

INFORMACION

Actividad antioxidante de los compuestos fenólicos

Por R. Maestro Durán y R. Borja Padilla

Instituto de la Grasa y sus Derivados (C.S.I.C.). Apartado 1078. 41012 - Sevilla. España.

RESUMEN

Actividad antioxidante de los compuestos fenólicos.

Este trabajo recoge los estudios sobre los mecanismos de oxidación producida por la luz y el oxígeno del aire y sobre la protección de los compuestos antioxidantes contra esta oxidación. Se han revisado los datos existentes sobre los inconvenientes de los antioxidantes sintéticos, que aconsejan sustituirlos por otros naturales y sobre la presencia de antioxidantes naturales de carácter fenólico en las plantas. Los antioxidantes fenólicos se han agrupado por familias: alcoholes y ácidos fenólicos, ácidos cinámicos, cumarinas, flavonoides (flavonas e isoflavonas, flavonoles, flavanonas) y otros compuestos fenólicos.

PALABRAS-CLAVE: Antioxidante - Compuestos fenólicos - Información (artículo).

SUMMARY

Antioxidant activity of phenolic compounds.

This review deals with the oxidation processes induced by light and atmospheric oxygen, as well as the protective action on antioxidant compounds. The available data on the synthetic antioxidants and the problems associated to their use, together with the presence of natural phenolic antioxidants in plants, have been revised. These phenolic antioxidants have been classified in families: phenolic alcohols and acids, cinnamic acids, coumarins, flavonoids (flavones and isoflavones, flavonols, flavanones) and other phenolic compounds.

KEY-WORDS: Antioxidant - Information (paper) - Phenolic compounds.

1. INTRODUCCION.

Los antioxidantes, tanto sintéticos como naturales, se añaden a aceites y grasas, así como a los alimentos, para prevenir la formación de colores y sabores no deseables y de otros compuestos que se originan en la oxidación de los lípidos. Entre los antioxidantes sintéticos, los más empleados son el ter-butil-hidroxi-tolueno (BHT), el ter-butil-hidroxi-anisol (BHA) y la ter-butil-hidroxi-quinona (TBHQ). Se estima que la vida útil de muchos productos alimentarios aumenta entre un 15 y un 200 % por el empleo de antioxidantes. El Departamento de Defensa de los Estados Unidos está muy interesado en aumentar el tiempo que pueden estar almacenados sin deteriorarse los alimentos enlatados para raciones militares, que necesitan períodos de almacenamiento de años (Kramer, 1985).

Los antioxidantes sintéticos citados presentan bastantes inconvenientes. Para empezar son bastante volátiles y se descomponen con facilidad a temperaturas altas, por lo que no son satisfactorios en alimentos como patatas fritas. En aceites vegetales refinados, estos compuestos no evitan la reversión, que produce un flavor no agradable (Chang, 1975). Algunos alimentos, como tallarines y fideos estabilizados con TBHQ desarrollan un fuerte olor a rancio.

Desde hace bastantes años se ha trabajado mucho en comprobar la seguridad de los antioxidantes sintéticos para alimentos, cuyo uso ha sido regulado y restringido en muchos países, ya que se comprobó que niveles altos de BHT, BHA y TBHQ producen un aumento significativo del peso del hígado y una marcada proliferación del retículo endoplasmático. Otras alteraciones señaladas han sido una disminución del crecimiento y caída del pelo en ratas, hiperplasia de las células epiteliales de los pliegues del estómago y un efecto tóxico en células de mono por parte del BHT (Hirose, 1986). Otros estudios indican que el BHT puede ocasionar daños en otros órganos, como los pulmones y la mucosa gastro-intestinal (Branen, 1975). Por estas razones ha sido eliminado de la lista de aditivos para alimentos considerados como seguros (GRAS) (Federal Regist., 1977).

Ante la creciente oposición al empleo de antioxidantes sintéticos en la alimentación, las investigaciones se han dirigido a encontrar productos naturales con actividad antioxidante, lo cual permitirá sustituirlos o, por lo menos, disminuir la cantidad necesaria para proteger los alimentos.

En los años sesenta se aisló del romero (*Rosmarinus officinalis*) un antioxidante natural que más adelante fue identificado como carnosol (Wu, 1982). Es un diterpeno fenólico, y otro compuesto de estructura similar que recibió el nombre de rosmanol (Inatani, 1982).

En un trabajo de Hsu (1981) se describen los efectos antioxidantes sobre el aceite de soja refinado antes y después de freír a 180°C, de más de treinta hierbas.

Como el romero era la planta cuyos extractos poseían la mayor actividad antioxidante en muchos sustratos grasos, fue estudiada por muchos investigadores y se registraron varias patentes: una para obtener una fracción antioxidante extrayendo la planta con un aceite (Bernier, 1973), otra por un proceso de extracción seguido de una destilación a

vacío (Chang, (1976) y otra por destilación molecular en dos etapas (Bracco, 1981).

