parte de sistemas biológicos; siendo en el plasma el antioxidante hidrosoluble que ejerce un mayor efecto protector frente a la peroxidación lipídica.

Dentro del término “vitamina C” se engloban todos los compuestos que presentan la actividad biológica del ácido L-ascórbico (ácido 2,3-enediol,L-gulónico), que se corresponde con una  $\alpha$ -cetolactona de 6 átomos de carbono que muestra un anillo de lactona de cinco carbonos y un grupo enediol bifuncional con un grupo carbonilo adyacente (*Figura 8*), esencial para su actividad biológica.



*Figura 8. Estructura química del ácido ascórbico o vitamina C*<sup>10</sup>.

El ácido ascórbico es un buen agente reductor; al perder un electrón se forma un radical relativamente estable, el radical ascorbilo, el cual sufre una segunda oxidación dando lugar al ácido dehidroascórbico. Este último paso es reversible, por lo que ambas formas se encuentran en la naturaleza. Si el ácido ascórbico pierde agua se transforma en ácido dicetogulónico mediante una reacción irreversible dando lugar a un producto inactivo biológicamente.

Las fuentes principales de vitamina C son las frutas, verduras y hortalizas, especialmente las coloreadas. Las frutas más ricas en vitamina C son las ácidas, ya que el pH bajo estabiliza esta vitamina. Es escasa en los alimentos de origen animal.

Mayoritariamente es absorbida en duodeno y yeyuno proximal mediante transporte activo y difusión facilitada y se encuentra ampliamente distribuido en los tejidos, siendo máxima en aquellos con intenso metabolismo debido a su capacidad antioxidante frente a radicales libres.

Se excreta por la orina, siendo reabsorbida a nivel tubular en el riñón por mecanismos de transporte dependientes de sodio. Este sistema es saturable por lo que si las concentraciones de vitamina C son elevadas y exceden la capacidad de reabsorción, el ácido ascórbico aparece en orina y puede originar oxalato al degradarse y producir cálculos.

En cuanto a sus funciones encontramos que es coenzima en reacciones de hidroxilación junto a la prolina y lisina hidroxilasas en la síntesis de colágeno (su deficiencia severa causa escorbuto) y junto a la dopamina  $\beta$ -hidroxilasa en la síntesis de la noradrenalina. Además actúa como agente reductor, reduciendo al  $\text{Fe}^{3+}$  dietético a  $\text{Fe}^{2+}$  en el intestino y por lo tanto facilita su absorción.

El papel antioxidante del anión ascorbato radica en su capacidad para reaccionar directamente con el radical superóxido, el radical hidroxilo y diversos hidroperóxidos lipídicos y reducirlos.

Otra de las funciones importantes de la vitamina C es la de restaurar las propiedades antioxidantes de la vitamina E. En este caso, el ascorbato se oxida al reducir los radicales tocoferilos, originados en las reacciones de la vitamina E con los radicales libres, generando así tocoferol y radical ascorbilo.

También puede funcionar como prooxidante, en determinadas condiciones, como son las altas concentraciones o en presencia de metales de transición. En las citadas ocasiones este antioxidante puede inducir la generación de radicales libres de oxígeno

por su capacidad de reducción de iones metálicos que están implicados en las reacciones de formación de radicales hidroxilos.

Estudios en humanos y animales han demostrado una correlación entre la disminución de los niveles de ascorbato en tejidos y el proceso de envejecimiento. Múltiples mecanismos podrían estar implicados en este fenómeno, incluyendo el mayor uso de ascorbato con la edad y la disminución de la capacidad de absorción y reabsorción de esta vitamina.

La deficiencia del ascorbato puede presentarse sistemática, espacial y temporalmente en diferentes órganos y tejidos. Ciertos estilos de vida como el tabaquismo y el consumo de alcohol tienen un impacto significativo en la disponibilidad del ascorbato, así como otras circunstancias tales como poblaciones con ingresos económicos bajos, personas en situaciones clínicas que afecten a la absorción y reabsorción de nutrientes, especialmente enfermedades digestivas y en pacientes con diálisis<sup>12</sup>.

## **6.2. Agentes reguladores no vitamínicos**

### **a) Compuestos fenólicos**

Se ha encontrado que los polifenoles presentes en los alimentos pueden ser beneficiosos para revertir el curso del envejecimiento neuronal y conductual. Debido a su actividad antioxidante como secuestradores de radicales libres, pueden prevenir a los órganos y a los tejidos del daño oxidativo, y modificar el estado redox negativo. Las evidencias han sido obtenidas por observación del comportamiento de ratas, de edades entre 19 a 20 meses. Después de ingerir el 10% de zumo de uva, se detectaron mejoras en relación a la liberación de dopamina en los cortes de tejido del estriatum, así como el rendimiento cognitivo en el laberinto de Morris, mientras que con el 50% de zumo de uva mejoró la capacidad de acción. En otra investigación se descubrió que los suplementos de extractos de semilla de uva (100mg/kg) durante 30 días, los compuestos fenólicos inhibieron la acumulación del daño oxidativo en el ADN en el tejido nervioso relacionado con la edad. Balu y cols describieron una menor incidencia de peroxidación lipídica inducida por radicales libres en el sistema nervioso central de ratas envejecidas<sup>13</sup>.

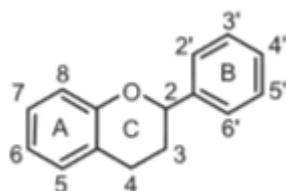
#### **♦ Flavonoides<sup>10</sup>**

Hay muchos tipos de antioxidantes naturales en los alimentos, dentro de los cuáles encontramos los compuestos fenólicos o polifenoles que son un grupo especial y muy importante. Estas sustancias, tal y como su nombre indica, contienen dos o más

radicales fenólicos y existen más de 8000 especies identificadas, de las cuales los flavonoides son las mayoritarias.

Los flavonoides son compuestos fenólicos derivados de las plantas con efectos positivos sobre la salud, protegiendo al organismo del daño producido por los agentes oxidantes.

