



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

*Correlación del contenido de polifenoles
y su capacidad antioxidante en diferentes
matrices alimentarias*

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

QUÍMICA DE ALIMENTOS

PRESENTA

ANYHRAM NAVARRO MONROY

Ciudad Universitaria, CDMX, 2023





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.

1 RESUMEN

En el presente trabajo se realizó la evaluación de la correlación entre el contenido de polifenoles y la capacidad antioxidante de diferentes matrices alimentarias como lo son café, especias, vinos, jugos, por mencionar algunos. Las muestras utilizadas se clasificaron de acuerdo con sus propiedades físicas, es decir, si eran sólidas o líquidas.

Las metodologías utilizadas fueron Folin-Ciocalteu para determinar el contenido de polifenoles totales y la metodología FRAP para determinar la Capacidad antioxidante, ambas metodologías son espectrofotométricas.

Como se mencionó anteriormente, las muestras se segmentaron en dos categorías: líquidas y sólidas. El resultado de correlación para las muestras sólidas fue de $r = 0.86827$, lo cual nos indica una correlación positiva directa, es decir, que los polifenoles presentes en las muestras sólidas analizadas son los responsables de dar la capacidad antioxidante. En cambio, para las muestras líquidas no se encontró una correlación entre estos dos parámetros, lo que nos indica que existen otras moléculas en estos alimentos que proporcionan la capacidad antioxidante.

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: Profesor: PEDRAZA CHAVERRI JOSÉ

VOCAL: Profesor: SÁNCHEZ CHINCHILLAS ARGELIA

SECRETARIO: Profesor: GÓMEZ SIERRA TANIA

1er. SUPLENTE: Profesor: PINEDA LOPERENA JAZMÍN

2° SUPLENTE: Profesor: AGUILAR OSORIO JOSÉ GUILLERMO DE JESÚS

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA: LABORATORIO 4 C, EDIFICIO A, FACULTAD DE QUÍMICA, UNAM.

ASESORA DEL TEMA

M. en C. ARGELIA SÁNCHEZ CHINCHILLAS

SUPERVISORA DEL TEMA

M. en C. TANIA GÓMEZ SIERRA

SUSTENTANTE

ANYHRAM NAVARRO MONROY

Lista de abreviaturas

Abreviatura	Significado
ERO	Especies reactivas de oxígeno
ERN	Especies reactivas de nitrógeno
ADN	Ácido desoxirribonucleico
OMS	Organización Mundial de la Salud
ILSI	International Life Sciences Institute in Europe
LDL	Lipoproteínas de baja densidad
HAT	Transferencia de átomos de hidrógeno
SET	Transferencia de un solo electrón
FRAP	Poder antioxidante de la reducción del hierro
CUPRAC	Poder antioxidante de la reducción del cobre
TEAC	Actividad antioxidante equivalente de Trolox
TAC	Capacidad antioxidante total
TAA	Actividad antioxidante total
TE	Equivalentes Trolox
TPC	Contenido de polifenoles totales
TFC	Contenido de flavonoides totales
EGCG	Galato de epigalotequina
ECG	Epicatequina-3-galato
EGC	Epigalocatequina
EC	Epicatequina
GCG	Galato de galocatequina
BHA	Hidroxianisol butilado
BHT	Hidroxitolueno butilado
g	Gramo (s)
mg	Miligramo
mmol	Milimol
mL	Mililitros
µL	Microlitros
L	Litro
TPTZ	1,3,5-Triazine, 2,4,6-tri-2-pyridinyl-
mM	Milimolar
N	Normal
AG	Ácido gálico
BS	Base sólida

Índice

1	RESUMEN	2
2	INTRODUCCIÓN	1
3	ANTECEDENTES.....	3
3.1	Compuestos biológicamente activos	3
3.1.1	Clasificación de los compuestos biológicamente activos.....	4
3.2	Enfermedades y antioxidantes.....	6
3.3	Polifenoles	8
3.4	Capacidad antioxidante	12
3.5	Alimentos ricos en polifenoles	14
3.5.1	Té.....	14
3.5.2	Vino.....	15
3.5.3	Café.....	17
3.5.4	Orégano	18
4	OBJETIVOS	19
5	PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL.....	20
5.1	Diagrama de trabajo	20
5.2	Muestras analizadas	21
5.3	Tratamiento de muestras sólidas.....	21
5.4	Método de Folin-Ciocalteu (Singleton <i>et al.</i> , 1999).....	21
5.4.1	Muestras	21
5.4.2	Curva patrón	22
5.5	Método de FRAP (Benzie <i>et al.</i> , 1996).....	22
5.5.1	Muestras sólidas	22
5.5.2	Muestras líquidas.....	23
5.6	Tratamiento estadístico	24
6	RESULTADOS.....	25
6.1	Resultados muestras sólidas.....	25
6.2	Resultados muestras líquidas	28
7	DISCUSIÓN.....	30
7.1	Capacidad antioxidante y polifenoles totales.....	31
7.1.1	Muestras sólidas	31
7.1.2	Muestras líquidas.....	34

7.2	Correlación	36
7.3	Implicaciones	39
8	CONCLUSIONES.....	40
9	REFERENCIAS	41
10	ANEXO A.....	46
10.1	Fundamento Folin-Ciocalteu, método para determinar Polifenoles totales	46
11	ANEXO B.....	47
11.1	Fundamento de FRAP, método para medir capacidad antioxidante	47
12	ANEXO C.....	50
13	ANEXO D.....	57
13.1	Revista Tequio “Antioxidantes y estrés oxidativo” Vol. 5 Núm. 15. Contenido de polifenoles totales y la capacidad antioxidante en alimentos y bebidas pág: 53-65	57

2 INTRODUCCIÓN

Los antioxidantes son un grupo de moléculas cuya función principal es prevenir o retrasar la oxidación de otra molécula. Varios autores han dado la definición de antioxidante, siendo la de Apak *et al.*, 2016, la más actual quienes describen a los antioxidantes como “Sustancias naturales o sintéticas que pueden prevenir o retrasar el daño celular oxidante causada por oxidantes fisiológicos que tienen potenciales de reducción claramente positivos que cubren especies reactivas de oxígeno (ERO), especies reactivas de nitrógeno (ERN) y radicales libres (p. ej. moléculas inestables o iones que tienen electrones desapareados)”. El daño que se puede generar por ERO y ERN, son daños en macromoléculas como proteínas, lípidos y ácido desoxirribonucleico (ADN), acelerando la muerte celular y daño en los tejidos. Otros autores como Halliwell *et al.*, 2015 describen a los antioxidantes como cualquier sustancia que, cuando está presente en bajas concentraciones en comparación con las de un sustrato oxidable, retrasa o previene significativamente la oxidación de ese sustrato.

La capacidad de cualquier compuesto o mezcla de compuestos, para prevenir o detener reacciones oxidativas que suceden en otra molécula se define como capacidad antioxidante (Apak, *et al.*, 2018).

Actualmente, enfermedades como arterosclerosis, diabetes mellitus, inflamación crónica, enfermedades neurodegenerativas, enfermedades cardiovasculares, Alzheimer, Parkinson e incluso algunos tipos de cáncer, comienzan a ser más comunes y cada vez un mayor número de población las padece. Por ejemplo, en cuanto a obesidad y sobrepeso, en 2016 la OMS declaró que existían 1900 millones de adultos con sobrepeso de los cuales 650 millones eran obesos. Se ha demostrado en diversos estudios recientes que el consumo de polifenoles en la dieta juega un papel importante para prevenir o retrasar la aparición de

este tipo de enfermedades, por lo que es de suma importancia empezar a encontrar y estudiar alimentos que tengan un contenido de polifenoles relevante.

3 ANTECEDENTES

3.1 Compuestos biológicamente activos

Los alimentos funcionales se definen como los productos alimenticios de origen animal o vegetal, consumidos en la dieta, que además de aportar nutrimentos poseen componentes bioactivos (Drago Serrano *et al.*, 2006). De acuerdo con el ILSI (International Life Sciences Institute in Europe) un alimento funcional puede ser un alimento natural; un alimento al que se le ha agregado o eliminado un componente por alguna tecnología o biotecnología; un alimento donde la naturaleza de uno o más de sus componentes ha sido variada; un alimento en el cual la biodisponibilidad de uno o más de sus componentes ha sido modificada o cualquier combinación de las anteriores posibilidades (Ramos *et al.* 2008). Dichos compuestos biológicamente activos son aquellas sustancias que se encuentran en pequeñas cantidades en alimentos como frutas, verduras, semillas y nueces, cuyo principal efecto es brindar beneficios en la salud de quien los consume. Debido a que el origen de estos alimentos son principalmente frutas y verduras, el término “fitoquímicos” es utilizado para hablar de ellos. Los compuestos biológicamente activos tienen propiedades antioxidantes, antiinflamatorias, neuroprotectoras, antihipertensivas, hipocolesterolémicas e hipoglucémicas (Sayago-Ayerdi *et al.*, 2021). Estas propiedades ayudan a la prevención de enfermedades cardiovasculares, cáncer, diabetes mellitus, así como enfermedades neurodegenerativas y el envejecimiento. Algunos de estos compuestos son carotenos, esteroides y estanoles, compuestos fenólicos como flavonoides y no flavonoides, y la fibra dietética (Shehzad *et al.*, 2019).

3.1.1 Clasificación de los compuestos biológicamente activos

3.1.1.1 Terpenos o isoprenoides

Los terpenos son un grupo de sustancias cuya característica es que todos proceden del isopreno. Su principal función es como antioxidante ya que protegen a los lípidos, la sangre y algunos otros fluidos corporales que pueden reaccionar con los radicales libres, como grupos hidroxilo, peróxido y los radicales superóxido. Los terpenos que han sido más estudiados son los carotenoides (Guha *et al.*, 2021).

3.1.1.1.1 Carotenoides

Este grupo se encuentra principalmente en los pigmentos como amarillo intenso, naranja y rojo en alimentos de origen vegetal como el tomate, la naranja, la toronja, espinaca, aceite de palma, yema de huevo, por mencionar algunos ejemplos. En esta subclase de terpenos, se encuentran aproximadamente 700 compuestos, los cuales incluyen a los carotenos y las xantofilas. Dentro de los carotenos se encuentran el β -caroteno y el licopeno, los cuales poseen actividad como vitamina A, de los cuales el más activo es el beta (Goyal y Ayeleso, 2018; Bendich y Oslon, 1989).

En cuanto a las xantofilas, también conocidas como luteínas, se encuentran compuestos conocidos como carotenoides alcohólicos y los cetacarotenoides. Su característica principal es que contienen oxígeno en su estructura química. A pesar de no tener actividad como vitamina A, si presentan actividad antioxidante. Algunos ejemplos de estos compuestos son la zeaxantina, la cantaxantina, la criptoxantina y la astaxantina (Badui, 2020).

Los carotenoides neutralizan los radicales libres sin convertirse en un radical que propague la reacción. La concentración en los alimentos es muy variable, por ejemplo, la zanahoria contiene 50-55 ppm de α y β -caroteno. Al licopeno rojo del jitomate, la sandía y la papaya se le adjudica la prevención de cáncer de próstata y de enfermedades cardiovasculares, así como de incrementar la tersura de la piel; su concentración es de aproximadamente 50

ppm, pero depende de la madurez del fruto, dado que mientras más rojo o maduro sea, contiene más pigmento (Badui, 2020).

3.1.1.2 Fitoesteroles

Este grupo de compuestos se encuentran en la mayoría de las plantas, se encuentran en vegetales verdes y amarillos, en las semillas se encuentra una alta concentración, por ejemplo, en semillas de calabaza, soya y arroz. Los principales compuestos son sitoesterol, el campesterol y el estigmasterol. Una característica importante es que no se absorben en el tracto gastrointestinal, sin embargo, compiten y bloquean la absorción de colesterol debido a la semejanza en su estructura química, por lo que se consideran como anticolesterolémicos (Badui, 2020).

3.1.1.3 Fenoles

Este grupo de compuestos es muy extenso, su principal función es la prevención de enfermedades. Se encuentran en las plantas su principal función consiste en protegerlas contra daños oxidativos, sucede lo mismo en los humanos que los ingieren. Un indicativo de la presencia de este grupo de compuestos en los alimentos es por la coloración azul, azul-rojo y violeta que presentan algunas frutas como fresas, cerezas, uvas y moras. Los fenoles tienen habilidad para inactivar la acción de enzimas presentes en el proceso inflamatorio. El grupo de los fenoles incluye como subgrupo a: antocianinas, flavonoles, flavanolas, flavones, ácidos hidroxibenzoicos, lignanos y cumarinas (Shehzad *et al.*, 2019).