Las semillas de salvia han sido un componente importante en la alimentación de los indios de Méjico y Estados Unidos. Estas semillas tienen entre un 25 y un 35% de un aceite muy rico en ácidos grasos poliinsaturados y, a pesar de ello, extraordinariamente estable, lo cual debe atribuirse a los compuestos antioxidantes presentes en la semilla (Earle, 1960).

A partir de los años setenta se han estudiado extractos de numerosas plantas. Entre ellas están el sésamo (Lyon, 1972), limón (Haymon, 1976), naranja (Willians, 1983), orujo de aceituna (Sheabar, 1988), soja (Hammerschmidt, 1978), osbeckia (Su, 1988), clavo (Kramer, 1985), ajo, cebolla, albahaca y perejil (Pizzocaró, 1985), hojas de té y café (Kroyer, 1989), alfalfa (Araujo, 1985), cacahuete y tomillo (Miura, 1989 a).

2. MEDIDAS DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE.

La actividad antioxidante de los extractos de plantas y de los compuestos aislados de ellos se ha medido de muy diversas maneras: aumento de la estabilidad de diversos aceites, como maíz (Fukuda, 1986), palma, (Aoyama, 1987), manteca (Aoyama, 1988), margarina, (Aoyama, 1986), sebo (Aoyama, 1988), girasol (Servili, 1989), oliva, (Kajimoto, 1986), coco, cacahuete y mantequilla, copos de cereales (Burri 1989), microsomas de hígado de rata (Gordienko, 1988), lipoproteínas de baja densidad (Whalley, 1990), membranas de cloroplastos (Wagner, 1988), inhibición de radicales libres (Brasseur, 1986) o membranas de liposomas (Niki, 1985).

3. TOXICIDAD DEL OXIGENO Y DE LA LUZ.

Desde hace más de cien años se ha reconocido al oxígeno como el principal agente responsable del deterioro de los materiales orgánicos expuestos al aire. El oxígeno desempeña un doble papel. Por un lado es un elemento necesario para muchas formas de vida y por otro es un agente destructivo, tóxico, en determinadas circunstancias, para las células. Esto se conoce desde hace mucho menos tiempo.

De forma similar, la luz es esencial para las plantas, ya que los pigmentos fotosintéticos absorben energía de los fotones de longitud de onda del visible y emplean esta energía en la fijación del carbono. Pero la luz solar tiene fotones energéticos de longitudes de onda más corta, del ultravioleta. Estos fotones son potencialmente perjudiciales a causa de sus interacciones destructivas con muchas moléculas celulares, como aminoácidos de proteínas, bases de ácidos nucleicos y lípidos de membranas. Se sabe sobradamente que la luz intensa perturba los procesos metabólicos de las plantas, como la fotosíntesis, la respiración, la asimilación de glucosa y la fosforilación (Larson, 1988). Aproximadamente el 4% de la energía total de la luz solar está contenida en la región UV (longitudes de onda

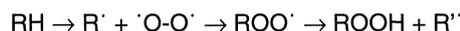
menores de 400 nm). La intensidad de la radiación UV en la superficie de la Tierra varía mucho según la estación, la hora del día, la latitud, la altura, el espesor de la capa de ozono y el estado del tiempo. Hay que distinguir entre la región UV-A (400-320 nm) y la UV-B (320-290 nm). En ambos casos son similares los mecanismos fundamentales del daño fotoquímico, aunque las moléculas afectadas (cromóforos) son diferentes. Hay muchos trabajos sobre los efectos fisiológicos perjudiciales en plantas expuestas a altos niveles de UV-B, que aumentan cuando disminuye la concentración de ozono en la estratosfera. Las diferentes susceptibilidades de las plantas a la luz UV es un factor decisivo en las relaciones de competitividad en ecosistemas terrestres (Gold, 1983).

Los daños fotoquímicos en las células empiezan por la captación de la energía electrónica de un fotón por una molécula capaz de absorber energía UV. Normalmente, la energía absorbida pasa a la molécula que ha servido de blanco de su estado normal a otro excitado electrónicamente. El exceso de energía se manifiesta en una configuración electrónica diferente, un singulete, que a menudo es inestable. También puede reaccionar con una molécula vecina, aunque esto no es fácil, ya que el singulete tiene una vida demasiado corta para que pueda desplazarse hasta una molécula vecina. También puede haber un reagrupamiento interno y alcanzar un estado excitado de triplete, que tiene una vida más larga y es más fácil que reaccione con una molécula vecina. Un camino para la formación de una especie dañina a partir de un triplete es la transferencia de energía a una molécula de oxígeno, resultando un oxígeno singulete: $^1\text{O}_2$. Los ácidos grasos poliinsaturados pueden reaccionar también, aunque a velocidades menores, que aumentan con el número de dobles enlaces de la molécula (Knox, 1984) para formar hidroperóxidos de lípidos.