Aunque son muchos los flavonoides conocidos en la actualidad en cuanto a su estructura química todos comparten un esqueleto común de difenilpiranos (*Figura 9*), compuesto por dos anillos fenilo (A y B) ligados a un anillo de pirano (anillo C). Esta estructura básica puede ser hidroxilada, metoxilada y/o glicosilada con mono y oligosacáridos originando así la gran variedad de compuestos diferentes. Estos compuestos se clasifican en: flavonas, antocianidinas, flavanonas, flavanoles, flavonoles, isoflavonas.



*Figura 9. Estructura básica de los flavonoides<sup>10</sup>.*

Como fuentes alimentarias encontramos frutas, verduras y semillas, como la soja, y bebidas como cerveza, vino, té negro y té verde, destacando estos dos últimos como uno de los alimentos con mayor cantidad de flavonoides. Además se encuentran en extractos de plantas como el Ginkgo biloba, cardo, etc., ubicados en las hojas y en el exterior de las plantas.

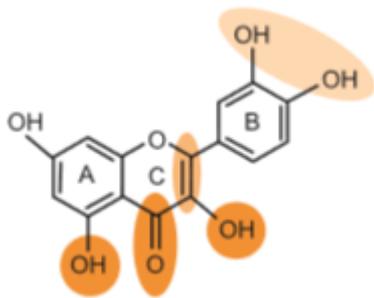
La absorción de los flavonoides se realiza en el intestino por medio de diferentes mecanismos, tras los cuales son metabolizados en dos localizaciones, en primer lugar en el hígado y en segundo lugar, aquellos flavonoides que no son absorbidos, son transformados en el colon. Posteriormente son excretados en gran parte por la orina.

Los efectos fisiológicos de estas sustancias son muy diversos, alguno de los más importantes son su acción antiinflamatoria, la protección vascular, el efecto gastroprotector, protección de la vitamina C, acción antitumoral, efectos antialérgicos, efectos antimicrobianos y antivirales, efectos diuréticos, antihepatotóxicos y espasmolíticos, y por último, efectos sobre el metabolismo de los lípidos.

Una de las funciones más estudiadas de estos compuestos es su capacidad antioxidante, tanto in vivo como in vitro. El creciente interés sobre estos compuestos se debe a su amplia actividad farmacológica pudiendo unirse a enzimas, transportadores de hormonas, ADN, quelar iones metálicos, catalizar el transporte de electrones y

secuestrar radicales libres. Los criterios químicos (*Figura 10*) que establecen esta capacidad antioxidante son los siguientes:

- 1) Presencia de estructura O-dihidroxi en el anillo B que le confiere una mayor estabilidad a la forma radical y participa en la deslocalización de electrones.
- 2) Doble enlace conjugado con el grupo 4-oxo del anillo C
- 3) Presencia del grupo 3 y 5 OH con función 4-oxo en los anillos A y C para ejercer el máximo poder antioxidante.



*Figura 10. Esquema de un flavonoide con los grupos químicos que le confieren su poder antioxidante<sup>10</sup>.*

Atendiendo a estos criterios, los flavonoides podrán tener un mayor poder antioxidante según presenten alguna de las estructuras citadas, dos de ellas o todas, aumentando respectivamente; siendo la quercetina el flavonoide con mayor capacidad antioxidante presentando los tres criterios explicados previamente.

Su mecanismo de acción consiste en retirar el oxígeno reactivo especialmente en forma de aniones superóxido, radicales hidroxilo, peróxidos lipídicos o hidroperóxidos, bloqueando la acción de estos sobre las células. Además diversos flavonoides inhiben los procesos de peroxidación lipídica, de los glóbulos rojos y la oxidación de las LDL.

La quercetina (3,3,4,5,7-pentahidroxi flavona) es un flavonoide abundante en muchas frutas y verduras. Se considera como el eliminador de especies reactivas del oxígeno más potente de la familia de los flavonoides, con una actividad antioxidante mayor de 6 veces por encima de la vitamina C y el Trolox. Además posee una fuerte capacidad antiinflamatoria. Estas actividades antioxidantes y antiinflamatorias pueden contribuir al efecto anti envejecimiento de la quercetina y sus derivados ya que el estrés oxidativo y la inflamación crónica se cree que juegan un papel importante en el desencadenamiento del proceso de envejecimiento<sup>14</sup>.

♦ **Ácidos fenólicos: el ácido cafeico y sus derivados el ácido clorogénico y el ácido rosmarínico**

Este conjunto de compuestos son derivados de un grupo mayor, los ácidos hidroxicinámicos<sup>15</sup>. Son metabolitos derivados de la fenilalanina y la tirosina, constituidos por un esqueleto carbonado  $C_6C_3$  con una cadena lateral que puede tener configuración cis o trans. Entre los ácidos hidroxicinámicos más comunes y conocidos

se encuentran el ácido cinámico, el ácido o-cumárico, el ácido m-cumárico, el ácido cafeico, el ácido ferúlico y el ácido sinápico (Figura 11).

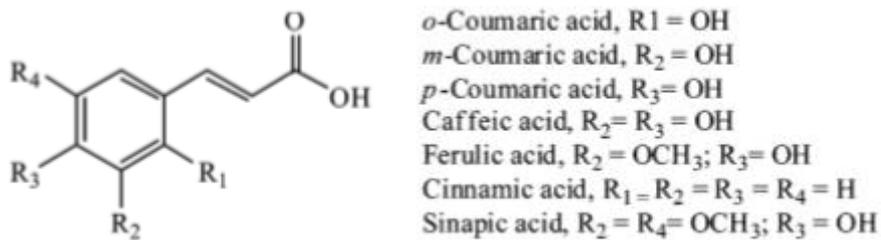


Figura 11. Estructura química de los ácidos hidroxicinámicos comunes<sup>15</sup>.

Pueden existir como ácidos carboxílicos libres o como ésteres formados por la condensación con ácidos hidroxílicos como el ácido quínico y tartárico, flavonoides o hidratos de carbono. También se encuentran como amidas formadas por la condensación del ácido progenitor con un aminoácido o una amina.

Su síntesis se produce por la vía del shikimate que da origen a aminoácidos aromáticos como la fenilalanina y la tirosina, los cuales son precursores de los ácidos hidroxicinámicos formados por deaminación de estos aminoácidos para originar la unidad C<sub>6</sub>C<sub>3</sub>.