3.1.1.4 Lignanos

Los lignanos son un grupo de compuestos que se encuentran en alimentos de origen vegetal, son de bajo peso molecular y tienen una baja actividad estrogénica, por lo que compiten con los estrógenos presentes en los humanos y de esta manera evitan el crecimiento de tumores. Un ejemplo son el estradiol y la enterolactona, los cuales son metabolitos secundarios de semillas de calabaza, la linaza, el salvado de trigo entre otros (Badui, 2020).

3.1.1.5 Tioles

La principal característica de este grupo de compuestos es la presencia de azufre. Los alimentos donde se encuentran son: ajo, col y nabos. Dentro de este grupo se encuentran los glucosinolatos, los cuales activan a las enzimas encargadas de detoxificar al hígado. Los sulfuros alílicos son otro subgrupo los cuales tienen propiedades antimutagénicas y también actúan como protectores de los sistemas inmunitario y cardiovascular. Así mismo, los indoles son otro subgrupo caracterizado por la presencia de nitrógeno, se encuentran en la col y dentro de sus beneficios es la protección de cáncer de mama, de colon entre otros (Bendich y Oslon, 1989).

3.1.1.6 Tocoferoles y tocotrienoles

Los tocoferoles y tocotrienoles son reconocidos por su efecto inhibitorio en los procesos de oxidación de lípidos en alimentos y en sistemas biológicos (Chasquibol, 2003; Burton y Traber, 1990). Los tocoferoles se encuentran principalmente en semillas de oleaginosas y las partes verdes de las plantas. Los tocotrienoles se encuentran en la corteza y germen de semillas y cereales. Éstos últimos inhiben el crecimiento de células cancerígenas en las glándulas mamarias y los tocoferoles no. La actividad antioxidante de los tocoferoles y de los tocotrienoles es debido principalmente a su habilidad para donar sus hidrógenos fenólicos a los radicales libres (Chasquibol *et al.*, 2003).

3.2 Enfermedades y antioxidantes

Las enfermedades crónico-degenerativas se han asociado a hábitos alimenticios inadecuados como el consumo elevado de grasa saturada y sodio, y bajas en frutas y vegetales, consumo de tabaco (tanto fumadores activos como pasivos), alcohol, sedentarismo. Se ha demostrado que la cantidad de grasa saturada consumida influye en enfermedades como el cáncer, obesidad, diabetes mellitus, cataratas y un mal funcionamiento del sistema inmunitario. Todas estas enfermedades pueden ser prevenidas

con una dieta rica en antioxidantes, por ejemplo, el compuesto α -tocoferol ha presentado propiedades para evitar cardiopatías, aunque hoy en día el mecanismo no es claro (Cao *et al.*, 2018).

La OMS informó que las enfermedades cardiovasculares dejaron un total de 17.5 millones de muertes en el 2012, y los antioxidantes pueden mejorar factores involucrados en las enfermedades cardiovasculares, como presión arterial, el nivel de colesterol y la circulación sanguínea.

En enfermedades como la artritis y diabetes, se generan más radicales libres, por lo que los antioxidantes han demostrado resultados positivos al reducir la inflamación causada por radicales libres y ayudan a disminuir la concentración de glucosa en sangre en el caso de la diabetes mellitus. Como ya se mencionó anteriormente, los antioxidantes provienen de fuentes naturales y se ha demostrado que tienen efectos benéficos neuroprotectivos en modelos *in vitro*.

El mecanismo en el que actúan los antioxidantes aún no es completamente claro, sin embargo, se han hecho algunas propuestas de cómo éstos actúan. En el caso del envejecimiento, se considera que los antioxidantes previenen la formación de ERO los cuales juegan un papel importante en este proceso degenerativo, y junto con enzimas endógenas como la glutatión peroxidasa, la catalasa y superóxido dismutasa que evitan los efectos adversos de ERO. En cuanto a las enfermedades cardiovasculares, una de ellas muy importante es la aterosclerosis, la cual se ve disminuida al consumir vitamina E, vitamina C y pro vitamina A, las cuales tienen un efecto protector en las lipoproteínas de baja densidad (LDL), pues si éstas se oxidan con mayor facilidad, la enfermedad se presenta. El efecto benéfico de los antioxidantes para el sistema inmunitario se presenta gracias a que estas moléculas han demostrado tener un efecto antimicrobiano, lo cual es una gran ventaja ya que previene enfermedades infecciosas causadas por bacterias. Hoy

en día, diversas bacterias patógenas se han vuelto resistente a los antibióticos por su uso indiscriminado (Alós, 2015)

Otro beneficio dado por los antioxidantes es la prevención de formación de células cancerígenas. Se han realizado estudios en donde se ha comprobado el efecto de los antioxidantes para el cáncer de piel, donde se encontró que la cúrcuma logró reducir la incidencia del tumor un 30%; otro ejemplo es la vitamina A y el β -caroteno los cuales están siendo probados y analizados para prevenir el cáncer de pulmón en Estados Unidos, cuya enfermedad tiene un 29% de mortalidad (Cao *et al.*, 2018).

3.3 Polifenoles

Los polifenoles son el grupo más amplio de compuestos presentes en alimentos de origen vegetal y son los antioxidantes más abundantes, los cuales no tienen un aporte energético. Sus características los hacen ideales para participar en reacciones de óxido-reducción y es debido a esto que aportan diversos beneficios a la salud. Muchos de estos compuestos son parte importante de la fisiología de la planta, mientras que otros sirven como método de defensa ante situaciones de estrés (Quiñones *et al.*, 2012).

Los polifenoles presentan una estructura molecular característica por la presencia de uno o más anillos fenólicos, tal como se muestra en la figura 1, y por esto se les denomina polifenoles. Su clasificación y funcionalidad depende del número de anillos fenólicos que contenga la sustancia. Los principales grupos son ácidos fenólicos (derivados del ácido hidroxibenzoico o del ácido hidroxicinámico), estilbenos, lignanos, alcoholes fenólicos y flavonoides (Quiñones *et al.*, 2012).

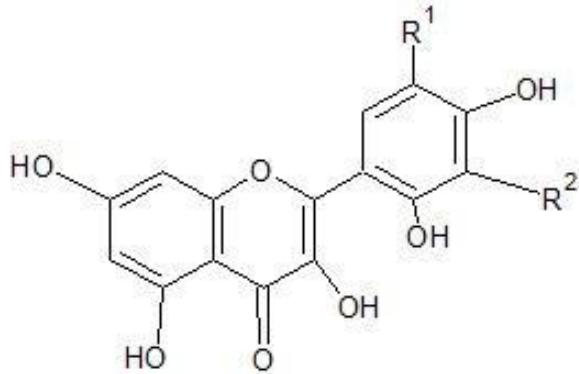
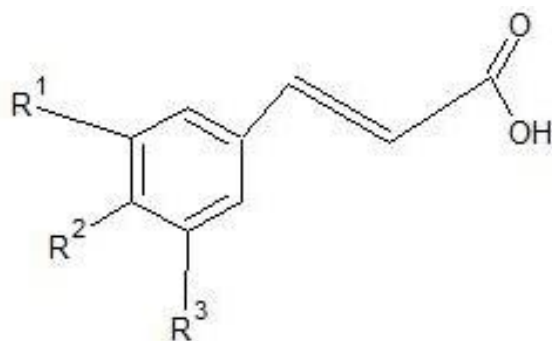


Figura 1. Estructura química general de los polifenoles (Chasquibol *et al.*, 2003)

Se sabe que los compuestos fenólicos típicos que poseen actividad antioxidante son principalmente ácidos fenólicos y flavonoides. Los ácidos fenólicos son una clase importante de compuestos fenólicos, que se encuentran ampliamente en el reino vegetal, especialmente en frutas y verduras (Wojdyło *et al.*, 2007)

Existe una gran variedad de ácidos fenólicos distribuidos en productos de origen vegetal, como son la curcumina presente en el curry y la mostaza, y otros fenoles ácidos como el ácido cafeico, ferúlico y clorogénico que están presentes en frutas, semillas de café y soya. Los ácidos fenólicos como los ácidos: cumárico, caféico y ferúlico, inhiben la actividad de agentes mútagenos, estimulan la actividad de la enzima fenolsulfotransferasa implicada en la destoxicación de compuestos metabólicos potencialmente tóxicos y poseen actividad bactericida (Drago-Serrano *et al.* 2006). En la figura 2, se puede observar la estructura general de los ácidos fenólicos, así como los sustituyentes de cada una de las moléculas antes mencionadas, por ejemplo, para el ácido 3-cumárico el primer sustituyente es un hidrógeno (H), el segundo un oxhidrilo (OH) y finalmente el tercer sustituyente es nuevamente un hidrógeno.



	R1	R2	R3
Ácido cinámico	H	H	H
Ácido 3-cumárico	H	OH	H
Ácido caféico	H	OH	OH
Ácido ferúlico	H	OH	OCH ₃

Figura 2. Estructura química general de los ácidos fenólicos (Chasquibol *et al.*, 2003)

La cantidad de polifenoles vegetales es muy amplia, que va desde compuestos estructuralmente simples, como el estilbenoide resveratrol o el flavonoide quercetina, a macromoléculas complejas como los oligómeros de proantocianidina o los polímeros de lignina, por esto sus funciones en las plantas y sus propiedades fisicoquímicas también son variadas. Algunas de estas propiedades son: absorción UV-visible, donación de electrones, afinidad por iones metálicos, interacciones moleculares (van der Waals, puentes de hidrógeno) con proteínas e interfases lípido-agua y nucleofilia.

Las principales fuentes alimenticias de polifenoles son frutas (fresa, mora azul, kiwi) vegetales (pimiento, cebolla morada), té verde y negro, vino tinto, café, chocolate y aceite de oliva virgen extra. El té es una fuente particularmente alta de polifenoles con beneficios para la salud. Estudios epidemiológicos indican que el consumo frecuente de frutas y vegetales reduce significativamente el índice de padecer enfermedades crónicas (Deng *et al.*, 2013, He *et al.* 2007, WHO, 2003,).

Los flavonoides son los compuestos polifenólicos mejor estudiados que se caracterizan por tener una estructura de tres anillos formada de dos centros aromáticos y un heterociclo central oxigenado, tal como se muestra en la Figura 3. Dentro de los flavonoides se incluyen a las flavonas, flavanonas, catequinas y antocianinas. Las flavonas, como la quercetina, se encuentran en la cebolla y lechuga, otra flavanona denominada fisetina está presente en cítricos. Entre las catequinas figuran la catequina del vino rojo y la epicatequina del té; por último, en el grupo de las antocianinas figura la delfinidina presente en las cerezas y en la cáscara de frutas con pigmentos oscuros coloridos. Se ha demostrado que los flavonoides previenen la agregación plaquetaria e inducen la relajación muscular. Junto con los proteoglicanos, los flavonoides ejercen un efecto inhibitorio de los síntomas alérgicos. Algunos flavonoides como la procianidina B1 y el resveratrol presente en extractos de semillas de uva y en la uva respectivamente, pueden aumentar la capacidad cerebral y la longevidad (Drago- Serrano *et al.*, 2006).

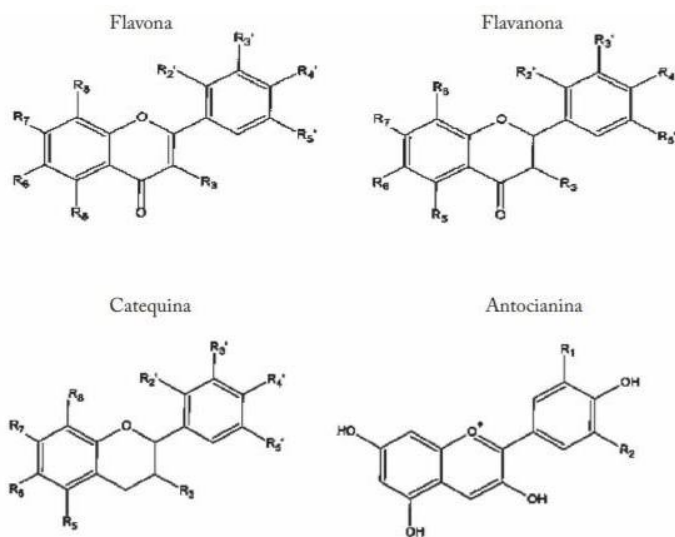


Figura 3. Estructuras químicas de flavona, flavanona, catequina y antocianinas. Tomada de “Componentes bioactivos de alimentos funcionales de origen vegetal” (Drago-Serrano *et al.*, 2006)

3.4 Capacidad antioxidante

A lo largo de los años, diversos autores han utilizado términos diferentes para referirse a la capacidad antioxidante, algunos de ellos son actividad antioxidante (Rice-Evans *et al.* 1995), capacidad antioxidante (Sies, 1999), poder antioxidante (Benzie y Strain 1996), potencial antioxidante (Jovanovic *et al.*, 1995), todos estos términos hacen referencia a la habilidad de un compuesto o mezcla de compuestos de prevenir o detener reacciones oxidativas que le suceden a otra molécula. El estrés oxidante es una condición que resulta de una exposición a agentes oxidantes o una disminución en la protección contra ellos, o una combinación de ambos de manera simultánea. El estrés oxidante es la causa de un amplio espectro de respuestas genéticas, metabólicas y celulares, como necrosis, expresión génica moduladora, respuesta apoptótica, entre otras (Davies, 2002).

