



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

PROGRAMA DE MAESTRIA Y DOCTORADO EN INGENIERIA

FACULTAD DE QUIMICA

**CALIDAD DE LOS ALIMENTOS FUNCIONALES
CASO: FLAVONOIDES COMO ANTIOXIDANTES**

T E S I S

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

MAESTRO EN INGENIERIA

INGENIERIA DE SISTEMAS – SISTEMAS DE CALIDAD

P R E S E N T A:

ING. YISELL INURRETA SALINAS

TUTOR:

DRA. AMELIA G. FARRÉS GONZÁLEZ SARAVIA



2007



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO:

Presidente: MGT. RODRIGO ARTURO CÁRDENAS ESPINOSA.

Secretario: M. EN C. ANGELES OLVERA TREVIÑO.

Vocal: Dra. AMELIA G. FARRÉS GONZÁLEZ SARAVIA.

1^{er.} Suplente: Dr. ARTURO NAVARRO OCAÑA.

2^{do.} Suplente: Dra. PATRICIA SEVERIANO PÉREZ.

Lugares donde se realizó la tesis:

Laboratorio 312 Conjunto "E" Facultad de Química UNAM, México.

Laboratorio de Alimentos. Facultad de Farmacia. Universidad de Granada, España.

TUTOR DE TESIS:

Dra. AMELIA G. FARRÉS GONZÁLEZ SARAVIA

FIRMA

Gracias al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, (CONACyT) y a la Dirección General de Estudios de Posgrado (DGEP) por el respaldo brindado para la realización de mis estudios de maestría.

Gracias a la Universidad de Granada, a la Facultad de Farmacia por el apoyo otorgado para la realización del estudio experimental del presente trabajo de investigación.

Gracias a mi familia por ser el pilar para alcanzar este nuevo escalón, gracias a Ingrid, Lisbeth y Francisco Inurreta, pero en especial gracias a mi madre (Josefina Salinas) por ser el mayor ejemplo de fuerza y amor.

Este trabajo está dedicado a Dios, por ser Dios.

*“Deja que el alimento sea
tu medicina y que la
medicina sea tu alimento”*

HIPÓCRATES

INDICE

RESUMEN

- 1 INTRODUCCION
- 2 OBJETIVOS Y METODOLOGIA
 - 2.1 PROBLEMATICA
 - 2.2 HIPOTESIS
 - 2.3 ALCANCES DE LA INVESTIGACION
 - 2.4 PREGUNTA DE INVESTIGACION
 - 2.5 METODOLOGIA
- 3 ANTECEDENTES
 - 3.1 ALIMENTOS FUNCIONALES
 - 3.1.1 ORIGEN DEL CONCEPTO DE ALIMENTO FUNCIONAL
 - 3.1.2 DEFINICION DE ALIMENTO FUNCIONAL
 - 3.1.2.1 CONCEPTO DE ALIMENTO FUNCIONAL EN EL MUNDO
 - 3.1.2.2 CONCEPTO DE ALIMENTO FUNCIONAL EN MÉXICO
 - 3.1.3 EL MERCADO DE LOS ALIMENTOS FUNCIONALES
 - 3.1.4 PROPIEDADES DE LOS ALIMENTOS FUNCIONALES
 - 3.2 FLAVONOIDES COMO COMPONENTES DE ALIMENTOS FUNCIONALES
 - 3.2.1 LOCALIZACION DE LOS FLAVONOIDES EN ALIMENTOS
 - 3.2.1.1 ANTOCIANINAS
 - 3.2.1.2 FLAVONOLES
 - 3.2.1.3 FLAVANOLES
 - 3.2.1.4 FLAVANOS
 - 3.2.1.5 FLAVONAS
 - 3.2.2 EFECTOS EN LA SALUD DE LOS FLAVONOIDES
 - 3.2.2.1 ACTIVIDAD PROOXIDANTE DE LOS FLAVONOIDES
 - 3.3 VARIABILIDAD EN LOS ALIMENTOS FUNCIONALES CON FLAVONOIDES.
 - 3.3.1 DISEÑO
 - 3.3.1.1 METODOS ANALITICOS NO ESTANDARIZADOS
 - 3.3.2 ESTUDIOS PRECLINICOS
 - 3.3.2.1 SUPLEMENTOS DIETARIOS Y ALIMENTOS FUNCIONALES
 - 3.3.3 DOSIS INCIERTA
 - 3.3.3.1 VARIABILIDAD EN LA FUENTE (CULTIVO, LUZ, ETC)
 - 3.3.3.2 VARIACION EN LA INGESTA DE ALIMENTOS CON FLAVONOIDES
 - 3.3.3.3 BIODISPONIBILIDAD DEL FLAVONOIDE
 - 3.3.3.3.1 ABSORCION DEL TRACTO INTESTINAL
 - 3.3.3.3.2 VARIABILIDAD EN EL PROCESO DE PRODUCCION DE LOS AF
- 4 REGULACION DE LOS ALIMENTOS FUNCIONALES
 - 4.1 REGULACION DE AF EN EL MUNDO
 - 4.2 REGULACION DE AF EN MÉXICO
 - 4.2.1 ALIMENTOS FUNCIONALES EN MEXICO QUE SE PRESUMEN CON FLAVONOIDES
- 5 CALIDAD DE ALIMENTOS FUNCIONALES CON FLAVONOIDES
 - 5.1 SELLO DE CALIDAD PARA ALIMENTOS FUNCIONALES CON FLAVONOIDES
 - 5.1.1 SELLOS DE ALIMENTOS FUNCIONALES EN EL MUNDO
 - 5.1.2 LEGISLACION MEXICANA SOBRE SELLOS O MARCAS OFICIALES
 - 5.2 FACTORES QUE AFECTAN LA CALIDAD DE LOS AF CON COMPONENTES FLAVONOIDES
 - 5.2.1 PROCESAMIENTO DE ALIMENTOS CON COMPONENTES FLAVONOIDES
 - 5.2.1.1 JUGOS Y CONCENTRADOS.
 - 5.2.1.2 EXTRACTOS Y POLVOS
 - 5.2.2 ESTABILIDAD DE FLAVONOIDES EN EL PROCESAMIENTO DE ALIMENTOS
 - 5.2.2.1 ESTABILIDAD DE LAS ANTOCIANINAS
 - 5.2.2.2 EFECTOS DE LAS ENZIMAS
 - 5.2.2.3 EFECTOS DE LA ESTRUCTURA MOLECULAR Y COPIGMENTACION
 - 5.2.2.4 EFECTOS DEL OXIGENO Y ACIDO ASCORBICO

	5.2.2.5	EFFECTOS DEL SO ₂
	5.2.2.6	EFFECTOS DE pH
	5.2.2.7	EFFECTOS DE LA ACTIVIDAD DEL AGUA Y CONTENIDO DE AZUCAR
	5.2.2.8	EFFECTOS DE LA TEMPERATURA
	5.2.2.9	EFFECTOS DE LA LUZ
	5.2.2.10	ESTABILIDAD DE FLAVONOLES, FLAVANOLES Y ACIDOS FENOLICOS.
	5.2.3	CONCLUSIONES
5.3		PROPUESTA DE DIRECTRICES PARA LA PRODUCCION DE ALIMENTOS FUNCIONALES CON COMPONENTES FLAVONOIDES
	5.3.1	TEMAS ESPECIFICOS DE LA PROPUESTA
	5.3.2	PROPUESTA DE DIRECTRICES PARA EL PROCESO DE PRODUCCION DE ALIMENTOS FUNCIONALES CON COMPONENTES FLAVONOIDES
	5.3.2.1	CONSIDERANDO
	5.3.2.2	PREFACIO
	5.3.2.2.1	OBJETO
	5.3.2.2.2	OBJETIVOS
	5.3.2.3	DEFINICIONES
	5.3.2.4	PRINCIPIOS GENERALES
	5.3.2.5	DISPOSICIONES
	5.3.2.5.1	ESPECIFICACIONES Y DETALLES DE ELABORACION
	5.3.2.5.2	DETERMINACION DE CONTENIDO DE POLIFENOLES Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE
6		CONCLUSION
		APENDICE
6.1		EFFECTO DE LA TEMPERATURA Y TIEMPO DE EXTRACCION EN LA DETERMINACION DE COMPUESTOS POLIFENOLICOS TOTALES Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE EN TE VERDE.
	6.1.1	RESUMEN:
	6.1.2	INTRODUCCION:
	6.1.3	MATERIALES Y METODOS
	6.1.3.1	Muestras de te
	6.1.3.2	Reactivos
	6.1.3.3	Instrumentacion
	6.1.3.4	Preparación del Te
	6.1.3.5	Metodos Analiticos
	6.1.4	RESULTADOS
	6.1.5	DISCUSION
	6.1.6	CONCLUSION
	6.1.7	BIBLIOGRAFIA
6.2		LEGISLACION MEXICANA SOBRE ALIMENTOS FUNCIONALES
	6.2.1	AMBITO LEGAL CORRESPONDIENTE A LA SECRETARIA DE SALUD
	6.2.2	AMBITO LEGAL CORRESPONDIENTE A LA SECRETARIA DE ECONOMIA
6.3		LEGISLACION MEXICANA SOBRE SELLOS O MARCAS OFICIALES
	6.3.1	LEY FEDERAL SOBRE METROLOGIA Y NORMALIZACION
	6.3.1.1	REGLAMENTO DE LA LEY FEDERAL SOBRE METROLOGIA Y NORMALIZACION
		BIBLIOGRAFIA

RESUMEN

El presente trabajo de investigación propone una serie de directrices para el proceso de producción de Alimentos Funcionales con componentes flavonoides basada en los puntos críticos del proceso para el aseguramiento de la estabilidad de los flavonoides en los alimentos funcionales que los contienen. Los alimentos funcionales son alimentos que poseen componentes que representan algún beneficio a la salud, por encima de su valor nutricional (ILSI), y los componentes seleccionados para este documento fueron los flavonoides los cuales son sustancias naturales que se encuentran en algunos alimentos y poseen propiedades antioxidantes

Existe una demanda de productos antioxidantes ante la relación encontrada entre su consumo y la menor incidencia de ciertos tipos de enfermedades. Entre los más usados destacan los flavonoides. A pesar de que usualmente se asegura que los flavonoides están libres de toxicidad y efectos secundarios, lo que permite sus amplios usos terapéuticos, son necesarias normas técnicas que regulen dichas alegaciones y que orienten al consumidor acerca de la efectividad de la preparación que ingiere.

En la literatura se informa que los flavonoides pueden comportarse como antioxidantes y prooxidantes, e influyen en ello factores como: las condiciones del ensayo, la concentración efectiva que se alcance en el sitio donde la especie reactiva de oxígeno (ERO) se forma, la estabilidad del radical del flavonoide formado al donar un átomo de hidrógeno al radical atacante, la lipofiliidad para ser captados por la membrana y el pH del medio. Estas consideraciones no son manejadas por los productores en sus estrategias de mercado y son desconocidas por los consumidores. Se hace énfasis en la falta de toxicidad pero no todas las reivindicaciones están sustentadas por ensayos clínicos regulados.

El objetivo de este trabajo de investigación es demostrar que es necesaria la regulación de los alimentos de este tipo y proponer un mecanismo factible para la regulación de los alimentos funcionales con componentes flavonoides a través de un análisis de la situación de la legislación de estos alimentos en México.

En este trabajo se revisa:

- a) La regulación de los alimentos funcionales, tanto en México como en el resto del mundo
- b) El proceso de producción de los alimentos funcionales con componentes flavonoides y los factores en que este proceso puede dañar la estabilidad de los flavonoides
- c) Las estrategias para la implementación de una herramienta que oriente al productor de este tipo de alimentos sobre los factores que afectan la calidad del producto final, así como al comprador en que adquiere un producto de calidad.

La conclusión a la que se llegó es que es necesario contar con estrategias que aseguren que los Alimentos Funcionales que se comercializan en México cuenten con las propiedades saludables que ostentan, lo cual sería benéfico para el mercado ya que la población tendría más confianza en este tipo de productos y aumentaría la demanda. La principal aportación del presente trabajo es una serie de directrices para el proceso de producción de alimentos funcionales donde son consideradas los factores de labilidad de estos compuestos. Dichas directrices podrían ser utilizadas para la elaboración de una norma mexicana o para la implementación de un programa de aseguramiento de calidad del producto.

1 INTRODUCCIÓN

En la actualidad, el consumidor busca la potencialidad de los alimentos para promocionar la salud, mejorar el bienestar y reducir el riesgo de desarrollar enfermedades. En este ámbito aparecen los alimentos funcionales (Bellisle et al., 1998).

Aunque la relación entre la dieta y la salud fue reconocida por la medicina china hacia el año 1,000 A. de C. actualmente existe una renovada atención en este campo (Astiasarán y Martínez, 1999). Se ha profundizado sobre el papel de los componentes alimenticios como nutrientes esenciales para el mantenimiento de la vida y de la salud, pero también como compuestos no nutricionales que contribuyen a prevenir o retardar algunas enfermedades (Best, 1997), lo que da lugar a una nueva área de desarrollo en las ciencias de los alimentos y de la nutrición que corresponde a la de los alimentos funcionales. Esta idea de formulación de alimentos en base a los beneficios de salud que sus componentes no nutricionales podrían proveer al consumidor, se ha convertido en una de gran interés para los productores de alimentos (Hollingworth, 1997).

Actualmente no existe una definición concertada de alimentos funcionales, y los diferentes países han optado por definiciones variadas; pero puede sintetizarse en alimentos que aportan beneficios a la salud. En México no existe una definición de estos tipos de alimentos, por ende no existe una normatividad que los regule específicamente.

Los alimentos funcionales pueden incluir diversos beneficios: mayor cantidad de fibra, efectos anticolesterolémicos, promotores de la respuesta inmune, prebióticos, defensa contra el estrés oxidativo, entre otros.

Dentro del contexto de los alimentos funcionales con potencial antioxidante se encuentran los alimentos ricos en flavonoides, y el presente trabajo de investigación se avocará en especial al estudio de alimentos funcionales provistos por este tipo de metabolitos ya que se han aportado evidencias sobre el doble papel que desempeñan los flavonoides como antioxidantes/prooxidantes; así como la contribución de la estructura a tales actividades. Si bien una dieta rica en flavonoides puede ser benéfica para la salud, consumos elevados de estos metabolitos pueden tener efectos nocivos debido a sus diversas propiedades farmacológicas.

El estudio de los radicales libres (RL) y de los antioxidantes ha cobrado un gran auge particularmente en el último decenio. Un número creciente de artículos que abordan aspectos clínicos y nutricionales ha puesto de manifiesto la importancia que tienen los antioxidantes en la dieta, teniendo en cuenta que a menudo las combinaciones vitamínicas, comúnmente recomendadas en el mundo entero, no ejercen los efectos esperados o por el contrario, estos resultan dañinos (Hassing et al., 1999)

Dentro del proceso de obtención de productos ricos en flavonoides es importante considerar los aspectos de la sensibilidad de éstos para no afectar su biodisponibilidad en el producto final, por lo cual es necesario contar con unas directrices que puedan servir como guía para el proceso de producción que considere estos factores, además de los factores tradicionales para el aseguramiento de la calidad de cualquier alimento.

El presente trabajo de investigación analiza el concepto actual de alimentos funcionales, así como los aspectos científicos del papel que desempeñan los flavonoides en la dieta humana; se proponen una serie de directrices para el proceso de producción de este tipo de alimentos funcionales y las acciones a seguir en este campo.

1 OBJETIVOS Y METODOLOGÍA

1.1 PROBLEMÁTICA

Dentro de los alimentos funcionales se encuentran aquéllos que promueven una defensa contra el estrés oxidativo,¹ entre los que se encuentran los que contiene flavonoides como agentes antioxidantes.

Los alimentos funcionales pueden desempeñar un papel relevante en la salud de los consumidores, pero es indispensable evitar que los fabricantes de este tipo de productos los promuevan atribuyéndoles virtudes sin que éstas se sustenten en una base científica.

En el caso de los flavonoides dichas atribuciones pueden no solo no tener un efecto positivo en la salud del consumidor, puede incluso llegar a tener efectos nocivos al ingerirlos en concentraciones inadecuadas o de mala calidad. Los flavonoides cuando actúan como prooxidantes aumentan los daños causados por el estrés oxidativo, en lugar de promover una defensa contra los radicales libres. Esto debido a que los flavonoides son compuestos lábiles susceptibles a daños en el proceso de extracción como en el procesamiento del alimento en si por factores físicos como luz, temperatura, pH, etc.

En México no existe regulación que norme este tipo de productos, por lo cual los consumidores de éstas están expuestos al engaño al encontrarse en el mercado productos con alegaciones saludables no comprobadas. Al no existir regulación sobre estos alimentos, se corre el riesgo de que los procesos de producción no cuenten con un sistema de calidad que avale la estabilidad del producto final.

1.2 HIPÓTESIS

Si se logra evidenciar los riesgos y beneficios a la salud que puede conllevar la ingesta de alimentos funcionales mediante la comprobación de los efectos a la salud que pueden causar el tipo de alimentos funcionales del caso de estudio, se demostrará la necesidad de un sistema de calidad para estos productos.

Si se consideran las evidencias científicas de los flavonoides como antioxidantes, así como los factores que afectan la estabilidad de dichos metabolitos en el proceso de producción de los AF, se pueden plantear una serie de directrices que sirvan como base para el desarrollo de un sistema de calidad de estos productos.

OBJETIVOS

Objetivo General

Demostrar la necesidad de la regulación o de un sistema de calidad para la elaboración de alimentos funcionales que considere la sustancia de interés mediante la exposición del caso de la elaboración de alimentos funcionales con capacidad antioxidante a partir de flavonoides.

¹ Estrés oxidativo se define como una mayor concentración, en estado estacionario, de especies reactivas del oxígeno. En esta situación se manifiestan las lesiones que producen los radicales libres. Estos reaccionan químicamente con lípidos, proteínas, carbohidratos y ADN al interior de las células, y con componentes de la matriz extracelular, por lo que pueden desencadenar un daño irreversible que, si es muy extenso, puede llevar a la muerte celular.

Objetivos Específicos

- Identificar los beneficios a la salud de los flavonoides como componente de los alimentos funcionales demostrados científicamente que apoyen las declaraciones beneficiosas de éstos.
- Analizar el sistema de Regulación de los Alimentos Funcionales en México y en el mundo para encontrar la estrategia en que se podría controlar la calidad de estos productos mediante la normatividad existente.
- Proponer una serie de directrices para la producción de alimentos funcionales con propiedades antioxidantes a partir de flavonoides que puedan fungir como base de un sistema de calidad.
- Demostrar con un ejemplo experimental las variables que inciden en la cuantificación y actividad de las moléculas de interés en alimentos funcionales.

1.3 ALCANCES DE LA INVESTIGACIÓN

Existen una serie de mecanismo mediante los cuales los Alimentos Funcionales (AF) ofrecen un beneficio a la salud, uno de estos es la defensa contra el estrés oxidativo. El presente trabajo se acotó dentro de este grupo de alimentos, específicamente con los alimentos funcionales que contienen flavonoides como agente antioxidante. Se seleccionaron a los flavonoides ya que estos metabolitos son lábiles a diferentes condiciones de producción y pueden presentar incluso mutagenicidad. Por lo cual, para esta investigación se considera como objeto de estudio: Alimentos funcionales procesados a partir de plantas con capacidad antioxidante y componentes flavonoides comercializados en el país.

1.4 PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Es necesario controlar la calidad de los alimentos funcionales en México? Lo anterior, ¿se puede demostrar mediante la evidencia científica de los AF con capacidades antioxidantes a partir de flavonoides?

1.5 METODOLOGÍA

Para alcanzar el objetivo de este trabajo se obtuvieron los datos de regulación de alimentos funcionales y la bioquímica de los flavonoides a partir de información documental (artículos, libros, reportes de ponencias y congresos). Se realizó una investigación de los alimentos funcionales en México y el mundo. La regulación en México es inexistente para este tipo de productos, por lo cual la investigación se realizó a las normas que podrían aplicar a estos productos. Se analizó la bioquímica de flavonoides, tanto de los beneficios que estos pueden traer e la salud como de la mutagenicidad y los posibles daños a la salud que pueden representar.; Se hizo un estudio del mercado de alimentos funcionales a partir de trabajo de campo y finalmente, se realizó trabajo de laboratorio donde de analizaron algunos factores que afectan a la estabilidad de alimentos funcionales, concretamente se analizó la relación de temperatura y tiempo de contacto con la extracción y obtención de flavonoides y polifenoles

en té verde comercializado en México y en España mediante la medición de polifenoles totales y capacidad antioxidante de las muestras. La metodología que se siguió para esta investigación es la que se presenta en la Figura 1-1:

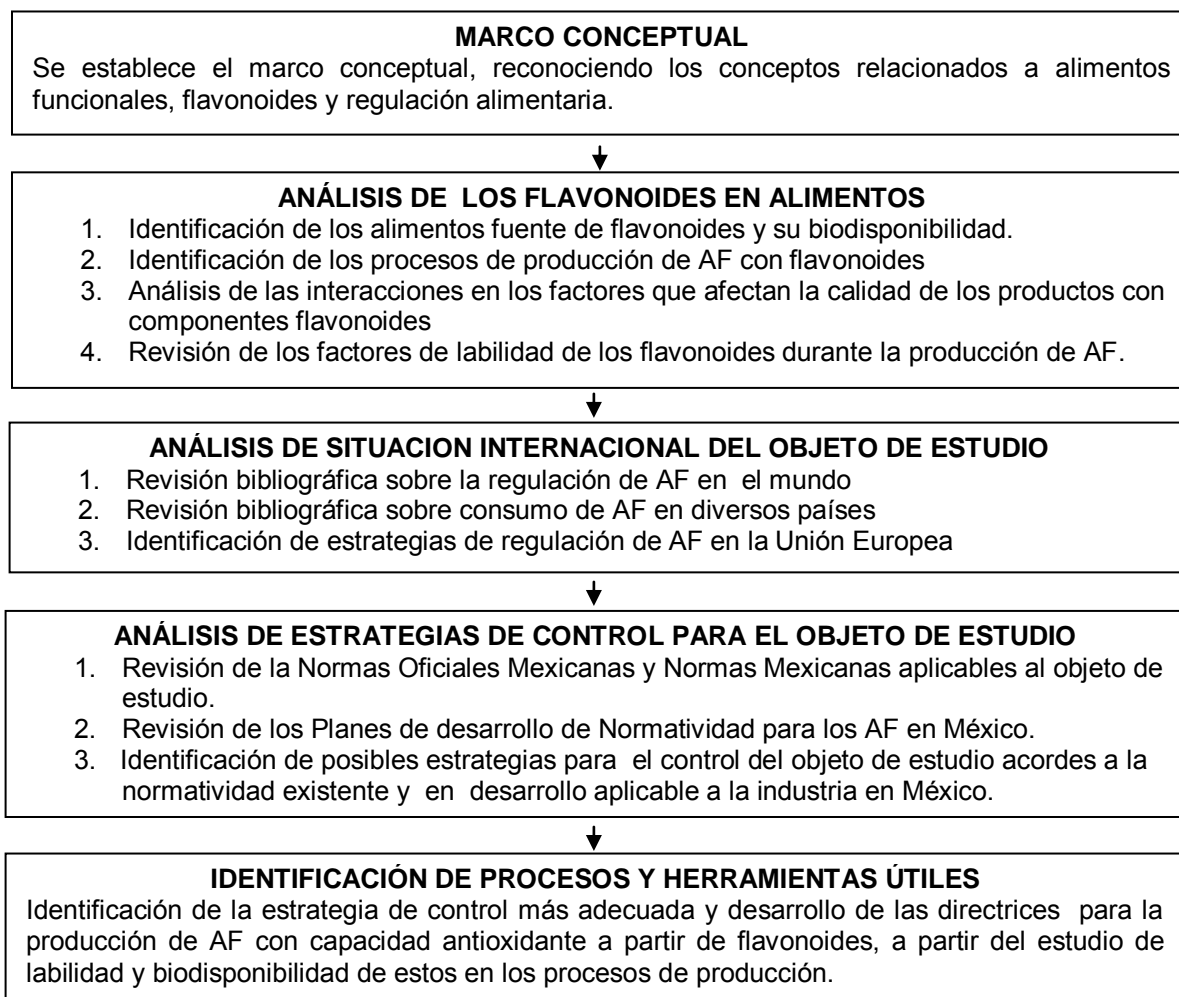


Figura 1-1 Metodología utilizada para el desarrollo del presente trabajo.

3 ANTECEDENTES

3.1 ALIMENTOS FUNCIONALES

3.1.1 ORIGEN DEL CONCEPTO DE ALIMENTO FUNCIONAL

En la actualidad, se observa una clara preocupación en nuestra sociedad por la posible relación entre el estado de salud personal y la alimentación que se recibe. Incluso se acepta sin protesta que la salud es un bien preferentemente controlable a través de la alimentación, por lo que se detecta en el mercado alimentario marcada preferencia por aquellos alimentos que se anuncian como beneficios para la salud. Las técnicas de investigación en el campo de la epidemiología y la dietética permiten establecer ciertas relaciones entre los estilos de vida y los hábitos alimentarios, a la vez que es posible destacar la incidencia de algunas enfermedades en la mortalidad de la sociedad occidental. Algunos trabajos científicos han puesto de relieve que ciertos ingredientes naturales de los alimentos proporcionan beneficios y resultan extraordinariamente útiles para la prevención de enfermedades e incluso para su tratamiento terapéutico (Bello, 2000; Palou y Serra, 2000).

En opinión de los expertos, muchas de las enfermedades crónicas que afligen a la sociedad de un modo particular (cáncer, obesidad, hipertensión, trastornos cardiovasculares) se relacionan de un modo muy estrecho con la dieta alimenticia (Jones, 2002).

El término Alimento Funcional fue propuesto por primera vez en Japón en la década de los 80 con la publicación de la reglamentación para los "Alimentos para uso específico de salud" ("Foods for specified health use" o FOSHU) y que se refiere a aquellos alimentos procesados que contienen ingredientes que desempeñan una función específica en las funciones fisiológicas del organismo humano, más allá de su contenido nutricional. Los alimentos de este tipo son reconocidos porque llevan un sello de aprobación del Ministerio de Salud y Bienestar del gobierno japonés (Arai, 1996) Algunas de las principales funciones son las relacionadas con un óptimo crecimiento y desarrollo, la función del sistema cardiovascular, los antioxidantes, el metabolismo de xenobióticos, el sistema gastrointestinal, entre otros (Palou y Serra, 2000).

En los países occidentales la historia de este tipo de alimentos se remonta a las primeras prácticas de fortificación con vitaminas y minerales, así como también a la práctica de incluir ciertos componentes en los alimentos procesados con el objeto de complementar alguna deficiencia de la población.

3.1.2 DEFINICION DE ALIMENTO FUNCIONAL

La oferta de nuevos alimentos que reportan algún beneficio para la salud aparece por primera vez en la década de los años 60. Estos alimentos comienzan a recibir nombres tan variados que surge la necesidad de uniformar la terminología empleada (Vasconcellos, 2000; Astiasarán y Martínez, 1999).

El ILSI (International Life Sciences Institute), define a *un alimento funcional como aquél que contiene un componente, nutriente o no nutriente, con efecto selectivo sobre una o varias funciones del organismo, con un efecto añadido por encima de su valor nutricional y cuyos efectos positivos justifican que pueda reivindicarse su carácter funcional o incluso saludable*".

3.1.2.1 CONCEPTO DE ALIMENTO FUNCIONAL EN EL MUNDO

Aunque existe acuerdo razonable acerca de la validez conceptual de esta definición, los países adelantados en la producción y comercialización de este tipo de productos no siempre coinciden en las condiciones que debe reunir un alimento para ser considerado "funcional" (Hasler, 2000). A continuación se presentan algunos ejemplos representativos:

- Japón, actualmente el líder indiscutido en el desarrollo de alimentos funcionales, ha puntualizado las condiciones que definen un alimento funcional como:
 - 1) Es un alimento (no una cápsula, tableta o polvo) derivado de ingredientes naturales.
 - 2) Debe ser consumido como parte de la dieta habitual.
 - 3) Cuando es ingerido, ejerce una función particular en algún proceso regulatorio del organismo.
- En Australia (National Food Authority, 1994) las condiciones requeridas para el reconocimiento de un AF son intercambiables con las de "Alimentos promotores de la salud" y, a diferencia de lo aceptado por los japoneses, incluyen a los "Suplementos dietarios", que se venden bajo formas farmacéuticas. De acuerdo a esta reglamentación (First International Conference on East - West Perspectives on Funtional Foods, 1996) los alimentos funcionales son:
 - 1) Una clase de producto que tiene funciones metabólicas y regulatorias por encima o por debajo de las habitualmente presentes en un amplio rango de alimentos comunes.
 - 2) Una clase de producto que permite alcanzar una meta definida que puede ser monitoreada.
 - 3) Un alimento que ha sufrido un proceso en particular, como consecuencia del cual se comporta como alimento funcional.
- En la Unión Europea el tema de los alimentos funcionales ha dado origen a largas discusiones entre los representantes de los diferentes países; no obstante en el 2004 se publicó el "Dictamen del Comité Económico y Social Europeo sobre la «Propuesta de Reglamento del Parlamento Europeo y del Consejo sobre las Alegaciones Nutricionales y de Propiedades Saludables en los Alimentos»". en el que se establecen los criterios para los productores que de forma voluntaria deseen incluir alegaciones. De este modo, se pretende establecer una serie de condiciones equitativas en un ámbito en el que la interpretación difiere de un país a otro y ofrecer una información objetiva a los consumidores, con lo que se soluciona en alguna medida el problema de la falta de claridad a este respecto provocada por la actual Directiva sobre publicidad. Este reglamento aparece como complemento a la actual Directiva 2000/13/CE (relativa al etiquetado, presentación y publicidad de los productos alimenticios).
- En Canadá, tanto la Comisión del Codex Alimentarius (FAO/WHO 1993) como el Organismo para la salud y el bienestar del Canadá (1992), han legislado separadamente para alimentos funcionales a aquellos que tienen un fin fisiológico y suplementos dietarios a aquellos que conllevan fines terapéuticos o medicinales.
- Estados Unidos. La mayor discrepancia respecto de las posiciones descritas es la exhibida por la reglamentación de los Estados Unidos, país con el cual el marco regulatorio

para los alimentos funcionales no ha sido adecuadamente establecido. Por su parte, el Instituto de Medicina de la Academia Nacional de Ciencias ha definido los alimentos funcionales como: *"Alimentos en los cuales la concentración de uno o más ingredientes ha sido manipulada con el objeto de aumentar su contribución a una dieta saludable"*. La crítica que se hace a esta definición es que es tan amplia, inespecífica e incompleta que una amplia variedad de productos que son de uso corriente, por ejemplo, los alimentos bajos en grasa o en sal, quedarían incluidos como alimentos funcionales mientras que la palabra manipulado excluye aquellos alimentos naturalmente ricos en componentes cuyo efecto benéfico para la salud ha sido demostrado (fibras, antioxidantes, fitoquímicos, etc.). (Symposium on Nutraceuticals and Funtional Foods for Health, 1999).

Aunque el término "alimentos funcionales" no es una categoría de alimento legalmente reconocida por la Administración de Alimentos y Drogas (FDA) de los Estados Unidos, recientemente sucedieron algunos cambios legislativos acerca de la información que deben contener las etiquetas de los productos relacionados con beneficios funcionales de los alimentos. Las regulaciones de la NLEA (Ley de Etiquetado y Regulación Nutricional) y de la DSHEA (Ley de Suplementos Dietéticos Salud y Educación) se encaminan a preparar el camino legal en que se debe fundamentar el uso de estos productos (Vasconcellos, 2000). La posición oficial de la FDA es: "Las sustancias específicas de los alimentos pueden favorecer la salud como parte de una dieta variada" (Bello, 1995).

Mientras en algunos países se acepta sin inconvenientes el papel de los alimentos como promotores de la salud y se ha legislado en concordancia, en otros se mantiene una reglamentación conservadora limitada a los suplementos nutricionales provenientes de la industria farmacéutica. Estos ejemplos ilustran ampliamente el conflicto conceptual en el cual se viene desarrollando el mercado de los alimentos funcionales.