Estos peróxidos contribuyen mucho a los daños y disfunciones en las células y en los orgánulos de las membranas. Este tema ha sido revisado por Knox (1985).

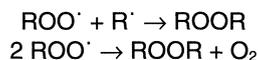
Hay otra ruta no fotoquímica de daños celulares en las plantas, que tiene lugar por interacción del oxígeno con radicales libres que se forman en el metabolismo anaerobio normal, para producir otros radicales libres nuevos conteniendo oxígeno, potencialmente nocivos.

El oxígeno en esta forma tiene dos electrones desapareados: es un triplete con un marcado carácter de dirradical. Esto le permite entrar en una reacción en cadena con dos radicales libres orgánicos.



La formación de radicales libres orgánicos R^\cdot a partir de precursores no radicales se llama fase inicial de la autooxidación. Este proceso suele ser bastante lento. En la fase de propagación se forman radicales peróxido ROO^\cdot , que posteriormente reaccionan con compuestos con hidrógeno reactivo ($\text{R}'\text{H}$). Los nuevos radicales R^\cdot continúan la reacción con oxígeno molecular. Finalmente, cuando todo el oxígeno o las moléculas con hidrógeno han reaccionado, empieza la fase de terminación. En ésta, los radicales

se combinan entre sí para dar productos no radicales, inactivos.



Los químicos orgánicos de síntesis han creado inhibidores muy efectivos contra los daños oxidativos en caucho, combustibles hidrocarbonados, plásticos, alimentos y muchos otros materiales. En principio, las reacciones en cadena de radicales libres pueden ser inhibidas añadiendo productos que retardan la formación de radicales libres, o introduciendo sustancias que reaccionan con los radicales libres ya existentes, retirándolos de la reacción. Un ejemplo del primer mecanismo es la adición de carbón al caucho para evitar la penetración de la luz en el producto. La mayor parte de las investigaciones, sin embargo, se han dirigido hacia el segundo mecanismo, añadiendo sustancias que, en pequeñas cantidades, reaccionan rápidamente con los radicales intermedios de la cadena de autooxidación y la frenan. Un inhibidor de este tipo es el BHT (Figura 1), que reacciona con dos moléculas de radicales peróxido, convirtiéndolas en sustancias mucho menos activas. Desde hace poco tiempo hay un gran interés en el estudio de los radicales libres con oxígeno en sistemas biológicos y su intervención como causantes de daños en la etiología de varios desórdenes crónicos, como oxidación de lipoproteínas de baja densidad (Sparrow, 1988).

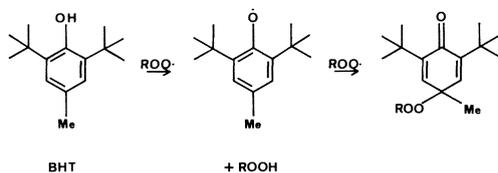


Figura 1
Mecanismo de destrucción del radical peroxi
por el antioxidante sintético BHT

4. ANTIOXIDANTES NATURALES FENOLICOS.

Aunque los tocoferoles tienen un anillo bencénico sustituido con un grupo hidroxilo, los trataremos en otro lugar por su gran importancia como antioxidantes naturales. Nos referiremos aquí a los compuestos fenólicos propiamente dichos: alcoholes y ácidos fenólicos, ácidos cinámicos, sus derivados y glucósidos, cumarinas, flavonoides y sus glucósidos, catequinas, fenoles condensados o taninos y otros no incluidos en estas familias de compuestos.

5. ALCOHOLES Y ACIDOS FENOLICOS.

Se ha descrito la actividad antioxidante del *eugenol* en aceite de soja antes y después de freír a 180°C. Este compuesto está presente en la *Jambosa caryophyllus* (Hsu, 1981). Se ha encontrado también en el clavo (Kramer,

1985). El *isoeugenol* ha sido objeto de una patente como antioxidante de alimentos y productos farmacéuticos (Shiratori, 1988). El *alcohol gentísico*, producido por el hongo *Penicillium commune*, es un sinergista del alfa-tocoferol como antioxidante en aceites de soja, colza y palma, así como en manteca de cerdo (Ishikawa, 1986). El *sesamol*, presente en la semilla de sésamo, tiene un efecto protector de la oxidación de manteca superior a la del alfa-tocoferol (Aoyama, 1987). La *vanillina*, a una concentración de 0.01-0,5 % aumenta considerablemente la estabilidad de copos de cereales precocinados (Burri, 1989). El *ácido gentísico*, que está presente en el ginseng, ha sido descrito también como antioxidante (Wee, 1989). El *hidroxitirosol*, que está presente en la pulpa de aceitunas y que durante el proceso de obtención del aceite se reparte entre el alpechín y el aceite, es el principal responsable de la gran estabilidad de los aceites que lo contienen (Vázquez, 1978).