La mayoría de los ensayos que hoy en día se utilizan para determinar la actividad antioxidante, reciben el nombre según los reactivos, el mecanismo de acción o técnicas correspondientes. Existen diferentes clasificaciones de estos métodos, unos se pueden dividir de acuerdo con su aplicación: *in vivo* e *in vitro*; o bien, según en su mecanismo de acción: transferencia de átomos de hidrógeno (HAT, por sus siglas en inglés) y transferencia de un solo electrón (SET, por sus siglas en inglés) (Apak *et al.*, 2018).

Los ensayos basados en la transferencia de átomos de hidrógeno miden la capacidad de un antioxidante para atrapar los radicales libres mediante la donación de un átomo de hidrógeno (H). Los ensayos de antioxidantes basados en HAT normalmente utilizan una sonda fluorescente que también puede reaccionar con el radical peróxido como los antioxidantes, por lo tanto, la actividad antioxidante se puede determinar a partir de la cinética de competencia midiendo la curva de disminución de la fluorescencia de la sonda en ausencia y presencia de un antioxidante, la cual se obtiene al integrar el área bajo estas curvas (Wiley y Sons, 2018). Algunos ensayos que utilizan este fundamento son capacidad

de absorción de radicales oxígeno (ORAC, oxygen radical absorbance capacity) y capacidad antioxidante total de captura de radicales peroxilos (TRAP, total peroxy radical trapping antioxidant parameter). Los ensayos basados en transferencia de un solo electrón, también llamados ensayos SET (transferencia de un solo electrón), detectan la capacidad de un antioxidante para transferir un electrón para reducir iones metálicos, carbonilos y radicales (Wiley y Sons, 2018; Wright *et al.*, 2001). La acción antioxidante en estos ensayos a menudo se simula con una sonda fluorescente o coloreada adecuada en lugar de radicales peróxido, además depende del pH y de solventes. Algunos ensayos que utilizan este fundamento son: el poder antioxidante de la reducción del hierro (FRAP, ferric reducing antioxidant power), el poder antioxidante de la reducción del cobre (CUPRAC, cupric reducing antioxidant power) y la actividad antioxidante equivalente de Trolox (TEAC, Trolox equivalent antioxidant activity).

Actualmente, hay diversidad de metodologías para evaluar la capacidad antioxidante y cada una de ellas expresa valores diferentes y muchas veces, no existe una relación entre las diferentes medidas de capacidad antioxidante. Se debe tener muy en claro la preparación de la muestra, el procedimiento y las condiciones en las que se llevó a cabo para interpretar los resultados expresados. Hay ocasiones en las que los resultados de la misma metodología de diferentes estudios son difíciles de comparar, ya que pueden existir diferencias en el manejo de la muestra, cómo se estandariza el procedimiento, las condiciones en las que se llevó a cabo la reacción, disolvente usado y unidades empleadas para evaluar la capacidad antioxidante. Algunas de estas metodologías son: FRAP, ORAC, TEAC, capacidad antioxidante total (TAC), actividad antioxidante total (TAA), equivalentes de Trolox (TE) y equivalentes de ácido ascórbico (Apak *et al.*, 2018; Bartosz, 2010; Benzie & Choi, 2014; Halliwell & Gutteridge, 2007; Benzie y Strain, 1999).

3.5 Alimentos ricos en polifenoles

3.5.1 Té

La planta del té es un arbusto de hoja perenne o un árbol pequeño del género *Camelia*, nativo de China, con hojas verde oscuro brillante y flores blancas. *Camelia sinensis sinensis* y *Camelia sinensis assamica* son las dos variedades más comúnmente utilizadas para la producción de diferentes tipos de té. El té que más se consume a nivel mundial es el té negro, siendo el 78% del total de té consumido, seguido por té verde, el cual representa un 20% y finalmente cualquier otro tipo de té, representa el 2%. En los últimos años, el consumo de té ha aumentado en diferentes partes del mundo, tales como Europa y el Norte de América, esto es debido a los beneficios que trae consigo su consumo.

La composición de los compuestos bioactivos y, por lo tanto, la capacidad antioxidante del té puede verse influenciada por varios parámetros asociados con las condiciones de crecimiento: cepa genética, condiciones climáticas, perfil del suelo, altitud de crecimiento, prácticas hortícolas o temporada de recolección (Kosińska y Andlauer, 2014).

En el té se han encontrado diversas moléculas responsables de la capacidad antioxidante, principalmente catequinas, tal es el caso de flavon-3-ol. Otras catequinas que se encuentran en el té son: galato de epigalocatequina, (EGCG), epicatequina-3-galato (ECG), epigalocatequina (EGC), epicatequina (EC), catequina (C), y galato de galocatequina (GCG) (Kosińska y Andlauer, 2014). Otro compuesto encontrado en el té es el ácido gálico, así como su éster quínico ácido, teogalina (Figura 4), los cuales son polifenoles simples. En el té negro, estos componentes aumentan su contenido debido a la oxidación de los ésteres fenólicos durante la fermentación. En cuanto a los flavones y flavonoles, los más abundantes en el té son: quercetina, miricetina, kaempferol y sus mono, di y tri glicósidos. Recientemente, se han identificado tres flavonoles, 19 flavonoles O-glicosilados, 28

flavonoles glicosilados acilados y siete flavonoles C-glicosilados en muestras de té blanco, verde, oolong y negro (Kosińska y Andlauer,2014; Lin *et al*, 2008).

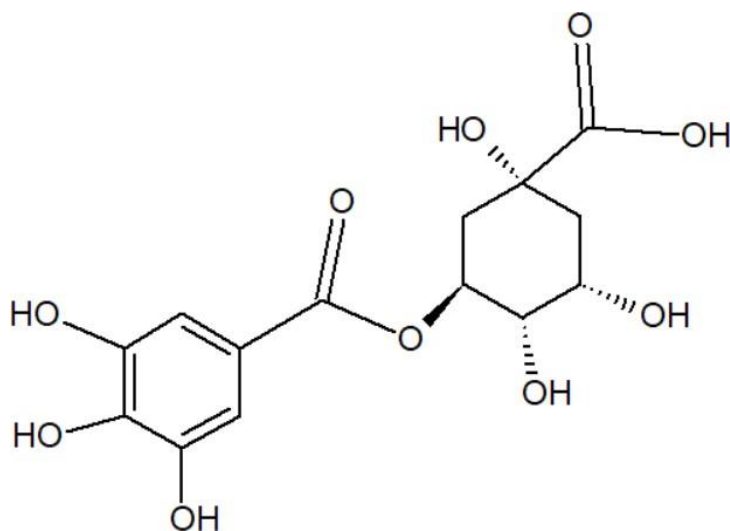


Figura 4. Estructura química de la teogalina (Chasquibol *et al.*, 2003)

Un compuesto encontrado en alimentos como té verde, café y cacao es EGCG, el cual es una neuroprotector y se ha demostrado que el consumo regular de esta molécula puede reducir el deterioro cognitivo asociado al envejecimiento (Howes *et al.*, 2019; William *et al.* 2011).

3.5.2 Vino

El vino es una bebida alcohólica de composición compleja obtenida mediante la fermentación del mosto de uva. El consumo de vino ya se ha asociado a multitud de efectos beneficios debido a su alto contenido de polifenoles (1.048-1.534 mg GAE/100g muestra) (Tekos *et al.*, 2021).

La composición del vino, incluido el contenido de compuestos fenólicos, varía notablemente según el cultivo de uva, el suelo, la nutrición, las condiciones climáticas, el procedimiento de vinificación y condiciones de maduración y almacenamiento (Stratil *et al.* 2008). La composición general del vino es agua (74-87%), etanol (10-14%), azúcares (0.05-10%), ácidos orgánicos (0.05-0.7%), fenoles (0.01-0.2%) y glicerol.

El vino es conocido por sus efectos benéficos en la salud, incluso en los últimos años su consumo moderado ha sido recomendado. Uno de estos beneficios es la reducción de las LDL, las cual son uno de los responsables de causar aterosclerosis y enfermedades coronarias (Stratil *et al.* 2008). Se ha observado la reducción de la incidencia de cáncer, así como en enfermedades crónicas inflamatorias, las cuales se asocian con las ERO.

Se han detectado alrededor de 200 compuestos fenólicos, de estos se pueden encontrar dos categorías principales: flavonoides y no flavonoides. Los más comunes son los flavonoides, y en vinos tintos tanto como en vinos blancos los principales flavonoides encontrados son catequinas (flavon-3-ol) y antocianinas sólo en los vinos rojos. Los flavonoides existen libres o unidos a otros flavonoides, azúcares, no flavonoides o combinaciones de estos compuestos. Los flavonoles y las antocianidinas se encuentran predominantemente en la cáscara, mientras que las catequinas y las leucoantocianinas se encuentran en las semillas y los tallos, principalmente. Los no flavonoides provienen de la acción de la levadura y la madera de barricas de roble (Stratil *et al.*, 2008; Soleas *et al.*, 1997), ya que se ha demostrado que el añejamiento en barriles hechos con madera de roble puede incrementar el contenido de ciertos polifenoles en el vino. Otra molécula que ha sido identificada en las uvas es el resveratrol, el cual se ha demostrado que es neuroprotector *in vivo* además de reducir déficits cognitivos (Howes *et al.*, 2019; Dominguez y Barbagallo, 2018; Howes y Perry, 2011), así como mejorar las funciones cognitivas y cardiovasculares.

3.5.3 Café

Debido a su sabor, las bebidas de café son ampliamente consumidas en el mundo, principalmente en Europa y América. Aunque su consumo se ha visto cuestionado debido a los efectos perjudiciales en la salud humana, hoy en día se sabe que sus componentes funcionan como antioxidantes y como captadores de radicales libres.

Los granos de café que se encuentran en el mercado se producen a partir de dos especies diferentes del género *Coffea*: *Coffea arabica* y *Coffea canephora* syn. *Coffea robusta*. Ambas especies presentan una rica fuente de compuestos biológicamente activos. Los granos de café verde contienen antioxidantes vegetales eficaces, como ácidos clorogénicos, ácidos fenólicos, polifenoles y alcaloides; su contenido varía principalmente con la especie de café (por ejemplo, *Coffea arabica*, Arabica, *Coffea canephora*, Robusta) y con su origen (Brezová *et al.*, 2009; Belay *et al.*, 2008, Chu *et al.*, 2007, Stalmach *et al.*, 2006). Por lo que la bebida de café es rica en sustancias bioactivas, como ácido nicotínico, trigonelina, ácido quinolínico, ácido tánico, ácido pirogálico y especialmente cafeína (Hečimović *et al.*, 2011, Minamisawa *et al.*, 2004).

Otro aspecto que determina el contenido de polifenoles es el nivel de tostado al que se ha sometido el grano, ya que se pueden formar polímeros o deshacerlos durante su procesamiento. Tal es el caso con las reacciones de Maillard, que generan melanoidinas las cuales se ha encontrado que tienen actividad antioxidante. Previamente, se confirmó que la capacidad antioxidante del café tostado excedía a la del café verde en grano, y se encontró un óptimo de acción antioxidante para muestras de tostado medio (del Castillo *et al.*, 2005; Nicoli *et al.*, 1997; Stalmach *et al.*, 1997).

3.5.4 Orégano

El orégano, es una hierba utilizada ampliamente para condimentar, tal es el caso de la pizza, el pozole, carne, ensaladas, salsas, sopas etc. etc. Esta propiedad es debido a las sustancias aromáticas presentes, principalmente en su aceite esencial en el cual se encuentran moléculas como carvacrol y timol, de manera mayoritaria, seguidos por γ -terpineno, p-cimeno, linalool, terpinen-4-ol e hidrato de sabineno (D'Antuono *et al.* 2000, Skoula y Harborne, 2002; Azizi *et al.*, 2009; Yan *et al.*, 2016).