3.1.2.2 CONCEPTO DE ALIMENTO FUNCIONAL EN MÉXICO

Finalmente, en México, aunque el término de alimentos funcionales se utiliza familiarmente entre la comunidad científica a la fecha no hay leyes que reglamenten específicamente el uso de estos alimentos. Lo más aproximado es el debate surgido en torno a los denominados "productos milagro" y en la Ley General de Salud se hace constar, en el Artículo 215., fracción V, la siguiente definición:

V. Suplementos alimenticios: Productos a base de hierbas, extractos vegetales, alimentos tradicionales, deshidratados o concentrados de frutas, adicionados o no, de vitaminas o minerales, que se puedan presentar en forma farmacéutica y cuya finalidad de uso sea incrementar la ingesta dietética total, complementarla o suplir alguno de sus componentes

En el año 2005 se modificó dicha ley para prevenir abusos por parte de laboratorios que promovían los beneficios de dichos productos sin sustento científico real, facultando a la Secretaría de Salud para asegurarlos, como se afirma en el "Artículo 414 Bis":

Será procedente la acción de aseguramiento prevista en el artículo 414 de la Ley General de Salud como medida de seguridad, para el caso de que se comercialicen remedios herbolarios, suplementos alimenticios o productos de perfumería y belleza que indebidamente hubieren sido publicitados o promovidos como medicamentos o a los cuales se les hubiera atribuido cualidades o efectos terapéuticos, presentándolos como una solución definitiva en el tratamiento preventivo o de rehabilitación de un determinado padecimiento, no siendo

medicamentos y sin que los mismos cuenten con registro sanitario para ser considerados como tales.

3.1.3 EL MERCADO DE LOS ALIMENTOS FUNCIONALES

La promesa de los alimentos funcionales ha surgido en un momento en el que el interés de los consumidores en el eje dieta-salud es su prioridad. El interés del consumidor por obtener dietas óptimas para mantener una buena salud, por extender los años de vida, la desconfianza hacia los alimentos "procesados" y el aumento en el mercado de los alimentos "naturales" ha creado esta "revolución" tecno-científica de los alimentos funcionales en la que cada vez más participan (Roberfroid, 2000)

Los factores que contribuyen a la proliferación de los alimentos funcionales incluyen los grandes avances tecnológicos, entre ellos la biotecnología, así como la investigación científica que documenta los beneficios para la salud de estos alimentos. Otros factores han contribuido a la evolución del área de los alimentos funcionales son: el aumento de los costos de los servicios de salud, el envejecimiento de la población, la demanda de los consumidores (Hasler, 1996).

Es un hecho que los consumidores han comenzado a ver la dieta como parte esencial para la prevención de las enfermedades crónicas como el cáncer, las enfermedades cardiovasculares, la osteoporosis entre otras. De esta manera es que se presenta un fenómeno denominado de auto-cuidado que es el factor principal que motiva a decidir comprar alimentos saludables (Sloan, 2000); este factor es el que regirá el crecimiento de la industria de los alimentos funcionales.

En los Estados Unidos se realizó un estudio (Levy et al., 1997) entre los compradores de productos alimenticios donde se mostró que los consumidores solían leer con menor frecuencia las propiedades nutricionales de un producto si el envase contenía una alegación de propiedades saludables.

En la industria alimenticia se reconoce un grupo poblacional denominado los "baby boomers" que son personas nacidas después de la segunda guerra mundial, entre 1946 y 1963, tienen alrededor de 50 años y buscan mantener la salud a través de la alimentación (aunque carecen de información fidedigna al respecto), y lo más importante para la industria alimenticia, tienen un poder económico muy fuerte (Hollingworth, 1999), este es el mercado que hará florecer la industria de los alimentos funcionales.

La necesidad de contar con alimentos que sean más benéficos para la salud es apoyada por los cambios socioeconómicos y demográficos que se están dando en la población. El aumento de la esperanza de vida, que tiene como consecuencia el incremento de la población anciana y el deseo de gozar de una mejor calidad de vida, así como el aumento de los costos sanitarios, han potenciado que los gobiernos, los investigadores, los profesionales de la salud y la industria alimenticia busquen la manera de controlar estos cambios de forma más eficaz (Functional Food Science in Europe, 1998).

Esto representa una oportunidad para el desarrollo de nuevos productos, trabajo multidisciplinario en el que participan especialistas en nutrición humana, ciencia y tecnología de alimentos, mercadotecnia, etc. Para obtener las propiedades determinadas que caracterizan los alimentos funcionales, los ingredientes más utilizados son las vitaminas y los

minerales, seguidos de los ácidos grasos poliinsaturados y monoinsaturados, flavonoides, fitosteroles y polifenoles, probióticos y prebióticos (Neff y Holman, 1997)

Los avances tecnológicos en la industria de alimentos han permitido el desarrollo gradual del área de los alimentos funcionales. La industria de alimentos ha cambiado el enfoque de “extraer los componentes malos” (es decir, grasa, sodio, colesterol, calorías) por el de “añadir o potenciar los componentes buenos”. Es posible, por ejemplo, producir “brócoli anticáncer” que podría comercializarse a un precio especial para los consumidores conscientes de su salud, quienes pueden estar interesados en aumentar su ingesta del fitoquímico sulforafano, el cual se ha reportado que tiene actividad anticáncer, o producir huevos ricos en ácidos grasos omega-3. Los consumidores ya no siguen viendo el alimento como meramente un medio de sostén de la vida, o de prevención de las clásicas enfermedades por deficiencia de nutrientes. De allí que la demanda de los consumidores por los alimentos funcionales es alta todo el tiempo (Hasler, 1996). A medida que la industria de alimentos ha respondido a la demanda de los consumidores por un suministro de alimentos más saludable, la variedad de alimentos funcionales disponible ha crecido tremendamente (Thomson et al., 1999)

Las grandes empresas de alimentos ya han empezado a desarrollar este tipo de productos y explotar la demanda. Novartis lanzó al mercado sus productos Aviva, que incluyen bebidas y cereales diseñados para reducir los niveles de colesterol, mejorar la digestión y fortalecer los huesos. Kellogg’s ha desarrollado un conjunto de 22 productos conocido como Ensemble, que incluye cereales y pastas, que supuestamente disminuyen el riesgo de contraer enfermedades cardiovasculares para quienes los incorporen a su dieta, aparte de su bien conocida línea de cereales especiales tipo K para adelgazar. Nestlé produce un yogurt al que se han adicionado nuevas bacterias, identificado bajo el código LC-1, y se encuentra trabajando en la obtención de micronutrientes antioxidantes que controlen la diabetes, y en alimentos cuya grasa pueda ser aislada y eliminada en su totalidad durante el proceso digestivo, como hoy lo hace la droga Xenical. Finalmente, Coca Cola fabrica y comercializa, con gran éxito, sus jugos de frutas amigables con la salud con base en betacarotenos.

La gran cantidad de alimentos funcionales que se encuentran en el mercado indica la aceptación que tienen entre la población. Las grandes campañas de publicidad ayudan a incrementar las ventas de una manera continua y eficaz. Debido a las diferentes definiciones de alimentos funcionales es difícil calcular con exactitud el volumen del mercado global. (www.ta-swiss.ch), sin embargo, en número globales se ha estimado como se muestra en la

Figura 3-1 Evolución del Mercado de los Alimentos Funcionales. (Estimación de Orafti, en Facts 27/98)

Figura 3-1 Evolución del Mercado de los Alimentos Funcionales. (Estimación de Orafti, en Facts 27/98)

Datos del beneficio anual que aportan estos alimentos (2000):

- EEUU, 18 billones de dólares.
- Japón, 12 billones de dólares.
- Europa, 15 billones de dólares.

Y, aunque tales cifras apenas representaban un 3% de los \$1.5 trillones de dólares de la industria alimentaria del globo terrestre, el crecimiento de su demanda asciende 25% por año (Nutrition Business Journal, 1997).

El grado de aceptación de estos productos por parte de las comunidades más prósperas del planeta parece irreversible, en especial por aquéllas que suelen preocuparse por su salud y por la prolongación de su longevidad, donde la frontera entre medicamentos y alimentos enriquecidos y mejorados tiende a desdibujarse. De esta manera Japón tiene 1.200 productos alimenticios funcionales públicamente conocidos mientras que Estados Unidos y Europa, donde, igualmente, se han consolidado la transición demográfica y sus implicaciones sobre el envejecimiento relativo de la población, no se quedan atrás (Meyer, 1998).

En nuestro país no estamos exentos de la proliferación de dichos productos, en los supermercados y en las tiendas naturistas se puede apreciar un rápido crecimiento de la variedad de estos productos, en especial en los jugos, aguas saborizadas, productos lácteos y cereales.

3.1.4 PROPIEDADES DE LOS ALIMENTOS FUNCIONALES

Las funciones y objetivos de salud a los que se ha dirigido la investigación en el campo de los alimentos funcionales según el documento de consenso de la Scientific Concepts of Functional Foods in Europe, (British Journal Nutrition, 1999), son los que a continuación se enlistan:

Crecimiento y desarrollo. Incluye las adaptaciones de la madre durante la gestación, el desarrollo fetal, el crecimiento y el desarrollo del lactante y del niño. De esta manera, encontramos alimentos enriquecidos en: hierro, yodo, ácido fólico, ácidos grasos (omega-3 y omega-6), calcio, vitaminas A y D, leches de fórmulas infantiles con nutrientes específicos que favorecen su crecimiento y desarrollo, etc.

Metabolismo de sustancias. En relación con el mantenimiento de un peso adecuado, mejor control de la glucemia (nivel de azúcar en sangre), o de las tasas de colesterol y triglicéridos plasmáticos asociados a riesgo cardiovascular o con un adecuado rendimiento en la práctica de actividad física, entre otros. Algunos ejemplos son los alimentos de bajo contenido energético (bajos en grasas o en azúcares sencillos), enriquecidos en omega-3 o grasa monoinsaturada (ácido oleico), en fibra, bebidas y productos específicos para deportistas (bebidas, barritas, etc.).

Sistema cardiovascular. Por su contribución a la hora de reducir el riesgo de enfermedades cardiovasculares encontramos alimentos enriquecidos en ácidos grasos monoinsaturados,

poliinsaturados (omega 3 y omega 6), con sustancias de acción antioxidante, fitoesteroles, ciertas vitaminas del grupo B (B6, B9, B12) y fibra.

Función del tracto gastrointestinal. En este sentido, encontramos alimentos probióticos (yogures y otras leches fermentadas con bacterias ácido-lácticas), prebióticos (alimentos con fibra soluble como los fructo-oligosacáridos) y los enriquecidos en fibra soluble e insoluble o ricos en fibra (legumbres, verduras y hortalizas, frutas frescas y desecadas, frutos secos y cereales de grano entero y productos que los incluyen como ingrediente).

Funciones psicológicas y conductuales. En relación con el apetito y la sensación de saciedad, el rendimiento cognitivo, el humor o tono vital y el manejo del estrés. Se engloban en esta área los alimentos ricos en fibra y los enriquecidos en fibra (de alto valor de saciedad), alimentos con aminoácidos específicos, alimentos con sustancias excitantes del sistema nervioso (cafeína, ginseng, etc.) o tranquilizantes (melisa) extraídos de plantas, etc.

Defensa contra el estrés oxidativo. Las sustancias antioxidantes funcionan como una barrera frente al efecto nocivo de los radicales libres sobre el ADN (los genes), las proteínas y los lípidos de nuestro cuerpo. Su consumo contribuye a reducir el riesgo de enfermedades cardiovasculares, degenerativas e incluso de cáncer. Respecto a los productos enriquecidos con sustancias antioxidantes (vitaminas C y E, beta-carotenos, selenio, zinc y fitoquímicos o sustancias propias de vegetales), destaca el aumento de éstos en el mercado, tales como jugos de fruta y bebidas de leche, entre otros, que pueden incluir una o varias sustancias antioxidantes entre sus ingredientes, con el fin de disminuir los procesos de oxidación.

Este último tipo de Alimentos Funcionales ha incrementado su existencia en el mercado de manera sorprendente, y es dentro de este grupo de Alimentos Funcionales que se encuentran los flavonoides como agente antioxidante (Bors et al., 1990). Además de su incremento en el mercado, se seleccionaron a los flavonoides como metabolitos a estudiar debido a la labilidad que presentan durante su proceso de producción en los alimentos o suplementos que los contienen así como la mutagenicidad que puede presentar, debido a esta característica de los flavonoides es que pueden presentar beneficios a la salud o daños si es que mutan y se comportan como radicales libres. Es de esta manera que se pretende demostrar la necesidad de directrices y de sistemas de calidad que avalen a los alimentos funcionales como benéficos para la salud.

3.2 FLAVONOIDES COMO COMPONENTES DE ALIMENTOS FUNCIONALES

Una variedad de suplementos con componentes flavonoides son comercializados alrededor del mundo (Bruneton, 2000; Kalt y Dulfort, 1997).

Se denominan como flavonoides a varias clases de sustancias naturales que contienen dos anillos aromáticos unidos mediante una cadena de tres átomos de carbono (compuestos C6C3C6) que se encuentran ampliamente distribuidas en los vegetales y que son biosintetizadas en parte a partir del ácido shiquímico y parcialmente de la acetilcoenzima A vía malonil Co A (biosíntesis mixta).

Los flavonoides comprenden un grupo de compuestos polifenólicos ampliamente distribuidos en las frutas y en los vegetales, así como en el té verde, el café, la cocoa, la cerveza y el vino tinto (Van Acquire et al., 1996; Bohm et al., 1998; Groot y Rauen, 1998). Pueden aparecer desde simples moléculas fenólicas hasta compuestos muy polimerizados con pesos moleculares superiores a los 30 000 Da (Bravo, 1998)

Existen 13 subclases de flavonoides con un total de más de 5 000 compuestos, (Ross y Kasum, 2002) todos presentando un esqueleto hidrocarbonado del tipo C₆-C₃-C₆ (difencilpropano) derivado del ácido shiquímico y de 3 restos de acetato (Figura 3-2).

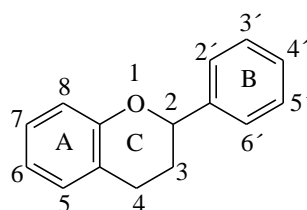


Figura 3-2 Esqueleto C₆-C₃-C₆ (flavan) y el sistema de numeración más utilizado para los flavonoides (Spanos y Wrolstad, 1992)

Entre todas, las propiedades biológicas de mayor interés han sido sus efectos antioxidantes, los cuales han sido blancos de un sinnúmero de estudios principalmente de corte clínico y nutricional (Saija et al., 1995), teniendo en cuenta que a menudo dosis farmacológicas de antioxidantes dietéticos comúnmente recomendados en todo el mundo, como es el caso de las combinaciones vitamínicas (vitamina E más vitamina C y β-caroteno), no producen los efectos esperados o estos resultan dañinos, por lo que para lograr una mejor acción antioxidante se prefiere incluir en la dieta una mezcla de flavonoides y taninos (Hassing, 1999).

La mayoría de los suplementos disponibles están “recomendados o propuestos” para diversos tratamientos. El conocimiento científico permite entonces, soportar algunas de las tradiciones ancestrales mediante la reafirmación de los efectos y propiedades descritos en el folclore popular. Al mismo tiempo, algunas de las cualidades basadas en la superstición no tendrán validez de acuerdo a la demostración científica.

El extracto de frutas ricas en antocianinas es principalmente utilizado para el tratamiento de síntomas de la insuficiencia venosa, y hemorroides, fragilidad capilar cutánea. en la farmacopea francesa sin embargo, es claramente detallada con la descripción de algunos usos terapéuticos la eficacia clínica de la mayoría de los flavonoides y los medicamentos derivados de estos y en particular, estos contiene antocianinas, y procianidinas, las cuales raramente son estabilizadas correctamente (Bruneton, 2000). Las pruebas experimentales no siempre son conducidas de acuerdo a métodos estándar, y los resultados carecen de reproducibilidad. (Das et al., 1994)

3.2.1 LOCALIZACIÓN DE LOS FLAVONOIDES EN ALIMENTOS

Los flavonoides se encuentran en frutas, verduras, semillas y flores, así como en cerveza, vino, té verde, té negro y soja, los cuales son consumidos en la dieta humana de forma habitual y también pueden utilizarse en forma de suplementos dietarios o en alimentos funcionales, junto con ciertas vitaminas y minerales (Shaidi et al., 1995).

Desempeñan un papel importante en la biología vegetal; así, responden a la luz y controlan los niveles de las auxinas reguladoras del crecimiento y diferenciación de las plantas. Otras

funciones incluyen un papel antifúngico y bactericida, confieren coloración, lo que puede contribuir a los fenómenos de polinización y tienen una importante capacidad para fijar metales como el hierro y el cobre. (Formica y Regelson, 1995)

Los flavonoides se ubican principalmente en las hojas y en el exterior de las plantas, apareciendo sólo rastros de ellos en las partes de la planta por debajo de la superficie del suelo. Una excepción son los tubérculos de cebolla, que contienen una gran cantidad de quercetina 4'-D-glucósidos (Hertog et al., 1996). Las clases predominantes de flavonoides presentes en frutas son las antocianinas (Figura 3-3), los flavonoles y los flavanoles, flavan 3-ols (catequinas) y flavan 3,4-diol (procianidinas) (Figura 3-4)

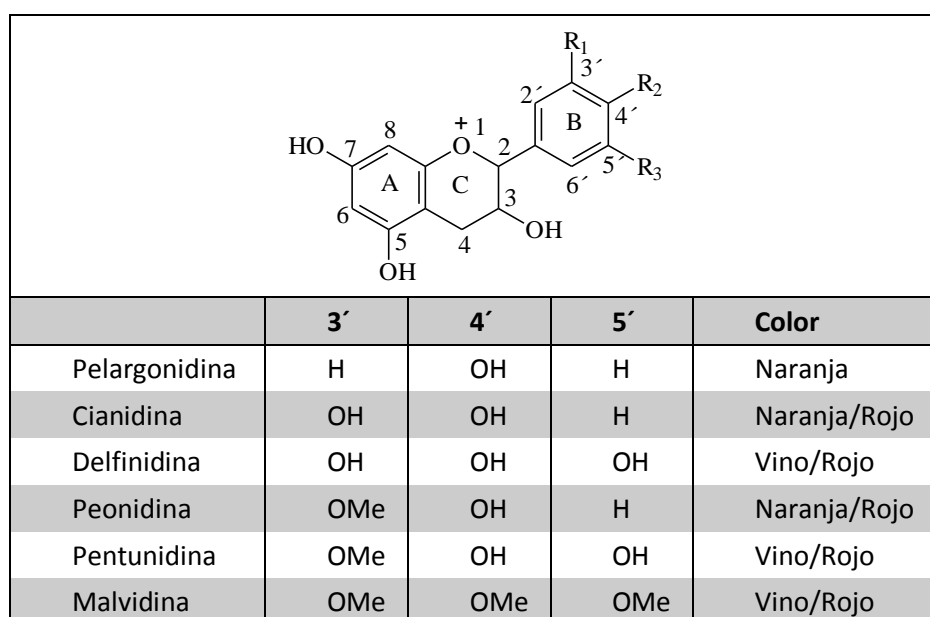


Figura 3-3 Estructura de las antocianidinas existentes en frutas. (Jovanovic et al., 1996; Mazza y Miniati, 1993)

3.2.1.1 ANTOCIANINAS

Las antocianinas son pigmentos de frutas rojas como cerezas, ciruelas, frambuesas, mora, zarzamora, arándano, y uvas. Su contenido varía entre 0.15 (fresas) a 4.5 mg/g (cerezas) en fruta fresca (Clifford, 1999). La cantidad contenida en vinos tintos es de 26 mg/L (Frankel et al., 1995).

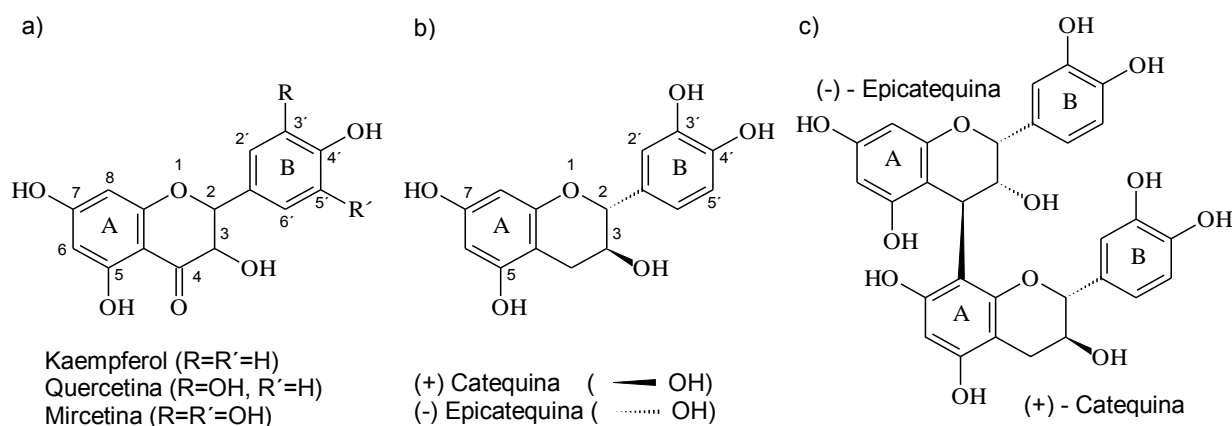


Figura 3-4 Estructuras de (a) Flavonoles, (b) flavan 3-oles y (c) procianidinas diméricas B1, existentes en frutas (Spanos y Wrolstad, 1992)

3.2.1.2 FLAVONOLES

La quercetina, el flavonol más abundante en la dieta humana está presente en diferentes frutas y vegetales, así como en bebidas (0.3 mg/g peso fresco) (Hertog et al., 1992) y té (10–25 mg/L) (Hertog et al., 1993). La quercetina es un flavonoide amarillo-verdoso presente en cebollas, manzanas, brócoli, cerezas, uvas. En la manzana la quercetina es encontrada en la cáscara (1 mg/g en peso fresco), la fruta sin cáscara no contiene otros flavonoles (Burda et al., 1990). Los niveles de quercetina en las partes comestibles de los vegetales se encuentran generalmente cercanos a los 10 mg/kg. (Hertog et al., 1992, 1993). En infusiones de té negro, los rangos de quercetina van de 10 a 25 mg/l, mientras que el kaempferol y la miricetina varían entre los 7 y los 17 mg/l y entre 2 a 5 mg/l, respectivamente. Los estilbenos no son muy difundidos en plantas, sin embargo, uno de ellos, el resveratrol, el cual ha sido descubierto durante una investigación de plantas medicinales ha recibido gran atención debido a sus propiedades anticarcinogénicas (Jang et al., 1997); se encuentran presentes en vino, pero en concentraciones muy pequeñas (0.3–2 mg/L en vino tinto) (Frankel et al., 1995).

3.2.1.3 FLAVANOLES

Los principales flavanoles son las catequinas y las proantocianidinas. Las catequinas son muy abundantes en el té. Los brotes jóvenes contienen de 200 a 340 mg de catequinas, galocatequinas y sus derivados por gramo de hoja seca. (Hara et al., 1995). Una infusión de té verde contiene 1g/L de catequinas (Lee et al., 1995). En el té negro este contenido es reducido aproximadamente a la mitad debido a la oxidación en la mayoría de los compuestos polifenólicos durante la fermentación. Otras Fuentes son el vino tinto (270 mg/L) (Frankel et al., 1995) y el chocolate. (Arts et al., 1999). Si bien la mayoría de las frutas y algunas legumbres contienen catequinas, los niveles varían desde los 4.5 mg/kg en kiwi a 610 mg/kg en chocolate negro (Arts, et al., 2000). Las proantocianidinas son flavanoles poliméricos. Estos están presentes en plantas como una mezcla compleja de polímeros con un grado medio de polimerización entre 4 y 11. Son las responsables de la astringencia de los alimentos y están usualmente presentes en asociación de flavanol catequinas. Fuentes comunes de éstas son frutas como la manzana, pera y uva; bebidas como el vino tinto, el té así como el chocolate (Santos-Buelga y Scalbert, 2000).

3.2.1.4 FLAVANOS

Las frutas cítricas son la mayor fuente alimenticia de flavanos. El flavan más consumido es la hesperidina de las naranjas (125–250 mg/L de jugo) (Rousseff et al., 1987). Dentro de los flavanos se encuentran la hesperidina, rutina, naringina y limoneno. La hesperidina se

encuentra en los hollejos de las naranjas y limones. La naringina da el sabor amargo a frutas como la naranja, limón y toronja, y el limoneno se ha aislado del limón y la lima.

3.2.1.5 FLAVONAS

Las flavonas son menos comunes y fueron identificadas en el pimiento rojo dulce (luteonina) y en el apio (apigenina) (Hertog et al., 1992). La mayor fuente de flavona es la soya, la cual contiene 1 mg de genisteina y diadzeina /g en semilla seca (Reinli y Block, 1996). Estas dos isoflavonas han recibido una atención considerable debido a sus propiedades estrogénicas y su desempeño en la prevención de cáncer de mama y osteoporosis (Adlercreutz y Mazur, 1997). Están presentes en los alimentos con soya tales como porotos, tofu, tempeh, leche, proteína vegetal texturizada, harina, miso.

Como se mencionó anteriormente, las clases predominantes de flavonoides presentes en frutas son las antocianinas, los flavonoles, los flavanoles, los flavanos y las flavonas (Figura 3-5) y sus propiedades químicas y bioquímicas dependen de su estructura química.

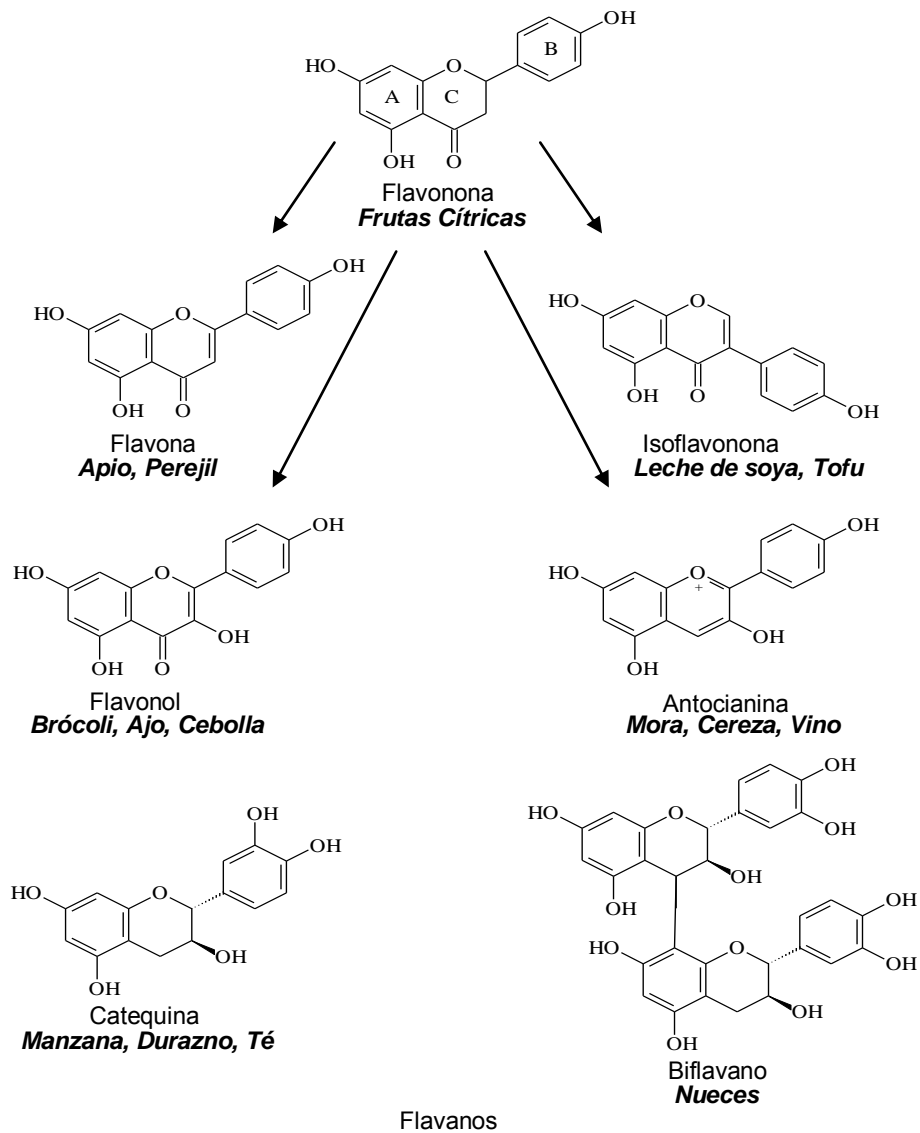


Figura 3-5 Estructura de ocurrencia en la dieta de las clases de flavonoides. (Adaptado de Scalbert y Williamson, 2000)
(Las flechas indican pasos biosintéticos)

3.2.2 EFECTOS EN LA SALUD DE LOS FLAVONOIDES

El creciente interés en los flavonoides se debe a la apreciación de su amplia actividad farmacológica. Pueden unirse a los polímeros biológicos, tales como enzimas, transportadores de hormonas, y ADN; quelar iones metálicos transitorios, tales como Fe_{2+} , Cu_{2+} , Zn_{2+} , catalizar el transporte de electrones, y depurar radicales libres (Saskia et al., 1998). Debido a este hecho se han descrito efectos protectores en patologías tales como diabetes mellitus, cáncer, cardiopatías, infecciones virales, úlcera estomacal y duodenal, e inflamaciones (Saskia et al., 1998). Poseen propiedades antioxidantes; (Van Acquire, 1996; Groot, 1998; Vinson, 1998) antiinflamatorias; (Pietta, 2000; Russo et al., 2000) antitrombóticas; (Pietta, 2000) antimicrobianas; (Russo et al., 2000) antialérgicas; antitumorales; (Russo, et al., 2000; Hirono, 1987) antiasmáticas (Hirono, 1987) e inhibidoras de enzimas como la transcriptasa reversa, proteína quinasa C, tirosina quinasa C, calmodulina, ornitina decarboxilasa, hexoquinasa, aldosa reductasa, fosfolipasa C y topoisomerasa II (Groot, et al., 1998; Formica y Regelson, 1995)

Los flavonoides retiran oxígeno reactivo especialmente en forma de aniones superóxidos, radicales hidroxilos, peróxidos lipídicos o hidroperóxidos. De esta manera bloquean la acción deletérea de dichas sustancias sobre las células. Sus efectos citoprotectores son, por ejemplo, bien patentados en fibroblastos de la piel humana, queratinocitos, células endoteliales y ganglios sensoriales cultivados en presencia de sulfoxina- butionina, un inhibidor irreversible de la glutatión sintetasa. Diversos flavonoides han mostrado su eficiencia para eliminar los procesos de peroxidación lipídica del ácido linoleico o de los fosfolípidos de las membranas, la peroxidación de los glóbulos rojos o la autooxidación de los homogeneizados de cerebro (Ursini, 1994).

Asimismo, se ha comprobado su potente capacidad de inhibir *in vitro* la oxidación de las lipoproteínas de baja densidad (LDL) por los macrófagos y reducir la citotoxicidad de las LDL oxidadas (Hirano et al., 2001; Terao et al., 2001). De hecho, las poblaciones que consumen productos ricos en flavonoides estadísticamente presentan menores riesgos de afecciones cardiovasculares (Geleijnse, 2002; Hertog et al., 1996).

En ratas se ha podido observar que la quercetina mejora la función contráctil del ventrículo izquierdo y reduce la incidencia de trastornos de la conducción cardíaca. El proceso se limita al área isquémica, protegiendo la ultraestructura de las arterias coronarias, mejorando la circulación coronaria y previniendo la formación de trombos intravasculares. Por otra parte también se han demostrado efectos vasodilatadores en aorta aislada de ratas, efectos antitrombóticos y disminución de las lesiones de repercusión del miocardio (Benito et al., 2002). Además, evitan el daño producido al endotelio vascular al prevenir la sobreexpresión de mediadores inflamatorios (IL-8, MCP-1 y ICAM-1) a través de la citocina proinflamatoria TNF- α (Wang y Mazza, 2002; Youdim et al., 2002). Asimismo, se ha puesto de manifiesto que inhibe la peroxidación lipídica producida por el hierro y aumenta la concentración de glutatión en la mucosa intestinal de ratas alimentadas durante tres días con este flavonoide.

En el hígado se ha descrito que la quercetina es capaz de inhibir la activación de las células estrelladas así como la producción de óxido nítrico, alterando vías de expresión de proteínas

celulares 51 y en estudios *in vitro* se ha comprobado que diversos flavonoides inhiben la expresión de la óxido nítrico sintetasa y la formación de óxido nítrico en macrófagos estimulados por LPS (Autore et al., 2001). En ratas con obstrucción biliar en las que se produce estrés oxidativo y una reducción de las defensas antioxidantes (Pastor et al., 1996), se ha demostrado que el tratamiento con quercetina previene la peroxidación lipídica, atenúa los depósitos de colágeno y el proceso de fibrogénesis hepática, incluso cuando el tratamiento se inicia con la fibrosis claramente establecida (Peres et al., 2000)

En ensayos clínicos, se ha comprobado que la administración profiláctica de flavonoides disminuye la producción de radicales libres en la reperfusión después del “bypass” en cirugía de reemplazamiento vascular. Además, flavonoides como la quercetina y el kaempferol son importantes para el control de las concentraciones intracelulares de glutatión. Actúan a nivel de regulación genética, la que pueden incrementar en un 50%, induciendo el sistema antioxidante celular y contribuyendo así a la prevención de enfermedades (Myhrstad et al., 2002).