6. ACIDOS CINAMICOS.

Son otro grupo de fenoles caracterizados por una cadena insaturada de tres átomos de carbono. De ellos se han descrito como antioxidantes el *ácido cafeico* (Chimi, 1988), el *clorogénico* y sus *isómeros*, como el 4-O-cafeil-quinico (Fraga, 1987). El ácido clorogénico es el ácido fenólico más abundante en las plantas y también el antioxidante más activo de este grupo. De la semilla del alpiste (*Phalaris canariensis*) se han aislado *ésteres* del ácido cafeico con esteroides y triterpenos (Takagi, 1980). Los ácidos grasos de esta semilla son muy insaturados y se ha sugerido que estos *ésteres* los protegen de la oxidación. El *ácido ferúlico* protege de la fotoperoxidación al ácido linoleico, aunque a la concentración relativamente alta de 10⁻³M. *Esteres* del ácido ferúlico con *esteroides* y *triterpenos* están presentes en salvado de arroz y han mostrado también actividad antioxidante (Yagy, 1979).

En la avena se han encontrado ácidos cafeico y ferúlico y también otros compuestos solubles en lípidos: el *diferulato de hexacosano-1,26-diol*, el *1-O-cafeil-26-O-ferulolil-hexacosanodiol* y el *dicafeato de hexacosano-1,26-diol*. En la misma planta se han encontrado posteriormente *ésteres* de los ácidos cafeico y ferúlico con *otros alcoholes* (n-hexacosanol, n-octacosanol y glicerol) (Daniels, 1968).

7. CUMARINAS.

Se ha encontrado un grupo de cumarinas (3-amino y 3-hidroxi; 3-acetil-amino y ácido 3-cumarin-carboxílico) con actividad antioxidante para lipoproteínas de huevo (Vladimirov, 1991).

8. FLAVONOIDES.

Es sabido desde hace tiempo que varias clases de flavonoides muestran actividad antioxidante para muchos

compuestos fácilmente oxidables. Estos flavonoides están ampliamente repartidos en las plantas, especialmente en hojas, flores y pólenes, sí como en partes leñosas, como pedúnculos y cortezas. Las plantas crecidas a pleno sol tienen más flavonoides que las crecidas a la sombra, lo cual se ha interpretado como defensa de la planta de las oxidaciones promovidas por la luz UV (Wilkinson, 1977).

En la Figura 2 se muestra la estructura general de flavonoides e isoflavonoides:

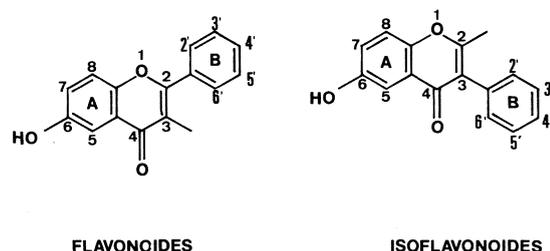


Figura 2

Estructura general de los flavonoides y de los isoflavonoides

9. FLAVONAS E ISOFLAVONAS.

En el grupo de las flavonas han demostrado actividad antioxidante la *flavona* propiamente dicha, la *apigenina* y la *5,7-dihidroxi-3',4',5'-trimetoxi-flavona* (Rafat, 1987). Estos compuestos secuestran los radicales libres generados por fotólisis de H_2O_2 con luz UV. De las hojas de tomillo se han aislado seis flavonas con actividad antioxidante mayor que la del alfa-tocoferol y semejante a la del BHT (Miura, 1989). Todos los flavonoides de la soja identificados son isoflavonas (Pratt, 1979); se han descrito los 7-O-mono-glucósidos de tres isoflavonas: genisteína, daizteína y gliciteína. La actividad antioxidante se midió en un test con beta-caroteno y ácido linoleico. En el salvado de arroz se ha identificado otro antioxidante de este grupo, que es un *C-glucósido de isoflavona* (Ramaratham, 1969).

10. FLAVONOLES.

Este grupo se caracteriza por tener, además del grupo cetónico en C-4, un grupo hidroxilo en C-3. Es el grupo de flavonoides en que se han realizado más trabajos sobre actividad antioxidante. Ya en el año 1947 se estableció que la *quercetina* (5,7,3',4'-tetrahidroxi-flavonol) y sus glucósidos *quercitrina* (3-ramnósido) y *rutina* (3-ramno-glucósido) protegen del enranciamiento a la mantequilla y a la manteca. La quercetina es el flavonol más común en las plantas y el más estudiado. Intentando aumentar la concentración de quercetina, descubrió en los ajos otro flavonol, la *miricetina*, de mayor actividad antioxidante.

Relacionando las estructuras moleculares y la actividad antioxidante se vió que: a) la actividad es proporcional al número de hidroxilos en el anillo B; b) el número de hidroxilos del anillo A no influye en el poder antioxidante y

c) la glucosilación del grupo OH en el C-3 no altera la actividad.