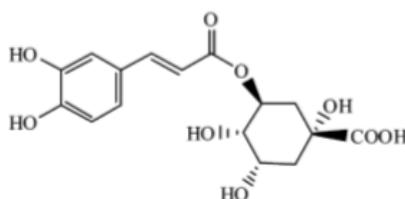
Son considerados importantes nutricionalmente por su actividad como antioxidantes naturales, derivada de su capacidad para donar átomos de hidrógeno y estabilizar los radicales producidos en la reacción. Aunque también poseen otras funciones como antialérgicos, antimicrobianos e inmunomodulares.

Están ampliamente distribuidos en el reino vegetal, encontrándose en la mayoría de familias de plantas, incluyendo especies consumidas como alimentos o bebidas, tales como frutas, verduras y semillas, y también en plantas de uso medicinal. Existen en la mayoría de tejidos con variedad de formas. Así los encontramos en formas de monómeros, dímeros o polímeros; o bien como ésteres formados por condensación con ácidos hidroxilos, alcoholes, mono o disacáridos o como amidas formadas por condensación con aminas (comunes en el café y en el cacao). En el caso de frutas y verduras es más común encontrar los ácidos hidroxicinámicos en forma soluble como ésteres simples, mientras que en forma insoluble son más comunes en los granos.

La ingesta dietética de este grupo de compuestos varía significativamente de manera individual, estimándose un consumo medio de 211 mg de ácidos hidroxicinámicos al día por persona. Las frutas contienen gran cantidad de este grupo de ácidos, especialmente la manzana, varias bayas, ciruelas, cerezas y algunos cítricos, aunque su concentración

depende del grado de madurez disminuyendo según aumenta esta. En la dieta la principal fuente es el café que constituye el 92% del ácido cafeico consumido y en segundo lugar se encuentran las frutas y los zumos de estas; además una buena fuente en estos compuestos es el vino tinto<sup>15</sup>.

Uno de los derivados del ácido cafeico es el **ácido clorogénico**<sup>16</sup>, este compuesto forma parte de un grupo de ácidos fenólicos con grupos hidroxilo en residuos aromáticos derivados de la esterificación del ácido cafeico con el ácido quínico (*Figura 12*). El mayor número de ácido clorogénico se encuentra en el café, aunque también aparece ampliamente en bebidas preparadas a partir de hierbas, frutas y verduras, pero el consumo de este tipo de bebidas es mucho menor que el del café. Los beneficios para la salud que se describen en muchos estudios epidemiológicos derivados del consumo de café, té, zumos de frutas y vegetales pueden estar relacionados, al menos en parte, con la presencia de ácido clorogénico en ellos. Alguna de las propiedades biológicas de estos compuestos incluye actividad antibacteriana, antiinflamatoria y antioxidante. En su actividad antioxidante actúan donando átomos de H<sub>2</sub> para reducir los radicales libres e inhibir las reacciones de oxidación, una vez donados los átomos de hidrógeno el ácido clorogénico se oxida a sus respectivos radicales fenoxilos que se estabilizan rápidamente. Sin embargo, no hay que olvidar que estos radicales pueden actuar de forma prooxidante en presencia de metales redox activos; dependiendo esta actividad de la capacidad reductora del metal, el comportamiento secuestrante y la capacidad de reducción del oxígeno.



*Figura 12. Estructura del ácido clorogénico<sup>15</sup>.*

La diferencia estructural entre el ácido cafeico y el ácido clorogénico hace que el efecto prooxidante sea mayor en el ácido cafeico<sup>16</sup>.

Otro de los derivados del ácido cafeico que posee actividad como antioxidante natural y se encuentra aislado en muchas especies de las familias *Lamiaceae* y *Boraginaceae* es el **ácido rosmarínico**, el cuál es además un componente activo de varias plantas medicinales derivadas de estas familias. Es un éster natural, soluble en agua, del ácido cafeico y el 3,4-dihidroxifenil ácido láctico (*Figura 13*). Posee diversas actividades biológicas como antimicrobiano, antimutagénico, antiangiogénico, antiinflamatorio, antineurodegenerativo, con efectos en la prevención de diferentes tipos de cáncer<sup>17</sup>, y

como antioxidante. Esta última función biológica se atribuye a su estructura química, especialmente a las estructuras catecol conjugadas con ácidos carboxílicos, y a la presencia de grupos hidroxilo en la posición orto del anillo aromático. Su actuación no depende de la dosis, ejerce un efecto antioxidante a bajas dosis y en cambio en dosis elevadas puede actuar de manera pro-oxidante como ocurre con otras sustancias antioxidantes<sup>18</sup>.

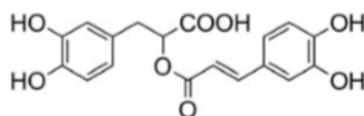


Figura 13. Estructura química del ácido rosmarínico<sup>18</sup>.

## b) Minerales antioxidantes

### ♦ Selenio<sup>19</sup>

Es un oligoelemento esencial que posee funcionalidad solapada con la vitamina E. Dentro del papel fisiológico del selenio, encontramos que está unido a metaloproteínas, algunas de las cuales poseen funciones biológicas esenciales. Así forma parte de la glutathion peroxidasa, enzima esencial en el sistema de defensa antioxidante celular. En relación a esta función antioxidante se ha observado que al aumentar los sustratos oxidables, aumentan los niveles séricos de este elemento en ancianos institucionalizados y cardiopatas. Además el selenio protege frente a la toxicidad de otros metales pesados y forma parte de enzimas implicadas en la síntesis de las hormonas tiroideas sulfatadas. Por último es capaz de sustituir el azufre en los aminoácidos azufrados (metionina, cisteína o cistationina).

Las fuentes dietéticas principales del selenio son los alimentos con alto contenido proteico, por lo que se encuentra en alimentos de origen animal como el pescado y mariscos, la carne y las vísceras; y en alimentos de origen vegetal como legumbres, frutos secos y cereales. Aunque estos últimos no son fuentes importantes debido a su escaso consumo general. Los factores que influyen en el contenido en selenio de los alimentos son: el tratamiento tecnológico, el cocinado (pérdida de hasta el 40%) o el contenido de selenio existente en los suelos de cultivo.