En estudios epidemiológicos se ha demostrado que con el consumo incrementado de frutas y vegetales se experimenta una reducción del 50% en el riesgo de cánceres digestivos y de las vías respiratorias (Hollman et al., 1998). Así, la genisteína bloquea el desarrollo de tumores al prevenir la formación de nuevos vasos impidiendo con ello la llegada del oxígeno y nutrientes a las células neotumorales. También modula la reacción de los estrógenos ligándose a sus receptores con lo que disminuye el riesgo de cáncer de mama. De hecho, se ha puesto de manifiesto que diversos flavonoides pueden inhibir monooxigenasas dependientes del citocromo P-450, lo que indicaría un papel potencial en la regulación de la activación de carcinógenos (Herderson et al., 2000) y que chalconas y flavononas en concreto son inductoras de las quinonas reductasas y podrían tener un papel preventivo en la progresión de los hematomas (Miranda et al., 2000).

Los flavonoides protoantocianídicos pueden ser absorbidos por las membranas celulares y protegerlas de la acción de los radicales libres. Tienen la ventaja de ser liposolubles e hidrosolubles, por eso, en contraste con otros antioxidantes que no poseen esa doble cualidad, son capaces de atravesar la barrera hematoencefálica y pueden proteger a las células cerebrales, que son muy sensibles a las lesiones producidas por los radicales libres. Además combaten la inflamación y las alergias y aumentan la efectividad de las células “natural killer” del sistema inmunológico (Bagchi et al., 2002). Muchos de estos efectos antiinflamatorios y antialérgicos podrían explicarse a través de su acción inhibidora sobre el factor de transcripción nuclear kappa B, activador de muchas citocinas proinflamatorias (Bremner et al., 2002). También ejercerían su acción antiinflamatoria al inhibir las actividades enzimáticas del metabolismo del ácido araquidónico por la vía de la 5-lipooxigenasa, así como por su actividad antiproteolítica al inhibir algunas proteasas de la matriz (Schewe et al., 2002).

La capacidad antioxidante de los flavonoides depende, entre otros factores, de su capacidad de eliminar el hierro, y de hecho se ha comprobado recientemente en células U937 tratadas con el agente tóxico terbutilhidroperóxido que aun a muy bajas concentraciones son capaces de evitar la rotura y la oxidación del ADN y que una parte importante de su potente acción protectora está relacionada directamente con su lipofiliidad (Sestili et al., 2002)

3.2.2.1 ACTIVIDAD PROOXIDANTE DE LOS FLAVONOIDES

Además de los efectos antioxidantes de los flavonoides algunos estudios indican la mutagenicidad y genotoxicidad de los flavonoides, tanto en sistemas experimentales bacterianos como de mamíferos (Tabla 3-1). Esto último es necesario contemplarlo dentro del diseño de los alimentos que contengan flavonoides ya que, de acuerdo al sistema de producción de dichos alimentos es que encontraremos metabolitos benéficos a la salud o metabolitos que actúen como agentes prooxidantes.

Debido a sus características estructurales estos metabolitos poseen bajos Ep/2 que les permiten reducir el Fe³⁺ y el Cu²⁺ para sufrir una autooxidación o incluso involucrarse en un proceso de ciclaje redox, actuando de esta manera como agentes prooxidantes, lo que explica estos efectos mutagénicos y genotóxicos (Fukumoto et al., 2000).

Tabla 3-1 Estudios de mutagenicidad y genotoxicidad en flavonoides.

Daño	Referencias
Inducción de mutaciones recombinantes	Susuki et al., 1991
Inducción de aberraciones cromosómicas	Carver et al., 1983
Formación de peróxido de hidrógeno, radicales hidroxilo y radicales superóxido	Hodnick et al., 1986
Excisión de cadenas en el ADN	Rahman et al., 1989
Actividad prooxidante resultando en degradación del ADN	Sahu et al., 1993
Actividad prooxidante resultando en peroxidación lipídica	Sahu et al., 1997
Actividad prooxidante e inhibición de la glutatión-S transferasa.	Sahu et al., 1996

Algunos de los mecanismos a través de los cuales los flavonoides ejercen sus acciones prooxidantes incluyen la reducción temporal de Cu (II) a Cu (I), (Rahman et al., 1989) la generación de ERO, así como la afectación de las funciones de los componentes del sistema de defensa antioxidante nuclear: glutatión y glutatión-S transferasa (Sahu et al., 1996). Aunque con menos efectividad que los que contienen un núcleo pirogalólico, los flavonoides con un grupo catecólico generan H₂O₂ en solución amortiguadora acetato pH 7.4, al donar un átomo de hidrógeno de su estructura al oxígeno por conducto de un O₂⁻. La capacidad de los compuestos evaluados se comportó en el orden siguiente: miricetina, baicaleína, quercetina, epicatequina, catequina y fisetina (Miura et al., 1998).

Por otra parte, la naringenina, la naringina, la hesperitina y la apigenina, por medio de sus respectivos radicales fenoxilos prooxidantes, oxidaron al NADH en el sistema peroxidasa/H₂O₂. Los radicales NAD originados generaron H₂O₂ en el medio. (Chan et al., 1999). En tanto, la baicalina, la quercetina, la morina y la miricetina, incrementaron la generación de OH· a través de la reacción de Fenton, en un ensayo basado en la determinación de ácido metanesulfónico producido por la reacción entre el dimetilsulfóxido y este radical (Hanasaki, 1994).

Los flavonoides quercetina, rutina, galangina, apigenina, fisetina, miricetina y baicaleína, causaron ruptura del ADN de timo de carnero en presencia de Cu y oxígeno molecular. La quercetina, junto con la miricetina y la baicaleína, dieron lugar a la 8-OH-2'-desoxiguanosina, lesión oxidativa del ADN de mayor potencial mutagénico (Rahman et al., 1992; Yoshiro et al.,

1999). Un estudio más detallado, basado en un análisis de los fragmentos obtenidos del gen supresor de tumores p53, puso de manifiesto que el daño oxidativo al ADN inducido por la quercetina en presencia de Cu, transcurre a través del ataque de los residuos de timina y citosina, y que la luteolina y el kaempferol también inducen daños al ADN en presencia de este metal. Teniendo en cuenta que estos daños fueron revertidos por la batocupreína, agente quelatante de Cu, no así por los secuestradores de radicales OH libres, ha sido sugerido que el daño al ADN es más bien inducido por el complejo oxígeno-Cu-ADN, más que por OH· (Jovanovic et al., 1996).

Al parecer, la sustitución orto 3'-4'-dihidroxi en el anillo B resulta esencial para la formación de quelatos Cu y el OH de la posición 3 aumenta la oxidación de los flavonoides como la quercetina y el kaempferol en presencia de este, cosa que no ocurre con otros como la luteolina y la rutina, que carecen de este grupo. Por último, la conjugación entre los anillos A y B resulta importante también para la acción prooxidante de un flavonoide iniciada por Cu, mientras que la O-metilación de las sustituciones hidroxílicas inactiva dicha acción (Brown et al., 1998). Dependiendo de las condiciones experimentales, y de sus bajos potenciales de oxidación (Ep/2) algunos flavonoides pueden comportarse también como agentes prooxidantes involucrándose en procesos de ciclaje redox. En este sentido su peculiar estructura (ion oxonio), con una alta conjugación que estabiliza los radicales que forma, desempeña un papel muy importante. Por tanto, los flavonoides con un grupo pirogalólico en el anillo B exhiben una mayor actividad antioxidante que los que presentan un núcleo catecólico. Pero al mismo tiempo son más susceptibles a mostrarse como agentes prooxidantes, lo que neutraliza los referidos efectos antioxidantes (Bellisle F et al., 1998).

3.3 VARIABILIDAD EN LOS ALIMENTOS FUNCIONALES CON FLAVONOIDES.

Las variaciones en los niveles de flavonoides suele ser utilizada para diferenciar tipos de alimentos, independientemente de eso, la preparación y el proceso de los alimentos puede decrementar los niveles de flavonoides, dependiendo de los métodos utilizados. (García-Viguera et al., 1997).

Los alimentos funcionales con flavonoides son muy variados en cuanto a su composición, lo anterior porque existen diversos factores que favorecen a esta variación:

1.- Diseño. Insuficiente número de estudios que demuestran el efecto o no efecto de los flavonoides como componente funcional. Esto se ve incrementado al no existir un método estandarizado para realizar los estudios de los efectos de los flavonoides, lo cual dificulta la comparación de alimentos contra las fuentes de las que proceden; aunado a esto, la cuantificación de la capacidad antioxidante de los flavonoides es complicada debido a la degradación del metabolito.

2.- Estudio preclínico. Se han encontrado diferentes efectos de los flavonoides dentro de los alimentos con respecto a los componentes aislados.

3.-Dosis incierta. Las dosis de ingesta de flavonoides en alimentos es incierta debido a:

- a) Variabilidad en la fuente (cultivo, luz, etc.)
- b) Variación en la ingesta de alimentos con flavonoides
- c) Biodisponibilidad del flavonoide

d) Variabilidad en el proceso de producción de los AF

3.3.1 DISEÑO

La evaluación de la ingesta de flavonoides en la dieta aun es escasa de precisión. La mayoría de los datos de polifenoles contenidos en alimentos provienen de fuentes dispersas. Una mayor comprensión durante el estudio de la ocurrencia de polifenoles en alimentos debería entenderse con la utilización de métodos bien estandarizados. Para la estimación de la ingesta diaria de polifenoles la mayoría de los autores hace referencia a un dato publicado hace 30 años (Kühnau, 1976). El dato reportaba una ingesta diaria de 1g/día de polifenoles totales en países occidentales, pero el método utilizado para obtener este resultado no se encuentra detallado.

Aunado a lo anterior cabe mencionar la controversia entre los efectos benéficos a la salud y los potenciales daños causados por la mutagenicidad de estos. Es necesario un claro entendimiento de los efectos del potencial adverso de los compuestos fitoquímicos dietarios, incluyendo los polifenoles. Solo cuando este dato sea comparado con las evidencias que demuestran efectos benéficos se podrá balancear y juzgar la utilidad potencial de estos compuestos en prevención de enfermedades o el tratamiento de estas. (Lambert et al., 2007)

3.3.1.1 MÉTODOS ANALÍTICOS NO ESTANDARIZADOS

Se han publicado amplias revisiones de métodos analíticos para antocianinas (Francis, 1982; Jackman et al., 1987) y otros flavonoides (William y Harborne, 1994) así como ácidos fenólicos (Herrman, 1989). El número de métodos y variaciones en los métodos para medir antioxidantes en alimentos ha sido incrementado considerablemente (Prior et al., 2005).

Un solo antioxidante puede actuar por múltiples mecanismos antioxidantes en un solo sistema dependiendo del tipo de reacción y pueden responder de diferentes maneras ante fuentes de radicales o de oxidantes. Debido a las múltiples reacciones características y sus mecanismos, así como las diferentes fases de localización en los que suelen estar involucrados los flavonoides, un análisis simple no podría reflejar todas las fuentes de radicales o todos los antioxidantes en una mezcla o un sistema complejo (Prior et al., 2005).

Un método estandarizado para cuantificación de antioxidantes es necesaria para hacer una comparación entre alimentos y productos, así como para poder observar una variación entre los productos, además es indispensable para estándares de calidad en la regulación de reivindicaciones nutricionales. En la Tabla 3-2 **Fenoles Totales y capacidad Antioxidante por diversos métodos en extracto de frutas y vegetales**.se presentan datos reportados por diferentes métodos. Aunado a la complejidad de comparar datos que se han obtenido mediante diversas metodologías, se encuentra el hecho de que estas moléculas son lábiles a la luz, temperatura, presencia de oxígeno, entre otros, por lo que su determinación se dificulta aun más.

Tabla 3-2 Fenoles Totales y capacidad Antioxidante por diversos métodos en extracto de frutas y vegetales. (Proteggener et al., 2002)

Fruta/Vegetal	Fenoles Totales (mg GAE/100g FW)	TEAC ($\mu\text{mol Trolox}/100\text{g FW}$)	FRAP ($\mu\text{mol FE}^{2+}/100\text{g FW}$)	ORAC ($\mu\text{mol Trolox}/100\text{g FW}$)
Fresa	300 \pm 4	2591 \pm 68	3325 \pm 38	2437 \pm 95

Cereza	228 ± 6	1846 ± 10	2325 ± 53	1849 ± 232
Ciruela Negra	320 ± 12	1825 ± 28	2057 ± 25	2564 ± 185
Uva Morada	150 ± 4	861 ± 53	829 ± 6	1447 ± 67
Naranja	126 ± 6	849 ± 25	1181 ± 6	1904 ± 259
Brócoli	128 ± 4	648 ± 25	833 ± 16	1335 ± 62
Cebolla	88 ± 1	532 ± 29	369 ± 13	988 ± 30
Uva verde	80 ± 4	594 ± 72	519 ± 48	872 ± 48
Espinaca	72 ± 1	757 ± 54	1009 ± 35	1655 ± 115
Coliflor	30 ± 1	295 ± 16	259 ± 5	425 ± 44
Lechuga	14 ± 1	171 ± 12	124 ± 7	319 ± 37
Pera	60 ± 3	282 ± 19	315 ± 24	587 ± 50
Manzana	48 ± 1	343 ± 13	394 ± 8	560 ± 18
Durazno	38 ± 1	244 ± 9	336 ± 4	764 ± 49
Plátano	38 ± 4	181 ± 39	164 ± 32	331 ± 59
Tomate	30 ± 1	255 ± 14	344 ± 7	420 ± 39

Las antocianinas y otros polifenoles pueden tener su mayor concentración en el tejido epidérmico de las frutas o distribuidas en el tejido de la fruta, para la cuantificación de los primeros, será necesaria la desintegración extensiva y la extracción de la piel y otras capas externas, mientras que para las segundas deberá hacerse un jugo homogenizado del tejido de la fruta. Cuando se pretende un estudio cuantitativo del extracto de la fruta éste debe obtenerse justo antes del análisis. Si el interés primario es el análisis de vino, jugos y algunas preparaciones funcionales, el análisis debe ser desarrollado directamente en la muestra después de una adecuada dilución (Wang et al., 1996; Frankel et al., 1998; Larrauri et al., 1999; Saint-Cricq de Gaulejac et al., 1999; Burns et al., 2000; Wang y Lin, 2000). Abuja et al., 1998, analizaron extractos de zarzamora secados por aspersión después de la disolución del material en una solución buffer de fosfato.

Cuando se preparan muestras para análisis, se deben tomar las precauciones necesarias para evitar la degradación de flavonoides y otros fenoles antes y durante la extracción. El uso de antioxidantes y agentes reductores para prevenir la oxidación de compuestos fenólicos durante la extracción se ha llevado a cabo en algunas investigaciones (Meyer et al., 1998). Sin embargo, cuando la actividad antioxidante de las frutas es cuantificada, ninguna adición de antioxidantes debe interferir con el resultado, por lo cual la adición debe ser evitada.

El congelamiento y la posterior trituración en nitrógeno líquido es el método utilizado para evitar la oxidación de los compuestos fenólicos durante la preparación de la muestra (Labarbe et al., 1999; Skrede et al., 2000) mientras que, la extracción bajo condiciones anaeróbicas para evitar la oxidación también ha sido utilizada (Meyer et al., 1998). Cuando los análisis son basados en materiales congelados, se debe tener cuidado en evitar el almacenamiento más allá de algunos meses. Diversos estudios son basados en frutas secas y congeladas (Meyer et al., 1998; Häkkinen et al., 1999; Kähkönen et al., 1999; Lu y Fo, 1999; Saint-Cricq de Gaulejac et al., 1999) y las muestras liofilizadas son frecuentemente finamente trituradas antes de la extracción. Es conveniente realizar la trituración o molido de las frutas directamente en el medio de extracción siempre que sea posible. (Lapidot et al., 1998; Kalt et al., 1999; Labarbe et al., 1999). Se ha demostrado que el tratamiento enzimático de la fruta homogenizada antes de la extracción, decrece el rendimiento de la extracción (Heinonen et al., 1998). Con muchos productos es necesario tomar precauciones especiales para inactivar la polifenol oxidasa endógena (Skrede et al., 2000).

3.3.2 ESTUDIOS PRECLÍNICOS

Para evaluar los efectos biológicos de los flavonoides, así como de cualquier fármaco o componente alimenticio, uno de los más importantes aspectos es la biodisponibilidad, en la que influyen factores tales como estructura química, absorción, distribución y eliminación. Por ejemplo, existen diferencias de biodisponibilidad entre la quercetina y la catequina dependientes del metabolismo, habiéndose demostrado que las concentraciones plasmáticas de los metabolitos de quercetina presentan una vida media más larga que los metabolitos de la catequina. Esta diferencia es mayor en ratas adaptadas a una dieta rica en quercetina durante varios días, que en ratas adaptadas de igual forma con catequina. La quercetina experimenta una mayor metilación en plasma que la catequina; además los metabolitos de la catequina son únicamente glucuronidados, mientras que los metabolitos de la quercetina son también sulfatados. Estos factores podrían afectar a la solubilidad de los metabolitos en los fluidos orgánicos y ser responsables de la diferente vía de eliminación de ambos flavonoides, ya que la catequina se elimina principalmente por la orina mientras que la quercetina se elimina por la bilis (Monach et al., 1999).

La estructura química de los polifenoles determina su tipo y extensión en la absorción intestinal y la naturaleza de los metabolitos circulantes en plasma. Sin embargo, se observa un comportamiento diferente entre los metabolitos como compuestos puros y los metabolitos dentro de los alimentos. La Tabla 3-3 Biodisponibilidad en humanos de flavonoides consumidos solos o en alimentos (Tomado de Scalbert y Williamson, 2000) muestra algunos datos que ejemplifican lo anterior.

Tabla 3-3 Biodisponibilidad en humanos de flavonoides consumidos solos o en alimentos (Tomado de Scalbert y Williamson, 2000)

Polifenoles		Fuente	Cantidad de polifenol ingerido	Máxima Concentración en Plasma	Excreción en Orina	Referencias
Flavonoles	Quercetina	Cebolla	68	0.74	1.39	Hollman et al., 1997
	Quercetina	Manzana	98	0.30	0.44	Hollman et al., 1997
	Quercetin-4-O-ramanoglucosido	Compuesto puro	202	0.30	0.35	Hollman et al., 1997
	Quercetin-4-O-glucosido	Compuesto puro	144	3.2	ND	Hollman et al., 1999
Catequinas	Epigallocatequina galato	Infusión de Te Verde 1.2g	88	0.33	3.6	Lee et al., 1995
	Epigallocatequina	Infusión de Te Verde 1.2g	82	0.67	ND	Lee et al., 1995
	Epicatequina galato	Infusión de Te Verde 1.2g	33	ND	6.2	Lee et al., 1995
	Epicatequina	Infusión de Te Verde 1.2g	32	0.27		Lee et al., 1995
	Epigallocatequina galato	Infusión de Te Verde 5g	105	0.13-0.31		Unno et al., 1996
	Epigallocatequina galato	Infusión de Te Verde 6g	105	5.0		Maiani et al., 1997
	Epigallocatequina galato	Extracto de Te Verde	525	4.4		Nakagawa et al., 1997

	Catequina	Vino Tinto, 120 ml	34	.072		Donovan et al., 1999
	Catequina	Compuesto puro	500	2	0.45	Balant et al., 1979
Isoflavonas	Genisteína	Leche de Soya	19	0.74	19.8	Xu et al., 1994
	Daidezina	Leche de Soya	25	0.79	5.3	Xu et al., 1994
	Genisteína	Proteína de Soya , 60g/d por un mes	20		9.2	Cassidy et al., 1994
	Daidezina	Proteína de Soya , 60g/d por un mes	25		2.5	Cassidy et al., 1994
	Genisteína	Proteína de Soya	80	0.50		Gooderham et al., 1996
	Daidezina	Proteína de Soya	36	0.91		Gooderham et al., 1996
	Genisteína	Proteína de Soya , 20g/d por 9 días	23		8.7	Karr et al., 1997
	Daidezina	Proteína de Soya , 20g/d por 9 días	13		26	Karr et al., 1997
Flavanonas	Naringina	Jugo de Uva, 120 ml				Fuhr y Kummert, 1995
	Naringina	Jugo de Uva y Naranja, 1250 ml cada uno				Ameer et al., 1996
	Hesperedina	Jugo de Uva y Naranja, 1250 ml cada uno				Ameer et al., 1996
	Naringina	Compuesto puro				Ameer et al., 1996
	Hesperedina	Compuesto puro				Ameer et al., 1996
Antocianinas	Antocianinas	Vino tinto, 300 ml.				Lapidot et al., 1998

3.3.2.1 SUPLEMENTOS DIETARIOS Y ALIMENTOS FUNCIONALES

La acción de los flavonoides en suplementos dietarios y en alimentos es diferente. Los suplementos dietarios (píldoras, comprimidos, cápsulas) pueden ser fuentes concentradas de flavonoides, pero fallan en proveer la gama completa de ingredientes naturales que un alimento provee (Prior y Cao, 1999a). La absorción, distribución y metabolismo de los flavonoides pueden no ser apropiada ya que algunos necesitan la presencia de otros compuestos o componentes alimenticios para funcionar apropiadamente.

Se podría concluir que no necesariamente un compuesto fitoquímico individual, si no la combinación de varios compuestos fitoquímicos entre si o con otras sustancias en los alimentos es lo que favorece su absorción, transporte a los tejidos, metabolismo y su acción benéfica a la salud (Dwyer, 1996).

Se han desarrollado muchos productos nuevos basados en frutas, vegetales u otras plantas ricas compuestos antioxidantes en la década pasada y se han comercializado como suplementos dietarios antioxidantes. La mercadotecnia de estos productos alega “protección contra radicales libres” pero la mayoría de los productores no ofrecen información sobre su composición y sus etiquetas no incluyen datos sobre su poder antioxidante. Desafortunadamente los suplementos nutricionales tampoco cuentan con legislación tan estricta como la de medicamentos (Ross, 2000).

En un estudio realizado por Dávalos et al., 2003 se calculó la relación entre cantidad de quercetina en suplementos dietéticos comparado con alimentos ricos en flavonoides. Tabla 3-4

Tabla 3-4 Equivalentes en la ingesta de alimentos y suplementos dietarios comerciales (Dávalos et al., 2003).

Suplemen to	Método DDPH*				Autooxidación MeLo				Oxidación inducida LDL		
	Querce tina ^a	Vino tinto joven ^b	Vino tinto añejado ^b	Fresas ^c	Quercet ina ^a	Vino tinto joven ^b	Vino tinto añejado ^b	Fresas ^c	Querce tina ^a	Vino tinto joven ^b	Vino tinto añejado ^b
1	50	53	31	91	35	566	445	9762	55	59	59
2	7.9	8	5	14	0.20	3	3	57	3.4	3.6	3.6
3	23	24	14	42	4.0	64	50	1099	10	11	11
4	190	200	118	343	98	1512	1188	2606 4	83	89	89
5	10	11	6	19	0.23	4	3	63	13	14	14
6	85	89	53	152	1.7	28	22	477	36	39	39
7	67	70	41	120	6	96	76	1658	17	18	18

- a) Cantidad de quercetina (mg) que exhiben la misma capacidad antioxidante que la dosis recomendada diaria en suplementos dietarios
- b) Cantidad de vino tinto (ml) que exhiben la misma actividad antioxidante que la cantidad de ingesta diaria de los suplementos dietarios.
- c) Cantidad de fresas (g) que exhiben la misma actividad antioxidante que la cantidad de ingesta diaria de los suplementos dietarios.

De este estudio se puede concluir que los diferentes suplementos dietarios estudiados poseen diferencias significativas de capacidad antioxidante, dependiendo del origen botánico de los diferentes procesos de producción formulaciones y concentraciones.

3.3.3 DOSIS INCIERTA

3.3.3.1 VARIABILIDAD EN LA FUENTE (CULTIVO, LUZ, ETC)

Los niveles de flavonoides individuales y totales en alimentos están influenciados por factores genéticos como la especie, condiciones de contaminación, así como luz, maduración, almacenamiento y procesamiento. (Bravo, 1988; Duthie et al., 2000; Chu et al., 2000)

La cantidad contenida en algunas porciones de alimentos se muestra en la Tabla 3-5. Los valores son solo indicativos, ya que difieren ampliamente de acuerdo a la variedad, por ejemplo, en un factor hasta de 1:4 para flavonoides (Amiot et al., 1992, Hammerstone et al., 2000). Y en la misma proporción para la quercetina en cebolla morada y amarilla, mientras que la cebolla blanca no contiene flavonoles (Tsushida y Suzuki 1996).

Tabla 3-5 Contenido de flavonoides en porciones típicas de alimentos y bebidas comúnmente consumidos. Tomado de Scalbert, y Williamson, 2000

Alimento (cantidad)	Flavonoles	Flavonoles		Flavanones	Antocianinas	Referencia
		Catequinas Monoméricas	Proantocianinas			
Tomate, 100g	0.5					Winter y Herrmann 1986; Hertog et al., 1992; Vinson et al., 1998
Lechuga 100g	1					Fleuriet y Macheix, 1985; Crozier et al., 1997; Vinson et al., 19983
Cebolla, 20 g	7					Vinson et al., 1998
Manzana, 200g	7	21	200			Hertog et al., 1992; Spanos y Wrolstad, 1992; Vinson, 1998; Hammerstone et al., 2000.
Cereza, 50 g	1	3	35		200	Macheix et al., 1990; Clifford, 1999.
Chocolate Oscuro, 20g		16	85			Waterhouse et al., 1996; Adamson et al., 1999; Hammerstone et al., 2000.
Jugo Naranja, 100ml				22		Rousseff et al., 1987; Henn y Stehle, 1998.
Vino tinto, 125 ml	2	34	45		4	Ricardo da Silva et al., 1991; Ricardo da Silva et al., 1992; Frankel et al., 1995.
Te Negro, 200 ml	8	130				Brown et al., 1990; Hertog et al., 1993.

3.3.3.2 VARIACIÓN EN LA INGESTA DE ALIMENTOS CON FLAVONOIDES

Una estimación precisa de la ingesta diaria de flavonoides es muy complicada debido a la gran variedad de flavonoides disponibles y la amplia distribución en varios grupos de plantas, así como la diversidad del consumo humano (Tomás-Barberán y Clifford, 2000). Una molécula fenólica a menudo es característica de la especie de la planta o incluso de un tejido de una planta, (Macheix and Fleuriet, 1998) es por eso que es imposible conocer precisamente la naturaleza de todos los polifenoles en la ingesta. De esta manera, la medición de la ingesta diaria de flavonoides depende completamente del criterio del estudio, del método utilizado y de la referencia de los compuestos seleccionados para el análisis. Teniendo esto en mente, la ingesta diaria de flavonoides estimada ha sido calculada desde 100 a 1000 mg/día (Bravo, 1988).

La compleja composición de polifenoles en materiales de plantas es tal que aun no se ha completado con la identificación total de varias frutas. Frecuentemente los compuestos son parcialmente caracterizados con respecto a su clase de compuesto.

Si bien el dato del porcentaje de flavanonas en la dieta aun no está disponible, estos compuestos pueden hacer una contribución significativa en la ingesta diaria de flavonoides. Según Hollman y Katan (1998) la ingesta promedio de flavonoles y flavonas se sitúa entre los 20 y 26 mg/día; excede, por tanto, a la de otros antioxidantes en la dieta, tales como el beta-caroteno (2-3 mg/día) y la vitamina E (7-10 mg/día) y es igual aproximadamente a un tercio de

la vitamina C (70-100 mg/día). Los flavonoides representan, pues, una contribución importante al potencial antioxidante de la dieta humana.

Aunque los hábitos alimenticios son muy diversos en el mundo, el valor medio de ingesta de flavonoides se estima como 23 mg/día (Hertog et al., 1996). De los alimentos, el té es una de las fuentes principales de quercetina, principalmente en Japón y los Países Bajos, el vino tinto lo es en Italia y las cebollas en los Estados Unidos y Grecia. La ingesta de flavonoles (mayormente quercetina) y flavonas para la población holandesa ha sido establecida como 21 y 2 mg/día (Hertog et al., 1993); para las isoflavonas una cantidad de ingesta de 30-40mg/d fue reportada para los japoneses (Kimira et al., 1998; Wakai et al., 1999). El consumo en países occidentales es significativamente menor debido al limitado consumo de productos de soya (Kirk et al., 1999). Al parecer la ingesta de flavonoles, flavones e isoflavonas es relativamente baja comparada con la de ácidos fenólicos y otros flavonoides como las proantocianidinas y antocianinas. El consumo de compuestos como la quercetina y la genisteína no excede del 2-4% de la ingesta en la dieta de polifenoles totales.

3.3.3.3 BIODISPONIBILIDAD DEL FLAVONOIDE

Las propiedades biológicas de los flavonoides dependen de su biodisponibilidad (Middleton et al., 2000). Existe evidencia indirecta de su absorción a través del intestino incrementando la capacidad antioxidante del plasma después del consumo de alimentos ricos en flavonoides. Esto ha sido observado en varios estudios de alimentos como té, (Serafini et al., 1996; van het Hof et al., 1997), vino tinto, (Duthie et al., 1998; Fuhrman et al., 1995; Maxwell et al., 1994; Serafini et al., 1998; Whitehead et al., 1995) o pasas y jugo de naranja (Young et al., 1999).

Evidencia mas directa en la biodisponibilidad de algunos compuestos fenólicos ha sido obtenida por la medición de sus concentraciones en plasma y orina después de la ingesta de estos compuestos puros o de alimentos con un contenido conocido del compuesto de interés (Tabla 3-3).

Los flavonoides son estables al calor, pero pueden perderse fácilmente en proceso de calentamiento y enfriamiento (Hertog, 1993). Esto usualmente sucede porque los flavonoides son absorbidos por difusión pasiva después los flavonoides glicosidados son convertidos a sus gliconas. La microflora del colon puede jugar un papel importante en esta conversión. La biodisponibilidad de los flavonoides es solo parcial, la proporción de cantidad ingerida que se absorbe varia entre el 0.2 al 0.9% para las catequinas del te, alrededor del 20% para las quercetinas y las isoflavonas (Hollman et al., 1995; Lee et al., 1995). De esta manera, una gran fracción remanente no es absorbida y la mucosa gastrointestinal es expuesta a concentraciones elevadas de estos compuestos. Después de la absorción, los flavonoides son conjugados en el hígado por glucurodinación sulfatación o metilación, o metabolizados en pequeños compuestos fenólicos (Bravo, 1998).

3.3.3.3.1 ABSORCIÓN DEL TRACTO INTESTINAL

La información acerca de la absorción, metabolismo y excreción de los flavonoides individuales es escasa (Cook y Samant, 1996). Los flavonoles son absorbidos por el tracto intestinal en humanos y animales y son excretados incluso sin cambios o como metabolitos en la orina o en heces fecales.

Das, 1971, reportó que 6 h después de la administración de 92.3 mg/kg peso cuerpo (4.2 g) de catequinas a hombres sanos, el compuesto era detectable en el plasma. La catequina fue excretada en la orina en forma libre, en forma conjugada y en forma de derivados. Aproximadamente el 19% fue recuperada en las heces. En un estudio similar sin embargo, Gugler et al., 1975, no pudieron detectar quercetina e incluso aglicón en plasma u orina de las personas a las cuales se les habían administrado una dosis oral de 4 g de quercetina. Aproximadamente el 53% de la dosis fue recuperada sin cambios en heces y se concluyó que solo el 1% (40mg) de quercetina fue absorbida. Okushio et al., 1996, confirmó una presencia de (-) epicatequina y (-) epigallocatequina y sus respectivos galatos en sangre después de una administración oral de té de catequinas en ratas. El descubrimiento indica claramente que por lo menos existe absorción de la catequinas administradas en las venas de las ratas. Estos son indicios de que el té de flavonoides puede ser absorbido en humanos, pero aun no es claro que estos compuestos sean absorbidos como tales o si la degradación de estos ocurra antes de su absorción. Hollman et al., 1997, y Donovan et al., 1999, encontraron sulfato, sulfato glucoronido- catequina conjugado y catequina libre en plasma de humanos después de la ingesta de vino rojo alcoholizado y desalcoholizado. Los conjugados desaparecieron de la sangre con un tiempo de vida de 4 horas. Entonces, las catequinas aparentan tener una buena absorción pero son rápidamente transformadas en varios metabolitos esos son indicios de que los compuestos padres son importantes para la actividad biológica de las catequinas.

Los flavonoides libres sin una o más moléculas de azúcar son capaces de pasar a la pared intestinal. Así compuestos no enzimáticos capaces de abrir las uniones β -glucosídicas de los glicósidos flavonoides han sido reportadas secretadas en el intestino o están presentes en la pared intestinal, la hidrólisis microbial puede ocurrir solo en el colon. La bacteria en el colon hidroliza los glicósidos flavonoides y los aglicones están dispuestos a ser absorbidos, sin embargo, la bacteria es conocida por degradar sustancialmente el flavonoide mediante la apertura del anillo heterocíclico y se ha postulado que varios ácidos fenólicos y lactosas son formadas. Los ácidos fenólicos son absorbidos y excretados en la orina. El significado de estas reacciones en hombres no es claro. La absorción del aglicón de quercetina ha sido confirmada por Hollman et al., 1995, en su estudio con sujetos con ileostomía donde no ocurre actividad microbial en el colon. Después de la administración oral de 100mg de aglicón quercetina puro, el 24% de aglicón quercetina fue absorbido.