En un estudio realizado por Zheen y Wang en 2001, encontraron que el contenido de polifenoles totales era de 12 mg ácido gálico/g en orégano fresco. Los antioxidantes más importantes presentes en las plantas de orégano son ácidos fenólicos y flavonoides como el ácido cafeico, ácido rosmárico, hispidulina y apiginina, siendo el ácido rosmárico el que se encuentra en mayor cantidad (Yan *et al.*, 2016; Zheng y Wang, 2001). En concordancia con esto, en otros estudios se ha encontrado que los efectos benéficos del orégano son gracias a los componentes principales en el aceite esencial, es decir, gracias al timol y al carvacrol (Yan *et al.*, 2016; Yanishlieya *et al.*, 1999; Aeschbach *et al.*, 1994; Lagouri *et al.*, 1993; Aeschbach *et al.*, 1994)

En las últimas décadas, su consumo ha aumentado debido a las propiedades antifúngicas, antimicrobianas y antioxidantes. El efecto antioxidante que ha presentado el orégano está despertando el interés en la industria alimentaria para utilizar antioxidantes de origen natural y sustituir los antioxidantes sintéticos que actualmente son usados, como el hidroxianisol butilado (BHA) y el hidroxitolueno butilado (BHT). Debido a las propiedades que tiene el orégano, es de interés seguir determinando propiedades como la capacidad antioxidante y el contenido de polifenoles.

4 OBJETIVOS

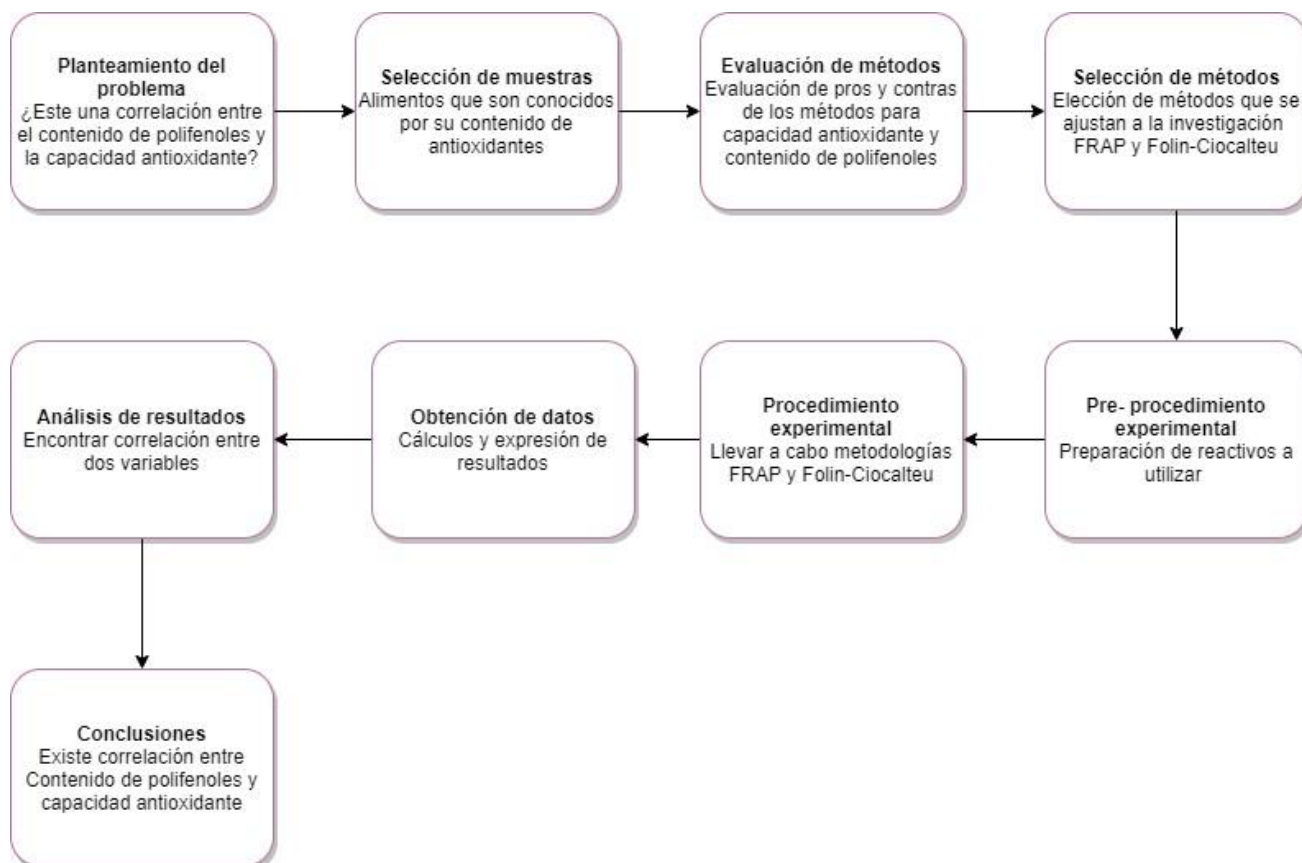
- 1- Analizar la capacidad antioxidante y el contenido de polifenoles totales por los métodos FRAP y Folin-Ciocalteu, respectivamente, en 34 muestras para demostrar que existe una correlación entre los parámetros evaluados.
- 2- Determinar si existe una correlación lineal positiva entre el contenido de polifenoles totales y la capacidad antioxidante, para relacionar el contenido de éstos con las propiedades antioxidantes de los alimentos y bebidas.
- 3- Generar una base de datos de los parámetros de capacidad antioxidante por el método *in vitro* FRAP y del contenido de polifenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu para 34 muestras, con naturaleza diferente (sólidas y líquidas) que son consumidas en México, para su difusión.

5 PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

5.1 Diagrama de trabajo

El procedimiento general de investigación se presenta en la Figura 5.

Figura 5. Esquema del procedimiento general de investigación



5.2 Muestras analizadas

En este estudio se evaluaron dos grupos de muestras: sólidas y líquidas. Dentro de las muestras sólidas, se tienen 5 subdivisiones las cuales son: tés e infusiones, café, especias, cacao, cereales. Todos los datos obtenidos para estas muestras fueron recopilados por la autora del presente trabajo.

En el caso de las muestras líquidas, se tienen tres subdivisiones las cuales son: vinos, jugos y bebidas con infusión de té. Los resultados obtenidos para estas muestras fueron tomados de otros trabajos realizados en el Laboratorio 4C de la Facultad de Química, con la finalidad de complementar la base de datos.

5.3 Tratamiento de muestras sólidas

Se pesaron de 0.1 a 0.5 g de la muestra, a los cuales se les agregaron 25 mL de una disolución de etanol-agua (1:1) y se colocaron en agitación continua por 45 minutos a temperatura ambiente. Posteriormente, se filtró el sobrenadante y se llevó a un volumen de aforo a 25 mL con etanol-agua (1:1). Una vez obtenido el extracto, se almacenaron a 4°C hasta su análisis.

5.4 Método de Folin-Ciocalteu (Singleton *et al.*, 1999)

5.4.1 Muestras

Del extracto original, se realizaron disoluciones de 1:10 y 1:50, dependiendo el tipo de muestra utilizada. De esta disolución se tomaron 500 μ L y se colocaron en un tubo de ensayo, a los cuales se les agregaron 2.5 mL del reactivo Folin-Ciocalteu (0.2 N), se dejó reaccionar durante 5 minutos a temperatura ambiente. Una vez transcurrido el tiempo, se agregaron 2 mL de carbonato de sodio (75 g/L). Se mantuvieron en oscuridad durante 2 h a temperatura ambiente y después se tomó la lectura de absorbancia a una longitud de onda de 760 nm en el espectrofotómetro. en el espectrofotómetro marca Thermo Scientific

modelo Genesys 20. Los resultados se expresaron como mg de ácido gálico por gramo de muestra.

5.4.2 Curva patrón

A partir de una disolución patrón de ácido gálico de 1 g/L se llevaron a cabo diluciones para obtener concentraciones de 10, 20, 30, 40 y 50 mg/L. De cada una de ellas, se tomaron 500 µL y prosiguió como con el análisis como se describió en la sección anterior.

5.5 Método de FRAP (Benzie *et al.*, 1996)

5.5.1 Muestras sólidas

Tratamiento de la muestra

Del extracto original se realizaron disoluciones de 1:10 y 1:50, dependiendo del tipo de muestra utilizada. De esta dilución se tomaron 150 µL y se colocaron en tubos de ensaye, a los cuales se les agregaron 2.85 mL del reactivo FRAP (0.0125 g de tripiridiltriazina (TPTZ), 4 mL HCl 40 mM, 40 mL amortiguador de acetatos, 4 mL $\text{FeCl}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$), se dejó reaccionar durante 15 min a temperatura ambiente. Para el caso del blanco, se realizó el mismo procedimiento sin agregar el reactivo FRAP y en su lugar se agregaron 2.85 mL de la solución etanol-agua 1:1. Posteriormente, se realizó la lectura en espectrofotómetro UV-VIS marca Thermo Scientific modelo Genesys 20 a una longitud de onda de 593 nm. Los resultados se expresaron en µmol Fe^{2+} /g muestra.

Curva Patrón

Se realizó la solución patrón de sulfato ferroso con concentración de 1000 μM . De esta solución, se tomaron de 200, 300, 400 y 500 μL y se les agregó el volumen necesario de agua destilada para tener un volumen final de 1,000 μL . De cada una de estas soluciones estándar, se tomaron 150 μL y se agregaron 2.85 mL del reactivo FRAP. Para el blanco de reactivos, se utilizaron 150 μL de una disolución etanol-agua 1:1 en lugar del estándar de sulfato ferroso. Se tomó lectura de absorbancia a una longitud de onda de 593 nm en espectrofotómetro UV-VIS. Se tomó lectura de absorbancia a una longitud de onda de 593 nm en espectrofotómetro UV-VIS marca Thermo Scientific modelo Genesys 20.

5.5.2 Muestras líquidas

Tratamiento de las muestras

Se realizaron diluciones 1:50 de las muestras originales. De estas diluciones se tomaron 90 μL y 2.910 mL del reactivo FRAP (0.0125 g de TPTZ, 4 mL HCl 40 mM, 40 mL amortiguador de acetatos, 4 mL $\text{FeCl}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$), se dejó reaccionar por 15 minutos a temperatura ambiente y una vez transcurrido el tiempo se hizo la lectura a 593 nm en espectrofotómetro UV-VIS. Para el blanco de muestra, se llevó a cabo el mismo procedimiento a excepción de la adición del reactivo de FRAP, que se sustituyó por la disolución de etanol-agua 1:1. La lectura de absorbancia se tomó a una longitud de onda de 593 nm en espectrofotómetro UV-VIS. marca Thermo Scientific modelo Genesys 20. Los resultados se expresaron en $\mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{L}$ muestra.

Curva patrón

Se realizó la solución patrón de sulfato ferroso con concentración de 1000 μM . De esta solución, se tomaron de 200, 300, 400 y 500 μL y se les agregó el volumen necesario de

agua destilada para tener un volumen final de 1000 μL . De cada una de estas soluciones estándar, se tomaron 90 μL y se agregaron 2.91 mL del reactivo FRAP. Para el blanco de reactivos, se utilizaron 90 μL de una disolución etanol-agua 1:1 en lugar del estándar con sulfato ferroso. La lectura de absorbancia se tomó a una longitud de onda de a 593 nm en espectrofotómetro UV-VIS. marca Thermo Scientific modelo Genesys 20.

5.6 Tratamiento estadístico

Una vez que se obtuvieron los resultados de todas las muestras, se verificaron promedios y desviaciones estándar, con estos parámetros se identificaron valores atípicos al utilizarlos para calcular el valor Z. Adicionalmente, se aplicó una correlación de Pearson para establecer el tipo de relación que existe entre la capacidad antioxidante y el contenido de polifenoles en las diferentes muestras analizadas (muestras líquidas y muestras sólidas).