Metha y Seshardi (1959) compararon las propiedades antioxidantes de 25 flavonoles sobre manteca de cerdo. Los más efectivos están recogidos en la Tabla I.

Tabla I
Propiedades antioxidantes de algunos flavonoides sobre manteca de cerdo a 60°C.

Compuesto	Inducción
Control	90
3,7,8-trihidroxi-flavona	438
Fisetina	320
Quercetina	410
Dihidroquercetina	330
Robinetina	855
Miricetina	685
Quercetagetina	698
Gossipetina	1050
3,7,8,3',4',5'-hexahidroxi-flavona	595

El periodo de inducción es el número de horas hasta alcanzar un índice de peróxidos de 25.

Se han publicado dos trabajos (Letan, 1966 a, b) sobre la actividad primaria y secundaria de la quercetina y algunos de sus derivados. La actividad primaria es el poder retardatorio de la oxidación de lípidos, y la secundaria, el poder complejante de metales que catalizan la oxidación. Esta última se midió por la oxidación del ácido ascórbico a 25°C catalizada con cobre. Los resultados indicaron que el hidroxilo en C-3 y el grupo ceto en C-4 eran los centros activos de la molécula en cuanto a la actividad secundaria. El grupo ortodifenol no muestra propiedades quelantes. La metilación en 4' o el hidroxilo en 7 aumentan la capacidad complejante de los derivados de la quercetina. La *dihidroquercetina* había sido aislada de la corteza de una especie de abeto (*Pseudotsuga taxifolia*) (Fukuda, 1986, b) y de cacahuetes españoles (Pratt, 1984).

La actividad primaria de la quercetina y sus derivados se estudió con ésteres metílicos de ácidos grasos de girasol y linaza protegidos de la contaminación con metales. Se vió que la metilación de los hidroxilos en 3, 5 ó 5 y 7 reduce la actividad primaria. La metilación de los hidroxilos de anillo B (especialmente 3' y/o 4') disminuye muchísimo la actividad antioxidante primaria.

Otro flavonol, el *kaempferol* es inhibidor del blanqueamiento de cloroplastos iluminados. Este blanqueamiento es debido al metil-violágeno (paraquat), un agente transferidor de electrones capaz de producir O_2 a partir de oxígeno molecular. Esto sugiere que el kaempferol inhibe las reacciones promovidas por el triplete de oxígeno dentro del cloroplasto (Takahama, 1983). También protege de la autooxidación térmica a aceites de palma, maíz, girasol, soja, oliva, cacahuate, coco, mantequilla y margarina (Pereira, 1990).

La *apigenina* también ha sido descrita como destructora de radicales libres (Wilkinson, 1977).

11. FLAVANONAS.

La *hesperidina* (7-ramnoglucoído de la hesperetina) es el flavonoide predominante en el limón y la naranja dulce, y ha mostrado ser inhibidora de los radicales libres que catalizan la oxidación de los lípidos.

Cuatro flavanonas, derivadas de polihidroxichalconas por isomerización, algunas de las cuales existen en tejidos de plantas, han mostrado ser potentes antioxidantes para la manteca de cerdo (Dziedzic, 1983).

12. OTROS COMPUESTOS FENOLICOS.

El *rosmaridifenol*, que es un derivado de un diterpeno con grupos fenólicos, fue aislado del romero. De la misma planta han sido aislados también otros fenoles diterpénicos con actividad antioxidante (Wu, 1982).

Un grupo de potentes inhibidores de la oxidación del ácido linoleico por el aire se encontró en un extracto metanólico de rizomas de cúrcuma (*Curcuma longa*). El más abundante y activo era un pigmento de color naranja llamado curcumina (Toda, 1985), cuyo mecanismo de actividad es la quelación de metales por el grupo beta-dicetona central.

Del sésamo, además del sesamol, ya citado entre los alcoholes fenólicos, se ha aislado un *lignano* que inhibe significativamente la autooxidación del ácido linoleico a 40°C cuando se añade a la concentración de 5,8.10⁻⁵M; no es tan activo como el sesamol (Osawa, 1985).

Chalconas polihidroxiladas, como la *buteína*, muestran una considerable actividad antioxidante para la manteca. A 100°C, la *buteína* es dos veces más activa que la quercetina o el α -tocoferol. Las chalconas con sólo dos grupos hidroxilo adyacentes son casi igual de efectivas que la *buteína*. La presencia de hidroxilos adicionales sólo aumenta ligeramente la actividad inhibidora (Dziedzic, 1983). La hidrogenación del doble enlace de la chalcona aumenta bastante el poder antioxidante. Por ejemplo, la pentahidrodihidrochalcona es 2-3 veces más activa que la correspondiente chalcona insaturada (Dziedzic, 1985).