La absorción del selenio, según la forma en la que se encuentre, oscila entre un 50-100%, no viéndose afectada por el estado nutricional. La biodisponibilidad del selenio a partir de los alimentos se va a ver afectada por distintos factores: pH, potencial redox, componentes orgánicos e inorgánicos capaces de formar complejos con selenio o estado de oxidación del elemento.

La forma principal en las plantas es la selenometionina, que puede almacenarse en la reserva de metionina para su empleo en la síntesis de selenoproteínas o bien para catabolizarse liberando el selenio al pool metabólico. La forma en alimentos de origen animal es la selenocisteína que no se almacena sino que se cataboliza liberando el selenio directamente para su utilización en la síntesis de glutatión peroxidasa.

La deficiencia de selenio se ha ligado a dos patologías endémicas, en primer lugar a la enfermedad de Keshan (localizada en algunas zonas de China) que supone una cardiomiopatía que afecta a niños y mujeres en período fértil, y en segundo lugar encontramos la enfermedad de Kashin-Beck (China y Unión soviética), que es una osteoartropatía endémica que afecta a niños de entre 5-13 años. Además de las patologías citadas, el bajo estado nutricional en selenio se relaciona con enfermedades como el cáncer, enfermedades cardiovasculares o algunas patologías hepáticas, según se concluye en diferentes estudios.

Pero el selenio puede producir toxicidad si se toma en cantidades elevadas de manera crónica, esta toxicidad se debe probablemente a que este metal es un potente catalizador de la oxidación de grupos sulfhidrilo lo que puede ejercer un efecto inhibitorio de la síntesis de proteínas.

#### ♦ **Zinc**

El zinc es un ion hidrofílico de alta carga. Posee mecanismos especializados para su captación, transporte intracelular y liberación. La mayoría del zinc es absorbido en el intestino delgado a través de un proceso activo saturable que requiere gasto de ATP. La absorción está condicionada por diferentes factores que bien la estimulan, como es el caso de la histamina, metionina o cisteína; o bien la inhiben como ocurre con los fitatos y la fibra<sup>20</sup>.

El zinc actúa como un antioxidante. En general, el mecanismo antioxidativo puede dividirse en efectos agudos y crónicos. Los efectos agudos incluyen dos mecanismos, la protección frente a sulfhidrilos de proteínas y la reducción de la formación de radicales hidroxilo de peróxido de hidrógeno a través del antagonismo de los metales de transición con actividad redox como el hierro y el cobre. Los efectos crónicos, por su parte, implican la exposición de zinc de un organismo a largo plazo, dando como resultado la inducción de otras sustancias que actúan como antioxidante final, tales como las metalotioneínas<sup>21</sup>.

La deficiencia de zinc está asociada a trastornos en el crecimiento y desarrollo, en la inmunidad, la cicatrización, la regulación de la composición corporal y el apetito. El déficit nutricional de zinc aparece por un bajo consumo de alimentos de origen animal asociado a una dieta rica en fitatos y fibra. El exceso de zinc de origen nutricional es poco frecuente debido a su distribución en los alimentos y otros productos, en el caso de una suplementación excesiva, el zinc sobrante provoca interferencia en la absorción de hierro y cobre y estimula la actividad de la superóxido dismutasa<sup>20</sup>.

♦ **Hierro<sup>22</sup>**

Es un oligoelemento esencial necesario para una amplia variedad de funciones biológicas, desde el transporte de oxígeno y la oxidación mitocondrial hasta la síntesis de neurotransmisores y del ADN. Muchas proteínas del organismo precisan de una captación adecuada y suficiente de hierro para cubrir las necesidades celulares y del organismo, además las proteínas transportadoras de este elemento deben captarlo para evitar que reaccione con especies del oxígeno y produzca radicales libres dañinos para el organismo.

La entrada de hierro al organismo se produce por vía digestiva a nivel del duodeno y yeyuno, su absorción es producto de la ingesta y la biodisponibilidad del hierro dietético, suplementario o contaminante. La cantidad absorbida depende de los depósitos, la actividad eritropoyética, cantidad y presentación en los alimentos e interacción con otros componentes de la dieta. Podemos encontrar el hierro en la dieta en dos formas, por un lado el hierro hemo, que es más biodisponible y muy poco influenciado por otros componentes de la dieta a excepción de la carne que estimula su absorción y el calcio que la inhibe, y por otro lado encontramos el hierro no hemo, inorgánico y menos biodisponible que el hierro hemo estando afectada su absorción por factores como el ácido clorhídrico, el ácido ascórbico, azúcares y aminoácidos de manera positiva, y por fosfatos, fitatos, oxalatos, tanatos, productos de la soja y diversas fibras dietéticas de manera negativa.

La deficiencia de hierro sigue siendo el déficit nutricional más frecuente en los países industrializados a pesar de las mejoras de la dieta, esta carencia se produce como consecuencia de un aporte insuficiente, un mayor consumo por aumento de los requerimientos o por pérdidas excesivas, todo ello se traduce en anemia que repercute funcionalmente al transporte de oxígeno, el metabolismo oxidativo y nuclear y a la transcripción génica. El exceso de hierro, incluso en pequeñas cantidades, se identifica cada vez con mayor frecuencia como un importante cofactor en la morbilidad atribuida

a múltiples patologías, por la producción de radicales libres a través de la reacción de Fenton:  $\text{Fe}^{2+} + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{OH}^\cdot + \text{OH}^\cdot + \text{Fe}^{3+}$ .

Así las terapias empleadas para el tratamiento de la anemia, tanto por vía oral como intravenosa, pueden producir estrés oxidativo. La administración de sales ferrosas conlleva una elevada saturación de transferrina, y por tanto, formación de hierro libre, compuesto potencialmente tóxico en la inducción de estrés oxidativo<sup>23</sup>.