6 RESULTADOS

6.1 Resultados muestras sólidas.

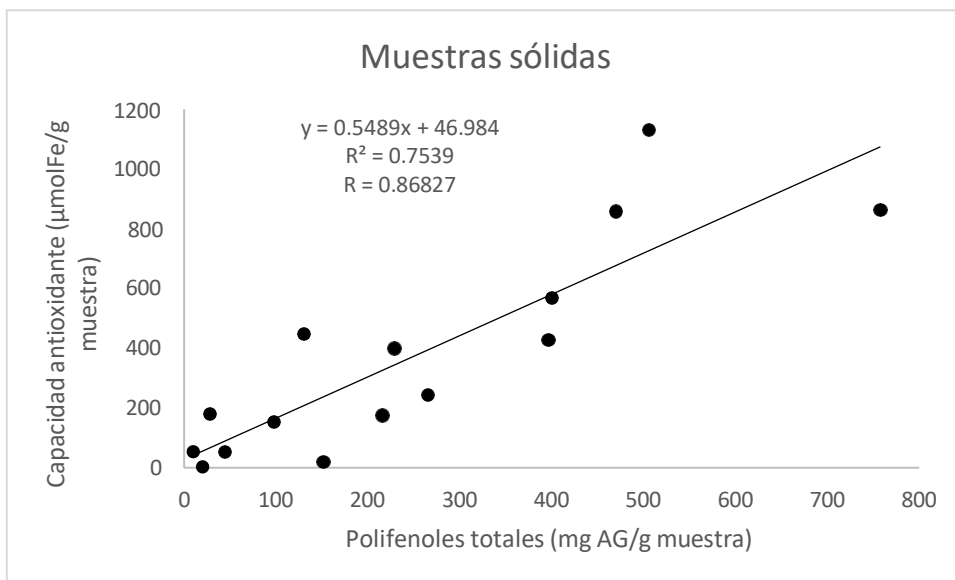
Se evaluaron 18 muestras sólidas, como café, té y especias, y 16 muestras líquidas, como jugos, vinos y bebidas con extractos de té. Los resultados para las muestras sólidas se presentan en la tabla 1 tanto para capacidad antioxidante como para el contenido de polifenoles totales.

Tabla 1. Resultados obtenidos de Capacidad antioxidante y Polifenoles Totales para 18 muestras sólidas. Todas fueron analizadas por triplicado.

Muestra	Polifenoles totales (mg AG/g muestra)	Capacidad antioxidante ($\mu\text{mol Fe}^{2+}$ /g muestra)
Tés e infusiones		
Té negro	757.8 \pm 112.1	862.5 \pm 11.4
Infusión de Menta	229.1 \pm 6.8	399.2 \pm 10.2
Infusión de naranja	98.0 \pm 2.1	154.0 \pm 2.8
Té verde	470.0 \pm 51.4	856.5 \pm 9.3
Infusión de hierbabuena	130.6 \pm 1.3	446.5 \pm 13.5
Café		
Café soluble	505.7 \pm 3.6	1129.2 \pm 428.8
Café descafeinado	N.D.	2.5 \pm 0.2
Café "Member's Mark"	28.2 \pm 0.4	179.6 \pm 1.5
Café "Cubita"	215.9 \pm 20.6	173.7 \pm 129.8
Cereal		
Maíz rojo	20.1 \pm 0.4	16.3 \pm 14.9
Maíz azul	N.D.	79.24 \pm 13.4
Espicias		
Pimienta negra	51.5 \pm 0.6	45.1 \pm 3.6
Pimienta blanca	18.9 \pm 1.2	151.9 \pm 7.0
Tomillo	567.8 \pm 2.8	400.6 \pm 1.8
Orégano	ND	1008.6 \pm 138.3
Cacao		
Cacao con cascarilla	243.9 \pm 72.5	265.72 \pm 24.2
Cacao sin cascarilla	426.3 \pm 11.3	396.6 \pm 6.1
Cereal		
Sorgo	52.6 \pm 39.6	10.1 \pm 0.1
*N.D. No determinado	Valores promedio \pm DE	3<n<10

Con los resultados obtenidos para las muestras sólidas del contenido de polifenoles y la capacidad antioxidante, y una vez comprobado que los datos eran estadísticamente típicos, se realizó una correlación que se presenta en el gráfico 1. El coeficiente de correlación obtenido fue de 0.862.

Gráfico 1. Correlación entre capacidad antioxidante y contenido de polifenoles totales para muestras sólidas. ($r = 0.86827$, correlación positiva directa)



6.2 Resultados muestras líquidas

En las siguientes dos tablas, se presentan los resultados para las muestras cuyo principal componente es agua (muestras líquidas). Estos datos fueron obtenidos por prestadores de servicio social, quienes participaron en el proyecto.

Tabla 2. Resultados de capacidad antioxidante por el método de FRAP en muestras líquidas. Todas las muestras fueron analizadas por triplicado

Muestra	Capacidad antioxidante ($\mu\text{molFe}^{2+}/\text{mL}$ muestra)
Vino	
Vino tinto California	28.2 \pm 0.7
Vino tinto Concha y Toro	33.5 \pm 0.4
Vino tinto L.A. Cetto Cabernet Sauvignon	35.6 \pm 0.3
Vino tinto Santa Rita Cabernet Sauvignon	34.1 \pm 0.5
Jugos	
Antiox frutos	17.5 \pm 0.2
Antiox manzana/ arándano	21.0 \pm 0.4
Del valle néctar frutos con extracto de acaí	18.1 \pm 0.1
Del valle néctar manzana con granada	21.4 \pm 1.6
Good 4 you	9.6 \pm 0.1
Júmex único fresco arándano	11.7 \pm 0.3
Ocean Spray arándanos	9.3 \pm 0.3
Ocean Spray cranberry clásico	8.7 \pm 0.1
Ocean Spray cranberry-uva	9.4 \pm 0.2
Valley foods light	9.6 \pm 0.0
Bebidas con infusiones de té	
Fuze tea té negro limón	3.0 \pm 0.0
Lipton tea té negro limón	3.6 \pm 0.0

Valores promedio \pm DE n=3

De las 16 muestras líquidas evaluadas, únicamente a los vinos se les evaluó el contenido de polifenoles totales y se presentan en la siguiente tabla:

Tabla 3. Resultado de contenido de polifenoles totales en diferentes vinos. Todas las muestras fueron analizadas por triplicado.

Muestra	Polifenoles totales (mg ácido gálico/L de muestra)
Vino tinto California	175.9 ± 25.9
Vino tinto LA Cetto Cabernet	12.0 ± 0.5
Vino tinto Santa Rita Cabernet Sauvignon	23.6 ± 0.2
Vino tinto Concha y Toro	7.1 ± 1.0

Valores promedio ± DE n=3

7 DISCUSIÓN

En el gráfico 2 (Anexo A) se puede observar la linealidad que presenta el método de determinación de polifenoles totales, lo mismo sucede con el gráfico 3 (Anexo B) para el método de capacidad antioxidante. Ambos gráficos presentan un coeficiente de correlación (r^2) de 0.999 y por lo tanto son reproducibles, es por esto que los datos extrapolados a partir de estas curvas son confiables. Los resultados para las muestras sólidas (Tabla 1) se observan desviaciones estándar altas ($428.22 \mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{g}$ muestra), por lo que se les aplicó tratamiento estadístico (tablas en anexo C) y se observa que no existen datos atípicos. La razón por la cual esto puede suceder es por la preparación del extracto. En 2014 Do Q. *et al* realizaron un estudio para probar el efecto de cuatro diferentes disolventes (agua, metanol, etanol y acetona) a diferentes concentraciones (100%, 75% y 50%), en el contenido de polifenoles totales, la capacidad antioxidante y el contenido de flavonoides en una muestra de *Limnophila aromatica*. Se obtuvo que con el disolvente etanol al 100% el contenido de polifenoles totales fue el mayor en comparación con los otros disolventes y sus concentraciones, lo mismo sucedió para la capacidad antioxidante. En otro estudio realizado por Yatma F. *et al* (2023), evaluaron el efecto de los parámetros para TPC y TAC al momento de generar el extracto: tiempo de extracción, el tamaño de partícula de la muestra, relación sólido-solvente y la concentración de etanol utilizada. Obtuvieron que las condiciones óptimas para obtener los mayores valores de TPC y TAC son: 15 min de tiempo de extracción, tamaño de partícula malla 100, relación sólido-solvente 1:20 g/mL y una concentración de etanol de 88%. Por lo que es posible que, durante el tratamiento previo de la muestra, la extracción de estos compuestos fenólicos no se realice de manera homogénea por lo antes mencionado. A diferencia del estudio hecho por Do Q. *et al* (2014), Yatma F. *et al* (2023) encontraron que la mejor concentración de etanol para obtener el mayor TPC fue de 60%. En el presente trabajo se utilizó una concentración de 50% de

etanol, además no se controlaron parámetros como el tamaño de partícula, lo cual afecta significativamente la extracción de los polifenoles, ya que a menor tamaño de partícula mayor superficie de contacto y por ende, menor tiempo para extraer a los polifenoles presentes en la muestra

7.1 Capacidad antioxidante y polifenoles totales.

7.1.1 Muestras sólidas

Las tres muestras con la mayor capacidad antioxidante son café, té negro y té verde, las cuales también son las que presentan un alto contenido de polifenoles totales, pero en diferente orden, ya que la muestra que obtuvo un mayor valor fue el té negro, seguido del café y por último el té verde. Las tres muestras con la mayor capacidad antioxidante son café, té negro y té verde, (1129.25, 826.45 y 856.51 $\mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{g}$ muestras, respectivamente). Estas tres muestras, también presentaron un alto, las cuales también son las que presentan un alto contenido de polifenoles totales, pero en diferente orden, ya que la muestra que obtuvo un mayor valor fue el té negro, seguido del café y por último el té verde (757.81, 505.73 y 470.05 mg AG/g muestra respectivamente).

En un estudio realizado por Jiménez-Zamora *et al.* (2016), el té verde también estuvo dentro de los primeros lugares entre los alimentos con mayor contenido de polifenoles (104.025 mg AG/g) al igual que en capacidad antioxidante determinada por el método de FRAP (24.98 ± 0.41 mmol de equivalentes trolox/L). En este estudio, además se determinó que el tiempo de almacenamiento influye en la capacidad antioxidante y el contenido de polifenoles, ya que, en los primeros tres meses de almacenamiento a temperatura controlada, el 72% de las muestras presentaron una baja en estos parámetros. En el caso de ese estudio, los extractos eran utilizados en un periodo de 24 h posterior a su preparación por lo que no hay una disminución en los valores de estos parámetros, a diferencia del presente trabajo en el que en algunas ocasiones el extracto era utilizado el

mismo día de su preparación y con hasta 48 h de su preparación, no hay una disminución en los valores de estos parámetros. Generalmente, la composición de compuestos fenólicos del té verde se asemeja a la de las hojas de té sin procesar. Principalmente, los flavon-3-oles contribuyen a la capacidad antioxidante del té verde y sus propiedades sensoriales. El contenido de compuestos fenólicos individuales en los productos de té verde varía ampliamente (Kosińska y Wilfried, 2014).

En este mismo estudio, también se evaluó té negro, el cual obtuvo un valor de capacidad antioxidante de 3.38 ± 0.01 mmol de equivalentes trolox/L y un valor de contenido de polifenoles totales de 251 ± 2 mg AG/L, el cual no coincide con el que se obtuvo en este estudio, sin embargo, esta discrepancia se puede atribuir a la preparación de las muestras, ya que los autores antes mencionados usaron 150 mL de agua mineral hirviendo por 7 min y por lo tanto la proporción de polifenoles extraídos varía tanto por el disolvente como por el tiempo. En este mismo estudio, también se evaluó té negro, el cual obtuvo un valor de capacidad antioxidante de 3.38 ± 0.01 mmol de equivalentes trolox/L y un valor de contenido de polifenoles totales de 251 ± 2 mg AG/L, el cual no coincide con el que se obtuvo en este estudio, sin embargo, esta discrepancia se puede atribuir a la preparación de las muestras, ya que los autores antes mencionados usaron 150 mL de agua mineral hirviendo por 7 min y por lo tanto la proporción de polifenoles extraídos varía tanto por el disolvente como por el tiempo de extracción.

En el caso del orégano la capacidad antioxidante reportada fue de 15.01 ± 0.07 mmol de equivalentes Trolox/L empleando el método de FRAP, pero con diferente estándar por lo que no coincide con los valores obtenidos en el presente trabajo. Sin embargo, en ambos estudios coincide que es una muestra con alta capacidad antioxidante, al obtenerse un valor de 1008.58 ± 138.26 $\mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{g}$ muestra, sin importar la molécula de referencia utilizada. En otro estudio realizado por Yan *et al.* (2013), en el cual evaluaron la capacidad

antioxidante y el contenido de polifenoles totales, entre otros parámetros, para diferentes subespecies de orégano, se obtuvo un intervalo para capacidad antioxidante de 2.05-3.01 (mmol equivalentes trolox/g BS) por el método ORAC. Este método se basa en la transferencia de H^+ por parte de los antioxidantes hacia los radicales libres y de esta manera evitar la propagación de especies reactivas de oxígeno, por lo que nos podemos dar cuenta que los polifenoles tienen diferentes métodos para detener la propagación de radicales libres y, por ende, evitar la oxidación de otras moléculas. En cuanto al contenido de polifenoles totales, es un valor que no se pudo determinar, sin embargo, en el estudio realizado por Yan *et al.* (2013), encontraron que el contenido de polifenoles totales podía variar entre especies de orégano entre 79.5-147.3 mg AG /g.