El *ubiquinol*, que es un producto de la reducción de la ubiquinona (vitamina Q) es un potente antioxidante *in vivo* en condiciones de baja concentración de oxígeno, como las que hay en muchos ambientes celulares. Este compuesto inhibe la peroxidación del ácido araquidónico en emulsión, la cual tiene a la hemoglobina como iniciador. También impide la fotooxidación de lípidos en las mitocondrias. Es casi tan activo como la vitamina E. La reactividad observada del ubiquinol con el radical libre difenil-picril-hidrazilo sugiere que es un antioxidante que rompe la reacción en cadena y que, probablemente, reacciona *in vivo* con radicales peroxi.

De las hojas de tomillo, además de las flavonas citadas, se han aislado dos compuestos con estructura de bifenoles con actividad antioxidante y desodorizante (Miura, 1989).

BIBLIOGRAFIA

- Aoyama, M., Maruyama, T., Kanematsu, H., Niiya, I., Tsugamoto, M., Tokairin, S. y Matsumoto, T. (1986).— "Enhancement of the antioxidant effect of the tocopherol. XI. Antioxidant efficiencies on margarine".— *Yukagaku* **35**, 449-453.
- Aoyama, M., Maruyama, T., Kanematsu, H. y Niiya, I. (1987).— "Antioxidant effect of sesamol and gamma-oryganol".— *Seikatsu Eisei* **31**, 149-152. C.A. 107:216321f.
- Aoyama, M., Maruyama, T., Kanematsu, H., Niiya, I., Tsugamoto, M., Tokairin, S. y Matsumoto, T. (1988).— "Enhancement of the antioxidant effect of tocopherols. XVII. Synergistic effect of extracted components from coffee bean".— *Yukagaku* **37**, 606-612.
- Araujo, J.M. y Pratt, D.E. (1985).— "Quercetina de semillas de alfalfa como antioxidante de lípidos".— *Cienc. Tecnol. Alim.* **5**, 22-30.
- Berner, D.L. y Jacobson, G.A.— "Spice antioxidant principle by extraction".— Patente U.S. n° 3.732.111 (1973).
- Bracco, U., Lohger, J. y Rehacek, J. (1981).— "Production and use of natural antioxidants".— *J. Am. Oil Chemists' Soc.* **58**, 686-690.
- Branen, A.L. (1975).— "Toxicology and Biochemistry of BHA and BHT".— *J. Am. Oil Chemists' Soc.* **52**, 59-63.
- Brasseur, T., Abgenot, L., Pricemail, J. y Debeve, C. (1986).— "Free radical formation inhibiting and antioxidant properties of flavonoids".— *J. Exptl. Biol. Med.* **37**, 533-548. C.A. 108: 167149r.
- Burri, J., Graf, M. y Lambelet, P. (1989).— "Vanillin, more than a flavoring agent: a potent antioxidant".— *J. Sci. Food Agric.* **48**, 49-56.
- Chang, S.S., Ostric-Matijasevic, B., Hsieh, O.A.L. y Huang, C.L. (1976).— "Production of natural antioxidant from Rosmary and Sage".— Patente U.S. n° 3.950.266.
- Chimi, H., Sadik, A., LeTutour, B. y Rahani, H. (1988).— "Contribution à l'étude des pouvoirs antioxydants dans l'huile d'olive du tyrosol, de l'hydroxytyrosol, de l'acide cafeique et du BHT".— *Rev. Fr. Corps Gras* **35**, 339-344.
- Daniels, D.G., King, H.G.C. y Martin, H.F. (1963).— "Antioxidants in oats: esters of phenolic acids".— *J. Food Agric.* **14**, 385-390.