#### ♦ **Manganeso** <sup>19</sup>

Este oligoelemento es un constituyente de varias enzimas y activador de muchas otras. En concreto forma parte de la superóxido dismutasa mitocondrial, fundamental en el sistema de defensa antioxidante celular, y también forma parte de la piruvato carboxilasa, clave en el proceso gluconeogénico de la arginasa, la fosfoenolpiruvato carboxikinasa, la acetil-CoA carboxilasa y la tirosina sulfotransferasa entre otras enzimas.

Así pues, se relaciona al manganeso con la formación de tejido conjuntivo esquelético y por lo tanto con la formación de hueso, el crecimiento y la reproducción, así como con el metabolismo de hidratos de carbono, lípidos y aminoácidos.

Se encuentra en concentraciones importantes en cereales, legumbres, frutos secos y granos enteros; y en pequeñas en carnes, productos lácteos y pescados. Las verduras y las frutas tienen unas cantidades intermedias de este elemento, y en cambio el café y el té presentan concentraciones relativamente altas, pudiendo constituir hasta el 10% de la ingesta diaria en algunas personas.

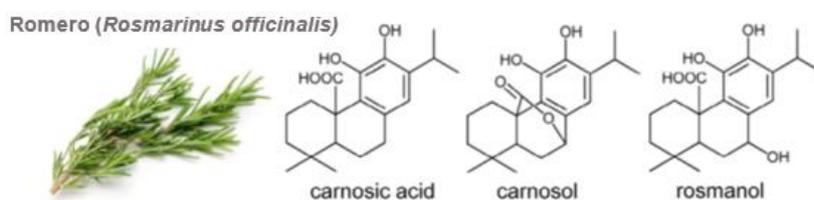
La absorción del manganeso en el ser humano es muy baja, oscilando entre un 1-16%, y se encuentra inhibida por el hierro, la fibra dietética y sobre todo el ácido fítico, reduciendo aún más su biodisponibilidad.

La escasez de manganeso en la dieta y en consecuencia un bajo estado nutricional en este elemento se ha relacionado con osteoporosis, diabetes, epilepsia, aterosclerosis y falta de cicatrización de heridas. El manganeso es el menos tóxico de los alimentos traza por vía oral, en el hombre no existe constancia de intoxicaciones asociadas a la ingesta dietética aunque sí se conocen por sobreexposición a altos niveles en el aire y humos (locura del manganeso).

## 7. Otros antioxidantes de alimentos y especias

En este apartado del trabajo nos centramos en compuestos que poseen actividad antioxidante presentes de forma minoritaria en la dieta que no han sido mencionados previamente, más concretamente hablaremos de los **terpenos**, el **resveratrol**, la **epicatequina**, extractos del té verde, específicamente del **epigallocatequina galato**, el **eugenol** y la **curcumina**.

El romero (*Rosmarinus officinalis*) es una hierba aromática perenne de la familia *Lamiaceae*, abundante en la región Mediterránea lo que le otorga un papel importante dentro de la dieta mediterránea como especia y agente saborizante. En la medicina tradicional ha sido empleada en el tratamiento de variedad de trastornos por sus actividades antimicrobianas, antiinflamatorias y especialmente por sus actividades antioxidantes. Los extractos del romero están constituidos por diferentes compuestos, entre otros aceites volátiles, flavonoides, polifenoles y **terpenos**. Los terpenos se componen de dos bloques de cinco carbonos (C5) también llamados isoprenoides, en base a los cuales son clasificados como monoterpenos (C10), diterpenos (C20) y triterpenos (C30). Estos compuestos son conocidos por diferentes funciones biológicas entre las que destaca su uso en el tratamiento y prevención de diferentes cánceres. La mayor actividad antioxidante del extracto de romero se atribuye en más del 90% a sus componentes principales (*Figura 14*), el ácido carnosico y el carnosol, pero también es común encontrar otros diterpenos como el rosmanol, epirosmanol, isorosmanol y 7-metil-epirosmanol<sup>17</sup>.



*Figura 14. Estructura química de los diterpenos del romero<sup>15</sup>.*

El **resveratrol** (3,5, 4-trihidroxiestilbeno) es una pequeña molécula polifenólica presente en muchos alimentos de origen vegetal que ha adquirido un gran interés desde el descubrimiento de su elevado contenido en el vino tinto y sus beneficios potenciales. Se ha encontrado que el resveratrol en el vino (hasta 30 mg / L) inhibe la oxidación de lipoproteínas de baja densidad, un paso importante en el desarrollo de enfermedades coronarias. Además, se ha demostrado que la suplementación dietética del resveratrol ejerce efectos beneficiosos en diversas otras enfermedades crónicas y el envejecimiento. En los seres humanos, todavía no hay evidencia sólida de que la ingesta de resveratrol pueda prolongar la vida, pero los resultados de varios estudios

relativamente a corto plazo concluyen que el resveratrol mejora la resistencia a la insulina, el flujo de sangre, y varios episodios cardiovasculares, así como la disminución del estrés oxidativo y la inflamación lo que puede indicar una acción antienvjecimiento<sup>14</sup>.

La **epicatequina** es un flavanol, se puede encontrar en diversos alimentos siendo el grano de cacao el que posee mayores niveles. Se ha informado de un incremento en la vida útil de ratas de edad avanzada por un consumo a largo plazo de extracto de cacao, lo que se relaciona con este compuesto. Además, la vida útil extendida por epicatequina dietética puede estar asociada con una reducción de los marcadores de inflamación sistemáticos y el colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad en suero, el aumento del glutatión antioxidante hepático y la concentración de la actividad total de la superóxido dismutasa, la disminución del factor de crecimiento IGF-1 y la actividad mejorada de proteína activada por AMP quinasa- $\alpha$  en el hígado y el músculo esquelético, todos los cuales son biomarcadores que están asociados con una esperanza de vida más larga y saludable<sup>14</sup>.

El té es una de las bebidas más consumidas en el mundo y el interés en las propiedades del extracto de té verde se ha incrementado rápidamente por sus potenciales efectos beneficiosos sobre enfermedades crónicas y neurodegenerativas. El **epigallocatequina galato**, es el principal componente bioactivo del té verde y está siendo estudiado por su posible efecto antienvjecimiento aunque de momento sólo se han realizado estudios con roedores u organismos inferiores sin resultados concluyentes. En humanos los estudios son escasos<sup>14</sup>.