En un estudio con sujetos con ileostomía a quienes se les suministraron flavonoides de cebolla, Hollman et al., concluyeron que los glucósidos flavonoides pueden ser absorbidos en hombres sin una hidrólisis previa al aglicón. La velocidad de absorción de glucósidos flavonoles varía de moderado a rápido en hombres (Hollman et al., 1997). Mientras que los glucósidos de flavonoles de cebollas fueron rápidamente absorbidos por el hombre, la rutinósida correspondiente fue lentamente absorbida. Similarmente, los glucósidos de quercetina de manzanas fueron absorbidos a una velocidad menor que el de las cebollas. En otros estudios se reportó la absorción de glucósidos flavonoides típicos de frutas. Lapidot et al., 1998, trazaron antocianinas en orina humana después de la ingesta de 300ml de vino rojo correspondiente a 218 mg de antocianinas totales de 1.5-5.1 de antocianinas fueron recuperadas en la orina después de 12 horas de su consumo, dos compuestos no mostraron cambio, mientras que otros compuestos parecen tener modificaciones moleculares. Los niveles de antocianinas en la sangre alcanzaron un pico después de las 6 hrs. de consumo.

3.3.3.4 VARIABILIDAD EN EL PROCESO DE PRODUCCIÓN DE LOS AF

Los flavonoides son metabolitos muy lábiles, en el proceso de producción la cantidad y calidad de flavonoides esta determinado por las enzimas que intervienen en el proceso; la estructura molecular del flavonoides y la copigmentación; la presencia de oxígeno y ácido ascórbico; los efectos del SO₂; el pH; la actividad de agua y contenido de azúcar; así como la temperatura y la luz a la que están expuestos.

En el capítulo 5 se trata con todo detalle los procesos de elaboración de los AF con flavonoides y como afectan la calidad de los mismos.

Cabe mencionar que la posibilidad de que los flavonoides se comporten como prooxidantes depende de la estabilidad de estos, de forma tal que es necesario que asegurar la estabilidad de estos ya que si se encuentran en altas concentraciones y en forma inestable estos se pueden comportar como prooxidantes trayendo con esto un efecto dañino a la salud. (Ahmad, 1992; Laughton, 1991)

La variabilidad en el proceso de producción es un factor que se puede controlar y sobre el cual se basará la calidad de estos productos, es por eso que se le tomará atención especial en un capítulo aparte.

Además de los factores en el proceso de producción a nivel industrial del alimento funcional también afectan en su composición polifenólica los procesos domésticos que se llevan a cabo para la preparación final del alimento.

Dentro del desarrollo de la presente investigación se realizó un trabajo experimental donde se intentó demostrar el efecto de la temperatura y el tiempo de extracción del té verde. El té verde ha adquirido gran importancia en la actualidad por las alegaciones nutricionales que se le hacen, dichas implicaciones nutricionales son debidas a su alto contenido en compuestos polifenólicos y su capacidad antioxidante. Se realizaron infusiones de 11 diferentes muestras de té verde y té verde mezclado con flores y frutas reproduciendo las condiciones domésticas, dichas infusiones se realizaron con agua a 70°C, 80°C y 90°C con tiempo de extracción de 1 minuto, tres minutos y 5 minutos.

Los resultados muestran que si bien a los 70°C la extracción es menos eficiente, no se muestra un daño debido al tiempo de exposición del té verde con el agua. A los 80°C la extracción es más eficiente que a los 70°C, sin embargo en dos de las muestras se observó un daño debido al tiempo de exposición de té verde al agua. La extracción es mas eficiente a los 90°C pero en un tiempo de extracción mayor a un minuto esa temperatura puede provocar un daño a los compuestos polifenólicos y por ende a la capacidad antioxidante de la infusión de té verde.

Los resultados completos del trabajo experimental realizado así como la metodología empleada se pueden observar en el apéndice

4 REGULACION DE LOS ALIMENTOS FUNCIONALES

En relación a las organizaciones encargadas de legislar en materia de alimentos, éstas deben encontrar soporte científico que avale los beneficios a la salud de los supuestos alimentos funcionales. Muchos académicos, científicos y organismos reguladores están trabajando para encontrar maneras de establecer una base científica que apoye las reivindicaciones beneficiosas que se asocian a los componentes funcionales o los alimentos que los contienen. Sería necesario que un marco regulador protegiera a los consumidores de las atribuciones de propiedades falsas o confusas, y que además pudiera responder a las necesidades de la industria en cuanto a innovación en el desarrollo de productos, su comercialización y su promoción. Para que los alimentos funcionales puedan aportar todos los beneficios posibles para la salud pública, los consumidores tienen que comprender bien y confiar en los criterios científicos utilizados para documentar sus efectos y atribuciones beneficiosas.

Si bien es cierto que los alimentos funcionales pueden desempeñar ese relevante papel, es indispensable evitar que sus fabricantes los promuevan atribuyéndoles virtudes corroboradas por rumores más que por hechos. Con el fin de evitarlo, el Codex Alimentarius FAO/OMS de las Naciones Unidas, el Consejo de Europa y las entidades nacionales de regulación están redactando una normativa, por la que se podrán difundir únicamente las propiedades "verificables y probadas".

Según esta normativa, cualquier información relativa al carácter beneficioso para la salud indicada en las etiquetas no deberá inducir a engaño y habrá de basarse en pruebas científicas fiables. Lo idóneo sería demostrar que la sustancia en cuestión es absorbida o llega efectivamente al punto donde ha de actuar. Debería probarse fehacientemente que la ingesta de dicho alimento en cantidades normales tiene un efecto fisiológico provechoso, como reducir la presión arterial, o que actúa positivamente sobre un indicador bioquímico, como el colesterol, a niveles medibles.

El Codex Alimentarius es un programa conjunto de la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y La Alimentación (UN Organisation for Agricultura, FAO) y la Organización Mundial de la Salud (OMS), que se encarga de establecer normas alimentarias. Su autoridad es indiscutible debido a su importancia en el comercio internacional, y muchos de los países que están desarrollando nuevas legislaciones utilizan a menudo como base las normas del Codex. El debate en el Codex se encuentra en su etapa inicial y los principales temas en los que hay que trabajar más antes de llegar a un consenso son las reivindicaciones en cuanto a la reducción del riesgo de padecer enfermedades, la necesidad de verificación científica y el etiquetado (www.fda.org)

4.1 REGULACION DE AF EN EL MUNDO

En cuanto a la regulación de los alimentos funcionales, Japón está por delante del resto del mundo en este aspecto. En 1991, se estableció el concepto de "Alimentos para Uso Específico en la Salud, (Foods for Specified Health Use, FOSHU). Los alimentos que se incluyan dentro de la categoría de FOSHU deben ser autorizados por el Ministro de Salud, tras la presentación de pruebas exhaustivas con fundamento científico, que apoyen la alegación relativa a las propiedades de dichos alimentos, cuando son consumidos como parte de una dieta ordinaria.

En Estados Unidos se permite desde 1993 que se aleguen propiedades "que reducen el riesgo de padecer enfermedades" en ciertos alimentos. Las "reivindicaciones de salud" están autorizadas por la Administración para Alimentos y Medicamentos (Food and Drug Administration, FDA), siempre que existan "evidencias científicas públicamente disponibles y haya suficiente consenso científico entre los expertos de que dichas reivindicaciones están respaldadas por pruebas".

Aunque los fabricantes pueden utilizar reivindicaciones de salud para comercializar sus productos, la intención de la FDA es que el fin de dichas reivindicaciones sea el beneficio de los consumidores, y que se facilite información sobre hábitos alimenticios saludables, que pueden ayudar a reducir el riesgo de contraer enfermedades, como las afecciones cardíacas y el cáncer.

Según la FDA, las reivindicaciones pueden basarse también en "declaraciones autorizadas" de Organismos Científicos Federales, como los Institutos Nacionales de la Salud (National Institutes of Health) y los Centros para la Prevención y el Control de Enfermedades (Centers for Disease Control and Prevention), así como de la Academia Nacional de las Ciencias (National Academy of Sciences).

La Unión Europea ha creado una Comisión Europea de Acción Concertada sobre Bromatología Funcional en Europa (**F**unctional **F**ood **S**cience in **E**urope, FUFUSE). El programa ha sido coordinado por el Instituto Internacional de Ciencias Biológicas (International Life Sciences Institute (ILSI) Europe), y su objetivo es desarrollar y establecer un enfoque científico sobre las pruebas que se necesitan para respaldar el desarrollo de productos alimenticios que puedan tener un efecto beneficioso sobre una función fisiológica del cuerpo y mejorar el estado de salud y bienestar de un individuo y/o reducir el riesgo de que desarrolle enfermedades. El documento definitivo se publicó en la revista *British Journal of Nutrition* (Committee of Experts on Nutrition Food Safety and Consumer's Health, 1999)

Por ello, se creó un nuevo programa de Acción Concertada de la Comisión Europea, el Proceso para la Valoración de Soporte Científico de las Reivindicaciones con respecto a los Alimentos **P**rocess for the **A**ssessment of **S**cientific **S**upport for **C**laims on Foods, PASSCLAIM), que tiene como objetivo resolver los temas relativos a validación y verificación científica de reivindicaciones y la información al consumidor. El proyecto comenzó y se desarrollará a partir del principio, de que las reivindicaciones "funcionales de mejora" y las de "reducción de riesgo de enfermedades" deberían basarse en estudios bien planificados, mediante el uso de biomarcadores adecuadamente identificados, caracterizados y validados. (ILSI Europe Concise Monograph, 2002). El PASSCLAIM pretende establecer criterios comunes para evaluar la confirmación científica de las reivindicaciones de salud y proporcionar la base para la preparación de informes científicos que respalden dichas reivindicaciones. El Documento de Consenso del PASSCLAIM servirá de ayuda a las personas que hacen reivindicaciones y a las que las regulan, y además contribuirá a mejorar la credibilidad que dichas reivindicaciones tienen para los consumidores. Esta estrategia integrada generará una mayor confianza por parte de los consumidores en las reivindicaciones científicas que se hacen sobre los alimentos y servirá para responder mejor a las preocupaciones de los consumidores.

En la Unión Europea se ha conseguido mediante el dictamen La Directiva 2000/13/CE QUE prohíbe de modo general el uso de información que pueda inducir a error al comprador o que atribuya virtudes medicinales a los productos alimenticios proporcionar una orientación más específica por lo que respecta a las alegaciones nutricionales y de propiedades saludables. Así como alcanzar un elevado nivel de protección de los consumidores mediante la transmisión de

más información voluntaria, además de la información obligatoria prevista en la legislación comunitaria.

4.2 REGULACION DE AF EN MÉXICO

En el país no existe todavía una normativa que se utilice en la evaluación y control de los alimentos funcionales, sin embargo se evalúan las regulaciones que son aplicables a este tipo de alimentos.

En México, dos Secretarías de Estado, concurren para establecer un control sobre el etiquetado de alimentos, éstas son:

- 1) Secretaría de Salud, a través de la Dirección General de Calidad de Bienes y Servicios y
- 2) Secretaría de Economía, por medio de la Procuraduría Federal del Consumidor y la Dirección General de Normas.

El fundamento legal de la actuación de la Secretaría de Salud se encuentra en:

- a) Ley General de Salud.
- b) Reglamento de Control Sanitario de Productos y Servicios.
- c) Normas específicas de productos.

El fundamento legal de la Secretaría de Economía:

- a) Ley General de Metrología y Normalización.
- b) Norma Oficial Mexicana: NOM-051-SCFI-1994.

En el Apéndice del presente trabajo se reproduce lo más importante de la legislación antes mencionada.

Con una adecuada aplicación de las disposiciones generales existentes se podrían prevenir en gran medida los abusos en este ámbito. Sin embargo se ha informado que alrededor del 75% de las sanciones emitidas por SCFI y la Secretaría de Salud tienen su origen en el mal etiquetado. Dado que estas «reivindicaciones de propiedades saludables» ya se encuentran en el mercado y están planteando problemas, se propone que se examine la posibilidad de introducir en la legislación de México disposiciones específicas que rijan las «indicaciones funcionales» (reivindicaciones sobre los efectos benéficos de un nutriente en algunas funciones corporales normales).

Aunque muchos de estos conceptos pueden ser aplicados a los Alimentos Funcionales, no existe una ley que los regule, ya que de entrada no existe una definición propia para estos productos en la legislación mexicana. En el Programa Nacional de normalización publicada en el DOF con fecha 7 de noviembre del 2005 se observa que a la propuesta de la Modificación a la Norma Oficial Mexicana NOM-086-SSA1-1994. Bienes y servicios. Alimentos y bebidas no alcohólicas con especificaciones nutrimentales se resuelve que la norma actualmente se encuentra vigente y cubre el objetivo para el cual fue expedida por lo que no se considera prioritaria su modificación. Momentáneamente el país no cuenta con una manera de regular

estos productos. Sin embargo, los antecedentes expuestos muestran la necesidad de ocuparse de forma urgente acerca de la comercialización de estos alimentos en el país.

En la Tabla 4-1 Comparativo de la Regulación de AF en el mundo se muestra una comparación entre la regulación de los AF en el mundo y la regulación existente en México.

Tabla 4-1 Comparativo de la Regulación de AF en el mundo

País	Alimento	Tipo de Regulación	Año de Regulación	Organismo Regulador	Mecanismo de identificación	Observaciones
Japón	Alimento para Uso Específico en la Salud (FOSHU)	Voluntaria	1991	Ministerio de Salud de Japón	Sello FOSHU	Su regulación solo incluye alimentos, separadamente de suplementos
Canadá	Alimentos funcionales con fin Fisiológico	Voluntaria	1992	Organismo para Salud y Bienestar de Canadá	Alegaciones voluntarias	Su regulación es solo para alimentos, separadamente de los suplementos dietarios.
E.E.U.U	No reconoce a los Alimentos Funcionales pero si permite Reivindicaciones a la Salud	Voluntaria	1993	FDA	Alegaciones Voluntarias y Sellos autorizados por autoridades de salud	Su regulación incluye a los suplementos alimenticios y tiende a la “medicalización” de los alimentos, es decir, a tratarlos como medicamento.
Australia	Alimentos promotores de la Salud	Voluntaria	1994	National Food Authority	Alegaciones voluntarias	Incluyen a los Suplementos dietarios dentro de su normatividad tratándolos como alimentos.
Unión Europea	Alimentos para Uso particular en la nutrición (PARNUTS)	Voluntaria	2000	Comité Económico y Social Europeo	Alegaciones voluntarias	La normatividad es separada para alimentos y para suplementos dietarios.
México	Alimentos con Declaración de Propiedades nutricionales	Voluntaria	1994	Secretaría de Salud y Secretaría de Economía	Alegaciones Voluntarias inespecíficas	La normatividad es solo para alimentos, sin embargo no considera a los Alimentos funcionales y a los fitoquímicos y las alegaciones que considera son solo con respecto a vitaminas, proteínas y minerales.

4.2.1 ALIMENTOS FUNCIONALES EN MÉXICO QUE SE PRESUMEN CON FLAVONOIDES

En el presente trabajo se realizó un estudio de campo de los productos que se encuentran disponibles en el mercado que declaran en su etiqueta tener flavonoides, o ser extractos de frutas ricas en flavonoides. Lo anterior se observa en la Tabla 4-2

Tabla 4-2 Alimentos Funcionales en el mercado mexicano que declaran poseer Flavonoides

Nombre Comercial		Empresa que lo produce	Lugar de fabricación	Observaciones
Jugo Tahitian Noni	Jugo	Morinda	E.E.U.U.	Ningún tipo de información. Envase

				ámbar.
Jugo Flavo Aran	Jugo	Ocotzol	Pue. Mex.	Declara contiene: arándano, jamaica, azúcares, conservadores.
Noni Hawaiano	Jugo	Neway	E.E.U.U.	Declara tener: Frambuesa. Arándano, limón, cítrico.
Noni con jugo de arándano	Jugo	Alternativas Naturales	DF Mex	Envase transparente, sin info. nutricional
Noni Tahitiano	Jugo	Alternativas Naturales	DF Mex	Envase transparente, sin info. nutricional
Noni Forte	Jugo	PRONISA	DF Mex	Declara ser extracto de morinda.
Berry delicias	Jugo	Aloe Vera	DF Mex	Envase transparente, sin info. nutricional
Té de Uva	Infusión	Centro Botánico Azteca	DF Mex	Con info. Nutricional
Té de Zarparrilla	Infusión	Centro Botánico Azteca	DF Mex	Con info. nutricional
Té de Arándano	Infusión	Centro Botánico Azteca	DF Mex	Con info. nutricional
Aceite de Uva	Aceite	Olivi Hnos.	Argentina	Envase ámbar. Declara tener tocoferoles.

De este estudio se encontró que de los productos disponibles encontrados solo 2 de ellos manifestaron la cantidad de flavonoides que contienen, por lo cual no cumplen con la normatividad vigente, además mencionan en su publicidad reivindicaciones nutricionales.

Los productos que se presumen con capacidad antioxidante se incrementan en el mercado día a día, desde “aguas funcionales” o “bebidas antioxidantes”, anteriormente para encontrar este tipo de productos era necesario acudir a tiendas especializadas, en la actualidad en el país se encuentran este tipo de productos en los supermercados y en casi cualquier establecimiento. Evidentemente, al no contar con regulación que los norme cualquier producto puede promocionarse de manera arbitraria. Es de este modo que el jugo de arándano de la marca “Ocean Spray” se promociona como desintoxicante, mientras otras bebidas se promocionan como funcionales, relajantes, antioxidantes, sin que haya un sustento científico que lo avale.

Las acciones que cada país debe emprender para enfrentar el desafío que conlleva el rápido crecimiento de la comercialización de estos productos y la consecuente demanda de la industria de alimentos por obtener una regulación que permita difundir las propiedades saludables de estos productos, se facilitan si se integra a los actores comprometidos en diferentes formas con el tema de los alimentos saludables y funcionales.

De acuerdo a lo estipulado en la jerarquía legal aplicable a Alimentos Funcionales se buscó una estrategia para “controlar” la producción de Alimentos Funcionales con propiedades antioxidantes a partir de flavonoides. La estrategia seleccionada fue la de la creación de directrices de producción de estos productos que pueda ser utilizado para implantar sellos que avalen la calidad del AF.

5 CALIDAD DE ALIMENTOS FUNCIONALES CON FLAVONOIDES

La Organización Internacional de Normalización -ISO- define *calidad* en función de la medida en que el conjunto de propiedades y características que ofrece un producto o servicio satisfacen las necesidades declaradas o implícitas del consumidor. Desde este punto de vista la calidad es una noción subjetiva, la cual además está sujeta a cambios con el paso del tiempo.

Por ejemplo, en el caso de los alimentos, se han incorporado a la noción de calidad aspectos relativos a aporte de sustancias benéficas para la salud. A nivel mundial el grado de exigencia de los consumidores, respecto de los productos alimenticios, se ha elevado y diversificado, en virtud del aumento de la información disponible y ante la oferta de una gran variedad de productos. Aunque la demanda de estos productos con atributos de valor diferenciadores pueda corresponder a un número aún pequeño de personas en los países en vías de desarrollo, es una tendencia creciente que se observa hoy en los mercados de todo el mundo.

Con el fin de tomar todas las precauciones razonables para evitar el comercio de un producto inseguro, y ante la ausencia de una norma de referencia para controlar la seguridad alimentaria de los alimentos funcionales con componente flavonoides, este trabajo pretende presentar referencias de seguridad alimentaria susceptibles de certificación, a fin de ofrecer una herramienta para que el consumidor reconozca los productos que se fabrican siguiendo una serie de conocimientos científicos que avalan la seguridad y la efectividad del alimento funcional que desea adquirir.

Estas directrices de operación no excluyen normas ni los requisitos mínimos que deben cumplir los alimentos para asegurar la calidad de los mismos, es decir, sistemas de control de puntos críticos, sistemas de gestión de seguridad alimentaria, y las buenas prácticas agrícolas, buenas prácticas de fabricación, o buenas prácticas de distribución.

5.1 SELLO DE CALIDAD PARA ALIMENTOS FUNCIONALES CON FLAVONOIDES

Para garantizar al consumidor que un producto alimenticio presente efectivamente características de calidad existen sistemas voluntarios de control. Estos sistemas normalmente consisten en que una entidad independiente de la empresa, llamado organismo certificador, verifica y controla que el producto responda a los atributos de valor que ostenta. La forma visible como el producto muestra que ha sido verificado, es mediante la presencia en la etiqueta de un sello, símbolo o logotipo de calidad. Un sello que garantice un atributo de calidad puede convertirse en una importante herramienta de comercialización. De allí que todos los sellos de calidad tienen en común que los productos que los ostentan, deben cumplir en forma comprobada una serie de condiciones.

En varios países existen sistemas privados de certificación, los cuales controlan los productos de acuerdo a estándares propios o a normas técnicas nacionales y/o internacionales y también avalan su verificación con un sello de calidad en el envase. En muchos casos este sello corresponde a una marca registrada. En estos casos la entidad certificadora también es independiente de la empresa que elabora el producto. El valor de esta marca registrada o distinción está en el conocimiento y la confianza que tengan de ella los consumidores. Cuando la marca está posicionada en el mercado, ella es reconocida instantáneamente e indica que el producto y su proceso, cumplen con los estándares y han pasado los controles de calidad requeridos para poder ostentar esa *marca*. En consecuencia, los beneficios de la presencia de un sello de calidad son, entre otros, mejorar la diferenciación del producto en el punto de

venta, proporcionar confianza al consumidor y otorgarle una garantía de conformidad con estándares locales o internacionales.

Se propone la creación de un sello o marca oficial que avale que la producción de alimentos funcionales con componentes flavonoides se realice siguiendo los conocimientos científicos que favorezcan a la calidad de éstos. Lo anterior se basa en la siguiente legislación

5.1.1 SELLOS DE ALIMENTOS FUNCIONALES EN EL MUNDO

- ESTADOS UNIDOS El programa de certificación de alimentos sanos para el corazón de la *American Heart Association* -AHA-21. (<http://www.americanheart.org/FoodCertification/>) Este programa de certificación de alimentos se desarrolla en un esfuerzo conjunto con la *Food and Drug Administration* -FDA-22 y se inicia en 1995, con el objetivo de ayudar al consumidor en la selección de alimentos saludables para el corazón. Actualmente la AHA certifica más de 700 productos alimenticios de 65 compañías diferentes. Estos productos certificados deben cumplir con los requisitos de composición nutricional de la FDA o de la USDA para poder incorporar un mensaje saludable relacionado a las enfermedades coronarias en la etiqueta del producto alimenticio.

- JAPON El gobierno japonés introdujo en 1991, a través de la marca o símbolo *FOSHU*, un sistema de aprobación voluntario para la aparición de mensajes saludables específicos en el etiquetado de alimentos funcionales. Los demás productos funcionales no pueden usar mensajes saludables y sólo pueden optar a realizar mensajes de facto para llamar la atención de la presencia de ingredientes funcionales. Al año 2000, entre un 10 y un 15% de los productos funcionales en el mercado japonés tienen un mensaje aprobado y pueden llevar el símbolo *FOSHU* en su etiqueta. Este símbolo se está transformando en una herramienta de comercialización importante para estos alimentos en Japón, país donde desde 1988 se han lanzado más de 2000 diferentes alimentos y bebidas del tipo funcional (Japanscan, 2000).

- UNION EUROPEA En la Unión Europea se presentó y aprobó una reglamentación que permite reivindicaciones nutricionales, entendiéndose por alegación cualquier mensaje o representación que no sea obligatorio con arreglo a la legislación comunitaria o nacional, incluida una representación pictórica gráfica o simbólica que afirme, sugiera, o implique que un alimento posee unas características específicas. Siempre y cuando las reivindicaciones y los productos que ostentan dichas reivindicaciones cumplan con lo estipulado en el reglamento sobre reivindicaciones nutricionales y de propiedades saludables en los alimentos. (Reglamento del Parlamento Europeo y del Consejo sobre reivindicaciones nutricionales y de propiedades saludables en alimentos, 2003)

5.1.2 LEGISLACION MEXICANA SOBRE SELLOS O MARCAS OFICIALES

Marca oficial o sello es aquél cuyo registro ha sido otorgado por el Instituto Mexicano de la Propiedad Industrial a la Secretaría en forma exclusiva o conjuntamente con otra dependencia o entidad de la administración pública federal, de conformidad con las disposiciones legales aplicables en materia de propiedad industrial y las cuales tengan por objeto evidenciar la

evaluación de la conformidad de determinados bienes, servicios o sistemas, respecto de especificaciones previstas en un pliego de condiciones y que garanticen la calidad superior del producto respecto de sus cualidades, propiedades y naturaleza. La Secretaría podrá conceder licencias de uso a los organismos de certificación acreditados.

De acuerdo a lo estipulado en la ley federal de metrología y normalización se establece que se podrán ostentar voluntariamente las contraseñas oficiales cuando ello no induzca al error al usuario sobre las características o del bien o servicio; se haya evaluado; se haya evaluado la conformidad por una persona acreditada o aprobada y las contraseñas se acompañen de las marcas registradas por la misma en los términos de la Ley de la Propiedad Industrial.

En el apéndice se encuentra la legislación mexicana relativa a sellos o marcas oficiales.

5.2 FACTORES QUE AFECTAN LA CALIDAD DE LOS AF CON COMPONENTES FLAVONOIDES

De acuerdo a lo establecido en la literatura los factores que deberán ser considerados para el procesamiento de frutas a fin de conseguir Alimentos funcionales con capacidad antioxidantes a partir de flavonoides se describen a continuación:

5.2.1 PROCESAMIENTO DE ALIMENTOS CON COMPONENTES FLAVONOIDES

5.2.1.1 JUGOS Y CONCENTRADOS.

Los jugos de frutas y los jugos concentrados producidos comercialmente pueden ser muy ricos en pigmentos antocianinas y polifenoles, dependiendo de la fruta fuente y las condiciones de procesamiento. Así ellos pueden servir como alimentos funcionales o como fuente adicional para el procesamiento de varias preparaciones. La descripción detallada de las operaciones unitarias y las condiciones de proceso han sido revisadas (Ashurst, 1995; Somogyi et al., 1996). Las condiciones específicas para el procesamiento de jugo de fresas y frambuesas ha sido descrito por Deuel, 1996, de las cerezas, moras, y otras frutas pequeñas por Steward, 1996, y de uvas por Morris y Striegler, 1996.

En general, la mayoría de las frutas son congeladas después de ser cultivadas en espera del procesamiento de jugo (Moulton, 1995). Las frutas congeladas son comercializadas a través del mundo, El crecimiento depende de las condiciones climáticas apropiadas. Utilizando frutas congeladas el proceso está libre de un plan de producción anual, lo cual permite una utilización del equipo de procesamiento óptimo. Sin embargo, con plantas de procesamiento cercanas al sitio de cultivo de las frutas, estas pueden ser procesadas frescas. Las uvas son principalmente procesadas frescas entre 4 y 6 horas después de ser cosechadas (McLellan y Race, 1995).

Antes del procesamiento de jugo, las frutas deben ser cuidadosamente descongeladas (Skrede, 1996) y molidas. El proceso de congelamiento/descongelamiento puede ayudar en la liberación de pigmentos y otros compuestos de las células (Steward, 1996) Para las frutas suaves (como la uva, cereza, fresa, etc.) el tratamiento enzimático es necesario para liberar el

jugo de las células y proveer de estabilidad (Downes, 1995). Las preparaciones enzimáticas comerciales disponibles contienen enzimas pectinolíticas especializadas en romper las estructuras celulares y disolver las pectinas de la pulpa y de esta forma liberar el jugo. La preparación de maceración enzimática puede contener pectin metil esterase, poligalacturonasa y gactolasa así como hemilcelulasa, celulasa y amilasa (Duel, 1996). Las enzimas son adicionadas directamente después del molido, la pulpa es calentada a temperatura óptima para la acción de las encimas en el proceso de depectinización, este proceso es permitido por 1-2horas. Para uvas, el proceso de rompimiento por calor es frecuentemente utilizado, donde las uvas trituradas pasan por un intercambiador de calor a una temperatura de 60°C (McLellan y Race, 1995; Morris y Striegler, 1996). El calentamiento proporciona un incremento en el jugo y en el color. El prensado es llevado a cabo tanto en procesos continuos como en procesos por lote. Especialmente con uvas, el prensado de la fruta se lleva a cabo cuando aun está caliente. El prensado caliente provee la extracción de sólidos totales, taninos y antocianinas, compuestos que son de gran interés cuando se producen jugos para productos nutraceuticos. Después del prensado, el jugo puede necesitar tratamientos posteriores para remover los sólidos insolubles y proveer al jugo de claridad y estabilidad (Downes, 1995). El tratamiento puede incluir el uso de enzimas y varios clarificantes antes de la decantación, centrifugación o filtración. El jugo es posteriormente pasteurizado para eliminar los microorganismos advenedizos e inactivar varias enzimas y poder colocarse entonces en almacenamiento ya sea como jugo o como concentrado. La concentración se lleva a cabo por evaporación por lo cual los componentes con aroma son frecuentemente aislados y almacenados separadamente. En el concentrado de jugo los costos de almacenamiento y transporte son reducidos.

Pueden ocurrir fuertes pérdidas de compuestos polifenólicos durante el procesamiento de jugo. Skrede et al., 2000, utilizando las condiciones de proceso típicas en la industria, recuperó solo el 32% de las antocianinas en jugo pasteurizado de *Vaccinium corymbosus* var Bluecorp, el 18% quedó retenido en la torta de prensado obtenida del prensado de la pulpa. (Tabla 5-1) Aproximadamente el 50% de los pigmentos fueron perdidos. Existieron grandes cambios en el perfil de las antocianinas en el jugo. El proceso involucró el descongelado y el estrujado de la fruta seguido de la depectinización con un preparado comercial de enzimas por 2 horas a 43°C, prensado y pasteurizado (90°C por un minuto). De manera similar, solo una parte de ácido clorogénico inicial, glucósidos flavonoles y procianidinas fueron recuperados en el jugo, el porcentaje de recuperación fue de 53%, 35% y 43% respectivamente. En contraste con las antocianinas, la torta de prensado residual contenía solo una cantidad menor de esos fenólicos, indicando eso que el resto de los compuestos fenólicos son mas fácilmente liberados de la fruta y el tejido de la cáscara que las antocianinas.

Tabla 5-1 Contenido y recuperación de Antocianinas, Ácido Clorogénico, Glicósidos de Flavonol y Procianidinas en *Vaccinium corymbosus* var. Bluecrop. durante el procesamiento de jugos. (Skreede et al., 2000)

	Fruta	Jugo Inicial Prensado	Residuo Torta de Prensado	Jugo Pasteurizado	Concentrado	Pérdida
Antocianinas (mg/100g)	99.9	28.0	18.2	32.0	30.5	7.0
Recuperación (%)	100	28.0	18.2	32.0	30.0	7.0
Ácido clorogénico (mg/100g)	27.4	11.0	0.3	14.6	13.7	1.8
Recuperación (%)	100	40.2	1.2	53.3	49.9	6.7
Flavonol glicósidos (mg/100g)	40.1	20.8	2.7	14.0	12.3	2.7
Recuperación (%)	100	52.8	6.6	35.0	30.6	6.7
Procianidinas (mg/100g)	9.9	3.8	0.3	4.2	2.3	0.7
Recuperación (%)	100	38.0	2.8	42.6	23.0	6.7

La pérdida de flavonoides y otros compuestos fenólicos durante el procesamiento de jugo es causada por el factor termolábil, más que por la polifenol oxidasa (Kader et al., 1997). La inhibición de enzimas endógenas durante el procesamiento con altas temperaturas, en el tratamiento térmico, por ejemplo, debe ser benéfico para la recuperación de flavonoides y fenólicos en jugo de fruta (Steward, 1996). La presencia de enzimas capaces de degradar flavonoides parece variada entre diversos tipos de frutas. Iversen, 1999 reportó 91% de recuperación de antocianinas en jugo de mora, después solo se encontró el 21% de las antocianinas que se encontraban inicialmente en la pulpa.

Algunas preparaciones enzimáticas para el procesamiento del jugo comercial contienen actividad glicosidasa que puede hidrolizar los enlaces glicosídicos y liberar antocianinas inestables. Esto provoca una marcada aceleración de la destrucción de antocianinas. Wightman y Wrolstad, 1995, probaron varias preparaciones comerciales de enzimas y encontraron actividad β -galactosidasa en algunas preparaciones, mientras que la actividad β -glucosidasa o no se encontraba o había niveles muy bajos. Esto es muy afortunado ya que la β -glucosidasa es mucho más ampliamente distribuida en las plantas que la β -galactosidasa. Otra fuente potencial de enzimas degradadoras de antocianinas son los mohos, que producen enzimas extracelulares con amplio espectro de actividad glicosidasa. Rwabahizi y Wrolstad, 1988, demostraron que la contaminación por mohos fue muy perjudicial para la calidad del color del jugo así como para el concentrado de fresa.