- Daniels, D.G.H. y Martin, H.F. (1968).— "Antioxidants in oats: glyceryl esters of caffeic and ferulic acids".— *J. Sci. Food Agric.* **19**, 710-712.
- Dziedzic, S.Z. y Hudson, B.J.F. (1983).— "Polyhydroxy chalcones and flavanones as antioxidants for edible oils".— *Food Chem.* **12**, 205-212.
- Dziedzic, S.Z. y Hudson, B.J.F. (1984).— "Phenolic acids and related compounds as antioxidants for edible oils".— *Food Chem.* **14**, 45-51.
- Dziedzic, S.Z., Hudson, B.J.F. y Barne, G. (1985).— "Polyhydroxy chalcones as antioxidant for lard".— *J. Agric. Food Chem.* **33**, 244-246.
- Earle, F.R., McGuire, T.A., Hallan, J., Bagbt, M.O. y Wolf, I.A. (1960).— "Search for new industrial oils. II. Oils with high iodine value".— *J. Am. Oil Chemists' Soc.* **37**, 48-50.— *Federal Regist.* (1977), **42**, 27.603.
- Fraga, C.G., Martino, V.S., Ferraro, G.E., Coussio, J.D. y Boveris, A. (1987).— "Flavonoids as antioxidants by *in vitro* and *in situ* liver chemiluminescence".— *Biochem. Pharmacol.* **36**, 717-720.
- Fukuda, Y., Nagata, M., Osawa, T. y Namiki, M. (1986 a).— "Chemical aspects of the antioxidative activity of roasted sesame oil and the effect of using the oil for frying".— *Agric. Biol. Chem. Soc.* **50**, 857-862.
- Fukuda, Y., Nagata, M., Osawa, T. y Namiki, M. (1986 b).— "Constitution of lignan analogs in sesame seeds".— *J. Am. Oil Chemists' Soc.* **63**, 1027-1031.
- Gold, W.G. y Caldwell, M.M. (1983).— "The effects of ultraviolet-B radiation on plant competition in terrestrial ecosystems".— *Physiol. Plant* **58**, 435-444.
- Gordienko, A.D., Komisarenko, N.F., Levchenko, V.V. y Khadzhai, Y.A. (1988).— "Rapid method for determining the antioxidant activity of phenolic compounds".— *Khim. Farm. Zh.* **22**, 121-123. C.A. 108:179596x.
- Haymon, L.W., Brotski, E., Danner, W.E., Everson, C.W. y Haurnos, P.A. (1976).— "Frozen cooked meat antioxidant: improved action of sodium tripolyphosphate with lemon".— *J. Food Sci.* **41**, 417-420.
- Herrman, K. (1973).— "Phenolische Pflanzeninhaltsstoffe af natuerliche Antioxidantier".— *Fetten Sefen Anstrichmittel* **75**, 499-504.
- Hirose, M., Hagiwara, A., Hasui, T., Inoue, K. y Ito, N. (1986).— "Combined effects of BHA and other antioxidants in induction of forestomach lesions in rats".— *Cancer Lett.* **30**, 169-174. C.A. 105:59592j.
- Husain, S.R., Cillard, J. y Cillard, P. (1987).— "Hydroxyl radical scavenging activity of flavonoids".— *Phytochemistry* **26**, 2489-2491.
- Hsu, C. (1981).— "Recent advances in Food Science and Technology".— Vol. I, p. 75-8.- Hua Shiang Yuan Publishings Co. Taipei, Taiwan.
- Inatani, R., Nakatani, N., Fuwa, H. y Seto, H. (1982).— "Constituents of spice of the family *Labiatae*. I. Structure of a new antioxidative phenolic diterpene isolated from rosemary".— *Agric. Biol. Chem.* **46**, 1661-1666.