Las especias se utilizan en preparaciones alimenticias no sólo como agentes saborizantes y aromáticos, sino también por sus propiedades medicinales. Los principios activos, en su mayoría compuestos fenólicos, son responsables del sabor, el aroma y el valor medicinal de las especias<sup>24</sup>.

Una de estas especias es el clavo (*Syzygium aromaticum*) un capullo perteneciente a la familia *Myrtaceae*. Es una especia de consumo habitual, entera o en polvo, de color marrón oscuro y olor intenso. Se ha empleado desde hace siglos como tratamiento de enfermedades inducidas por estrés oxidativo, debido a la abundancia de compuestos bioactivos volátiles como el eugenol y no volátiles como polifenoles, taninos, terpenos, triterpenos y esteroides<sup>25</sup>. Los responsables de las propiedades antioxidantes y antimicrobianas del clavo son los compuestos volátiles, que se encuentran en

cantidades considerables. El **eugenol** es el componente fenólico volátil mayoritario en el clavo y posee una estructura 4-alil-2-metoxifenol (Figura 15).

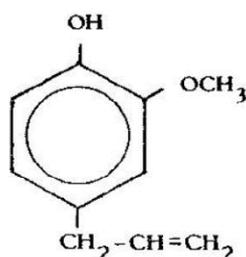


Figura 15. Estructura química del eugenol<sup>24</sup>.

Junto a la actividad antioxidante ha demostrado tener actividad antimicrobiana frente a patógenos alimentarios y bacterias como *Salmonella typhimurium*, *Listeria monocytogenes* y frente a hongos, como *Candida albicans*<sup>26</sup>. Su actividad antioxidante ha sido demostrada en diferentes estudios a través de diferentes técnicas de determinación de capacidad antioxidante, la más empleada es el método DPPH<sup>24,25,26,27</sup> y otras como TEAC<sup>i</sup>, FRAP<sup>ii</sup>, ORAC<sup>iii</sup>, HRSA<sup>iv</sup> y SRSA<sup>v</sup><sup>28</sup>.

Otros compuestos fenólicos volátiles que otorgan capacidad antioxidante a las especias que los contienen son el thymol y el carvacrol, constituyentes principales del tomillo y el orégano respectivamente<sup>26</sup>.

La especie *Curcuma longa* L., de la familia de las zingiberáceas, es una planta de origen asiático cuyo rizoma de color naranja vivo bajo una fina película marrón clara es usado comúnmente como una especia en la cultura asiática. El extracto de cúrcuma es rico en una sustancia fenólica, la **curcumina**, que presenta una potente acción antioxidante a través de la eliminación principalmente el radical hidroxilo, el oxígeno singulete, el dióxido de nitrógeno y el óxido nítrico, e inhibe la generación del radical superóxido. Otro de sus mecanismos antioxidantes reside en la capacidad de quelar iones metálicos necesarios para iniciar el proceso de peroxidación<sup>10</sup>. Además posee propiedades antiinflamatorias, que junto a la actividad antioxidante pueden contribuir a su potencial efecto antienvjecimiento<sup>14</sup>.

## 8. Efectos del procesamiento y manipulación culinaria en el contenido de antioxidantes

Las frutas y las verduras son los alimentos que más contribuyen a la ingesta de antioxidantes, aunque pueden consumirse en su forma fresca muchas son consumidas

---

<sup>i</sup> TEAC: Trolox equivalent antioxidant capacity assay

<sup>ii</sup> FRAP: Ferric reducing antioxidant power assay

<sup>iii</sup> ORAC: Oxygen radical absorbance capacity assay

<sup>iv</sup> HRSA: Hydroxyl radical scavenging activity

<sup>v</sup> SRSA: Superoxide radical scavenging activity

después de ser cocinadas por lo que es importante conocer qué ocurre con el contenido de antioxidantes durante estos procesos. Así dependiendo de la verdura en cuestión, la cocción a la plancha y al microondas producen las mínimas pérdidas, mientras que la cocción por presión y el hervido ocasionan las mayores pérdidas, dejando a las frituras en una posición intermedia<sup>29</sup>.

En el caso específico de los compuestos fenólicos, se ha observado, que la mejor técnica culinaria para preservar el contenido de estos compuestos en el alimento es la cocción por vapor. Con este método de cocción el tejido del alimento no se encuentra en contacto directo con el vehículo de calor, agua o aceite, la temperatura no excede los 95°C y la difusión de los compuestos hidrofílicos en el agua es mínima.

Por otro lado, en el caso de los carotenos las cocciones por hervido prolongado muestran un efecto positivo en la extracción de estos compuestos<sup>28</sup>, porque destruye la asociación a la proteína a la que inicialmente están unidos. El procesamiento inadecuado de los alimentos también puede producir pérdidas vitamínicas, ya que la vitamina A se destruye a temperaturas moderadas en presencia de oxígeno, de elementos de transición como el hierro férrico y el cobre cúprico, que favorecen su oxidación, así como en pH ácido. La degradación oxidativa se debe principalmente a que los dobles enlaces de la vitamina A preformada, así como de los carotenoides, son muy susceptibles a la oxidación. Además, la deshidratación reduce el caroteno presente en zanahorias, brócoli y espinacas, principalmente debido a que este proceso favorece los procesos oxidativos durante el almacenamiento. El enlatado de las verduras, por su parte, puede provocar la conversión de trans-carotenoides en sus isómeros cis, que poseen una menor actividad biológica.

Por su parte la vitamina C es la que se destruye más fácilmente durante el procesamiento y la conservación, produciéndose incluso pérdidas totales durante la manipulación culinaria. La refrigeración y la conservación ayudan a retener la vitamina, mientras que la preelaboración de los alimentos que la contienen, por modificación de la situación estructural del alimento y activación de enzimas hidrolíticas, y la luz, la inactivan. Sus concentraciones se reducen por el efecto del calor y el almacenamiento, a mayores períodos mayores pérdidas.

Al igual que en el resto de compuestos se producen pérdidas en el contenido de vitamina E en los alimentos durante el procesamiento, almacenaje y preparación de los mismos. Encontrando las mayores pérdidas durante los tratamientos térmicos, puesto que son en los que existe mayor contacto con el calor y el oxígeno.