En un estudio de ácido elágico en frambuesa, Rommel y Wrolstad (1993) utilizaron dos métodos diferentes de procesamiento para obtener el jugo. Además del método de producción estándar (Figura 5-1) los métodos utilizados cambiaban el prensado por centrifugación, en uno de los experimentos, y la difusión en el otro. (Figura 5-2).

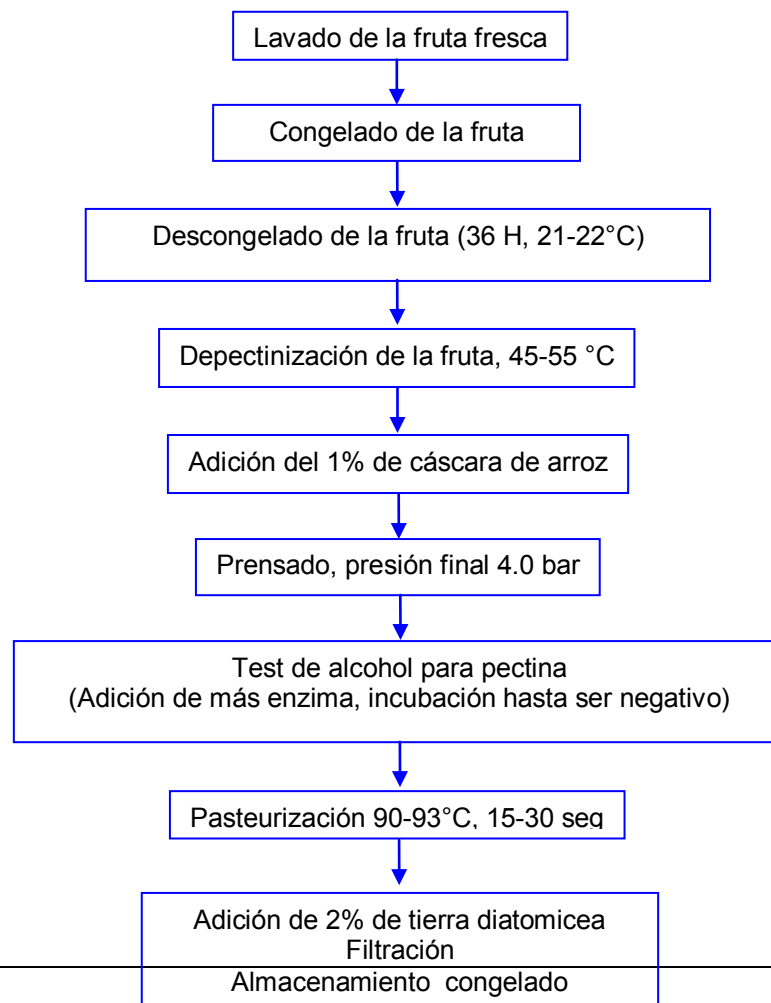


Figura 5-1 Diagrama de flujo para el procesamiento de jugo mediante la técnica estándar. (Rommel y Wrosland, 1993.)

El estudio concluyó que el método estándar con prensado y el proceso con difusión producen jugos con mayores niveles de ácido eláxico comparado con la centrifugación. A pesar de los diferentes niveles de ácido eláxico producido por los tres métodos, la composición cualitativa de ácido eláxico y sus diferentes derivados, fue muy similar.

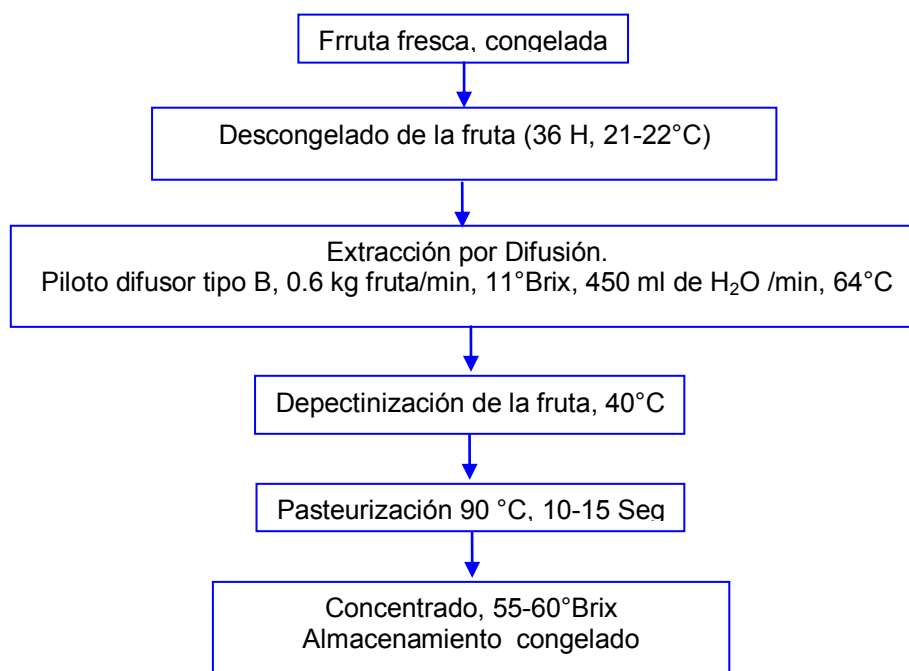


Figura 5-2 Diagrama de flujo para el procesamiento de jugo mediante la extracción por difusión. (Rommel y Wrosland, 1993.)

Los sólidos solubles (°Brix) de jugos, son aproximadamente los mismos que las frutas de los cuales se derivan. Durante el proceso de producción de jugos, los flavonoides y otros compuestos fenólicos se degradan y una proporción de los compuestos polifenólicos pueden ser retenidos en la torta de prensado residual. Los niveles de compuestos polifenólicos en jugos serán siempre menores a los niveles en las frutas originales. Los jugos son comúnmente concentrados 5 ó 6 veces con los correspondientes niveles de flavonoides. El jugo concentrado de uva es comercializado a 55, 65 o 69 °Brix, a diferencia de los 13-15 °Brix del jugo de uva. (Morris y Striegler, 1996). Skrede et al., 2000 encontraron pérdidas menores en antocianinas, glicósidos flavonoles y ácido clorogénico durante la concentración del jugo de *Vaccinium corymbosus* var. Bluecrop, en cambio, las procianidinas fueron menos estables con pérdidas en el orden del 20% (Tabla 5-1).

La concentración por congelamiento es un proceso alternativo de concentración que protege más a las antocianinas y compuestos fenólicos. El secado por aspersión en jugos es una practica comercial común (Abuja et al., 1998), usualmente con la incorporación de maltodextrinas como agente protector.

5.2.1.2 EXTRACTOS Y POLVOS

Los extractos y polvos pueden ser utilizados para la producción de los AF de interés de este trabajo, por lo cual se presenta una revisión sobre el proceso de producción de estos

extractos. En la literatura del proceso de jugos, el término “extracción” es utilizado para describir el proceso para la obtención de jugos y los constituyentes solubles en agua de las frutas. En esta sección, sin embargo, el término “extracción” será extendido para incluir los procesos en los cuales se utilizan varios solventes para la obtención de los componentes de interés. Los solventes se remueven posteriormente para obtener un producto final altamente concentrado.

Mazza y Miniati, 1993, así como Bridle y Timberlake, 1997, revisaron el procedimiento de extracción de antocianinas de la cáscara de la uva, la cual es rica en antocianinas y otros fenólicos. El proceso de extracción adicional involucra dióxido de sulfuro acuoso. (Mazza y Miniati, 1993; Girard y Mazza, 1998).

El dióxido de sulfuro mejora la extracción de antocianinas y protege los pigmentos de la oxidación y del ataque microbiano. El dióxido de sulfuro es removido por evaporación durante las etapas finales del proceso (Cohn y Cohn, 1996). Ácidos acuosos diluidos, comúnmente ácido sulfúrico, son también utilizados para la extracción de “la cáscara”. (Henry, 1996), así como etanol acidificado (Jackman y Smith, 1996). El etanol es menos eficiente que el metanol, pero es preferido debido a la toxicidad del metanol. Para evitar la degradación de las antocianinas, la concentración es preferentemente realizada en vacío. Después, concentrando el extracto a 20-30 °Brix se obtiene un producto con 0.5-1% de antocianinas. Los extractos pueden ser secados en horno o en un secador de aspersión obteniendo polvo soluble en agua. Ese polvo puede contener 4% de antocianinas y pueden ser utilizados para enriquecer algunos alimentos con la intención de convertirlos en funcionales. Meyer et al., 1998, reportaron una extracción mayor de compuestos fenólicos totales con el tratamiento de la “piel” de la uva con enzimas degradadoras de la pared celular. El proceso de molienda al reducir el tamaño de las partículas puede incrementar la liberación de fenoles de la “cáscara” de la uva.

Las semillas de la uva comprenden el 4% del peso de la uva y contienen del 5 al 8% de fenólicos por peso (Amerine y Joslyn, 1997). Las semillas son particularmente ricas en procianidinas oligoméricas y un gran número de procianidinas han sido aisladas (Escribano-Bailón et al., 1992; Girard y Mazza, 1998) Grandes cantidades de semilla son disponibles como subproducto de las industrias de jugo y vino. Saito et al., 1998, describen brevemente dos procesos para la preparación comercial de extractos de semillas de uva: extracción de semillas con 20% de etanol y extracción acuosa de las semillas enteras a 60 °C por 2 horas seguida por una extracción con agua caliente (90 °C) por 2 horas adicionales antes de la evaporación. Labarbe et al., 1999, llevaron a cabo la extracción en semillas de uvas molidas con acetona/agua (60:40 v/v) seguida por una centrifugación y concentración en vacío. Santos-Buelga et al., 1995 realizaron la extracción de la semilla de uva molida congelada con metanol conteniendo ácido ascórbico como antioxidante. Shrikhande, 2000, describe la preparación del extracto de semilla de uva en la cual la semilla era extraída por acetona acuosa o etanol, y el extracto era evaporado y fraccionado por etil acetato para aislar las procianidina oligoméricas y monoméricas. Las oligoméricas eran precipitadas con metileno-clorido y finalmente secadas por aspersión. Un extracto de semilla de uva de gran calidad reportará un contenido de, por lo menos, 90% de fenólicos totales mediante la determinación de Folin-Ciocalteu y un mínimo de 10% de procianidinas monoméricas y 65% de procianidinas poliméricas y menos del 15% de taninos poliméricos o condensados (Shrikhande, 2000).

5.2.2 ESTABILIDAD DE FLAVONOIDES EN EL PROCESAMIENTO DE ALIMENTOS

La estabilidad de los flavonoides durante el procesamiento es de gran importancia para asegurar que el alimento funcional que lo contiene posee un efecto antioxidante.

Debe destacarse que las propiedades prooxidantes y mutagénicas de los flavonoides se hallan unidas a la acción de eliminar radicales libres que tienen estos compuestos. Sin embargo, lo que determina el carácter antioxidante o prooxidante de esta reacción inicial es, como ya se mencionó previamente, la estabilidad/labilidad redox del compuesto radical formado a partir del flavonoide original. La autooxidación del radical aroxilo o la formación de compuestos ternarios entre el ADN, el cobre y los flavonoides, son posibles explicaciones de la mutagenicidad mediada por los flavonoides (Ahmad, 1996); ahora bien, dichas acciones sólo parecen producirse cuando las dosis de flavonoides inestables utilizadas son muy altas (Da Silva, 2002).

Lambert et al., 2007, concluyeron que los efectos adversos a la salud provocados por el consumo de flavonoides se incrementan con el uso de flavonoides inestables en condiciones farmacológicas.

5.2.2.1 ESTABILIDAD DE LAS ANTOCIANINAS

La estabilidad de las antocianinas puede ser vista desde la perspectiva como componente endógeno de las frutas y sus productos. Además, un gran número de extractos de antocianinas son usados como colorantes de alimentos que pueden ser adicionados a varios productos en diferentes etapas durante el procesamiento de alimentos. Varias publicaciones de la estabilidad de antocianinas han sido publicadas. (Markakis, 1982; Jackman et al., 1987; Henry, 1996; Jackman y Smith, 1996; Wrolstad, 2000.)

Cuando se considera la estabilidad de las antocianinas para alimentos funcionales, la estabilidad de las antocianinas adquiere una importancia mayor, ya que tiene un efecto directo en el rendimiento de estos compuestos, donde la estabilidad de los productos finales (polvos, extractos y jugos) influyen en la calidad del producto y por ende en la serie de requerimientos para su empaquetamiento, manejo, almacenamiento, mercadeo y finalmente, en la vida útil del producto. Algunos temas concernientes a los científicos en alimentos como la expectación del consumidor en la intensidad del color suelen carecer de importancia en la manufactura de alimentos funcionales. Sin embargo, la mayor parte de la información de la estabilidad de las antocianinas en el procesamiento de alimentos, suele ser aplicable y útil. A continuación, se detallan algunos factores que afectan a la estabilidad de las antocianinas relevantes para la producción, mercadeo y almacenamiento de alimentos funcionales.

5.2.2.2 EFECTOS DE LAS ENZIMAS

Las frutas contienen enzimas del grupo de las fenolasas (fenolasas y polifenolasas) que pueden ser destructoras severas de las antocianinas (Markakis, 1982). La actividad varía considerablemente con diferentes productos, por ejemplo, la polifenol oxidasa es la mayor causa de destrucción de antocianinas durante la producción de jugo de mora azul (Skrede et al., 2000). El mecanismo de oxidación ha sido propuesto como una explicación de los efectos de aceleración de los componentes como ácido clorogénico, catequinas y ácido cafeiltartárico en la degradación de antocianinas por fenolasa (Sarni et al., 1995; Kader et al., 1997).

Las enzimas glicosidasas pueden ser muy destructivas para las antocianinas, pero su fuente desafortunadamente se encuentra en las frutas mismas. Los mohos son una fuente potencial de glicosidasas (Rwabahizi y Wrolstad, 1998). El procesamiento de jugo comercial contiene una preparación de enzimas peptolíticas que pueden contener glicosidasas (Wrolstad et al., 1994). Las enzimas peroxidadasas nativas pueden ser la causa de destrucción de

antocianinas en algunos productos de frutas. Las peroxidasa activas pueden ser el mayor contribuidor de la destrucción de pigmentos de antocianinas en varios procesos del producto de fresas (López-Serrano y Ros Barceló, 1996; Zabetakis et al., 2000).

5.2.2.3 EFECTOS DE LA ESTRUCTURA MOLECULAR Y COPIGMENTACIÓN

La sustitución de la estructura del núcleo de flavan con la glicosidación y acilación influye en la estabilidad de las antocianinas de frutas, con algunas excepciones. En un estudio de 3-glucosidos de 6 antocianinas extraídas de frutas la degradación después de 60 días almacenadas en la oscuridad a un pH de 3.2 y 10°C estuvo en un intervalo del 33% al 42% (Cabrita et al., 2000). Entonces, para efectos prácticos, el efecto de la sustitución de la estructura del anillo-B puede ser considerado como menor.

Inami et al., 1996, estudiaron el efecto de la glicosidación y la acilación en la estabilidad utilizando antocianinas de 2 especies de *Sambucus*. Las antocianinas de la *Sambucus* canadienses fueron más estables hacia el calor y la luz que las antocianinas de *S. nigra*. Las diferencias en la estabilidad fueron asignadas a diferencias en la glicosidación y la acilación de las antocianinas. Una unidad de azúcar adicional (3-5, diglicósidos) estabilizó la antocianina hacia la luz, mientras que la acilación del azúcar provió estabilidad tanto a la luz como al calor. El efecto de la acilación ha sido explicado como un plegamiento del grupo acil sobre el anillo planar pirillium. Así, las asociaciones intramoleculares estabilizan las antocianinas (Wrolstad, 2000).

Las antocianinas forman complejos con otros polifenoles (Jackman y Smith, 1996). En altas concentraciones las antocianinas pueden asociarse con ellas mismas. Las antocianinas son más estables a altas concentraciones (Wrolstad, 2000). Se ha demostrado que el efecto de la concentración es más importante que la variación de la estabilidad causada por diferencias en la estructura de las antocianinas (Skrede et al., 1992). La copigmentación intramolecular puede llevarse a cabo entre antocianinas y catequinas, aminoácidos, polisacáridos e iones metálicos. Los flavonoles y flavonas son encontradas siempre en conjunción con antocianinas en frutas y jugos de frutas y aparentemente esto puede contribuir a la estabilización de las antocianinas (Jackman et al., 1987). La condensación entre los taninos de las uvas (flavonoides condensados) y antocianinas tiene un efecto protector en las antocianinas y también contribuye a la coloración del vino rojo añejado. Bobbio et al., 1994, encontraron que la presencia de ácido tánico en soluciones acuosas de antocianinas retarda la degradación de las antocianinas durante el almacenamiento. En una patente de EE.UU. se mejora la estabilidad de las antocianinas hacia la luz, calor, pH o una combinación de estos factores, dicha mejora se obtiene mediante la adición de flavonoides glucoronoides, flavanoides glucoronoides y ácido cafeico derivado de colorantes basados en antocianinas (Lenoble et al., 1999).

5.2.2.4 EFECTOS DEL OXIGENO Y ÁCIDO ASCÓRBICO

El oxígeno tiene un efecto de deterioro en las antocianinas, y es sabido que las antocianinas almacenadas bajo vacío o en una atmósfera de nitrógeno son más estables que las antocianinas expuestas a oxígeno molecular (Jackman et al., 1987). Esto implica que los contenedores y los materiales de empaques usados para antocianinas y sus productos deben tener altos obstáculos contra el oxígeno. De igual forma, el volumen de empaque vacío debe ser minimizado para prevenir la degradación de antocianinas durante el almacenado y el mercadeo.

El oxígeno puede degradar antocianinas incluso directa o indirectamente por oxidación de compuestos (Jackman et al., 1987). Así, los compuestos oxidantes secundarios pueden ser iones metálicos y ácido ascórbico. Con ácido ascórbico, el intermediario es peróxido de hidrógeno formado por la oxidación de ácido ascórbico y oxígeno molecular (Jackman y Smith, 1996) Los niveles de deterioro son más pronunciados cuando tanto los niveles de oxígeno y la concentración de ácido ascórbico son altos. Las reacciones son aceleradas por iones de cobre (Markakis, 1982).

En general, los efectos del ácido ascórbico en antocianinas son complejos y no fácilmente predecibles. En ausencia de oxígeno, el ácido ascórbico puede condensarse con antocianinas para formar productos inestables que se degradan en compuestos menos coloridos (Markakis, 1982). La condensación de antocianinas con flavonoles previene la formación de complejos entre antocianinas y ácido ascórbico, lo cual disminuye el efecto deteriorante del ácido ascórbico (Jackman et al., 1987).

5.2.2.5 EFECTOS DEL SO₂

Las antocianinas reaccionan con el dióxido de sulfuro para formar compuestos menos coloridos (Wrolstad, 2000). La reacción es reversible, y calentando puede liberarse algo de dióxido de sulfuro de las antocianinas, para la regeneración parcial del color. De la misma forma, acidificando a pH bajo se regeneran las antocianinas por liberación del SO₂

5.2.2.6 EFECTOS DE pH

Las antocianinas muestran su color típico a bajos valores de pH, donde las moléculas se encuentran en la forma oxonio (Wrolstad, 2000). La forma oxonio es más estable, y las antocianinas entonces tienen mayor estabilidad en ambientes ácidos. Si el pH asciende a niveles alrededor de 4.5, la inestabilidad de las antocianinas es particularmente problemática; lo detalla la estructura molecular de las antocianinas, por ejemplo, la acilación y la posición de las sustituciones glicosídicas afectan el pH exacto al cual ocurre el cambio de color. Los copigmentos de las antocianinas son menos susceptibles al color.

Un estudio detallado en los efectos de pH en la estabilidad de las antocianinas fue presentado por Cabrita et al., 2000. Soluciones Buffer en un intervalo de pH 1-12 de 3-glicósidos de 6 antocianinas comunes fueron almacenadas en oscuridad por un periodo de 60 días a 10°C y 23°C. Bajo condiciones fuertes de acidificación (pH 1-3), permanecía más del 70% de la concentración inicial después de los 60 días a 10°C para todas las antocianinas, mientras que pérdidas considerables (>90%) ocurrieron a pH 5-6 incluso después de 8 días. Un patrón similar de estabilidad ocurrió a 23°C, aunque los niveles de degradación de antocianinas fueron mayores, y solo el 40% de las antocianinas iniciales fueron detectables después de 60 días.

5.2.2.7 EFECTOS DE LA ACTIVIDAD DEL AGUA Y CONTENIDO DE AZÚCAR

Varios estudios han demostrado que la estabilidad de las antocianinas se incrementa cuando decrece el contenido de agua (a_w) (Wrolstad, 2000.) Los polvos secos de antocianinas ($a_w \leq 0.3$) son estables por varios años cuando son almacenados en contenedores sellados herméticamente (Jackman y Smith, 1996). Esta propiedad es una ventaja cuando las antocianinas son manufacturadas en productos secos o polvo. Zajac et al., 1996, reportaron una pérdida del 14% de antocianinas después de 15 meses de almacenamiento en forma de polvo seco de extracto de zarzamora a 20°C. Cuando se utilizan almidones o maltodextrinas

son vehículos durante el secado de los extractos, las antocianinas perdidas se reducen a un 2% y 3% respectivamente.

Altas concentraciones de azúcar (>20%) actúan como protectoras de las antocianinas (Wrolstad et al., 1990). El efecto es más probable por la menor actividad del agua. Stasiak et al., 1998, reportaron tres veces mayor el tiempo de vida de las antocianinas cuando las concentraciones de azúcar superaban el 20% de la muestra, por ejemplo, el periodo de tiempo requerido para la degradación del 50% de las antocianinas en extractos pasteurizados de la fruta Aronia (de la familia Rosaceae) enriquecidos en ácido ascórbico con 65% de sacarosa comparados con extractos libres de sacarosa. A niveles bajos de azúcar, los azúcares y sus productos de degradación son considerados la causa de la aceleración de la degradación de las antocianinas (Jackman y Smith, 1996). Fructosa, arabinosa, lactosa y sorbosa son más perjudiciales que la glucosa, sacarosa y maltosa (Jackman y Smith, 1996). El efecto de degradación se asocia con la velocidad de degradación del azúcar por sí mismo. La degradación de antocianinas por azúcar se incrementa por el oxígeno.

5.2.2.8 EFECTOS DE LA TEMPERATURA

Se sabe que el calor es uno de los factores más destructivos de las antocianinas en jugos de frutas (Jackman et al., 1987). Con muestras de fresas fue demostrado a principios de 1953 que el tiempo de vida era de 1 hora a 100°C, 240 horas a 38°C y 1300 horas a 20°C. En un experimento de almacenamiento con concentrados y polvos secos de extractos de fruta *Sambucus* la estabilidad incrementaba de 6 a 9 veces cuando la temperatura de almacenamiento fue reducida de 20°C a 4°C (Zajack et al., 1992) la degradación de antocianinas en solución de antocianinas incremento del 30% al 60% después de 60 días cuando la temperatura de almacenamiento incrementó de 10°C a 23°C (Cabrita et al., 2000). Se recomienda el uso de altas temperaturas por períodos cortos de procesamiento para una máxima retención de antocianinas en alimentos que las contienen (Jackman y Smith, 1996).

5.2.2.9 EFECTOS DE LA LUZ

La luz UV y la luz visible son perjudiciales a la estabilidad de las antocianinas, y en combinación con la temperatura se incrementa la velocidad de degradación (Jackman y Smith, 1996). Carlsen y Stapelfeldt, 1997, reportaron el efecto de la luz extractos de *Sambucus*. El efecto depende del radio de irradiación, con radios cortos existe mayor degradación, y la exclusión de luz UV dará grandes mejoras a la estabilidad del extracto. Una selección del material de empaque puede generar barreras en el campo de luz visible y especialmente en el intervalo de espectro de luz ultravioleta. La glicosidación, acilación y copigmentación reportan mejoras en la estabilidad de las antocianinas a la luz (Inami et al., 1996; Lenoble et al., 1999).

5.2.2.10 ESTABILIDAD DE FLAVONOLES, FLAVANOLES Y ÁCIDOS FENÓLICOS.

Comparado con las antocianinas, la información disponible sobre la estabilidad de los flavonoles, flavanoles y ácidos fenólicos es limitada. Hasta hace muy poco tiempo la investigación de estos compuestos como componentes de alimentos era mínima, y las investigaciones sobre éstos eran principalmente desarrolladas con propósitos de identificación, son aun menos los estudios de la estabilidad durante el procesamiento y el almacenamiento. Sin embargo, la mera definición de flavonoides y ácidos fenólicos como antioxidantes indican que estos compuestos reaccionan fácilmente y deben ser manipulados como compuestos inestables.

La enzima polifenol oxidasa (PPO) es ampliamente distribuida en plantas. Para procesadores de frutas, es bien conocida ya que está envuelta en varias reacciones de "oscurecimiento" (en tonalidades café). La enzima cataliza la formación de *O*-difenoles provenientes de monofenoles, así como la oxidación de *O*-difenoles a *O*-quinones (Jackman y Smith, 1996); Kader et al., 1997; Jiménez y García- Carmona, 1999). Las *O*-quinonas pueden reaccionar con aminoácidos y proteínas para formar polímeros coloreados en tonalidad café. En presencia de complejos de fenoles naturales como las antocianinas, los *O*-quinones formados por PPO provenientes de fenoles como la catequina y ácidos clorogénicos pueden ser regenerados a través de una reacción no enzimática. La regeneración de la catequina inicial o del ácido clorogénico es lograda a expensas de las antocianinas. La degradación de flavonoides por PPO ha sido considerada como una reacción indirecta del mecanismo. Jiménez y García- Carmona, 1999, han demostrado la oxidación directa de flavonoles (la quercetina, por ejemplo) a través de PPO.

Se ha demostrado que el ácido caftárico se degrada más rápidamente por la PPO de uva que la catequina, epicatequina, y procianidinas (Cheynier et al., 1988). En presencia de ácido caftárico, la velocidad de degradación de los flavonoides se incrementa.

Los taninos condensados, los productos polimerizados de flavan3-oles y flavan-3,4-dioles, forman complejos con proteínas, almidones y enzimas digestivas y pueden causar la reducción en el valor nutricional en alimentos (Chung et al., 1998). En extractos de frutas, los taninos pueden causar precipitación en presencia de proteínas. La alta facilidad de los taninos condensados de formar complejos con otros componentes alimenticios reduce la capacidad de extraerlos de los demás constituyentes de las frutas.

5.2.3 CONCLUSIONES

De acuerdo con lo mencionado anteriormente, en cuanto a los cuidados que se deben mantener para los procesos de producción de Alimentos Funcionales con propiedades antioxidantes a partir de flavonoides se propone que se sigan las recomendaciones que se expresan en la Tabla 5-2

Tabla 5-2 Factores a considerar en el proceso de producción de Alimentos Funcionales con Flavonoides

LABILIDAD	RECOMENDACIÓN
Enzimas	Evitar la oxidación y la consecuente formación de PPO
	Evitar preparaciones enzimáticas peptinolíticas con β -glicosidasas
	Eliminar por completo la fruta con moho y evitar la contaminación microbiana.
Estructura Molecular y Copigmentación	Se debe procurar en la medida de lo posible que la fruta fuente cuente con flavonoides con estructura o-hidroxilo en el anillo B, doble ligadura 2-3 en conjugación con la función 4-oxo con el anillo B, presencia de 3- y 5- grupo OH en los anillos A y C
	Procurar altas concentraciones de flavonoides.
	Se aconseja adición de flavonoides glucoronoides y/o ácido cafeico.

Oxígeno y Ácido Ascórbico	Los procesos de producción deben llevarse a cabo en el menor contacto de aire y oxígeno, y en la medida de lo posible en ambientes de nitrógeno o al vacío.
	Los envases y contenedores deben tener protección de paso de O ₂
	Volumen de empaque vacío debe ser reducido al mínimo.
	Se debe evitar la adición de Ácido Ascórbico
Efectos del SO ₂	Evitar la adición del SO ₂ o eliminarlo mediante la disminución de pH.
pH	Se prefieren valores bajos de pH, de preferencia en rangos de 1-4
Actividad de agua y contenido de azúcar	La actividad del agua es inversamente proporcional a la estabilidad de los flavonoides, se buscará la menor actividad de agua, por lo cual se prefieren productos con baja cantidad de agua.
	Se preferirán altas concentraciones de azúcar, en la medida de lo posible
	Los azúcares que se recomiendan son Glucosa, sacarosa y maltosa
	Se recomienda se eviten azúcares fructosa, arabinosa, lactosa y sorbosa
Temperatura	Bajas temperaturas de almacenamiento (preferentemente cercanas a los 4°C)
	Se recomienda que en los procesos que se requiere calor los tiempos de exposición sean cortos y altas temperaturas.
Luz	El proceso de producción debe llevarse con baja exposición a la luz.
	Los envases deben ser fabricados con materiales que tengan barreras de luz apropiadas para la luz visible y la luz ultravioleta.

Ya que las reivindicaciones que describen la función de los flavonoides, se fundamentan en conocimientos científicos establecidos, deberán someterse a evaluación y autorización antes de su utilización en el etiquetado, la presentación y la publicidad de los alimentos.

En conclusión, las directrices para la producción de Alimentos Funcionales con Flavonoides puede funcionar como estándares para asegurar la calidad de AF con flavonoides de manera certificable ya que convierten en explícitos varios requisitos encaminados a garantizar la calidad de dichos productos.

5.3 PROPUESTA DE DIRECTRICES PARA LA PRODUCCION DE ALIMENTOS FUNCIONALES CON COMPONENTES FLAVONOIDES

Tomando en cuenta la innovación tecnológica en el sector alimentario y los deseos tanto de los consumidores como de la industria, se propone establecer unas directrices para la producción de alimentos funcionales con componentes flavonoides, las cuales pueden servir como una herramienta para asegurar la calidad de estos alimentos a la vez que pudieran servir como estándares para la certificación de estos alimentos mediante una marca oficial si se cumplen condiciones estrictas, tras una evaluación científica independiente y previa autorización de la instancia correspondiente. La implantación de las presentes directrices como estándares de certificación de Alimentos Funcionales con componentes flavonoides tiene como objetivos: Lograr un mayor nivel de protección de los consumidores mediante la transmisión de más información voluntaria, además de la información obligatoria prevista en la legislación en alimentos con componentes flavonoides; garantizar una competencia justa en el ámbito de este tipo de alimentos y promover y proteger la innovación en el ámbito de los alimentos.

Debido a la proliferación del número y el tipo de reivindicaciones presentes en las etiquetas de los productos alimenticios y de la inexistencia de disposiciones específicas en México, se propone una legislación para regular su uso en el caso específico de alimentos funcionales con componentes flavonoides, ya que la inexistencia de una regulación adecuada actúa como barreras para garantizar la protección de los consumidores y de la salud pública.

Aunque es necesaria la regulación de los alimentos que declaran contener cualquier tipo de sustancias con efecto nutricional o fisiológico, la presente propuesta tiene por objeto las declaraciones nutricionales y de propiedades saludables utilizadas en el etiquetado, la presentación y la publicidad de los alimentos con componentes flavonoides.

5.3.1 TEMAS ESPECÍFICOS DE LA PROPUESTA

Tomando en cuenta lo antes expuesto y de la imagen positiva que se otorga a los productos alimenticios que poseen reivindicaciones nutricionales, la información dirigida al consumidor sobre el perfil nutricional del producto podría mejorarse a través del etiquetado. De esta manera, el etiquetado de los alimentos debería ser obligatorio para los alimentos que pretendan comercializarse como funcionales o que aleguen poseer alguna propiedad benéfica a la salud. Por tanto, las declaraciones de que un alimento provee los beneficios a la salud que se le atribuyen a los flavonoides solo deberían autorizarse para su uso en el etiquetado, la presentación y la publicidad de éstos si se ha efectuado previamente una evaluación científica del mayor nivel posible, es por eso que en este trabajo de investigación se evaluaron los factores para asegurar la existencia de flavonoides en alimentos funcionales a partir de frutas. Con estas directrices, dirigidas a las industrias de fabricación de Alimentos Funcionales deberá garantizarse la existencia de flavonoides en estos productos.