- Ishikawa, Y., Morimoto, K. y Hamasaki, T. (1986).— "Gentisyl alcohol produced by *Penicillium commune*. A potent antioxidant and synergist for tocopherol".— *Yukagaku* **35**, 903-906.
- Kajimoto, G., Hirano, M., Yoshido, H. y Yamashoji, A. (1986).— "Preventive countermeasures to the thermal oxidation of tocopherol in oil".— *Nippon Eijo Shokuryo Gakkaishi* **39**, 397-403.— C.A. 106:48865v.
- Knox, J.P. y Dodge, A.D. (1985).— "Singlet oxygen and plants".— *Phytochemistry* **24**, 889-897.
- Kramer, R.E. (1985).— "Antioxidants in clove".— *J. Am. Oil Chemists' Soc.* **62**, 111-113.
- Kroyer, G.T., Kretschmer, L. y Washueth, J. (1989).— "Activity properties of tea and coffee extracts".— *Agr. Food. Chem. Consum.* **2**, 433-437. C.A. 112:75561y.
- Letan, A. (1966 a).— "The relation of structure to antioxidant activity of quercetin and some of this derivative. I. Primary activity".— *J. Food Chem.* **31**, 518-523.
- Letan, A. (1966 b).— "The relation of structure to antioxidant activity of quercetin and some of this derivatives. II. Secondary (metal-complexing) activity".— *J. Food Chem.* **31**, 395-399.
- Lyon, C.K. (1972).— "Sesame; current knowledge of composition and use".— *JAOCS*. **49**, 245-249.
- McClure, J.W. (1975).— "Physiology and functions of flavonoids", en "The flavonoids" Cap. 18.— Harborne, J.B., Mabry, T.J. y Mabry, H. Chapman and Hall Ltd. Londres.
- Metha, A.C. y Seshari, T.R. (1959).— "Flavonoids as antioxidants".— *J. Sci. Ind. Res.* **18B**, 24-28.
- Milner, S.M. (1967).— "Effects of the food additive BHT on monolayer culture of primate cells".— *Nature* **216**, 557-560.
- Miura, K. y Nakatani, N. (1989).— "Antioxidative activity of flavonoids from Thyme (*Thymus vulgaris*)".— *Agric. Biol. Chem.* **53**, 3043-3045.
- Niki, E., Takahashi, M. y Komuro, E. (1986).— "Antioxidant activity of vitamin E in liposomal membranes".— *Chem. Lett.* **1986**, 1373-1376.
- Osawa, T., Nakata, M., Namiki, M. y Fukuda, T. (1985).— "Sesamolol, a novel antioxidant from sesame seeds".— *Agr. Biol. Chem.* **49**, 3351-3352.
- Pizzocaro, F., Caffa, P., Gasparoli, A. y Fedeli, E. (1985).— "Capacità antiossidante di alcune erbe aromatiche sul moscolo e sull'olio di sardina".— *Riv. Ital. Sostanze Grasse* **62**, 351-356.
- Pratt, D.E. y Birac, P.M. (1979).— "Source of antioxidant activity of soybeans and soy products".— *J. Food Sci.* **44**, 1720-1722.
- Pratt, D.E. y Miller, E. (1984).— "A flavonoid antioxidant in spanish peanuts (*Arachia hypogea*)".— *J. Am. Oil Chemists' Soc.* **61**, 1064-1067.
- Rafat, H.R., Cillard, J. y Cillard, P. (1987).— "Hydroxy radical scavenging activity of flavonoids".— *Phytochemistry* **26**, 2489-2491.
- Ramaratham, N. y Osawa, T. (1989).— "Chemical studies on novel rice hull antioxidants. 2. Identification of isovitexin, a C-glycosyl flavonoid".— *J. Agric. Food Chem.* **37**, 316-319.
- Shiratory, Y. y Arakida, H. (1988).— "Preparation of oxidative-stabilized unsaturated fatty acids compositions".— Patente Japón Kokai Tokkio Koho nº 88 78.654.
- Sparrow, C.P., Parthasarathy, S. y Steinberg, D. (1988).— "Enzymatic modification of low density lipoprotein by purified lipoxygenase plus phospholipase A₂ mimics cell-mediated oxidative modification".— *J. Lipid Research* **29**, 745-753.
- Su, J.D., Osawa, T., Kawakishi, S. y Namiki, M. (1988).— "Tannin antioxidants from *Osbeckia chinensis*".— *Phytochemistry* **27**, 1315-1319.
- Takagi, T. y Iida, T. (1980).— "Antioxidant for fats and oils from Canary seeds: sterol and triterpene alcohol esters of caffeic acid".— *J. Am. Oil Chemists' Soc.* **57**, 327-330.
- Takahama, U. (1983).— "Redox reactions between kaempferol and illuminated chloroplasts".— *Plant Physiol.* **71**, 598-601.
- Toda, S., Miyase, T., Arichi, K., Tanaawa, H. y Takino, Y. — "Natural antioxidants. III. Antioxidative components isolated from rizome of *Curcuma longa*".— *Chem. Pharm. Bull.* **33**, 1725. C.A. 103:19871b.
- Vázquez Roncero, A. (1978).— "Les propriétés de l'huile d'olive et leur influence sur les caractéristiques de l'huile".— *Rev. Fr. Corps Gras* **25**, 21-26.
- Vladimirov, Y., Parfenov, E.A., Epachintseva, O.M. y Smirnov, L.N. (1991).— "Antioxidant activity of 3-sustitued coumarins and their effect of iron-dependent chemiluminescence".— *Byull. Ekop. Biol. Med.* **112**, 358-360. C.A. 116:15358k.
- Wagner, G.R., Youngman, R.F. y Elstner, E.F. (1988).— "Inhibition of chloroplast photooxidation by flavonoids and mechanisms of the antioxidative action".— *J. Phytochem.* **1**, 451-460.
- Wee, J.J., Park, J.A., Kim, H.W. y Lee, H.J. (1989).— "Identification of phenolic antioxidant compounds isolated from *Panax ginseng*".— *Han'Guta Noughwara Hakhoechi* **32**, 50-56. C.A. 111:112322y.
- Whalley, C.V., Rankin, S.M., Hoult, J.R.S. y Jessup, W. (1990).— "Flavonoids inhibit the oxidative modification of low density lipoproteins by macrophages".— *Biochem. Pharmacol.* **39**, 1743-1750.
- Wilkinson, R.E. y Kasperbauer, M.J. (1977).— "Epicuticular alkane content of tobacco as influence by photoperiod, temperature and leaf age".— *Phytochemistry* **11**, 2439-2442.
- Willians, N.S. y Harris, N.D. (1983).— "Antioxidant activity in dried orange".— *J. Food Sci.* **48**, 644-645.
- Wu, J.W., Lee, M.H., Ho, C.T. y Chang, S.S. (1982).— "Elucidation of the chemical structures of natural antioxidants isolated from rosemary".— *J. Am. Oil Chemists' Soc.* **59**, 339-345.
- Yagi, K. y Oishi, N. (1979).— "Campesterol ferulic acid ester, 21-methylene-cycloartanol ferulic acid ester and cycloartenol ferulic acid ester".— *J. Nutr. Vitaminol.* **25**, 127-130.

(Recibido: Marzo 1992)