Los minerales son muy estables a la acción de los tratamientos tecnológicos aplicados a los alimentos. Sin embargo, la interacción de algunos elementos con otros nutrientes, como las proteínas o la fibra alimentaria, puede alterar su biodisponibilidad.

Con respecto a la biodisponibilidad, juegan un papel importante las enzimas digestivas y la microbiota bacteriana cuya acción combinada hace que algunos fitoquímicos que no han sido liberados por las técnicas de extracción para su análisis químico sean biodisponibles en el intestino. El cocinado puede afectar tanto a la extracción como a la biodisponibilidad de los compuestos, pero la cantidad y la naturaleza de estos, puede diferir cuantitativa y cualitativamente de los valores obtenidos en la extracción química<sup>30</sup>.

## 9. Dietas Antiaging

El envejecimiento se caracteriza fisiológicamente como una disfunción progresiva sistemática, generalizada de casi todos los órganos, dando lugar a un aumento de la vulnerabilidad frente a los cambios medioambientales y que resulta en un mayor riesgo de enfermedad y muerte. De hecho, el envejecimiento en los seres humanos está relacionado con un gran aumento de la incidencia de enfermedades degenerativas. Tanto las enfermedades crónicas como el envejecimiento están asociados con un aumento del metabolismo y el estrés oxidativo, inflamación leve, y la acumulación de mutaciones del ADN así como el incremento del daño a este.

Si bien no existe un mecanismo unificado que subyace al proceso de envejecimiento, existe evidencia que indica que el aumento de la generación de radicales libres del oxígeno es uno de los principales factores desencadenantes del envejecimiento, existiendo una fuerte correlación entre la edad cronológica y los niveles de generación de radicales libres y el daño oxidativo de los tejidos. Por todo ello y dado que el estrés oxidativo inducido por radicales libres juega un papel clave en la conducción del proceso de envejecimiento, la reducción de estos se propone como estrategia principal para retrasar el envejecimiento y las enfermedades degenerativas relacionadas, adquiriendo importancia todos los compuestos previamente explicados que poseen actividad antioxidante frente a los radicales libres<sup>14</sup>.

Curiosamente, parece que los mecanismos que median los efectos antienvjecimiento se comparten por la restricción calórica, lo que sugiere que la intervención nutricional con estos componentes de los alimentos puede ser una alternativa y una estrategia más viable para promover el envejecimiento saludable en los seres humanos.

Así tratamos el concepto de dieta antiaging o antienvjecimiento que consiste en una dieta de mantenimiento para toda la vida, con el fin de obtener resultados en vista a retrasar la edad biológica para que sea inferior a la edad cronológica, prolongar la vida al máximo pero con la máxima calidad, prevenir enfermedades y mejorar la vitalidad y la energía. La pirámide de la doctora Gloria Sabater, resume lo que constituye una dieta antiaging ideal, se constituye con frutas y verduras en la base, en particular brócoli y germinados, sin olvidar los beneficios del ajo, y muchas frutas rojas. Pescado y frutos secos ocupan el segundo plano, junto con los cereales, a los que se añaden los calamares en el tercer nivel y el aceite de oliva. El aguacate y los huevos vendrían antes que los lácteos. Y la carne en la punta de la pirámide, junto a los azúcares y la grasa saturada. Este tipo de dietas no deja de lado el ejercicio ni el agua, colocándoles en un primer nivel<sup>31</sup>.

## CONCLUSIONES

---

- ❖ Una de las mejores medidas de protección frente a la oxidación por los radicales libres es la ingestión de antioxidantes, siendo los alimentos de origen vegetal una buena fuente de estas sustancias.
- ❖ Existen diferentes métodos para determinar la capacidad antioxidante y antirradicalaria siendo los más empleados en investigación el método CUPRAC y el método del radical DPPH.
- ❖ Es necesaria la actuación conjunta de los sistemas endógenos y la ingesta de antioxidantes exógenos para lograr una correcta defensa antioxidante.
- ❖ Los antioxidantes presentan una respuesta hormética, lo que indica que presentaran efectos “favorables” a dosis bajas mientras que a dosis altas los efectos pueden ser “desfavorables”.
- ❖ Los alimentos de origen vegetal otorgan agentes reguladores con capacidad antioxidante a la dieta, dentro de los cuales se destacan las vitaminas A, C y E, y agentes reguladores no vitamínicos como los minerales selenio, zinc, manganeso y hierro y compuestos fenólicos como flavonoides y ácidos fenólicos.
- ❖ Además de la energía y los micronutrientes esenciales, los alimentos de origen vegetal contienen multitud de fitoquímicos con actividad antioxidante.
- ❖ La ingesta dietética de antioxidantes, se realiza principalmente a través del consumo de frutas y verduras, siendo necesaria la manipulación de estos alimentos para su consumo lo que origina cambios en el contenido de antioxidantes de forma positiva con una mejor disponibilidad o negativa por la pérdida de estos compuestos y su función.
- ❖ Como consecuencia de la relación directa entre el estrés oxidativo y el envejecimiento, la intervención nutricional a través de una dieta rica en alimentos con un elevado contenido en antioxidantes se postula como una estrategia viable para proporcionar un envejecimiento saludable en los seres humanos, acompañado de un estilo de vida sano.