Se proponen una serie de directrices para la producción de alimentos funcionales con componentes flavonoides, dichas directrices tiene base científica y pretenden ser una guía para los industriales en la producción de alimentos funcionales con este tipo de componentes, así mismo dichas directrices pueden funcionar como estándares para la aplicación de un sistema de calidad que certifique que el alimento que se comercializa cuenta con estos componentes de manera que sean útiles para el consumidor, las indicaciones relativas al fomento de la salud se podrán autorizar (ya sea de manera escrita o con alguna representación de una marca o sello) únicamente cuando sean examinadas y confirmadas por una organización independiente acreditada por las instancias propias. El proceso de certificación a seguir sería el propuesto por la Ley Federal de Normalización y Metrología.

5.3.2 PROPUESTA DE DIRECTRICES PARA EL PROCESO DE PRODUCCION DE ALIMENTOS FUNCIONALES CON COMPONENTES FLAVONOIDES

5.3.2.1 CONSIDERANDO

- Que existe un creciente interés en el público por la relación entre la alimentación y la salud y por la ingesta de alimentos que declaren poseer un beneficio a la salud
- Que la demanda de alimentos funcionales con flavonoides es cada vez mayor y que se presentan con la finalidad de proporcionar beneficios a la salud
- Que es necesario propiciar medidas tendientes a crear un marco normativo que proteja al consumidor de las reivindicaciones de propiedades funcionales de estos alimentos que garanticen la calidad de estos alimentos y propicien la competencia leal entre los productores de estos alimentos

- Que para una mejor identificación de los productos que guardan un proceso de producción basado en conocimientos científicos se requiere de directrices de producción que sirvan como estándares para un proceso de certificación
- Que el etiquetado sobre propiedades nutritivas fomente una mayor actividad en el campo de educación alimentaria de los consumidores.
- Que es necesario que para la declaración de flavonoides en alimentos es necesario contar con un procedimiento generalizado para todos los alimentos a fin de que los productos sean comparables

Se proponen las siguientes directrices para la producción de alimentos funcionales con flavonoides

5.3.2.2 PREFACIO

5.3.2.2.1 OBJETO

Las presentes directrices tienen por objeto el proceso de producción de alimentos funcionales con componentes flavonoides a partir de frutas de los productos que pretendan declarar que contienen esos tipos de componentes.

5.3.2.2.2 OBJETIVOS

- Servir de guía para la producción de alimentos funcionales a partir de frutas con componentes flavonoides mediante el establecimiento de principios que aseguren la calidad de dichos alimentos.
- Establecer especificaciones que pudieran ser útiles para la elaboración de una norma o de un sistema de certificación de calidad.
- Promover y proteger la innovación en el ámbito de los alimentos funcionales.

5.3.2.3 DEFINICIONES

1. Adicionar. Añadir uno o más nutrimentos, contenidos o no normalmente en el producto. (NOM 086-SSA1-1994)
2. Alimentos Funcionales. *aquel que contiene un componente, nutriente o no nutriente, con efecto selectivo sobre una o varias funciones del organismo, con un efecto añadido por encima de su valor nutricional y cuyos efectos positivos justifican que pueda reivindicarse su carácter funcional o incluso saludable".*
3. Buenas Prácticas de Fabricación. Conjunto de normas relacionadas entres si, destinadas a garantizar que los productos tengan y mantengas las especificaciones requeridas para su uso. (NOM 086-SSA1-1994)
4. Certificación. Procedimiento por el cual se asegura que un producto, proceso, sistema o servicio se ajusta a normas, directrices, o recomendaciones de organismos dedicados a la normalización nacional o internacional. (Ley Fed. Sobre Metrología y Normalización).
5. Declaración De Propiedades. Cualquier texto o representación que afirme, sugiera o implique que un alimento o bebida no alcohólica preenvasada tiene cualidades especiales por su origen, propiedades nutrimentales, naturaleza, elaboración, composición u otra cualidad cualquiera, excepto la marca del producto y el nombre de los ingredientes. (NOM 051-SCFI-1994)

6. Declaración de Propiedades Nutrimientales. Cualquier texto, o representación que afirme, sugiera o implique que el producto preenvasado contiene propiedades nutrimentales particulares, tanto en su relación con su contenido energético y de proteínas, grasas (lípidos), y carbohidratos (hidratos de carbono), como en su contenido de vitaminas y minerales. (NOM 051-SCFI-1994)
7. Declaración nutrimental. Relación o enumeración del contenido de nutrimentos de un alimento o bebida o alcohólica preenvasado. (NOM 051-SCFI-1994)
8. Envase. Todo recipiente dedicado a contener el producto y que entra en contacto con el mismo, conservando su integridad física, química y sanitaria. (NOM 086-SSA1-1994)
9. Especificaciones. Son todos los documentos que describen los requisitos a los que el producto o servicio tiene que ajustarse.
10. Etiqueta. Cualquier rótulo, marbete, inscripción, imagen u otra materia descriptiva o gráfica, escrita, impresa, estarcida, marcada, grabada en alto o bajo relieve, adherida o sobrepuesta al producto preenvasado o, cuando no sea posible por las características del producto, al embalaje. (NOM 051-SCFI-1994)
11. Fortificar. Es adicionar una o varias vitaminas, minerales o proteínas (aminoácidos) que normalmente no contiene el producto. (NOM 086-SSA1-1994)
12. Información nutrimental. Toda la descripción destinada a informar al consumidor sobre las propiedades nutrimentales de un alimento o bebida no alcohólica preenvasado. (NOM 051-SCFI-1994)
13. Ingrediente. Cualquier sustancia o producto, incluidos los aditivos que se empleen en la fabricación o preparación de un alimento o bebida no alcohólica y esté presente en el producto final, transformado o no. (NOM 051-SCFI-1994)
14. Magnitud. Cualidad de una propiedad o atributo físico del producto cuando es susceptible de cuantificarse y expresarse conforme al sistema General de Medidas (NOM 051-SCFI-1994)
15. Método de Prueba. Procedimientos analíticos utilizados en el laboratorio para comprobar que un producto satisface las especificaciones que establece la norma. (NOM-086-SSA1-1994)
16. Porción. Cantidad de producto que se consume por ingestión, expresada en unidades del Sistema General de Unidades de Medida (NOM 051-SCFI-1994)
17. Procedimiento Secuencia de etapas para realizar una actividad. Debe describir detalladamente operaciones, precauciones y medidas a aplicar en las distintas actividades. Debe encontrarse escrito o en dispositivo electrónico.
18. Proceso. Conjunto de actividades relativas a la producción obtención, elaboración, fabricación, preparación, conservación mezclado, acondicionamiento, envasado, manipulación, ensamblado, transporte, distribución, almacenamiento y expendio o suministro al público de productos y servicios. (Ley Fed. Sobre Metrología y Normalización).
19. Sistema de Calidad. Conjunto de procedimientos para la obtención y mantenimiento de la calidad deseada.
20. Verificación. La constatación ocular o comprobación mediante muestreo, medición, pruebas de laboratorio o examen de documentos que se realizan para evaluar la conformidad en un momento determinado. (Ley Fed. Sobre Metrología y Normalización)

5.3.2.4 PRINCIPIOS GENERALES

1. Las presentes directrices funcionan como un complemento para la producción de los alimentos especificados en el objeto de estudio, sin perjuicio de la utilización de sistemas de aseguramiento de calidad como BPF o cualquier otro sistema de calidad aplicables a este tipo de productos.
2. La calidad nutricional de los alimentos del objeto de estudio debe ser apropiada para el uso al que se destinan.
3. Los productos objetos de estas directrices al ser lábiles a una serie de factores que interfieren en su proceso de producción deben ser protegidos para asegurar que el producto final cuente con una cantidad de flavonoides tal que el alimento cuente con las propiedades atribuidas por estos compuestos.
4. Todo etiquetado de nutrientes deberá estar de acuerdo con las directrices del Codex sobre Etiquetado Nutricional

5.3.2.5 DISPOSICIONES

Habida cuenta de las observaciones precedentes, es importante someter a los AF con flavonoides a un proceso de producción que asegure la calidad nutritiva adecuada.

Con el objeto de proporcionar una guía a los productores de las condiciones de operación que se requieren para asegurar la calidad y el valor nutritivo de los alimentos Funcionales con flavonoides se desarrolló la presente directriz.

Estas directrices no tienen por objeto establecer un plan rígido o regular todos los detalles del proceso de producción, sino servir como recomendación general para el proceso de producción de estos alimentos.

5.3.2.5.1 ESPECIFICACIONES Y DETALLES DE ELABORACIÓN

Deberá incluirse una descripción general del procedimiento empleado en la elaboración del AF con flavonoides y la especificación del AF. Esta descripción debería ser suficiente para permitir identificar posibles factores que dañen el contenido de nutrientes durante la elaboración del producto.

5.3.2.5.1.1 MATERIALES

1. Se preferirán que la materia prima sean frutas con flavonoides estables, tanto por su estructura molecular como por su concentración y azúcares adheridos, etc.
2. Los proveedores de la materia prima deben asegurar que ésta ha sido protegida de altas temperaturas, preferentemente se buscará que las frutas sean transportadas congeladas.
3. Es necesario que las frutas que entren al proceso de producción estén libres de moho, por lo cual será necesario que previamente sean seleccionadas.

5.3.2.5.1.2 PROCESO DE PRODUCCION

1. La fruta que va a ser procesada debe ser lavada. En el caso de que la fruta no se ocupe inmediatamente en el proceso de producción esta debe ser congelada para evitar su deterioro debido a la temperatura.

2. La fruta se descongelará a temperatura cercana a los 21°C, el tiempo de descongelado de acuerdo a las dimensiones de los bloques en los que se haya congelado la fruta, en un tiempo cercano a 36 horas.
3. En el proceso de despectinización es recomendable que se eviten las preparaciones enzimáticas con β -glucosidasas. Es muy importante que las temperaturas en este proceso se mantengan menores a los 60°C o que el tiempo de exposición a altas temperaturas sean cortos.
4. En caso de que fuese posible, se pretenderá que la extracción se realice por un método de difusión o mediante prensado, ya que se han encontrado mejores resultados en estos tipos de producción que mediante centrifugación.
5. Durante el proceso de extracción y en general durante todo el proceso de producción es importante procurar la menor exposición del producto al aire.
6. Si el método de extracción es a través de prensado este debe realizarse en bolsas para ese fin con una presión final de 4.0 Bar
7. Para mejorar la estabilidad del producto se recomienda la adición de flavonoides glucoronoides y/o ácido cafeico.
8. El proceso de pasteurización es recomendado a altas temperaturas y periodos cortos. (90°C 15-10 Segundos).
9. El proceso debe llevarse a cabo con la menor exposición a la luz.
10. Debe evitarse la adición de cualquier sustancia que eleve el pH del jugo de la fruta, el cual debe buscarse en rangos ácidos.
11. En caso de que se adiciona algún azúcar se preferirán la glucosa, sacarosa, o maltosa y se evitarán las fructosa, lactosa, sorbosa y arabinosa. Las altas concentraciones de azúcar proveen de estabilidad a los flavonoides.
12. Se evitará la adición de ácido ascórbico la cual puede ser perjudicial para la estabilidad de los flavonoides.
13. Debido a que la actividad de agua es inversamente proporcional a la estabilidad de los flavonoides, es recomendable que el alimento tenga la menor cantidad de agua.

5.3.2.5.1.3 PRODUCTO TERMINADO

1. El producto terminado será envasado en contenedores con protección de paso de oxígeno y con barreras de luz apropiadas para impedir el paso de la luz visible.
2. El volumen vacío de empaque debe ser el mínimo.
3. Las temperaturas de almacenamiento deben ser bajas, preferentemente menores a los 4°C.
4. El producto terminado deberá contener la especificación de compuestos polifenólicos y la actividad antioxidante de estos en los alimentos.

5.3.2.5.2 DETERMINACIÓN DE CONTENIDO DE POLIFENOLES Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE

Debido a que los alimentos funcionales están fabricados a partir de diferentes especies de plantas tiene diferentes composiciones y concentraciones de ingredientes activos, por lo cual

se espera que varíe en sus poderes antioxidantes. Sin embargo, como se utilizan para complementar la ingesta natural de antioxidantes su actividad debe ser conocida y estandarizada. Métodos analíticos estandarizados para la determinación de capacidad antioxidante deben ser adoptados tanto por los productores para poder estandarizar sus productos como por las autoridades para poder controlar los productos.

Los industriales han utilizado preferentemente el método ORAC para determinar la capacidad antioxidante de los alimentos funcionales, y el método de determinación de polifenoles totales de Folin Ciocalteau.

6 CONCLUSION

Dada la evidencia presentada en este trabajo de investigación es necesario contar con sistemas que aseguren la calidad de los alimentos funcionales que se encuentran en el mercado ya que si bien es cierto que estos pueden proveer de beneficios a la salud, su proceso de producción es muy importante para asegurar dichos beneficios.

Considerando las evidencias científicas sobre los flavonoides y su papel como antioxidantes, es posible crear una serie de directrices para el proceso de producción de estos, mismo que consideren la labilidad de los metabolitos y sirvan como base para el desarrollo de un sistema de calidad de estos productos.

La alegación de que los alimentos que contienen flavonoides son funcionales está basada en conocimientos científicos y mediante un análisis de estos se propone una serie de directrices para la producción de estos alimentos que puede funcionar como estándar de calidad para asegurar su calidad.

De acuerdo a la normatividad mexicana existente se propone como estrategia el uso de sellos o marcas oficiales que ayuden al cliente a distinguir entre los alimentos producidos mediante un sistema que asegure la biodisponibilidad del metabolito funcional. Esto beneficiaría al sector industrial que tendrá una competencia honesta al invertir en la investigación en este tipo de alimentos.

El presente trabajo se avocó solamente a un grupo de estos alimentos con la intención de evidenciar la necesidad de la regulación y de incentivar la investigación en cuanto al resto de alimentos funcionales.

APENDICE

1.1 EFECTO DE LA TEMPERATURA Y TIEMPO DE EXTRACCIÓN EN LA DETERMINACIÓN DE COMPUESTOS POLIFENOLICOS TOTALES Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE EN TE VERDE.

1.1.1 RESUMEN:

Aunado a los factores que ya se conocen como responsables de la cantidad de polifenoles y capacidad antioxidante de las infusiones de té se encuentran factores relacionados con la elaboración doméstica de la bebida.

El presente estudio investiga los efectos en la capacidad antioxidante de la temperatura y el tiempo de extracción de los componentes fenólicos, lo anterior intentando reproducir el proceso doméstico de preparación de la infusión de té verde.

La determinación de polifenoles totales fue realizada por el método de Folin-Ciocalteu mientras que la capacidad antioxidante fue determinada por el método ABTS°.

Los resultados muestran que hay una variación en la cantidad de componentes polifenólicos y la capacidad antioxidante cuando se modifican la temperatura y el tiempo de extracción. La relación entre compuestos polifenólicos y la capacidad antioxidante están fuertemente correlacionadas entre ellas.

Cuando la temperatura es de 90° la extracción es más rápida y más eficiente, pero si el tiempo de extracción se prolonga se pueden perder compuestos polifenólicos y por ende capacidad antioxidante.

Determinar la ingesta de antioxidantes es complicado debido a que esta puede variar en el proceso de producción del alimento, el método en como se consume y la variedad del alimento en si.

1.1.2 INTRODUCCIÓN:

El Té, extracto de la planta *Camellia sinensis* es la segunda bebida más consumida en el mundo (Costa, et al., 2002). Dependiendo de su proceso de manufactura los té s son clasificados en tres tipos:

- Té Verde No Fermentado (producido por el secado y estrujado de sus hojas secas, y por ende sin proceso de fermentación);
- té oolong semifermentado (producido mediante un proceso de semifermentación de las hojas frescas antes del secado) y finalmente
- té rojo y negro fermentado (que después de ser fermentado es secado). (Zuo, et al., 2002)

El té verde tiene la mayor capacidad antioxidante, ya que tanto el té fermentado como el semifermentado reducen sus niveles de polifenoles en el proceso de producción. (Cabrera et al., 2003)

En la actualidad se ha incrementado en interés de los consumidores sobre los efectos benéficos del Té Verde, estos efectos son el resultado de las altas concentraciones de polifenoles en el té.

La planta de té es comúnmente cultivada en India, China, Japón Taiwán, Sri Lanka, Indonesia, y en África Central. Por cientos de años el té ha sido producido y comercializado al resto del mundo. La composición del té varía con la especie, la temporada, la edad de la planta, condiciones agronómicas, procesos de manufactura y almacenamiento (Prior et al., 1999b). Además de esos factores de producción, algunas otras variables están asociadas a la composición de una tasa de té, la preparación doméstica de la infusión puede representar efectos significativos en composición y en los beneficios a la salud esperados de la bebida.

En algunos casos, los datos publicados sobre el contenido de polifenoles en té así como su capacidad antioxidante no tiene ninguna relación con la ingesta, ya que la investigación se hace a partir de solventes orgánicos que extraen los compuestos polifenólicos del té o niveles de polifenoles extraídos después de 30 minutos (Hertog et al., 1993; Lin et al., 1999; Pan et al., 2000), mientras que la extracción cotidiana de los compuestos polifenólicos en té para su ingesta se hace a partir de agua caliente por un tiempo entre 1 y 3 minutos.

Las recomendaciones que el fabricante o el vendedor del te verde da para su elaboración van relacionadas a un mejor aroma o un mejor sabor de la infusión, no así de los beneficios a la salud o la conservación de los compuestos polifenólicos. El presente estudio está conducido a investigar los efectos entre la temperatura de extracción y el tiempo de contacto de te verde comercializado en México y España y su repercusión en la cantidad de polifenoles totales y la capacidad antioxidante.

1.1.3 MATERIALES Y MÉTODOS

1.1.3.1 Muestras de té

Se seleccionó té verde consumido y comercializado en España y México adquirido en supermercados y tiendas de té especializadas.

Además de las muestras de té verde se analizaron muestras de combinaciones de té verde mezclado con algunas frutas y flores aromáticas, estas muestras son mas frecuentes en Europa y son preferidas al té verde solo. Las mezclas que se seleccionaron son de frutas que se reconocen con compuestos polifenólicos. Las muestras son las mencionadas en la Tabla **¡Error! No hay texto con el estilo especificado en el documento.-1 Muestras de té utilizadas.**

Tabla **¡Error! No hay texto con el estilo especificado en el documento.-1 Muestras de té utilizadas**

Muestra No.	Descripción	País comercializador
1	Té Verde (China)	México
2	Té Verde (Japón)	España
3	Té Verde (China)	España
4	Té Verde y Cereza Japonesa	España

5	Té Verde y Gingsen	España
6	Té Verde con Fresa y Naranja	España
7	Té Verde con Limón y Naranja	España
8	Té Verde con Flores y Frutas	España
9	Té Verde con Hierbabuena y Limón	España
10	Té Verde con Frutas, Limón y Azahar	España
11	Té Verde con Ciruela y Menta	España

Las muestras de té fueron adquiridas a granel, a excepción de la muestra No. 1 con una presentación en bolsa.

1.1.3.2 Reactivos

Para la cuantificación de polifenoles totales se ocupó el Método de Folin Ciocalteau y para la determinación de Capacidad antioxidante se utilizó el método de ABTS ° Los reactivos utilizados son los mostrados en la Tabla **¡Error! No hay texto con el estilo especificado en el documento.-2 Reactivos utilizados en el método de Folin-Ciocalteau**

Tabla **¡Error! No hay texto con el estilo especificado en el documento.-3 Reactivos utilizados en el método ABTS****

Tabla ¡Error! No hay texto con el estilo especificado en el documento.-2 Reactivos utilizados en el método de Folin-Ciocalteau

Nombre	Proveedor
Reactivo Folin-Ciocalteau	Merck, Barcelona (España)
Ácido Gálico	Sigma
Carbonato Sódico Anhidro p.a.	Panreac

Tabla ¡Error! No hay texto con el estilo especificado en el documento.-3 Reactivos utilizados en el método ABTS**

Nombre	Proveedor
ABTS Ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromano-2-carboxílico (Trolox)	Aldrich
Sal diamónica del Ácido 2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico) (ABTS)	Sigma
Persulfato potásico	Panreac
Etanol	Merck, Barcelona (España)
n-Hexano	Merck, Barcelona (España)

1.1.3.3 Instrumentación

Las medidas espectrofotométricas se realizaron es un espectrofotómetro Spectrophotometer Model U-2800 UV-Vis (Digilab® Hitachi), empleando celdas de 10mm de vidrio y cuarzo Hellma®. La toma de muestra se realizó con micro pipetas Nichipet de volúmenes comprendidos entre 10-100 µL y 100-1000 µL, de la casa Nichiryo®.

1.1.3.4 Preparación del Té

Con la intención de reproducir el método doméstico de preparación del té, se utilizó un volumen de 180 ml de agua destilada y 1.5 gramos de té (materia seca) ya que estos datos corresponden al volumen de una tasa promedio y el peso promedio recomendado por el fabricante para la preparación de una tasa de té según lo reportado por Imai et al., 1997.

Las variables en este estudio fueron la temperatura y el tiempo de contacto del te para hacer la infusión. Las temperaturas que se manejaron fueron: 70°C, 80°C y 90°C y los tiempos fueron 1, 3 y 5 minutos. El efecto de la temperatura y el tiempo fueron estudiados por la variación de estos en la extracción.

Debido a que los compuestos fenólicos son lábiles a factores como luz, oxígeno, entre otros, una vez que la infusión estaba preparada debía ser analizada rápidamente para no causar errores. Cuando se preparaba la infusión esta se enfriaba inmediatamente mediante un baño de hielo y se ajustaba su pH a 3.2 con ácido cítrico 1M con la intención de maximizar la detección y estabilizar los polifenoles durante el análisis.

Todos los extractos eran preparados por duplicado y dos análisis eran llevados a cabo en cada extracto.

1.1.3.5 Métodos Analíticos

FENOLES TOTALES

El contenido de fenoles totales contenido en el té fue determinado usando el método de Folin-Ciocalteu como lo describe en Singleton et al., 1976. El agente es reducido por los compuestos fenólicos y forman un complejo color azul. La intensidad fue medida con un espectrofotómetro a 725nm. La intensidad incrementa directamente con la concentración de fenoles en el medio de la reacción.

El contenido de compuestos fenólicos en el té fue determinado por la ecuación de la curva de calibración y expresado como mg de equivalentes de ácido gálico (GAE).

CAPACIDAD ANTIOXIDANTE

La Capacidad antioxidante del té se calculó mediante el método del ABTS °. El método ABTS, consiste en generar el radical ABTS^{•+}, y comprobar la habilidad de los flavonoides y compuestos polifenólicos, para contrarrestar el efecto nocivo de los radicales libres, actuando como agentes donadores de hidrógeno. El radical catiónico obtenido es un compuesto de color verde-azulado, estable con un espectro de absorción, en el intervalo ultravioleta-visible (*Pellegrini et al., 1999*). Se forma el radical en ausencia de la muestra a analizar, hasta obtener una absorbancia estable, al añadir la sustancia antioxidante la concentración del radical disminuye y se puede medir el descenso de absorbancia producido.

La determinación de la actividad antioxidante se realiza por medio de una curva de calibrado que relaciona el porcentaje de pérdida de absorbancia y la concentración de antioxidante presente.

$$\% \text{ Inhibición} = 1 - (A_f/A_o) \times 100 \text{ ó } A_o - A_f/A_o \times 100$$

Los resultados obtenidos se expresan con el valor **TEAC**, que se define como la concentración de Trolox que tiene la misma actividad antioxidante, que una concentración 1mM de la sustancia a ensayar.

1.1.4 RESULTADOS

Los resultados presentan una fuerte correlación entre la capacidad antioxidante y el contenido de fenoles totales (R=0.99). Diversos estudios previos han encontrado dicha correlación.

La serie de análisis realizados en las muestras de té fueron hechos por duplicado con la desviación estándar que se muestra en la

Tabla **¡Error! No hay texto con el estilo especificado en el documento.-4** lo cual muestra la confiabilidad de los datos. Los resultados se presentan en las tablas:

Tabla **¡Error! No hay texto con el estilo especificado en el documento.-4** Polifenoles totales en muestras de Té Verde (mg GAE/100g MS)y

Tabla **¡Error! No hay texto con el estilo especificado en el documento.-5** Capacidad Antioxidante en muestras de Té Verde TEAC (µTrolox/100g MS)

Tabla **¡Error! No hay texto con el estilo especificado en el documento.-4** Polifenoles totales en muestras de Té Verde (mg GAE/100g MS)

M	70 °C			80 °C			90°C		
	1 min	3 min	5 min	1 min	3 min	5 min	1 min	3 min	5 min
1	114.29 ±1	121.57 ±1	175.39 ±3	141.93 ±2	264.13 ±7	299.04 ±8	172.48 ±3	168.12 ±3	101.20 ±1
2	102.65 ±1	121.57 ±1	197.21 ±4	79.38 ±1	205.94 ±4	224.85 ±5	140.48 ±2	112.84 ±1	162.30 ±3
3	95.38 ±1	104.11 ±1	191.39 ±4	102.65 ±1	178.30 ±3	233.58 ±6	118.66 ±1	102.65 ±1	157.93 ±2
4	107.02 ±1	141.93 ±2	176.84 ±3	93.93 ±1	153.57 ±2	255.40 ±7	63.38 ±2	92.47 ±1	85.20 ±1
5	69.20 ±1	75.02 ±1	144.84 ±2	69.20 ±1	107.02 ±1	108.47 ±1	75.02 ±1	93.93 ±1	114.29 ±1
6	108.47 ±1	121.57 ±1	179.75 ±3	118.66 ±1	176.84 ±3	251.03 ±6	121.57 ±1	93.93 ±1	61.92 ±2

7	108.47 ±1	136.11 ±1	165.21 ±3	112.84 ±1	171.03 ±3	168.12 ±3	54.65 ±2	63.38 ±2	79.38 ±3
8	112.84 ±1	127.38 ±1	184.12 ±3	137.57 ±1	191.39 ±4	216.12 ±5	147.75 ±2	139.02 ±2	204.48 ±4
9	101.20 ±1	130.29 ±1	169.57 ±3	75.02 ±1	139.02 ±2	144.84 ±2	61.92 ±2	134.66 ±1	149.21 ±2
10	89.56 ±1	98.29 ±1	115.75 ±1	70.65 ±1	98.29 ±1	137.57 ±1	72.11 ±1	79.38 ±1	134.66 ±1
11	172.48 ±3	233.58 ±6	253.94 ±6	152.11 ±2	319.41 ±9	277.22 ±7	237.94 ±6	224.85 ±5	216.12 ±5

Tabla ¡Error! No hay texto con el estilo especificado en el documento.-5 Capacidad Antioxidante en muestras de Té Verde TEAC (µTrolox/100g MS)

M	70 °C			80 °C			90°C		
	1 min	3 min	5 min	1 min	3 min	5 min	1 min	3 min	5 min
1	773.77	823.95	1186.87	957.65	1785.86	2021.91	1166.20	1136.70 *	684.25 *
2	694.10	822.95	1333.41	536.71	1393.43	1523.29	951.82	762.94 *	1095.35
3	645.91	704.92	1294.07	692.09	1203.55	1579.30	801.28	696.09 *	1069.85
4	726.19	959.65	1195.71	636.07	1038.34	1728.84	428.52	625.24 *	576.06 *
5	469.86	507.21	979.32	467.86	724.59	733.43	507.21	636.07	772.77
6	733.43	821.95	1215.38	800.28	1195.71	1697.33	822.95	635.07 *	418.69 *
7	734.53	922.31	1117.02	765.94	1156.37 *	1136.70 *	369.51	428.52	517.22
8	761.94	860.29	1244.89	930.14	1295.07	1462.28	998.99	939.98 *	1383.59
9	686.25	881.97	1146.53	509.21	939.98	979.32	416.69	911.47	1008.83
10	604.56	664.58	786.61	477.70	664.58	930.14	487.54	536.71	910.47
11	1169.20	1574.30	1715.01	1026.50	2159.61 *	1874.38 *	1608.81	1522.29 *	1461.28 *

* No muestran un aumento de capacidad antioxidante en el tiempo

En general la capacidad antioxidante y la cantidad de polifenoles totales se incrementa con respecto a la temperatura y el tiempo de contacto con el solvente (agua); sin embargo cuando la temperatura es superior a los 80°C el tiempo de contacto de la muestra con el solvente puede dañar la estabilidad de los polifenoles afectando su capacidad antioxidante.

La extracción de los componentes polifenólicos del té mejoró en la mayoría de los casos cuando la temperatura y el tiempo de extracción aumentan. Las muestras que presentan mayor componente polifenólico y por ende mayor capacidad antioxidante son las muestras de té verde sin combinaciones (muestras 1, 2 y 3), y dentro de las muestras de té verde mezcladas con frutas se observa una mayor capacidad antioxidante en las muestras que contienen cereza y fresa (muestras 4 y 6).

Asumiendo el máximo de la extracción como el 100% los porcentajes de eficiencia se muestran en la

Tabla ¡Error! No hay texto con el estilo especificado en el documento.-6

Tabla ¡Error! No hay texto con el estilo especificado en el documento.-6 Porcentaje de eficiencia de extracción con respecto a la máxima extracción. (%)

M	70 °C			80 °C			90°C		
	1 min	3 min	5 min	1 min	3 min	5 min	1 min	3 min	5 min
1	38.27	40.75	58.70	47.36	88.33	100.00	57.68	56.22	33.84
2	45.57	54.02	87.53	35.23	91.48	100.00	62.48	50.09	71.91

3	40.90	44.63	81.94	43.82	76.21	100.00	50.74	44.08	67.74
4	42.00	55.51	69.16	36.79	60.06	100.00	24.79	36.17	33.32
5	60.80	65.64	126.73	60.54	93.77	94.91	65.64	82.31	100.00
6	43.21	48.43	71.61	47.15	70.45	100.00	48.48	37.42	24.67
7	63.52	79.76	96.60	66.24	100.00	98.30	31.95	37.06	44.73
8	52.11	58.83	85.13	63.61	88.57	100.00	68.32	64.28	94.62
9	68.02	87.43	113.65	50.48	93.18	97.07	41.30	90.35	100.00
10	65.00	71.45	84.57	51.36	71.45	100.00	52.42	57.70	97.89
11	54.14	72.90	79.41	47.53	100.00	86.79	74.50	70.49	67.66

En comparación la mayor eficiencia de extracción se observa a los 80°C con un tiempo de contacto de 5 min. En 7 de las once muestras.

La Actividad Antioxidante (TEAC) y el contenido de polifenoles totales se incrementan en los 70°C cuando incrementa el tiempo de extracción. A esta temperatura no se observa una degradación de polifenoles con respecto al tiempo.

A 80°C dos de las once muestras se dañaron con la exposición del te a la temperatura (muestras 7 y 11), mientras que a los 90°C cuatro muestras presentaron un gran daño en su cantidad de componentes polifenólicos (muestras 1, 4, 6 y 11).

En la Figura **¡Error! No hay texto con el estilo especificado en el documento.-1** se observa que a los 70°C la extracción en todas las muestras fue mas eficiente en un tiempo de contacto de 5 minutos y el tiempo de extracción menos eficiente se encontró en un minuto, mientras que en los 80°C ese comportamiento se conservo en todas las muestras a excepción de la muestra 7 y 11. A los 90 °C el tiempo de extracción afectó a las muestras 1, 4, 6 y 11.

En el comparativo de las temperaturas de extracción se observa que a un minuto de contacto del solvente con la muestra, las muestras 4, 7, 9 y 10 fueron dañadas por la temperatura incluso a ese corto periodo de tiempo. Mientras que a los tres y cinco minutos de contacto se observa que en la mayoría de las muestras la extracción fue mejor con una temperatura de 80°C.

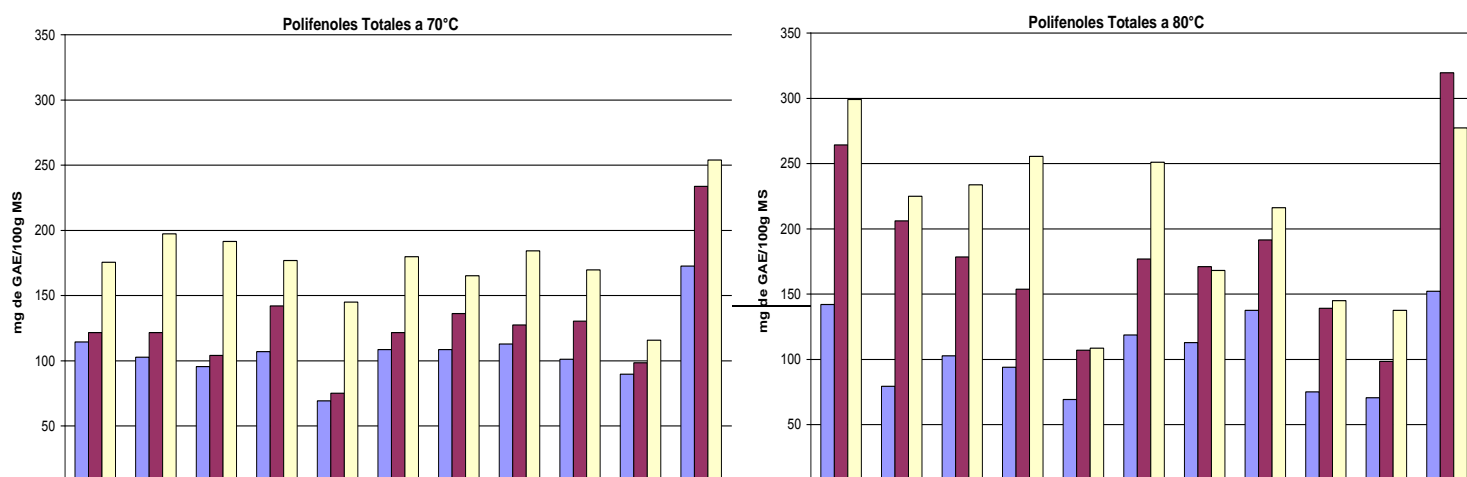


Figura ¡Error! No hay texto con el estilo especificado en el documento.-1 Efecto de la temperatura y tiempo de extracción de polifenoles como antioxidantes en muestras de Té Verde

1.1.5 DISCUSIÓN

Estudios previos han demostrado que la variación en el contenido de catequinas en la composición de té comerciales es el resultado de un largo número de factores, incluyendo la variedad, la composición y edad del cultivo, procesos industriales (fermentación y trituración) y almacenamiento. Aunado a todos estos factores la preparación doméstica, los métodos analíticos y las condiciones de extracción como temperatura y tiempo de extracción proveen aun de más diferencias.