En cuanto a las muestras de café, se puede observar que la muestra de café descafeinado presenta menor contenido de polifenoles y capacidad antioxidante, esto puede ser debido al proceso por el que es sometido el grano, en el que la extracción puede hacerse con diclorometano o humedad, y posteriormente, el grano de café es sometido a un proceso térmico para eliminar el disolvente o el agua (Ordóñez *et al.*, 2006). Debido al tipo de disolvente que es el diclorometano, no es posible que los polifenoles queden atrapados en él, ya que este es una molécula no polar y los polifenoles se extraen con mayor eficiencia con disolventes polares, como lo es el metanol. Sin embargo, el tratamiento aplicado para remover el diclorometano de los granos es el que puede afectar el contenido de polifenoles y esto explica porqué fue la muestra dentro de este grupo con menor cantidad de polifenoles y por ende de capacidad antioxidante.

Se puede observar que las otras tres muestras de café, el café soluble es el que tiene un mayor contenido de polifenoles, seguido del café "Cubita" y por último el café de marca Members Mark, este último está muy por debajo de las otras dos muestras. Las primeras dos muestras son cafés instantáneos solubles, mientras que el café de Members Mak es

café de grano molido. Esto se puede explicar con el estudio realizado por V. Brezová *et al* en 2009, en el cual evaluando el contenido de polifenoles totales y actividad antioxidante en muestras de café instantáneo y de grano. Se obtuvo que los cafés instantáneos analizados tuvieron un contenido de polifenoles mayor (127 ± 9 mg AG/g) en comparación con los cafés de grano (50 ± 5 mg AG/g). Si bien los resultados para las muestras utilizadas no coinciden en cuanto a valores, coinciden en cuanto a tendencia asociada al tipo de café.

7.1.2 Muestras líquidas

Para las muestras líquidas, se observa (tabla 2) que la capacidad antioxidante es menor en comparación con las muestras sólidas, y esto puede deberse a varios factores, principalmente al contenido de agua en las muestras, el tratamiento térmico que se aplica a los jugos para su conservación como es la pasteurización, lo cual afecta a los antioxidantes que pueden contener. Otro factor es el contenido de azúcares, como fructosa, que se ha demostrado que puede interferir en la determinación de la capacidad antioxidante (Muñoz-Bernal *et al.*, 2017), los cuales son comunes en bebidas azucaradas con jarabes de maíz de alta fructosa. Algunos otros compuestos presentes en los alimentos que pueden interferir en la determinación del contenido de polifenoles totales son Vitamina C, β -caroteno (pro-vitamina A) y Vitamina E. Estas tres vitaminas están presentes en alimentos de origen vegetal y tienen características antioxidantes al igual que los polifenoles y pueden interferir en la determinación. En un artículo realizado por Urquiza y Fenton (2016) reportaron el valor de la capacidad antioxidante de diferentes muestras como frutas, vegetales, cereales, oleaginosas, bebidas, dulces y aceites. Entre las bebidas, analizaron vino tinto, el cual obtuvo un valor de 12.14 mmol de equivalentes Trolox/g, el cual es un valor bajo comparado por ejemplo con el valor obtenido por los mismos autores para la muestra de nueces, de 137.01 mmol de equivalentes Trolox/g, por lo que este tipo de

resultados se ha presentado en otros estudios, en el que el vino no presenta una capacidad antioxidante elevada.

Entre los tres grupos analizados de muestras líquidas, vinos, jugos y bebidas con infusiones de té, los vinos son los que presentan la mayor capacidad antioxidante y corresponden a Vino tinto L.A Cetto, Vino tinto 120 Santa Rita y Vino tinto California. En un estudio realizado por M. Moreno-Montoro *et al.* (2015), se obtuvo que el contenido de polifenoles totales para vino tinto fue de 2358 ± 455 mg AG/L el cual es un valor muy superior al obtenido en este estudio (175.92 ± 25.87 mg AG/ L muestra). Sin embargo, se ha demostrado que la composición de los vinos puede variar según la región, el tipo de uva utilizado, ya que estos dos factores son determinantes para el contenido de polifenoles en vinos. Cabe destacar que el reactivo Folin-Ciocalteu puede reaccionar con otros componentes reductores que se encuentran en la matriz alimentaria, tal es el caso del ácido ascórbico, el cual es añadido a los vinos como conservador (*Stratil et al.*, 2008). Esta interacción del reactivo Folin-Ciocalteu con otros componentes explica porque el contenido de polifenoles fue menor. Además, se han encontrado más de 500 compuestos en vinos tintos, entre estos compuestos se encuentran agua, alcohol y polifenoles, tanto flavonoides como no flavonoides (Tekos, *et al.*, 2021). La concentración de polifenoles totales obtenida por otros autores (Moreno-Montoro *et al.*, 2015) es superior a lo que se obtuvo en este estudio ($622 - 4177$ mg AG/L) para vinos tinto y lo mismo sucedió para jugos de uva ($535-646$ mg AG/L). Otros autores (*Stratil et al.*, 2008) reportan datos para el contenido de polifenoles totales en un rango de $103-125$ mg AG/L, el cual sigue siendo un valor alto en comparación con los obtenidos, sin embargo, es más cercano. Estas diferencias entre el contenido de polifenoles totales pueden deberse principalmente a la naturaleza de las muestras analizadas, ya que, como se comentó anteriormente, la composición de polifenoles en el vino puede variar por el tipo de uva, el lugar de cultivo de ésta, el proceso vinícola e incluso la maduración de

estos. Debido a todos estos factores que influyen en el contenido de polifenoles totales en las uvas es que es importante contar con una base de datos de las mismas que sirva como referencia para futuros estudios.

En cuanto a los datos obtenidos para jugos (ver Tabla 2) se puede observar que los dos jugos con mayor capacidad antioxidante son Del Valle néctar manzana con granada (21.4 ± 1.62) y Antiox manzana/ arándano (20.98 ± 0.45). Este es un resultado que se esperaba, ya que en los últimos años se ha encontrado que la granada tiene un contenido de fenoles de 83 mg/100 g y en arándano se han reportado valores de 234 mg AG/100g en jugo. Si bien su capacidad antioxidante no es un valor alto (21.4 ± 1.62 y 20.98 ± 0.45 , respectivamente), no significa que los beneficios a la salud por su consumo no se presenten. Además, existen otros factores antes mencionados, como el contenido de fructosa y el tratamiento térmico, los cuales pueden alterar el contenido de antioxidantes y por ende, repercutir en la capacidad antioxidante de las muestras.

7.2 Correlación

La correlación, hablando de manera sencilla, es una medida de asociación de variables. Al correlacionar datos, el cambio en la magnitud de una variable se asocia con el cambio en la magnitud de la otra. Este cambio puede ser en la misma dirección, la cual corresponde a una correlación positiva, o en dirección opuesta, la cual corresponde a una correlación negativa. Muy a menudo, el término correlación se usa en el contexto de una relación lineal entre 2 variables continuas y se expresa como correlación producto-momento de Pearson (Schober *et al.*, 2018). La escala de la correlación va de -1 hasta 1, y conforme el valor se acerque más a 1 y -1 se tiene una correlación lineal perfecta. En la Tabla 4 se puede observar los intervalos de magnitud que el coeficiente de correlación puede obtener y cómo se interpreta este número

Tabla 4. Interpretación del valor obtenido para correlaciones (Schober *et al.*, 2018)

Magnitud absoluta del coeficiente de correlación	Interpretación
0.00-0.10	Sin correlación
0.10-0.39	Correlación débil
0.40-0.69	Correlación moderada
0.70-0.89	Correlación fuerte
0.9-1.00	Correlación muy fuerte

Los resultados obtenidos para las muestras tanto sólidas como líquidas, indican la capacidad que tienen los antioxidantes presentes en la muestra para atrapar iones metálicos, en este caso Fe^{3+} . Este es reducido y de esta manera se evita la propagación de ERO. Por lo que los resultados con un valor numérico más alto, significa que los antioxidantes presentes logran captar una mayor cantidad de iones metálicos. En muestras sólidas (Gráfico 1), se puede observar una fuerte correlación positiva ($r= 0.868$) entre los datos obtenidos para el método de Folin-Ciocalteu y FRAP, siendo el contenido de polifenoles la variable independiente y la capacidad antioxidante la variable dependiente. Esto significa que, para las muestras sólidas analizadas, la capacidad antioxidante está dada en gran parte por los polifenoles totales presentes en la matriz alimentaria, ya que estos polifenoles actúan en la primera línea de defensa, la cual es evitar la formación de ERO que generen radicales libres, esto lo logran al reaccionar con iones metálicos, en este caso Fe^{3+} . Al tener un mayor contenido de polifenoles, el alimento tendrá una mayor capacidad antioxidante y se esperaría que los beneficios a la salud sean mayores, así como la prevención de enfermedades antes mencionadas. Los principales grupos de polifenoles son: ácidos

fenólicos (derivados del ácido hidroxibenzoico o del ácido hidroxicinámico), estilbenos, lignanos, alcoholes fenólicos y flavonoides (Quiñones *et al.*, 2012).

Para alimentos como el café, también se encontró una fuerte correlación entre el contenido de polifenoles y la capacidad antioxidante, este estudio fue realizado por Brezová *et al.* (2009). El valor obtenido de la correlación fue de $r=0.729$, el cual es menor comparado con el obtenido en el presente estudio.

En un estudio realizado por Wojdyło *et al.* (2007), se analizaron 32 muestras de especias de diferentes familias. En estas muestras se evaluaron los parámetros de capacidad antioxidante por el método de FRAP y el contenido de polifenoles total por el método de Folin-Ciocalteu, y después realizaron la correlación de ambos. Encontraron que existe una fuerte correlación entre el contenido de polifenoles totales y la actividad antioxidante ($r=0.9100$), lo que indica que los polifenoles de las especias son los responsables de dar la capacidad antioxidante de estos alimentos. Por otra parte, de acuerdo con Wu *et al.* (2004), las muestras como frutas y vegetales no exhiben el mismo comportamiento al no encontrarse una correlación entre estos parámetros. Esto coincide con lo obtenido en el presente estudio, ya que, los vinos y jugos están hechos a base de frutas como lo son la uva y arándano, y ésta puede ser una de las razones por las que tampoco se encontró una correlación entre ambos parámetros. Al no obtener una correlación lineal entre el contenido de polifenoles y la capacidad antioxidante de las muestras, indica que hay otros componentes en estas bebidas que proporcionan la capacidad antioxidante.

Con los estudios mencionados y con el presente trabajo, se puede afirmar que existe una correlación directa entre el contenido de polifenoles y la capacidad antioxidante para las muestras sólidas. No sucede lo mismo para las muestras líquidas, las cuales no arrojaron algún valor de correlación. Esto indica que el contenido de agua juega un papel fundamental en la correlación.

7.3 Implicaciones

Como se ha mencionado hasta ahora, la determinación de antioxidantes en matrices alimentarias es muy complejo. Desde los muchos métodos que existen para hacer esta determinación, como la complejidad en sí de las matrices alimentarias que puede estar dada por su composición química, su estado físico, si ha sido sometido a algún proceso o tratamiento, la época en la que se cosecha, cómo se hace la cosecha, su lugar de origen, la temporada del año y un sinnúmero más de factores que tienen un impacto directo. Sin embargo, es importante seguir haciendo este tipo de estudios que nos ayuden a tener un panorama más grande y general de estos biocompuestos que aportan beneficios a la salud y sobre todo, que con un consumo regular, ayudan a prevenir enfermedades. Si bien la biodisponibilidad de cada antioxidante puede cambiar según la matriz en la que se encuentre, no significa que no le pueda generar resultados positivos en las personas que lo consuman.

8 CONCLUSIONES

Se encontró una correlación directa ($r = 0.86827$) entre el contenido de polifenoles totales y la capacidad antioxidante determinada por el método de FRAP de las muestras sólidas analizadas en el presente estudio. Esto indica que los polifenoles presentes en este tipo de muestras son los principales responsables de la capacidad antioxidante encontrada.