## BIBLIOGRAFÍA

---

1. Venereo Gutiérrez Justo R. Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes. *Rev Cub Med Mil.* 2002;31( 2 ): 126-133.
2. Santhakumar AB, Bulmer AC, Singh I. A review of the mechanisms and effectiveness of dietary polyphenols in reducing oxidative stress and thrombotic risk. *J Hum Nutr Diet.* 2014;27(1):1-21.
3. Girbés T, Jiménez P, Córdoba M, Córdoba D, Tejero J. Manual docente de métodos espectrofotométricos de análisis de polifenoles y de la actividad antioxidante en alimentos o medicamentos. 1a ed. España: CERSA Editorial, 2014.
4. W. Brand-Williams, M. E. Cuvelier, C. Berset. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm.-Wiss. u.-Technol.* 1995;28: 25-30.
5. Martínez M. Estrés oxidativo y mecanismos de defensa antioxidante. En: Gil A. Sánchez F. *Tratado de Nutrición: Bases Fisiológicas y Bioquímicas de la Nutrición.* Vol 1. 1a ed. Madrid: Médica Panamericana; 2005. p 623-657.
6. Mattson MP. Hormesis Defined. *Ageing Res Rev.* 2008;7(1): 1–7.
7. Coro I, Sagredo E. Investigación en la literatura científica de conceptos que respaldan el principio homeopático de dosis mínima. *Rev Med Homeopat.* 2012;5(3):106-112.
8. Calabrese EJ, Iavicoli I, Calabrese V. Hormesis: why it is important to biogerontologists. *Biogerontology.* 2012;13:215–235.
9. Ortega RM, MMena MC, Carvajales PA. Vitamina A. En: Gil A. Sánchez F. *Tratado de Nutrición: Bases Fisiológicas y Bioquímicas de la Nutrición.* Vol 1. 1a ed. Madrid: Médica Panamericana; 2005. p 755-787
10. Ramírez MC, Quiles JL. Vitamina C, vitamina E y otros antioxidantes de origen alimentario. En: Gil A. Sánchez F. *Tratado de Nutrición: Bases Fisiológicas y Bioquímicas de la Nutrición.* Vol 1. 1a ed. Madrid: Médica Panamericana; 2005. p 657-694
11. Niki E. Evidence for beneficial effects of vitamin E. *Korean J Intern Med* 2015;30:571-579.
12. Camarena V, Wang G. The epigenetic role of vitamin C in health and disease. *Cell. Mol. Life Sci.* 2016;73: 1645–1658.
13. Xia, E.-Q., Deng, G.-F., Guo, Y.-J., Li, H.-B. Biological Activities of Polyphenols from Grapes. *Int. J. Mol. Sci.* 2010;11, 622-646.

14. Si H, Liu D. Dietary antiaging phytochemicals and mechanisms associated with prolonged survival. *Journal of Nutritional Biochemistry*. 20014: 25(6); 581 – 591.
15. El-Seedi HR, El-Said AM, Khalifa SA, Göransson U, Bohlin L, Borg-Karlson AK, et al. Biosynthesis, natural sources, dietary intake, pharmacokinetic properties, and biological activities of hydroxycinnamic acids. *J Agric Food Chem*. 2012;60(44): 10877-95.
16. Liang N, Kitts DD. Role of Chlorogenic Acids in Controlling Oxidative and Inflammatory Stress Conditions. *Nutrients*. 2016;8(1):16.
17. Petiwala SM, Johnson JJ. Diterpenes from rosemary (*Rosmarinus officinalis*): Defining their potential for anti-cancer activity. *Cancer Lett*. 2015;367(2):93-102.
18. Xu W, Yang F, Zhang Y, Shen X. Protective effects of rosmarinic acid against radiation-induced damage to the hematopoietic system in mice. *J Radiat Res*. 2016.
19. Navarro M, Gil F, Gil A. Selenio, manganeso, cromo, molibdeno, yodo y otros oligoelementos minoritarios. En: Gil A. Sánchez F. *Tratado de Nutrición: Bases Fisiológicas y Bioquímicas de la Nutrición*. Vol 1. 1a ed. Madrid: Médica Panamericana; 2005. p 997-1036
20. Olivares M, Castillo C, Arredondo M, Uauy R. Cobre y zinc en nutrición humana. En: Gil A. Sánchez F. *Tratado de Nutrición: Bases Fisiológicas y Bioquímicas de la Nutrición*. Vol 1. 1a ed. Madrid: Médica Panamericana; 2005. p 973-996
21. Powell SR. The antioxidant properties of zinc. *J Nutr*. 2000;130(5S Suppl):1447S-54S.
22. Muñoz A, Molina A. Hierro. En: Gil A. Sánchez F. *Tratado de Nutrición: Bases Fisiológicas y Bioquímicas de la Nutrición*. Vol 1. 1a ed. Madrid: Médica Panamericana; 2005. p 927-972
23. Koskenkorva-Frank TS1, Weiss G, Koppenol WH, Burckhardt S. The complex interplay of iron metabolism, reactive oxygen species, and reactive nitrogen species: insights into the potential of various iron therapies to induce oxidative and nitrosative stress. *Free Radic Biol Med*. 2013;65: 1174-94.
24. Nagababu E1, Rifkind JM, Boindala S, Nakka L. Assessment of antioxidant activity of eugenol in vitro and in vivo. *Methods Mol Biol*. 2010;610:165-80.
25. Adefegha, SA, Oboh G., Oyeleye SI, Osunmo K. Alteration of starch hydrolyzing enzyme inhibitory properties, antioxidant activities, and phenolic profile of clove buds (*Syzygium aromaticum* L.) by cooking duration. *Food Sci Nutr*. 2016; 4(2): 250–260.

26. Hamed SF, Sadek Z, Edris A. Antioxidant and antimicrobial activities of clove bud essential oil and eugenol nanoparticles in alcohol-free microemulsion. *J Oleo Sci.* 2012;61(11):641-8.
27. Sharma UK, Sharma AK, Pandey AK. Medicinal attributes of major phenylpropanoids present in cinnamon. *BMC Complement Altern Med.* 2016;16(1):156.
28. Suantawee T, Wesarachanon K, Anantsuphasak K, Daenphetploy T, Thien-Ngern S, Thilavech T et al. Protein glycation inhibitory activity and antioxidant capacity of clove extract. *J Food Sci Technol.* 2015;52(6):3843-50.
29. Jiménez-Monreal AM, García-Diz L, Martínez-Tomé M, Mariscal M, Murcia MA. Influence of cooking methods on antioxidant activity of vegetables. *J Food Sci.* 2009;74(3):97-103.
30. Palermo M, Pellegrini N, Fogliano V. The effect of cooking on the phytochemical content of vegetables. *J Sci Food Agric.* 2014;94(6):1057-70.
31. Muntané MD. *Dietética antiaging y anticáncer.* 1a ed. España: Ediciones Díaz de Santos, 2009. p 161-168