El efecto benéfico a la salud del té verde está basado en la cantidad de polifenoles y de su capacidad antioxidante, sin embargo, las condiciones en las que éste es preparado pueden provocar una variación significativa en su contenido y su capacidad benéfica.

De modo tal que los datos mostrados tienen como fin comparar y demostrar el efecto que tienen los factores de temperatura y tiempo de extracción. Un trabajo similar a este podría ser interesante al realizar comparaciones con otros factores domésticos que pueden cambiar, un ejemplo de esto sería la adición de azúcares al té, el tiempo entre la extracción y la ingesta de la infusión, entre otros.

El presente estudio muestra que tanto la temperatura como el tiempo de extracción son condiciones críticas que varían la capacidad antioxidante del te verde.

1.1.6 CONCLUSION

La composición de las infusiones de té (polifenoles totales y capacidad antioxidante) son significativamente afectadas por las condiciones de extracción. Durante la preparación de la infusión de té (tipo de té, temperatura y tiempo de extracción, etc.) esto aunado a diferentes mezclas de té verde que proporcionan diferentes capacidades antioxidantes.

La ingesta de compuestos antioxidantes a partir de te verde puede variar de acuerdo al proceso doméstico de preparación, esto conlleva a un complicado establecimiento de la cantidad de polifenoles que este consumo aporta a la dieta.

Los beneficios a la salud que aportan los polifenoles dependerán de la cantidad consumida, por lo que es importante cuidar que durante el proceso de preparación de los alimentos que los contienen se cuide la estabilidad de los mismos.

1.1.7 BIBLIOGRAFÍA

Cabrera, C., Gimenez, R., y Lopez, C. 2003. Determination of Tea Components with Antioxidant Activity, *J. Agric. Food Chem.* 51, 4427-4435

- Costa, L. M.; Gouveia, S. T.; Nobrega, J. A. 2002. Comparison of heating extraction procedures for Al, Ca, Mg and Mn in tea samples. *Anal. Sci.* 18, 313-318.
- Hertog, N. C. J. L.; Hollman, P. C. H.; Katan, M. B.; Kromhout, D. 1993. Intake of potentially anticarcinogenic flavonoids and their determinations in adults in The Netherlands. *Nutr. Cancer* 20, 21-29.
- Imai, K., Suga, K. and Nakachi, K. 1997. Cancer-preventive effects of drinking green tea among a Japanese population. *Prevent Med.* 26: 769-775.
- Lin, Y.L., Lin-Shiau, S.Y., Ho, C.T., Lin, J.K. 1999. Theaflavin- 3,3-digallate from black tea blocks the nitric oxide synthase by down-regulating the activation of NF- κ B in macrophages. *Eur. J. Pharm.* 367, 379-388.
- Pan, M.H., Lin-Shiau, S.Y., Ho, C.T., Lin, J.H., Lin, J.K. 2000. Suppression of LPS-induced NF- κ B activity by theaflavin-3,3-digallate from black tea and other polyphenols through downregulation of I κ B kinase activity in macrophages. *Biochem. Pharmacol.* 59, 357-367.
- Prior, R.L., Cao, G. 1999b. Antioxidant capacity and polyphenolic components of teas: implications for altering in vivo antioxidant status. *Proc Soc Exper Biol Med.* 220:255-61.
- Singleton, V.L., Noble, A.C., 1976. Wine flavour and phenolic substances. In: Charalambous G, Katz I (Eds), *Phenolic, Sulfur, and Nitrogen Compounds in Food Flavors*. Chicago: American Chemical Society, 47-70.
- Zuo, Y., Chen, H., Deng, Y. 2002. Simultaneous determination of catechins, caffeine and gallic acids in green, Oolong, black and pu-erh teas using HPLC with a photodiode array detector. *Talanta* 57, 307-316.

De las instituciones leyes y reglamentos que vigilan a los alimentos funcionales.

1.2 LEGISLACION MEXICANA SOBRE ALIMENTOS FUNCIONALES

1.2.1 ÁMBITO LEGAL CORRESPONDIENTE A LA SECRETARÍA DE SALUD

Con respecto al control sanitario el documento más importante es la Ley General de Salud que reglamenta el derecho a la protección a la salud establecido en el artículo 40 de la Constitución Política de los Estados Unidos Mexicanos (Ley General de Salud, Artículo 1o).

a) La Ley General de Salud

ART. 215. Para los efectos de esta ley, se entiende por: I Alimento: cualquier sustancia o producto, sólido o semisólido natural o transformado, que proporcione al organismo elementos para su nutrición; II. Bebida no alcohólica: cualquier líquido, natural o transformado, que proporcione al organismo elementos para su nutrición; III. Materia prima: sustancia o producto, de cualquier origen, que se use en la elaboración de los alimentos y bebidas no alcohólicas y alcohólicas, y IV. Aditivo: cualquier sustancia permitida que, sin tener propiedades nutritivas, se incluyan en la formulación de Los productos y que actúen como estabilizante, conservador o modificador de sus características organolépticas, para favorecer ya sea su estabilidad, conservación, apariencia o aceptabilidad. V. Suplementos alimenticios: Productos a base de hierbas, extractos vegetales, alimentos tradicionales, deshidratados o concentrados de frutas, adicionados o no de vitaminas o minerales, que se pueden presentar en forma farmacéutica y cuya finalidad de uso sea incrementar la ingesta dietética total, complementarla o suplir alguno de sus componentes...

ART. 216. Establece la atribución de la SS a determinar a que productos puedan atribuírsele propiedades nutritivas particulares y deberán incluir si se expenden parecidos a medicinas la leyenda Este producto no es un medicamentos escrito en letra legible.

b) Reglamento de la Ley General de Salud.

ART. 27. La Secretaría, con la facultad que le otorga la ley y este reglamento, fijará las características que deberá reunir un producto para ser considerado como medicamento, alimento o de cualquier otra clasificación, bajo las directrices que al efecto se emitan por la autoridad sanitaria competente.

ART. 35. La información contenida en la etiqueta de los productos envasados objeto de este reglamento y que se comercialicen en el país, nacionales o importados, con las excepciones que se marquen en el propio reglamento se redactará en español, y deberá permitir:

- La identificación del producto
- Su denominación genérica y específica
- Sus ingredientes en orden de predominio cuantitativo
- Sus características
- El nombre y domicilio del fabricante nacional o extranjero
- El gentilicio del país de origen precedido de las palabras "producto de" cuando sea de importación
- Instrucciones para su conservación; uso, preparación y consumo

- El o los componentes que pudiesen representar un riesgo mediano o inmediato a la salud de los consumidores, ya sea por ingestión, aplicación o manipulación del producto.

En su caso el o los productos que procedan de los mencionados a continuación:

- Aporte nutrimental
- Vigencia
- Identificación del lote
- Condición de procesamiento a que ha sido sometido el producto

Esta información deberá ser precisa y suficiente, de manera tal que directamente o indirectamente no confunda, engañe, omita datos y/o riesgos reales o potenciales, exagere las propiedades de una imagen equivocada del producto y no ostente ilustraciones que induzcan a lo antes señalado.

Lo anterior de conformidad con las disposiciones señaladas en este reglamento y en los términos que establezca la norma oficial mexicana correspondiente.

ART. 53. En las etiquetas de los productos no debe presentarse información que confunda, exagere o engañe en cuanto a su composición, origen y otras propiedades. El etiquetado para alimentos y bebidas no debe ostentar indicaciones terapéuticas.

c) Normas específicas de productos.

Al considerar la etiqueta como medio de comunicación y publicidad, también se aplica el siguiente Reglamento de Control: Publicidad de Alimentos y Bebidas no Alcohólicas.

ART. 25.- La publicidad de alimentos y bebidas no alcohólicas no deberá desvirtuar ni contravenir los lineamientos y disposiciones que en materia de educación nutrimental e higiénica establezcan la Secretaría y otras autoridades competentes del Ejecutivo Federal.

ART. 26.- La publicidad de alimentos y bebidas no alcohólicas no podrá presentar a estos productos como estimulantes del estado físico o mental de las personas.

ART. 27.- La publicidad de los productos que se pretenden anunciar como medios para restringir el consumo de nutrimentos, no se autorizará cuando se les mencione como dietéticos, en cambio se les podrá designar como alimentos bajos en calorías o modificados cuando se haya transformado su fórmula de composición. En todos los casos se establecerán las leyendas y advertencias que se requieren, respecto a los posibles efectos que su consumo puede originar.

ART. 28.- No se autorizará la publicidad de alimentos y bebidas no alcohólicas que:

- induzca o promueva hábitos de alimentación nocivos para la salud
- Afirme que alguno de los productos llena por sí solo los requerimientos nutrimentales del ser humano
- Atribuya a los alimentos un valor nutritivo superior o distinto al que tenga efectivamente
- Exprese o sugiera que la ingestión de estos productos proporciona a personajes reales o ficticios características o habilidades extraordinarias

- Confiera a estos productos cualidades preventivas, terapéuticas o rehabilitadoras, o se asocie directa o indirectamente con el consumo de bebidas alcohólicas o tabaco

Así mismo la Norma Oficial Mexicana NOM-086-SSA1-1994. “Bienes y servicios. Alimentos y Bebidas no alcohólicas con modificaciones en su composición. Especificaciones Nutrimientales” en el art. 1 excluye de dicha norma a los productos para fines medicinales o terapéuticos, sin embargo, en el Art 6.3 se expone lo siguiente:

6.3 Los interesados que deseen adicionar o que adicionan nutrimentos a los productos objeto de esta norma, deben tener por escrito la siguiente información; misma que deberán poner a disposición de la Secretaría cuando ésta lo solicite. En caso de verificaciones sanitarias, dicha información se entregará al verificador sólo si el oficio lo señala.

6.3.1 Grupo de población al que va dirigido;

6.3.2 Fuentes del nutrimento en la dieta y el consumo global en la población;

6.3.3 Vehículo propuesto para la adición, incluyendo el volumen de producción anual de dicho alimento;

6.3.4 Nutrimento o nutrimentos que se van a adicionar, forma química, en qué cantidad y mediante cuál procedimiento;

6.3.5 Demostrar la estabilidad del nutrimento adicionado en el alimento durante su vida de anaquel. Si la empresa no cuenta con los recursos para dicha demostración, podrá auxiliarse de un organismo aprobado por la Secretaría y acreditado por la Secretaría de Comercio y Fomento Industrial;

6.3.6 Soportes bibliográficos que demuestren la absorción del nutrimento en la forma química en la que se adicionó;

6.3.7 Para el caso de las vitaminas D, K, ácido pantoténico, biotina y demás nutrimentos para los que no exista una ingestión diaria recomendada, se debe justificar la adición con estudios nacionales o internacionales que demuestren la necesidad en la población nacional, y

6.3.8 En caso de generarse problemas de salud pública debidos a la carencia o a una alta ingestión de algún nutrimento, la Secretaría procederá conforme a lo establecido en la Ley General de Salud y su Reglamento.

De la misma manera, en el Art. 10 de esta ley se declara que los Métodos de prueba para los productos de objeto de esta norma a fin de verificar las especificaciones nutrimentales se establecen en el Apéndice C, sin embargo, al no considerarse a los Flavonoides ni a algún compuesto polifenólico, no se establecen métodos de prueba de dichos compuestos.

1.2.2 ÁMBITO LEGAL CORRESPONDIENTE A LA SECRETARÍA DE ECONOMÍA

Es responsabilidad del Gobierno Federal procurar las medidas que sean necesarias para garantizar que los productos y servicios que se comercialicen en territorio nacional, ostenten la información comercial necesaria para que los consumidores y usuarios puedan tomar adecuadamente sus decisiones para comprar, usar y disfrutar plenamente los productos y servicios que adquieren. La Ley Federal sobre Metrología establece que las normas oficiales mexicanas se constituyen en el instrumento idóneo para la prosecución de estos objetivos.

a) Ley Federal sobre Metrología y Normalización

Esta Ley tiene por objeto (Art. 2):

I. En materia de Metrología:

- a) Establecer el Sistema General de Unidades de Medida;
 - b) Precisar los conceptos fundamentales sobre metrología;
 - c) Establecer los requisitos para la fabricación, importación, reparación, venta, verificación y uso de los instrumentos para medir y los patrones de medida;
 - d) Establecer la obligatoriedad de la medición en transacciones comerciales y de indicar el contenido neto en los productos envasados;
 - e) Instituir el Sistema Nacional de Calibración;
 - f) Crear el Centro Nacional de Metrología, como organismo de alto nivel técnico en la materia;
- y
- g) Regular, en lo general, las demás materias relativas a la metrología.

II. En materia de normalización, certificación, acreditamiento y verificación:

- a) Fomentar la transparencia y eficiencia en la elaboración y observancia de normas oficiales mexicanas y normas mexicanas;
- b) Instituir la Comisión Nacional de Normalización para que coadyuve en las actividades que sobre normalización corresponde realizar a las distintas dependencias de la administración pública federal;
- c) Establecer un procedimiento uniforme para la elaboración de normas oficiales mexicanas por las Dependencias de la administración pública federal;
- d) Promover la concurrencia de los sectores público, privado, científico y de consumidores en la elaboración y observancia de normas oficiales mexicanas y normas mexicanas;
- e) Coordinar las actividades de normalización, certificación, verificación y laboratorios de prueba de las dependencias de administración pública federal;
- f) Establecer el sistema nacional de acreditamiento de organismos de normalización y de certificación, unidades de verificación y de laboratorios de prueba y de calibración; y
- g) En general, divulgar las acciones de normalización y demás actividades relacionadas con la materia.

ART. 54.- Las normas mexicanas, constituirán referencia para determinar la calidad de los productos y servicios de que se trate, particularmente para la protección y orientación de los consumidores. Dichas normas en ningún caso podrán contener especificaciones inferiores a las establecidas en las normas oficiales mexicanas.

a) Norma 051-SCFI-1994 Especificaciones Generales de Etiquetado para Alimentos y Bebidas no Alcohólicas preenvasados.

La Norma 051-SCFI, es el documento regulatorio de etiquetado de alimentos en México más importante para la comercialización de los alimentos. México promulgó la Norma 051-SCFI en 1994 y se publicó en 1996 con el propósito de reglamentar el etiquetado de alimentos y bebidas no alcohólicas preenvasados. El cumplimiento de esta norma debe ser observada por quienes comercialicen alimentos en México o deseen exportarlos a este país. La declaración de ingredientes se deberá hacer utilizando sus nombres comunes, aditivos y porcentaje de los ingredientes. La información nutrimental, se considera como un instrumento educativo para los consumidores. Sin embargo, es muy discutido este propósito y parece ser más una estrategia de mercadotecnia.

El objetivo General de esta norma es garantizar que los productos que se comercialicen en nuestro país, tanto de procedencia nacional como extranjera, ostenten información comercial

en español que permita a los consumidores orientar sus decisiones de compra. Esta norma es aplicable a todos los alimentos y bebidas no alcohólicas, preenvasados de fabricación nacional y extranjera destinados a los consumidores en territorio nacional.

Algunos artículos relacionados con el objeto de estudio del presente trabajo son los siguientes:

3.9 Declaración de propiedades Cualquier texto o representación que afirme, sugiera o implique que un alimento o bebida no alcohólica preenvasado tiene cualidades especiales por su origen, propiedades nutrimentales, naturaleza, elaboración, composición u otra cualidad cualquiera, excepto la marca del producto y el nombre de los ingredientes.

3.10 Declaración de propiedades nutrimentales Cualquier texto o representación que afirme, sugiera o implique que el producto preenvasado tiene propiedades nutrimentales particulares, tanto en relación con su contenido energético y de proteínas, grasas (lípidos) y carbohidratos (hidratos de carbono), como en su contenido de vitaminas y minerales. No constituye declaración de propiedades nutrimentales:

- a) La mención de sustancias en la lista de ingredientes ni la denominación o marca comercial del producto preenvasado;
- b) La mención de algún nutrimento o componente, cuando la adición del mismo sea obligatoria;
- c) La declaración cuantitativa o cualitativa en la etiqueta de propiedades nutrimentales de algunos nutrimentos o ingredientes, cuando ésta sea obligatoria, de conformidad con los ordenamientos legales aplicables.

3.11 Declaración nutrimental Relación o enumeración del contenido de nutrimentos de un alimento o bebida no alcohólica preenvasado.

4.1.1 La información contenida en las etiquetas de los alimentos y bebidas no alcohólicas preenvasados debe ser veraz y describirse y presentarse de forma tal que no induzca a error al consumidor con respecto a la naturaleza y características del producto.

4.2.8.1 La declaración nutrimental en la etiqueta de los productos preenvasados es voluntaria. Sólo es obligatoria cuando se realice la declaración en forma cuantitativa o cualitativa de alguna propiedad nutrimental. Los alimentos y bebidas no alcohólicas preenvasados regulados por disposiciones específicas, se sujetarán a lo que establezcan dichas disposiciones.

1.3 LEGISLACION MEXICANA SOBRE SELLOS O MARCAS OFICIALES

1.3.1 LEY FEDERAL SOBRE METROLOGIA Y NORMALIZACION

ART. 76. Las dependencias competentes, en coordinación con la Secretaría, podrán establecer las características de las contraseñas oficiales que denoten la evaluación de la conformidad respecto de las normas oficiales mexicanas y, cuando se requiera, de las normas mexicanas.

Los productos o servicios sujetos a normas oficiales mexicanas y normas mexicanas, podrán ostentar voluntariamente las contraseñas oficiales cuando ello no induzca a error al consumidor o usuario sobre las características del bien o servicio; se haya evaluado la conformidad por una persona acreditada o aprobada y las contraseñas se acompañen de las marcas registradas por la misma en los términos de la Ley de la Propiedad Industrial. Para ello se deberá obtener previamente la autorización de las personas acreditadas para el uso de sus marcas registradas.

Las dependencias podrán requerir que determinados productos ostenten dichas contraseñas obligatoriamente, en cuyo caso se requerirá la evaluación de la conformidad por la dependencia competente o por las personas acreditadas y aprobadas para ello.

ART. 78. Las dependencias podrán establecer los emblemas que denoten la acreditación y aprobación de los organismos de certificación, laboratorios de prueba y de calibración y unidades de verificación.

1.3.1.1 REGLAMENTO DE LA LEY FEDERAL SOBRE METROLOGIA Y NORMALIZACION

ART. 84. Para los efectos del Capítulo III del Título Cuarto de la Ley, se entiende por marca oficial, aquella cuyo registro ha sido otorgado por el Instituto Mexicano de la Propiedad Industrial a la Secretaría en forma exclusiva o conjuntamente con otra dependencia o entidad de la administración pública federal, de conformidad con las disposiciones legales aplicables en materia de propiedad industrial y las cuales tengan por objeto evidenciar la evaluación de la conformidad de determinados bienes, servicios o sistemas, respecto de especificaciones previstas en un pliego de condiciones y que garanticen la calidad superior del producto respecto de sus cualidades, propiedades y naturaleza. La Secretaría podrá conceder licencias de uso a los organismos de certificación acreditados.

ART. 85. Para la autorización del uso de marcas, el interesado deberá formular una solicitud a la Secretaría, acompañando un proyecto de pliego de condiciones que indique:

- I. El producto, servicio o sistema en el que se pretende utilizar la marca, así como la zona de producción o transformación;
- II. El signo distintivo del producto que se exhibirá en la etiqueta, así como un modelo de la marca correspondiente;
- III. Las especificaciones técnicas que definan los caracteres específicos del producto, servicio o sistema tales como el origen de las materias primas, las condiciones de producción, su procedimiento de transformación, sus características físicas, químicas, tóxicas, bacteriológicas o de utilización, su composición o etiquetado;
- IV. Una breve exposición de las modalidades y periodicidad con que se deberán ejercer los controles de calidad sobre la producción del bien en sus diversas etapas, así como en la transformación y comercialización del mismo;
- V. El régimen de sanciones;

VI. Las condiciones que establecerá para el otorgamiento de autorizaciones de uso de la marca, las cuales en todo caso permitirán el acceso a cualquier persona que produzca, importe o comercialice el bien al que se refiera la misma, y

VII. El grado de concordancia del pliego de condiciones con las normas oficiales mexicanas, normas mexicanas y normas o lineamientos internacionales.

ART. 86. Los organismos de certificación acreditados que soliciten la licencia de uso de marcas registradas por la Secretaría en los términos de esta sección, no podrán tener relación comercial alguna con actividades de fabricación, importación o comercialización de los bienes o servicios a ser certificados.

BIBLIOGRAFÍA

- Abuja, P.M., Murkovic, and Pfannhauser, W. 1998. Antioxidant and prooxidant activities for elderberry (*Sambucus nigra*) extract in low-density lipoprotein oxidation. *J. Agric. Food Chem.* 46(10):4091-4096.
- Adlercreutz, H. and Mazur, W. 1997. Phyto-estrogens and Western diseases. *Ann. Med.* 29: 95–120.
- Ahmad, M.S., Fazal, F., Rahaman. 1992. Activities of flavonoids for the cleavage of DNA in the presence of Cu (II): correlation with generation of active oxygen species. *Carcinogenesis*, 13:605-608.
- American Dietetic Association. 1999. Position of the American Dietetic Association: Functional Foods. *J. Am. Diet. Assoc.* 99:1278-1285.
- American Heart Association -AHA-21. Programa de certificación de alimentos sanos para el corazón (<http://www.americanheart.org/FoodCertification/>)
- Amerine, A. and Joslyn, M.A. 1997. Composition of grapes, in *Table Wines, the Technology of their Production*, 2nd ed., Berkeley, CA: University of California Press, 234-238.
- Amiot, M. J., Tacchini, M., Aubert, S. and Nicolas, J. 1992. Phenolic composition and browning susceptibility of various apple cultivars at maturity. *J. Food Sci.* 57: 958–962.
- Anónimo, 1997. Nutraceutical trend takes roots despite definitional challenges. *Nutr Buss J.* 11(8):1-3, 15.
- Arai, S. 1996. Studies on functional foods in Japan. State of the art. *Biosci. Biotech. Biochem.* 60: 9-15
- Arts, I. C., Hollman, P. C. and Kromhout, D. 1999. Chocolate as a source of tea flavonoids. *Lancet* 354: 488.
- Arts, I.C.W., Van de Putte, B., Hollman, P.C.H. 2000. Catechin contents of foods commonly consumed in the Netherlands. 1. Fruits, vegetables, staple foods, and processed foods. *J Agric Food Chem.* 48:1746–1751.
- Ashurts, P.R. 1995. Production and Packaging of Non-Carbonated Fruits Juices and Fruit Beverages. 2nd ed., Glasgow, UK: *Blackie Academic and Professional*,. 1-429.
- Astiasarán, I. y Martínez, A. 1999. *Alimentos Composición y Propiedades*. Mc Graw Hill Interamericana, España, 1^o Edic. Cap16: 357-364.
- Autore, G., Rastrelli, L., Lauro, M.R. 2001: Inhibition of nitric oxide synthases expression by a methanolic extract of *Crescentia alata* its derived flavonols. *Life Sci*, 70:523-534.
- Bagchi, D., Bagchi, M., Stohs, S.J., Ray, S.D., Sen, C.K. y Preuss, H.G. 2002. Cellular Protection with Proanthocyanidins Derived from Seeds. *Ann N Y Acad Sci*, 957:260-270
- Bellisle, F., Diplock, S.T., Hornstra, G., Koletzko, B., Roberfroid, M., Salminen, S. and Saris, W.H.M. 1998. Functional Food Science in Europe. *British Journal of Nutrition* 80 (Suppl. 1), S1-S193.
- Bello J. 1995. Los alimentos funcionales o nutraceuticos. Nueva gama de productos en la industria alimentaria. *Alimentaria*. 265: 25-29
- Bello, J. 2000. Alimentos con propiedades saludables especiales. En *Alimentos composición y propiedades*. Ed. Mc.Graw-Hill. Interamericana España, 1^a edición. Astiasarán I, Martínez A. Cap15: 343-355
- Benito, S. López, D. Saiz, M.P. 2002. A flavonoid-rich diet increases nitric oxide production in rat aorta. *Br J Pharmacol*, 135:910-916.
- Best, D. 1997. All natural and nutraceutical. *Prepared Foods*. 166(6): 32-38
- Bobbio, F.O., do Nascimento Varella, M.T. and Bobbio, P.A. 1994. Effect of Light and Tannic Acid on the stability of Anthocyanin in DMSO and in water. *Food Chem.* 51:183-185.
- Bohm, H., Boeing, H., Hempel, J., Raab, B. and Krok, A.1998. Flavonols, Flavone and anthocyanins as natural antioxidants of foods and their possible role in the prevention of chronic diseases. *Ernahrungswiss*;2:147-63.
- Bors, W., Heller, W., Christa, M. 1990. Flavonoids as antioxidants: determination of radical-scavenging efficiencies. *Methods Enzymol*, 186:343-355.

- Bravo, L. 1988. Polyphenols: Chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutr Rev* 56: 317–333.
- Bremner, P. y Heinrich, M. 2002: Natural products as targeted modulators of the nuclear factor-kappaB pathway. *J Pharm Pharmacol*, 54:453-472
- Bridle, P. and Timberlake, C.F. 1997. Anthocyanins as natural foods colours –selected aspect. *Food Chem.* 58(1-2):103-109.
- Brown, J.E., Khodr, H., Hider, R.C., Rice-Evans, C.A. 1998. Structural dependence of flavonoids interactions with Cu²⁺ ions: implications for their antioxidant properties. *Biochem J*;330:1173-8.
- Bruneton, J., Gardner, P.T., O'Neil, J., Crawford, S., Morecroft, I., McPhail, D.B., Lister, C., Matthews, D., MacLean, M.R., Lean, M.E.J., Duthie, G.G., and Crozier, A. 2000. Relationship among antioxidant activity, vasodilatation capacity, and phenolic content of red wines. *J. Agric. Food Chem.* 48(2):220-230.
- Burda, S., Oleszek, W. and Lee, C. Y. 1990. Phenolic compounds and their changes in apples during maturation and cold storage. *J. Agric. Food Chem.* 38: 945–948.
- Burns, J., Gardner, P.T., O'Neil, J., Crawford, S., Morecroft, I., McPhail, D.B., Lister, C., Matthews, D., MacLean, M.R., Lean, M.E.J., Duthie, G.G., and Crozier, A. 2000. Relationship among antioxidant activity, vasodilation, capacity, and phenolic content of red wines. *J. Agric. Food Chem.* 48(2):220-230.
- Cabrita, L. Fosen, T. and Endersen, O.M. 2000. Color and stability of the six common anthocyanidin 3-glucosides in aqueous solution. *Food Chem* 68:101-107.
- Carlsen, C. and Stapelfeldt, H. 1997. Light sensitivity of elderberry extract. Quantum yield for photodegradation on aqueous solution. *Food Chem* 60(3):383-387.
- Carver, J.H., Carrano, A.V., Mac Gregor, J.T.1983. Genetics effects of the flavonols quercetin, kaempferol, and galangin on chinese hamster ovary cells in vitro. *Mutat Res* 113:45-60.
- Chan, T., Galati, G., O' Brien, P.J. 1999. Oxygen activation during peroxidase catalysed metabolism of flavones or flavanones. *Chem Biol Interact*;122:15-25.
- Cheyrier, V., Osse, C., and Rigaud, J. 1988. Oxidation of grape juice Phenolics compounds in model solutions *J. Food Sci.* 53(6):1729-1732.
- Chu, Y.H., Chang, C.L., Hsu, H.F. 2000. Flavonoid content of several vegetables and their antioxidant activity. *J Sci Food Agric* 80: 561– 566.
- Chung, K. –T., Wong T.Y., Wei, C. –I., Huang, Y. –W., and Lin, Y. 1998. Tannins and human health: A review. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 38(6):421-464.
- Clifford, M.N. 1999. Chlorogenic acids and other cinnamates-nature, occurrence and dietary burden. *J. Sci food Agric.* 79(2):66-76.
- Cohn, R. and Cohn, A.L. 1996. The by-products in of fruit processing, in *Fruit Processing*, eds., D. Arthey and P.R. Ashurst. Glasgow, UK: Blackie Academic & Professional.. 198-220.
- Committee of experts on Nutrition Food Safety and Consumer's Health. 1999. *Ad hoc Group on Functional Food, Council of Europe*
- Cook, N.C. and Samman, S. 1996. Flavonoids-chemistry, metabolism cardioprotective effects, and dietary sources. *J. Nutr. Biochem.* 7(2):66-76.
- da Silva, J., Herrmann, S.M., Peres, W., Possa Marroni, N., Gonzalez Gallego, J. y Erdtmann, B. 2002. Evaluation of the genotoxic effect of rutin and quercetin by comet assay and micronucleus test. *Food Chem Toxicol*, 40:941-947.
- Das, D.K. 1994. Naturally accuring flavonoids: Structure, chemistry, and high-performance liquid chromatography methods for separation and characterization. *Methods Enzymol*, 234:410-420.
- Das, N.P. 1971. Studies on flavonoid metabolism. Absorption and metabolism of (+) –catechin in man. *Biochem. Pharmacol.* 20:3435-3445.
- Dávalos, A., Gómez-Cordovés, C., Bertólome, B. 2003. Commercial Dietary Antioxidant Supplements Assayed for Their Antioxidant Activity by Different Methodologies *J. Agric. Food Chem.*, 51, 2512-2519.