En las muestras líquidas, no existe una correlación entre el contenido de polifenoles y la capacidad antioxidante, lo que indica que podrían existir otros componentes en las matrices alimentarias que aportan la actividad antioxidante.

A partir de los datos generados se realizó una base de datos la cual fue publicada en la revista Tequio “Antioxidantes y estrés oxidativo” Vol. 5 Núm. 15 págs: 53-65
<https://doi.org/10.53331/teq.v5i15.7284>

9 REFERENCIAS

1. Ahmed, D., Khan, M., & Saeed, R. (2015). Comparative Analysis of Phenolics, Flavonoids, and Antioxidant and Antibacterial Potential of Methanolic, Hexanic and Aqueous Extracts from *Adiantum caudatum* Leaves. *Antioxidants*, 4(2), 394–409. <https://doi.org/10.3390/antiox4020394>
2. Alós, J. I. (2015). Resistencia bacteriana a los antibióticos: una crisis global. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 33(10), 692–699. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2014.10.004>
3. Apak, R., Capanoglu, E., & Shahidi, F. (2018). *Measurement of Antioxidant Activity and Capacity: Recent Trends and Applications* (1.ª ed.). Wiley. Disponible en: <https://doi.org/10.1002/9781119135388>
4. Barry M Popkin, Lawrence E Armstrong, George M Bray, Benjamin Caballero, Balz Frei, Walter C Willett, A new proposed guidance system for beverage consumption in the United States, *The American Journal of Clinical Nutrition*, Volume 83, Issue 3, March 2006, Pages 529–542, <https://doi.org/10.1093/ajcn.83.3.529>
5. Benzie, I., Strain, J. (1996). *The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “Antioxidant Power”*: the FRAP Assay. *Analytical Biochemistry*, 239, 70–76.
6. Brezová, V., ŠLebodová, A., & Staško, A. (2009). Coffee as a source of antioxidants: An EPR study. *Food Chemistry*, 114(3), 859–868. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.10.025>
7. ed. Cao, C., Pathak, S., & Patil, K. (Eds.). (2018). *Antioxidant nutraceuticals : preventive and healthcare applications* (1.ª ed., Vol. 1) [Libro electrónico]. CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9781315121024>
8. Carbonel Villanueva, K. N., Suárez Cunza, S., & Arnao Salas, A. I. (2016). Características fisicoquímicas y capacidad antioxidante in vitro del extracto de *Gentiana nitida*. *Anales de la Facultad de Medicina*, 77(4), 333. <https://doi.org/10.15381/anales.v77i4.12648>
9. Chasquibol S. N., Lengua C. L., Delmás I., Rivera C. D., Bazán D., Aguirre M. R., Bravo A. M. (2003) Alimentos funcionales o fitoquímicos, clasificación e importancia. *Rev. Per. Quim Ing. Quim.* Vol. 5 No. 2, pag: 9 -20
10. Dergal, B. S. (2020). *Química de los Alimentos* (6.ª ed.). Pearson.

11. Deng, G.-F., Lin, X., Xu, X.-R., Gao, L.-L., Xie, J.-F., & Li, H.-B. (2013). Antioxidant capacities and total phenolic contents of 56 vegetables. *Journal of food functional foods*, 5, 260–266. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1756464612001612?via%3Dihub>
12. Do, Q. D., Angkawijaya, A. E., Tran-Nguyen, P. L., Huynh, L. H., Soetaredjo, F. E., Ismadji, S., & Ju, Y. H. (2014). Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatica*. *Journal of Food and Drug Analysis*, 22(3), 296–302. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2013.11.001>
13. Drago Serrano, María Elisa, & López López, Marisol, & Sainz Espuñes, Teresita del Rosario (2006). Componentes bioactivos de alimentos funcionales de origen vegetal. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*, 37(4),58-68.[fecha de Consulta 12 de Noviembre de 2021]. ISSN: 1870-0195. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=57937408>
14. Goyal, M. R., & Ayeleso, A. O. (2018). *Bioactive Compounds of Medicinal Plants*. Amsterdam University Press. <https://doi.org/10.1201/b22426doi>
15. Goyal, M. R., Nath, A., & Suleria, H. (2021). *Plant-Based Functional Foods and Phytochemicals*. Amsterdam University Press. <https://doi.org/10.1201/9781003055419>
16. Halliwell, Barry, and John M.C. Gutteridge, Antioxidant defences synthesized *in vivo*, *Free Radicals in Biology and Medicine*, 5th edn (Oxford, 2015; online edn, Oxford Academic, 22 Oct. 20, <https://doi.org/10.1093/acprof:oso/9780198717478.003.0003>, accessed 25 Nov. 2022.)
17. Hečimović, I., Belščak-Cvitanović, A., Horžić, D., & Komes, D. (2011). Comparative study of polyphenols and caffeine in different coffee varieties affected by the degree of roasting. *Food Chemistry*, 129(3), 991–1000. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.05.059>
18. Howes, M. R., Perry, N. S., Vásquez-Londoño, C., & Perry, E. K. (2020). Role of phytochemicals as nutraceuticals for cognitive functions affected in ageing. *British Journal of Pharmacology*, 177(6), 1294–1315. <https://doi.org/10.1111/bph.14898>
19. Jiménez-Zamora, A., Delgado-Andrade, C., & Rufián-Henares, J. A. (2016). Antioxidant capacity, total phenols and color profile during the storage of selected

plants used for infusion. *Food Chemistry*, 199, 339–346.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.12.019>

20. Kosińska, A., & Andlauer, W. (2014). Antioxidant Capacity of Tea. *Processing and Impact on Antioxidants in Beverages*, 109–120. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-404738-9.00012-x>
21. Mattivi, F. (2002). Antioxidantes polifenólicos naturales de la dieta. *Medwave*, 2(10).
<https://doi.org/10.5867/medwave.2002.10.3322>
22. Moreno-Montoro, M., Olalla-Herrera, M., Gimenez-Martinez, R., Navarro-Alarcon, M., & Rufián-Henares, J. A. (2015). Phenolic compounds and antioxidant activity of Spanish commercial grape juices. *Journal of Food Composition and Analysis*, 38, 19–26. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2014.10.001>
23. Muñoz-Bernal, S. A., Torres-Aguirre, G. A., Núñez-Gastélum, J. A., de la Rosa, L. A., Rodrigo-García, J., Ayala-Zavala, J. F., & Álvarez-Parrilla, E. (2017). Nuevo acercamiento a la interacción del reactivo de folin-ciocalteu con azúcares durante la cuantificación de polifenoles totales. *Tip*, 20(2), 23–28.
<https://doi.org/10.1016/j.recqb.2017.04.003>
24. Nossa-González, D. L., Talero-Pérez, Y. V., & Rozo-Núñez, W. E. (2016). Determinación del contenido de polifenoles y actividad antioxidante de los extractos polares de comfrey (*Symphytum officinale* L). *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 21(2), 125–132. Disponible en:
<http://scielo.sld.cu/pdf/pla/v21n2/pla01216.pdf>
25. Ordóñez, A. F., Rojas, N. Y., Parada, F., & Rodríguez, I. (2006). Estudio comparativo de la extracción de cafeína con CO₂ supercrítico y acetato de etilo. *Revista de Ingeniería*, (24), 34-42.
26. Pérez-Jiménez J. Polifenoles de la dieta y enfermedades cardiometabólicas. ANALES RANM [Internet]. Real Academia Nacional de Medicina de España; An RANM · Año 2019 · numero 136(03):298-307. DOI: <http://dx.doi.org/10.32440/ar.2019.136.03.rev11>
27. Preedy, V. R. (2014). *Processing and Impact on Antioxidants in Beverages*. Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-404738-9.00012-X>

28. Quiñones, M., Miguel, M., & Aleixandre, A. (2012). Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular. *Nutrición Hospitalaria*, 27(1), 76–89. <https://doi.org/10.3305/nh.2012.27.1.5418>
29. Ramos E, Romeo J, Warnberg J, Marcos A. ¿Mas que alimentos? En: Alimentos funcionales. Aproximación a una nueva alimentación. Dirección general de salud pública y alimentación 2008; 30-45
30. Sayago-Ayerdi, S., García-Martínez, D. L., Ramírez-Castillo, A. C., Ramírez-Concepción, H. R., & Viuda-Martos, M. (2021). Tropical Fruits and Their Co-Products as Bioactive Compounds and Their Health Effects: A Review. *Foods*, 10(8), 1952. MDPI AG. Retrieved from <http://dx.doi.org/10.3390/foods10081952>
31. Schober, P., Boer, C., & Schwarte, L. A. (2018). Correlation Coefficients. *Anesthesia & Analgesia*, 126(5), 1763–1768. <https://doi.org/10.1213/ane.0000000000002864>
32. Singleton, V.L., Orthofer, R.; Lamuela-Raventós R.M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent Methods. *Enzymology*. pp. 152–178.
33. Stratil, P., Kubáň, V., & Fojtová, J. (2008). Comparison of the phenolic content and total antioxidant activity in wines as determined by spectrophotometric methods. *Czech Journal of Food Sciences*, 26(No. 4), 242–253. <https://doi.org/10.17221/1119-cjfs>
34. Suleria, R. H. A., & Barrow, C. (2021). *Bioactive Compounds from Plant Origin: Extraction, Applications, and Potential Health Benefits*. Apple Academic Press.
35. Victoria Urquiza-Martínez, M., & Fenton Navarro, B. (2016). Antioxidant Capacity of Food. *Free Radicals and Antioxidants*, 6(1), 1–12. <https://doi.org/10.5530/fra.2016.1.1>
36. Watson, R. R., Preedy, V. R., & Zibadi, S. (2013). *Polyphenols in Human Health and Disease (English Edition)* (1.^a ed.). Academic Press.
37. Wojdylo, A., Oszmianski, R., & Czemerys, R. (2007). Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs. *Food chemistry*, 105(3), 940–949. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.04.038>

38. Wu, X., Beecher, G. R., Holden, J. M., Haytowitz, D. B., Gebhardt, S. E., Prior, R. L. (2004). Lipophilic and hydrophilic antioxidant capacities of common foods in the United States. *Journal of the Agricultural and Food Chemistry*, 52, 4026–4037.
39. Yatma, F., Falah, S., Ambarsari, L., Aisyah, S. I., & Nurcholis, W. (2022). Optimization of Extraction of Phenolic and Antioxidant Activities from *Celosia cristata* Seeds Using Response Surface Methodology. *Biointerface Research in Applied Chemistry*, 13(2), 148. <https://doi.org/10.33263/briac132.148>
40. Yoshida, K., Cheynier, V., & Quideau, S. (Eds.). (2017). *Recent Advances in Polyphenol Research* (Revisado ed., Vol. 5). Wiley Blackwell. <https://doi.org/10.1002/9781118883303>

10 ANEXO A

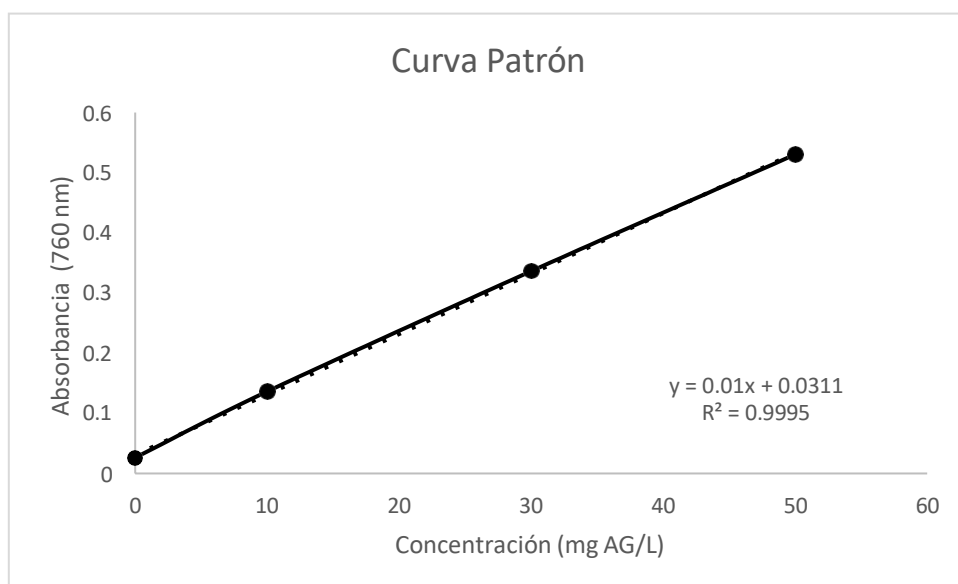
10.1 Fundamento Folin-Ciocalteu, método para determinar Polifenoles totales

El método Folin-Ciocalteu se basa en la oxidación de compuestos fenólicos en solución alcalina con una mezcla de ácidos fosfomolibdico y fosfotúngstico, dando como resultado un producto colorido el cual absorbe a 750-765 nm. Debido a su especificidad, este método se utiliza principalmente en la estimación del contenido de polifenoles totales.