- Deuel, C.L. 1996. Strawberries and raspberries, in *Processing Fruits, Science and Technology, Vol. 2. Major Processed Products*, eds. L.P. Somogyi, D.M. Barrett, and Y.H. Hui Lancaster, PA: Technomic Publishing Co., Inc., 117-157.
- Dictamen de 26 de febrero de 2004, del Comité Económico Europeo sobre la «Propuesta de Reglamento del Parlamento Europeo y del Consejo sobre las alegaciones nutricionales y de propiedades saludables en los alimentos». (COM/2003 424 final - 2003/0165 (COD)). («DOCE» núm. C 110 de 30 de abril de 2004, pág. 18)
- Donnovan, J.L., Bell, J.R., Kasim Karakas, S., German, J.B., Walzem, J.B., Hansen, R.J. and Watherhouse, A.L. 1999. Catechin is present as metabolites in human plasma after consumption of red wine. *J. Nutr.* 129(9):1662-1668.
- Downes, J.W. 1990. Equipment of extraction and processing of soft and pome fruit juices in *Production and Packaging of Non-Carbonated Fruits Juices and Fruit Beverages*. 2nd ed., P.R. Ashurst, Glasgow, UK: Blackie Academic and Professional, 197-220.
- Duthie, G. G., Pedersen, M. W., Gardner, P. T., Morrice, P. C., Jenkinson, A. M., McPhail, D. B. and Steele, G. M. 1998. The effect of whisky and wine consumption on total phenol content and antioxidant capacity of plasma from healthy volunteers. *Eur. J. Clin. Nutr.* 52: 733–736.
- Duthie, G.G., Duthie, S.J., Kyle, J.A.M. 2000. Plant polyphenols in cancer and heart disease: Implications as nutritional antioxidants. *Nutr Res Rev* 13: 79–106.
- Dwyer, J.T. 1996. Is there a need to change the American diet? *Adv. Exp. Med. Biol.* 401:189-198.
- Escribano-Bailon, T., Gutiérrez-Fernández, Y., Rivas-Gonzalo, J., and Santos-Buelga, C. 1992. Characterization of procyanidins of *Vitis vinifera* variety Tinta del País Grape seeds. *J. Agric. Food Chem.* 40(10):1794-1799.
- European Commission Community Research, 2000. Project Report: Functional food science in Europe, Volume 1; Functional food science in Europe, Volume 2; Scientific concepts of Functional Foods in Europe, Volume 3. EUR-18591, Office for *Official Publications of the European Communities*, L-2985, Luxembourg.
- First International Conference on East - West Perspectives on Funtional Foods. Singapore, September 26-29, 1995. *1996Nutrition Rev.* 54:11-11
- Formica, J.V. and Regelson, W. 1995. Review of the biology of quercetin and related bioflavonoids. *Food Chem Toxicol*, 1995, 33:1061-1080.
- Francis, F.J. 1982. Analysis of anthocyanins, in *Anthocyanins as Food Colors*, ed., P. Markakis, New York: Academic Press, Inc., 181-207.
- Frankel, E.N., Bosanek, C.A., Meyer, A.S., Silliman, K., and Kirk, L.L., 1998. Commercial grape juices inhibit the *in vitro* oxidation of human low-density lipoproteins. *J. Agric. Food Chem.* 46(3):834-838.
- Frankel, E.N., Watherhouse, A.L. and Teissedre, P.L. 1995. Principal phenolic phytochemicals in selected California wines and their antioxidant activity in inhibiting oxidation of human low-density lipoproteins. *J. Agric. Food Chem.* 43(4):890-894.
- Fuhrman, B., Lavy, A. and Aviram, M. 1995. Consumption of red wine with meals reduces the susceptibility of human plasma and low-density lipoprotein to lipid peroxidation. *Am. J. Clin. Nutr.* 61: 549–554.
- Fukumoto, L.R. and Mazza, G. 2000. Assesing antioxidant and prooxidant activities of Phenolics compounds. *J. Agric. Food Chem.* 48(8): 3597-3604.
- Functional Food Science in Europe. 1998. *British Journal of Nutrition*, 80(1):S1-S193
- Garcia-Viguera, C., Bakker, J., Bellworthy, S.J., Reader, H.P., Watkins, S.J., Bridle, P. 1997 The effect of some processing variables on noncoloured phenolic compounds in port wines. *Z Lebensm Unters Forsch* 205: 321–324.
- Geleijnse, J.M., Launer, L.J., Van der Kuip, D.A., Hofman, A. and Witteman, J.C. 2002. Inverse association of tea and flavonoid intakes with incident myocardial infarction: the Rotterdam study. *Am J Clin Nutr*, 75:880-886.
- Girard, B. and Mazza, G. 1998. Functional grape and citrus products in *Functional Foods, Biochemical and Processing Aspects*, ed., G. Mazza, Lancaster, PA: Technomic Publishing Co., Inc., 139-191.

- Groot H de, Rauen U. 1998. Tissue injury by reactive oxygen species and the protective effects of flavonoids. *Fundam Clin Pharmacol* 3:249-55.
- Gugler, R., Leschik, M. and Dengler, H.J. 1975. Disposition of quercetin in man after single oral and intravenous doses. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 9:229-234.
- Häkkinen, S., Heinonen, M., Kärenlampi, S., Mykkänen, H., Ruuskanen, J., and Törrönen, R. 1999. Screening of selected flavonoids and Phenolics acids in 19 berries. *Food Res. Int.* 32:345-353.
- Hammerstone, J. F., Lazarus, S. A. and Schmitz, H. H. 2000. Proanthocyanidin content and variation in some commonly consumed foods. *J. Nutr.* 130: 2086S–2095S.
- Hanasaki, Y., Ogawa, S., Fukui, S. 1994. The correlation between active oxygen and antioxidative effects of flavonoids. *Free Radic Biol Med.*16:845-50
- Hara, Y., Luo, S. J., Wickremasinghe, R. L. and Yamanishi, T. 1995. Special issue on tea. *Food Rev. Int.* 11: 371–542.
- Hasler, C.M. 1996.. Functional foods: The Western Perspective. *Nutr. Rev.* 54:11, (II)S6-S10.
- Hasler, C.M. 2000. The changing face of functional foods. *J. Am. Coll. Nutr.* 19: 499S-506S
- Hassing, A., Liang, W.X., Schwabl, H., Stampfli, K. 1999. Flavonoids and tannins: plant-based antioxidants with vitamin character. *Med Hypotheses.* 52:479-81.
- Heinonen, I.M., Meyer, A.S., and Frankel, E.N. 1998. Antioxidant activity of berry phenolics on human low-density lipoprotein and liposome oxidation. *J.Agric. Food Chem.* 46(10):4107-4112.
- Henry, B.S. 1996. Natural Food Colors in *Natural Food Colorants*. 2nd ed., G.A.F. Hendry and –j.D. Houghton, Glasgow, UK Blackie Academic & Professional. 40-79
- Herderson, M.C., Miranda, C.L., Stevens, J.F., Deinzer, M.L. and Buhler, D.R. 2000. In vitro inhibition of human P450 enzymes by prenilated flavonoids from hops. *Humulus lupulus. Xenobiotica*, 30:235-251.
- Herrmann, K. 1989. Ocurrence and content of hidroxycinnamic and hydroxybenzoic acid compounds in foods. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 28(4) 315-347.
- Hertog, M.G.L., Hollman, P.C.H. and Putte van de, B: 1996. Content of potentially anticarcinogenic flavonoids of tea, infusions, wines, and fruit juices. *J Agric Food Chem*, 41:1242-1246
- Hertog, M.G.L., Hollman, P.C.H. and Katan, M. B. 1992. Content of potentially anticarcinogenic flavonoids of 28 vegetables and 9 fruits commonly consumed in the Netherlands. *J. Agric. Food Chem.* 40: 2379–2383.
- Hertog, M.G.L., Hollman, P.C.H. and van de Putte, B. 1993. Content of potentially anticarcinogenic flavonoids in tea infusions, wine and fruit juices. *J. Agric. Food Chem.* 41: 1242–1246,
- Hirano, R., Sasamoto, W., Matsumoto, A., Itakura, H., Igarashi, O. and Kondo, K.: 2001. Antioxidant ability of various flavonoids against DPPH radicals and LDL oxidation. *J Nutr Sci Vitaminol*, 47:357-362.
- Hirono, I. 1987. Bioactive molecular. Naturally occurring carcinogenes of plant origin. Toxicology patology and Biochemistry. *Biol Pharm Bul.* 2:120-58.
- Hodnick, W.F., Kung, F.S., Roettger, W.J., Bohmont, C.W., Pardini, R.S. 1986. Inhibition of mitochondrial respiration and production of toxic oxygen radicals by flavonoids. A structure-activity study. *Biochem Pharmacol.* 35:2345-57.
- Hollingworth. P. 1999. Food priorities for an aging America. *Food Technol.* 53: 38-40.
- Hollingworth, P. 1997. Mainstreaming healthy foods. *Food Technol.* 51 (3): 55-58.
- Hollman, P.C.H., de Vries, J.H.M., van Leeuwen, S.D.D., Mengelers, M.J.B., Katan, M.B. 1995. Absorption of dietary quercetin in healthy ileostomy volunteers. *Am J Clin Nutr*, 62: 1276–1282.
- Hollman, P.C.H. and Katan, MB. 1998. Absortion, Metabolism, and Bioavailabiliy of Flavonoids. in: *Flavonoids in Health and Disease*. Ed. Marcel Dekker, INC. New York. 22:483-522.
- Hollman, P.C.H., Tijburg, L.B.M. and Yang, C.S. 1997. Bioavailability of lfavonoids from tea. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 37(8):719-738.
- ILSI Europe Concise Monograph: *Concepts of Functional Foods*. 2002.

- Inami, O., Tamura, I., Kikuzaki, H., and Nakatani, N. 1996. Stability of anthocyanins of *Sambucus canadensis* and *Sambucus nigra*. *J. Agric. Food Chem.* 46(10):3090-3096.
- Iversen, C.K. 1999. Black currant nectar: Effect of Processing and storage on anthocyanin and ascorbic acid content. *J. Food Sci.* 64(1):37-41.
- Jackman, R.L. and Smith, J.L. 1996. Anthocyanins and betalains, in *Natural Food Colorants*. 2nd eds., G.A.F. Hendry and J.D. Houghton, Glasgow, UK:Blackie Academic & Professional, 244-309.
- Jackman, R.L., Yada, R.Y., Tung, M.A., and Speers, R.A. 1987. Anthocyanins as foods colorants-A review. *J. Food Biochem.* 11:201-247.
- Jang, M., Cai, L., Udeani, G.O. 1997. Cancer chemopreventive activity of resveratrol, a natural product derived from grapes. *Science*, 275:218-221.
- Japanscan, 2000. Functional Foods and Functional Drinks in Japan. *Food Industry Bulletin Market Report*. <http://www.japanscan.com/ff%20report.htmj>
- Jimenez, M. and Garcia-Carmona, F. 1999. Oxidation of the flavonol Quercetin by polyphenol oxidase. *J. Agric. Food Chem.* 47(1):56-60.
- Jones, P.J. 2002. Clinical nutrition: 7 Functional foods – more than just nutrition. *Can. Med. Assoc. J.* 166 (12): 1555.
- Jovanovic, S.V., Simic, M.G., 2000. Antioxidants in nutrition. *Acad Sci.* 899:326-34.
- Jovanovic, S.V., Steenken, S., Hara, Y., Simic, M.G. 1996. Reduction of flavonoid and model phenoxyl radicals. Which ring in flavonoids is responsible for antioxidant activity? *J Chem Soc Perkin Trans.* 2:2497-504.
- Kader, F., Rovel, B., Girardin, M., and Metche, M. 1997. Mechanism in browning in fresh highbush blueberry fruit (*Vaccinium corymbosum* L.) Role of blueberry polyphenol oxidase, chlorogenic acid and antocyanins. *J. Sci. Food Agric.* 74:31-34.
- Kähkönen, M.P., Hopia, A.I., Vuorela, H.J. Rauha, J.-P., Pihlaja, K., Kujala, T.S., and Heinonen, M. 1999. Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *J. Agric. Food Chem.* 47(10):3954-3962.
- Kalt, W. and Dufour, D., 1997. Health functionality of blueberries. *HortTechnol.* 7(3):216-221.
- Kalt, W., Forney, C.F., Martin, A., Prior, R.L. 1999. Antioxidant capacity, vitamin C, phenolics, and anthocyanins after fresh storage of small fruits. *J. Agric. Food Chem.* 47(11):4638-4643.
- Karadeniz, F., Durst, R.W., and Wrosland, R.E. 2000. Polyphenolic composition of raisins. *J. Agric. Food Chem.* 48(11):5343-5350.
- Kimira, M., Arai, Y., Shimoi, K. and Watanabe, S. 1998 Japanese intake of flavonoids and isoflavonoids from foods. *J. Epidemiol.* 8: 168–175.
- Kirk, P., Patterson, R. E. and Lampe, J. 1999. Development of a soy food frequency questionnaire to estimate isoflavone consumption in US adults. *J. Am. Diet. Assoc.* 99: 558–563.
- Kühnau, J. 1976. The Flavonoids: a class of semi-essential food components: their role in human nutrition. *World Rev Nutr Diet*, 24:117-190.
- Labarbe, B. Cheyner, V., Brossaud, F., Souquet, J.-M., and Moutonet, M. 1999. Quantitative Fractionation of grape proanthocyanidins according to their degree of fpolimerizartion. *J. Agric. Food Chem.* 47(4):2719-2723.
- Lambert, J.D., Shengmin, S., and Chung, S.Y. 2007. Possible Controversy over Dietary Polyphenols: Benefits vs Risk. *Chem Res. Toxicol.* 20, 583-585.
- Lapidot, T., Harel, S., Granit, R., and Kanner, J. 1998. Bioavailability of red wine anthocyanins as detected in human urine. *J. Agric. Food. Chem.* 46(10): 4297-4302.
- Larrauri, J.A., Sánchez-Moreno, C., Rupérez, P., and Saura-Calixto, F. 1999. Free Radical Scavenging capacity in the aging of selected red Spanish wines. *J. Agric. Food Chem.* 47(4):1603-1606.
- Laughton, M.J., Evans, P.J., Moroney, M.A. 1991. Inhibition of mammalian 5-lipoxygenase and cyclo-oxygenase by flavonoids and phenolic dietary additives. Relationship to antioxidant activity and to iron ion-reducing ability. *Biochem Pharmacol* 42: 1673-1681.

- Lee, M.-J., Wang, Z.-Y., Li, H., Chen, L., Sun, Y., Gobbo, S., Balentine, D. A. and Yang, C. S. 1995. Analysis of plasma and urinary tea polyphenols in human subjects. *Cancer Epidemiol. Biomark. Prev.* 4: 393–399.
- Lenoble, R. Richeimer, S.L., Bank, V.R. and Bailey, D.T. 1999. Pigment Composition containing anthocyanins stabilized by plant extracts. *U.S. 5,90860.(FSTA 1999-11-A1880)*
- Levy et al.,1997. Consumer Impacts of Health Claims. An experimental study.
- Ley Federal Sobre Metrología y Normalización, 1999. Publicado en el *Diario Oficial de la Federación*. 14 de enero de 1999.
- López-Serrano, M. and Ros Barceló, A. 1996. Purification and characterization of a basic peroxidase isoenzyme for strawberries. *Food Chem.* 55(2):133-137.
- Lu, Y., and Foo, L.Y., 1999. The polyphenol constituents of grape pomace. *Food Chem.* 65(1):1-8.
- Macheix, J.-J., and Fleuriet, A. 1998. Phenolics acids in fruits, in *Flavonoids in Health and Disease*, eds., C.A. Rice Evans and L. Packer, New York: Marcel Dekker, Inc., 35-59.
- Manach, C., Texier, O., Morand, C. 1999. Comparison of the bioavailability of quercetin and catequin in rats. *Free Rad Biol Med*, 27:1259-1266
- Markakis, P. 19882. Anthocyanins as Food Colors. New York: Academic Press., Inc., 1-263
- Maxwell, S., Cruickshank, A. and Thorpe, G. 1994. Red wine and antioxidant activity in serum. *Lancet* 344: 193–194.
- Mazza, G. and Miniati, E.1993. *Anthocyanins in Fruits, Vegetables and Grains*. Boca Raton. FL: CRC Press, Inc., 1-362
- McLellan, M.R, and Race, E.J. 1995. Grape Juice processing beverages in *Production and Packaging of Non-Carbonated Fruits Juices and Fruit Beverages*. 2nd ed., P.R. Ashurst, Glasgow, UK: Blackie Academic and Professional, 88-105.
- Meyer, A.S., Jepsen, S.M. and Sorensen, N.S. 1998. Enzyme release of antioxidants for human low density lipoprotein from grape pomace *J. Agric. Food Chem.* 46(7):2439-2446.
- Meyer, A. 1998. The 1998 top 100 R&D Survey. *Food Processing* 58(8):32-40
- Middleton, E., Kandaswami, C. y Theoharides, T.C. 2000. The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease, and cancer. *Pharmacol Rev*, 52:673-751.
- Miranda, C.L., Apondo, G.L., Stevens, J.K., Deinzer, M.L. and Buhler, D.R. 2000. Prenylated chalcones and flavanones as inducers of quinine reductases in mouse Hepa 1clc7 cells. *Cancer Letts*, 149:21-29.
- Miura, Y.H., Tomita, I., Watanabe, T., Hirayama, T., Fukui, S. 1998. Active oxygens generation by flavonoids. *Biol Pharm Bull* 21:93-6.
- Morris, J.R. and Striegler, K. 1996. Grape Juice: Factor that Influence Quality, Processing Technology and economics in *Processing Fruits, Science and Technology, Vol. 2. Major Processed Products*, eds. L.P. Somogyi, D.M. Barrett, and Y.H. Hui Lancaster, PA: Technomic Publishing Co., Inc., 197-234..
- Moulton, M.F. 1995. Growing and marketing soft fruit for juice and beverages in *Production and Packaging of Non-Carbonated Fruits Juices and Fruit Beverages*. 2nd ed., P.R. Ashurst, Glasgow, UK: Blackie Academic and Professional, 129-152
- Myhrstad, M.C., Carlsen, H., Nordstrom, O., Blomhoff, R. and Moskaug, J.J.O. 2002. Flavonoids increase the intracellular glutathione level by transactivation of the gamma-glutamylcysteine synthetase catalytical subunit promoter. *Free Radic Biol Med*, 32:386-393.
- Neff, J. and Holman, J.R. 1997. How the latest products toe the fine line between foods and drugs. *Food Proc.* 58 (4):23-26.
- Norma Oficial Mexicana NOM-051-SCFI-1994, 1994. Especificaciones Generales de Etiquetado para los Alimentos y Bebidas No Alcoholicas Preenvasados.
- Norma Oficial Mexicana NOM-086-SSA1-1994, 1994. Bienes y Servicios. Alimentos y Bebidas No Alcoholicas con Modificaciones en su composición. Especificaciones Nutrimientales.

- Noroozi, M., Angerson, W.J., Lean, M.E. 1998. Effects of flavonoids and vitamin C on oxidative DNA damage to human lymphocytes. *Am J Clin Nutr.* 67:1210-8
- Okushio, K., Matsumoto, N., Kohri, t., Suzuki, M, Nanjo, F. and Hara, Y. 1996. Absorption of tea catechins into rat portal vein. *Biol. Pharm Bull.* 19(2):326-329.
- ORAFI, 1998. Functional Foods [http://www.ta-swiss.ch/www-remain/reports_archive/publications/2000/37 ta bericht functional food.pdf](http://www.ta-swiss.ch/www-remain/reports_archive/publications/2000/37_ta_bericht_functional_food.pdf)
- Palou, A. y Serra, F. 2000. Perspectivas europeas sobre alimentos funcionales. *Alimentación, Nutrición y Salud.* 7 (3): 76-90
- Pastor, A. Collado, P.S., Almar, M. and González Gallego, J.:1996. Microsomal function in biliary obstructed rats: effects of S-adenosylmethionine. *J Hepatol,* 24:353-359.
- Peres, W., Tuñón, M.J., Collado, P.S., Herrmann, S., Marroni, N. and González-Gallego, J. 2000. The flavonoid quercetin ameliorates liver damage in rats with biliary obstruction. *J Hepatol,* 33:742-750.
- Pietta, P.G. Flavonoids as antioxidant. *J Nat Prod* 2000;63:1035-42.
- Prior, R. L.; Cao, G. 1999a. Variability in dietary antioxidant related natural product supplements: the need for methods of standardization. *J. Am. Nutrient Assoc.,* 2, 46-56.
- Prior, R. L.; Cao, G. 2005. Analysis of botanicals and dietary supplements for antioxidant capacity: a review. *J. AOAC Int.,* 83, 950-956.
- Proteggente, A.R., Sekher, A.P. Paganga, G., Van Buren, L., Wagner, E., Wiseman, S., Van de Put, F., Dacombe, C., and Rice-Evans C. 2002. The antioxidant Activity of Regularly consumed Fruit and Vegetables Reflects their Phenolic and Vitaminc C Composition. *Free Radical Research.* Vol. 36 (2), 217-233.
- Rahman, A., Fazal, F., Greensill, J., Ainley, K., Parish, J.H., Hadi, S.M. 1992. Strand scission in DNA induced by idetary flavonoids: role of Cu(I) and oxygen free radicals and biological consequences of escission. *Mol Cell Biochem;* 111:3-9.
- Rahman, A., Shahabuddin, S., Hadi, S.M., Parish, J.H. 1989. Strand scission in DNA induced by quercetin and Cu (II): role of Cu (I) and oxygen free radicals. *Carcinogenesis;*10:1833-9
- Reglamento de la Ley Federal Sobre Metrología y Normalización, 1999. Publicado en el *Diario Oficial de la Federación.* 14 de enero de 1999.
- Reglamento del Parlamento Europeo y del Consejo sobre reivindicaciones nutricionales y de propiedades saludables en alimentos, 2003
- Reinli, K. and Block, G. 1996. Phytoestrogen content of foods: a compendium of literature values. *Nutr. Cancer Int. J.* 26: 123-14
- Rimm, E.R., Katan, M.B., Ascherio, A., Stampfer, M. and Willet, W. 1996. Relation between intake of flavonoids and risk for coronary heart disease in male health professionals. *Ann Intern Med,* 125:384-389
- Roberfroid, M.B. 2000. Concepts and strategy of functional food science: the European perspective. *Am. J. Clin. Nutr.* 71(6): 1669-1664.
- Romel, E. and Wrolstad, R.E. 1993. Ellagic Acid content of red raspberry juices as influenced by cultivar, processing and Environmental Factor. *J. Agric. Food Chem.* 41(11):1951-1960.
- Ross, H. 2000. Developments in EU food law: a taste of things to come?. *Food Eng. Ingredients* 24-26.
- Ross, J.A. and Kasum, C.M. 2002. Dietary flavonoids: Bioavailability, metabolic effects, and safety. *Annu Rev Nutr,* 22:19-34
- Rousseff, R. L., Martin, S. F. and Youtsey, C. O. 1987 Quantitative survey of narirutin, naringin, heperidin, and neohesperidin in *Citrus.* *J. Agric. Food Chem.* 35: 1027-1030.
- Russo, A., Acquaviva, R., Campisi, A., Sorrenti, V., Di Giacomo, C. 2000. Bioflavonoids as antiradicals, antioxidants and DNA cleavage protectors. *Cell Biol Toxicol;* 16:91-8.
- Rwabahizi, S. and Wrolstad, R.E. 1988. Effects of mold contamination and ultrafiltration on the color stability of Strawberry juice and concentrate. *J. Food Sci.* 53(3):857-861..

- Sahu, S.C., Gray, G.C. 1993. Interactions of flavonoids, trace metals, and oxygen: nuclear DNA damage and lipid peroxidation induced by miricetin. *Cancer Lett* ;70:73-9.
- Sahu, S.C., Gray, G.C. 1996. Pro-oxidant activity of flavonoids: effects on glutathione and glutathione-S transferase in isolated rat liver nuclei. *Cancer Lett*;104:193-6.
- Sahu, S.C., Gray, G.C. 1997. Lipid peroxidation and DNA damage induced by morin and naringenin in isolated rat liver nuclei. *Food Chem Toxicol*; 35:4436-47.
- Saija, A., Scalese, M., Lanza, M., Marzullo, D., Bonina, F. 1995. Flavonoids as antioxidant agents: importance of their interaction with biomembranes. *Free Radic Biol.* 19:481-6.
- Saint-Cricq de Gaulejac, N., Glories, Y., and Vivas, N. 1999. Free radical scavenging effect of anthocyanins in red wines. *Food Res Int.* 32:327-333.
- Saito M., Hoyosama, H., Aritaga, T., Kataoka, S. and Yamaji, N. 1998. Antiulcer activity of grape seed extracts and procyanidins 1998. *J. Agric. Food Chem.* 46(4): 1460-1464.
- Santos-Buelga, C. and Scalbert, A. 2000 Proanthocyanidins and tannin-like compounds: nature, occurrence, dietary intake and effects on nutrition and health. *J. Food Sci. Agric.* 3: 437- 441.
- Santos-Buelga, C., Francia-Aricha, E.M. and Escribano-Bailon M.T. 1995. Comparative flavan-3-ol composition of seeds of different grape varieties. *Food Chem.* 53:197-201.
- Sarni, P., Fulcrand H., Soullol, V., Souquet, J.-M. and Cheyrier, V. 1995. Mechanisms of Anthocyanins degradation in grape must-like model solutions. *J. Agric. Food Chem.* 69(3): 385-391.
- Saskia, A.B.E, van Accker and Bast, AALT. 1998. Structural Aspects of Antioxidant Activity of Flavonoids. En: *Flavonoids in health and Disease.* Ed Marcel Dekker, INC. New York, 9:221-251.
- Scalbert, A. and Williamson, G. 2000. Dietary Intake and Bioavailability of Polyphenols *J. Nutr.* 130: 2073S—2085S
- Schewe, T., Kuhn, H. and Sies, H. 2002. Flavonoids of cocoa inhibit recombinant human 5-lipoxygenase. *J Nutr*, 132:1825- 1829.
- Scientific Concepts of Functional Foods in Europe: Consensus Document. 1999. *British Journal of Nutrition*, 81(1):S1-S27
- Secretaría de Salud, 1991. Ley General de Salud. *Diario Oficial de la Federación.* México, D.F.
- Secretaria de Salud, 2005. Comité Consultivo Nacional De Normalización De Regulación Y Fomento Sanitario *Diario Oficial* Lunes 7 De Noviembre De 2005
- Serafini, M., Ghiselli, A. and Ferro-Luzzi, A. 1996. In vivo antioxidant effect of green and black tea in man. *Eur. J. Clin. Nutr.* 50: 28–32.
- Serafini, M., Maiani, G. and Ferro-Luzzi, A. 1998. Alcohol-free red wine enhances plasma antioxidant capacity in humans. *J. Nutr.* 128: 1003–1007.
- Sestili, P., Diamantini, G., Bedini, D. 2002 Plant-derived Phenolic compounds prevent the DNA single-strand breakage and cytotoxicity induced by tert-butylhydroperoxide via an iron-chelating mechanism. *Biochem J*, 364:121-128.
- Shahidi, F. and Naczki, M. 1995. *Food Phenolics, Sources, Chemistry, Effects, Application.* Lancaster, PA: Technomic Publishing Co. Inc., 75-107.
- Shirkande, A.J. 2000. Wine with products with health benefits. *Food Res. Intern* 33:469-474
- Sichel, G., Corsaro, C., Scalia, M., Di Bilio, A.J., Bonomo, R.P. 1991. In vitro scavenger activity of some flavonoids and melanins against O₂-. *Free Radic Biol Med.* 11:1-8.
- Symposium on Nutraceuticals and Functional Foods for Health: Institute of Food Technologist Annual Meeting, 1999. *Journal of Medicinal Food.*
- Skrede, G. 1996. Fruits in freezing Effects on food Quality, ed., L.E. Jeremiah, New York: Marcel Dekker, Inc., 183-245...
- Skrede, G., Wrolstad, R.E. and Durst, R.W. 2000. Changes in anthocyanins and polyphenolics during juice processing of highbush blueberries (*Vaccinium corymbosum* L.) *J. Food Sci.* 65(2):357-364.

- Skrede, G., Wrolstad, R.E., Lea, P., and Enersen G. 1992. Color Stability of strawberry and black currant syrups *J. Food Sci.* 57(1):172-177.
- Sloan, A.E. 2000. The top 10 functional food trends. *Food Technol.* 54: 33-62
- Somogyi, L.P., Ramaswamy, H.S., and Hui, Y.H. 1996. *Processing Fruits, Science and Technology, Vol. 1: Biology, Principles and Applications.* Lancaster, P.A. Technomic Publishing Co., Inc., 1-510.
- Spanos, G.A. and Wrolstad, R.E. 1992 Phenolics of apple, pear and white grape juices and their changes with processing and storage- A review *J. Agric. Food Chem.* 40(9) 1478-1487.
- Stasiak, A., Pawlak, M., Sosnowska, D. and Wilska-Jeszka J. 1998. Rate of degradation of anthocyanin pigments and ascorbic acid in aqueous solution containing various additions of sucrose *PFOW* 42(12):26-34. (FSTA 1994-12-T0845).
- Steward, K. 1996. Processing of cranberry, blueberry, currant and gooseberry in *Processing Fruits, Science and Technology, Vol. 2. Major Processed Products*, eds. L.P. Somogyi, D.M. Barrett, and Y.H. Hui Lancaster, P.A. Technomic Publishing Co., Inc., 159-195.
- Susuki, S., Takada, T., Sugawara, Y. 1991. Quercetin induces recombinational mutations in cultured cells as detected by DNA fingerprinting. *J Cancer Res.* 82:1061-4.
- Terao, J., Yamaguchi, S., Shirai, M. 2001. Protection by quercetin and quercetin 3-O-beta-D-glucuronide of peroxynitrite-induced antioxidant consumption in human plasma low-density lipoprotein. *Free Radic Res*, 35:925-931.
- Thomson, C., Bloch, A. and Hasler, C.M. 1999. Position of The American Dietetic Association: Functional foods. *J. Amer. Diet. Assoc.* 99(10):1278-1285.
- Tomás-Barberán, F.A., Clifford, M.N., 2000. Review: Flavanones, chalcones and dihydrochalcones—nature, occurrence and dietary burden. *J Sci Food Agric* 80: 1073–1080.
- Tsushida, T. and Suzuki, M. 1996. Content of flavonol glucosides and some properties of enzymes metabolizing the glucosides in onion. 3. Flavonoid in fruits and vegetables. *J. Jpn. Soc. Food Sci. Technol.* 43: 642–649.
- Ursini, F., Maiorino, M., Morazzoni, P. 1994. A novel antioxidant flavonoid (IdB 1031) affecting molecular mechanisms of cellular activation. *Free Rad Biol Med*, 16:547-553.
- Van Acquire, S.A., Van den Berg, D.J., Tromp, M.N., Griffioen, D.H., Van Bennekom, W.P., Van der Vijgh, W.J. 1996. Structural aspects of antioxidant activity of flavonoids. *Free Radic Biol Med*, 20:331-42.
- van het Hof, K. H., deBoer, H.S.M., Wiseman, S. A., Lien, N., Weststrate, J. A. and Tijburg, L.B.M. 1997. Consumption of green or black tea does not increase resistance of low-density lipoprotein to oxidation in humans. *Am. J. Clin. Nutr.* 66: 1125–1132.
- Vasconcellos, J.A. 2000. Alimentos funcionales. Conceptos y beneficios para la salud. *World food science.* http://www.worldfoodscience.org/vol1_3/feature1-3a.html.
- Vinson, J.A. 1998. Flavonoids in food as in vitro and in vivo antioxidants. *Adv Exp Med Biol*, 439:151-64.
- Wakai, K., Egami, I., Kato, K., Kawamura, T., Tamakoshi, A., Lin, Y., Nakayama, T., Wada, M. and Ohno, Y. 1999. Dietary intake and sources of isoflavones among Japanese. *Nutr. Cancer* 33: 139–145.
- Wang, J. and Mazza, G.: 2002. Effects of anthocyanins and other Phenolic compounds on the production of tumor necrosis factor alpha in LPS/IFN-gamma-activated RAW 264.7 macrophages. *J Agric Food Chem*, 50:4183-4189.
- Wang, S.Y., and Lin, H.S. 2000. Antioxidant activity in fruit and leaves of blackberry, raspberry and strawberry varies with cultivar and development stage. *J. Agric Food Chem.* 48(2):140-146.
- Wang, H., Cao, G., and Prior, R.L. 1996. Total antioxidant capacity of fruits. *J. Agric. Food Chem.* 43(3):701-705.
- Whitehead, T. P., Robinson, D., Allaway, S., Syms, J. and Hale, A. 1995. Effect of red wine ingestion on the antioxidant capacity of serum. *Clin. Chem.* 41: 32–35.
- Wightman, S.E., Wrolstad, R.E. 1995. Anthocyanins analysis as a measure of glycosidase activity in enzymes for juice processing. *J. Food Sci.* 60(4):862-867.

-
- Williams, C.A. and Harbone J.B. 1994. Flavone and flavono glycosides in: *The flavonoids advances in research since 1986*, ed., J.B. Harborne London: Chapman & Hall 337-385.
- Wrolstad, R.E. 2000 Anthocyanins in *Natural Foods Colorants. Science and Technology* eds., G.J. Lauro and F.J. Francis. New York: Marcel Dekker, Inc., 237-252.
- Wrolstad, R.E., Skrede, G., Lea, P., and Enersen, G. 1990. Influence of sugar on Anthocyanins pigment in frozen strawberries . *J. Food Sci* 55(4): 1064-1065, 1072.
- Weolstad, R.E., Wightman, J.D. and Durst, R.W. 1994. Glycosidase Activity of enzyme preparations used in fruit juice processing. *Food Technol.* 48(11):90, 92-94, 96, 98.
- Yoshino, M., Haneda, M., Naruse, M., Murakami, K.1999. Prooxidant activity of flavonoids: copper-dependent strand breaks and the formation of 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine in DNA. *Mol Genet Metab* 68:468-72.
- Youdim, K.A., McDonald, J., Kalt, W. and Joseph, J.A. 2002. Potential role of dietary flavonoids in reducing microvascular endothelium vulnerability to oxidative and inflammatory insults (small star, filled). *J Nutr Biochem*,, 13:282-288.
- Young, J. F., Nielsen, S. E., Haraldsdottir, J., Daneshvar, B., Lauridsen, S. T., Knuthsen, P., Crozier, A., Sandstrom, B. and Dragsted, L. O. 1999 Effect of fruit juice intake on urinary quercetin excretion and biomarkers of antioxidative status. *Am. J. Clin. Nutr.* 69: 87-94.
- Zabetakis, I., Leclerc, D., and Kajda, P. 2000. The effect of high hydrostatic Pressure on the strawberry anthocyanins *J. Agric. Food Chem.* 48(7):2749-2754.
- Zajac, KB., Wilska-Jeszka J., Mamak, S., and Juszcak, M., 1996. Anthocyanins in foods. Potencial of manufacture of anthocyanins from black currants. *PFOW* 36(5): 21-24. (FSTA 1994-03-J0059).
- Zeisel S. 1999. Regulation of "nutraceuticals". *Science* 285: 1853-1855.