A partir de una reacción de óxido-reducción, la disolución de carbonato de sodio se utiliza para proporcionar un pH alcalino que favorece la velocidad de reacción de reducción del Mo^{6+} (complejo amarillo) a Mo^{5+} (complejo azul) del reactivo de Folin-Ciocalteu por compuestos fenólicos o reductores que completan la reacción después de 120 minutos a temperatura ambiente (Singleton *et al.*, 1999).

Como se mencionó anteriormente, el método de Folin-Ciocalteu es espectrofotométrico por lo que requiere de curva calibración. En el gráfico 2 se presenta un ejemplo de curva patrón obtenida en el proyecto, siendo ácido gálico (1g/L) el estándar.

Gráfico 2. Curva Patrón del Método Folin-Ciocalteu para polifenoles totales



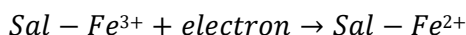
11 ANEXO B

11.1 Fundamento de FRAP, método para medir capacidad antioxidante

El ensayo FRAP se basa en la reducción de Fe^{3+} a Fe^{2+} por antioxidantes en presencia del ligando tridentado TPTZ, formando un complejo coloreado con Fe^{2+} . TPTZ denota el ligando 2,4,6 - tripiridil - S - triazina y la longitud de onda máxima de absorción (λ_{max}) del complejo Fe (II) es de 593 nm (Benzie y Strain, 1996).

Este método no es complejo, se lleva a cabo de manera rápida y en cuanto su costo es bastante bajo. Es un método directo para medir la capacidad antioxidante total de los antioxidantes reductores, los cuales funcionan como donadores de electrones. Se puede probar una amplia gama de tipos de muestras en el ensayo FRAP, y se puede usar con éxito en una versión manual simple que requiere poco equipo especializado. Los reactivos son estables y de baja toxicidad, la sensibilidad y precisión del método son altas, los factores estequiométricos de los antioxidantes que reaccionan son constantes en un amplio rango de concentraciones y la prueba es sólida, ya que las pequeñas diferencias en las condiciones de reacción no afectan notablemente los resultados (Apak R. et al, 2018).

El procedimiento funciona ya que un oxidante clave es reducido al ganar un electrón proveniente de los antioxidantes, los cuales tienen un potencial redox bajo las condiciones utilizadas. La reacción general es la siguiente:



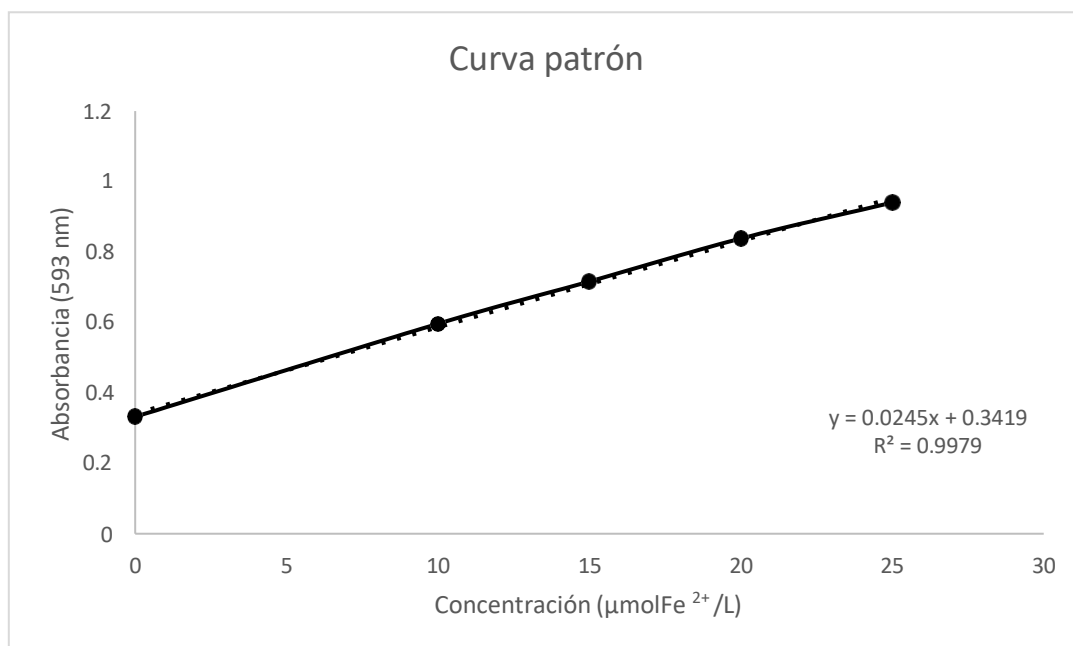
El hierro que se encuentra en la reacción se encuentra en exceso en forma de sal acuosa tripiridiltriazina férrica (Fe^{2+} -TPTZ). Por lo tanto, el reactivo limitante de la reacción es la combinación de los antioxidantes reductores en la muestra que fue agregada en la mezcla de reacción.

La solución de sal férrica es de color amarillo pálido, pero cuando se reduce a la forma ferrosa, cambia a azul y aumenta la absorbancia a 593 nm. Se establecen las condiciones de reacción (temperatura, pH, volúmenes de reactivo y muestra, duración de la reacción) se fijan y el cambio en las lecturas de absorbancia a 593 nm se transforma en actividad antioxidante total comparando el cambio en las lecturas de absorbancia inducido, bajo las mismas condiciones de reacción, por una concentración conocida de Fe^{2+} añadido (como una alícuota medida de disolución de sulfato ferroso) para los reactivos en lugar de la muestra (Apak *et al*, 2018).

En este método, no se toma en cuenta la formación de radicales o el efecto de radicales añadidos, sino que simplemente es una reacción redox bajo condiciones establecidas en el cual la señal obtenida es por acción de la molécula oxidada, la cual cambia de color al ser reducida y por ende la donación de un electrón.

El método FRAP es espectrofotométrico, por lo que cada vez que se analiza una muestra se debe realizar una curva patrón. En el gráfico 3, se presenta un ejemplo de curva patrón realizada durante el proyecto, siendo $\text{Fe}_3(\text{SO})_2 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ el estándar utilizado.

Gráfico 3. Curva patrón para el método FRAP para determinar capacidad antioxidante



12 ANEXO C

Cálculo del estadístico Z para diferentes muestras

Debido a la dispersión que presentaron algunas muestras, se realizó un tratamiento estadístico para encontrar datos atípicos. Por ejemplo, en la Tabla 4 se presentan el análisis estadístico para la capacidad antioxidante en la muestra de cacao con cascarilla; mientras que en la tabla 5, se presenta el tratamiento estadístico para el contenido de polifenoles para la misma muestra.

Cacao con cascarilla

Tabla 5. Tratamiento estadístico para detección de datos atípicos utilizando el valor Z. Resultados de Capacidad antioxidante (FRAP) para la muestra cacao con cascarilla. Si el valor absoluto de la Z calculada es mayor a 3, entonces es un dato atípico. Incluir más muestras té, café, vino

Capacidad antioxidante ($\mu\text{mol/g}$ muestra)	Valor Z	Tipo de dato
185.3976	-0.80754	Típico
175.2358	-0.94768	Típico
182.0103	-0.85425	Típico
277.145	0.45775	Típico
299.2913	0.763169	Típico
344.6385	1.388552	Típico

$\bar{X} = 2439531$ $\sigma = 72.511$

Tabla 6. Tratamiento estadístico para detección de datos atípicos utilizando el valor Z. Resultados de Polifenoles Totales (Folin-Ciocalteu) para la muestra cacao con cascarilla. Si el valor absoluto de la Z calculada es mayor a 3, entonces es un dato atípico. Incluir té y Vino

Polifenoles totales (mg ácido gálico/g muestra)	Valor Z	Dato
278.2093	0.516663	Típico
308.6949	1.777723	Típico
257.8856	-0.32404	Típico
258.0676	-0.31652	Típico
245.7289	-0.82691	Típico
245.7289	-0.82691	Típico

$$\bar{X}'' = 265.72 \quad \sigma = 24.17$$

Café Cubita

Tabla 7. Tratamiento estadístico para detección de datos atípicos utilizando el valor Z. Resultados de Capacidad antioxidante (FRAP) para la muestra Café Cubita. Si el valor absoluto de la Z calculada es mayor a 3, entonces es un dato atípico.

Capacidad antioxidante (μmol/g muestra)	Valor Z	Tipo de dato
9.451208	-1.26474	Típico
8.617768	-1.27116	Típico
8.784456	-1.26988	Típico
311.9552	1.064818	Típico
294.2724	0.928644	Típico
269.9584	0.741404	Típico
195.7993	0.17031	Típico
191.9721	0.140837	Típico
272.3432	0.759769	Típico

$$\bar{X}'' = 173.68 \quad \sigma = 129.85$$

Tabla 8. Tratamiento estadístico para detección de datos atípicos utilizando el valor Z. Resultados de Polifenoles Totales (Folin-Ciocalteu) para la muestra Café Cubita. Si el valor absoluto de la Z calculada es mayor a 3, entonces es un dato atípico

Polifenoles totales (mg ácido gálico/g muestra)	Valor Z	Dato
213.5597	-1.1547	Típico
217.125	0.57735	Típico
217.125	0.57735	Típico

$$\bar{X} = 215.94 \quad \sigma = 2.06$$

Café molido Member's Mark

Tabla 9. Tratamiento estadístico para detección de datos atípicos utilizando el valor Z. Resultados de Capacidad antioxidante (FRAP) para la muestra Café Members Mark. Si el valor absoluto de la Z calculada es mayor a 3, entonces es un dato atípico

Capacidad antioxidante ($\mu\text{mol/g}$ muestra)	Valor Z	Tipo de dato
179.1521	-0.32026	Típico
181.3298	1.120897	Típico
178.4262	-0.80064	Típico

$$\bar{X} = 179.64 \quad \sigma = 1.51$$

Tabla 10. Tratamiento estadístico para detección de datos atípicos utilizando el valor Z. Resultados de Polifenoles Totales (Folin-Ciocalteu) para la muestra Members MARK. Si el valor absoluto de la Z calculada es mayor a 3, entonces es un dato atípico

Polifenoles totales (mg ácido gálico/g muestra)	Valor Z	Tipo de dato
28.63456	0.960988	Típico
27.82287	-1.03491	Típico
28.27381	0.073922	Típico

$$\bar{X} = 28.24 \quad \sigma = 0.41$$

Café descafeinado

Tabla 11. Tratamiento estadístico para detección de datos atípicos utilizando el valor Z. Resultados de Capacidad antioxidante (FRAP) para la muestra Café descafeinado. Si el valor absoluto de la Z calculada es mayor a 3, entonces es un dato atípico

Capacidad antioxidante ($\mu\text{mol/g}$ muestra)	Valor Z	Tipo de dato
2.701961	1.131206	Típico
2.380392	-0.36491	Típico
2.294118	-0.7663	Típico

$$\bar{X} = 2.46 \quad \sigma = 0.21$$

Té Negro

Tabla 12. Tratamiento estadístico para detección de datos atípicos utilizando el valor Z. Resultados de Capacidad antioxidante (FRAP) para la muestra Té negro. Si el valor absoluto de la Z calculada es mayor a 3, entonces es un dato atípico

Capacidad antioxidante ($\mu\text{mol/g}$ muestra)	Valor Z	Tipo de dato
723.6343	-1.24377	Típico
793.733	-0.6157	Típico
777.5563	-0.76064	Típico
922.1971	0.535318	Típico
963.8985	0.908956	Típico
993.6852	1.17584	Típico

$$\bar{X} = 862.45 \quad \sigma = 111.61$$

Tabla 12. Tratamiento estadístico para detección de datos atípicos utilizando el valor Z. Resultados de Polifenoles Totales (Folin-Ciocalteu) para la muestra Té negro. Si el valor absoluto de la Z calculada es mayor a 3, entonces es un dato atípico

Polifenoles totales (mg ácido gálico/g muestra)	Valor Z	Tipo de dato
665.3984	-0.82459	Típico
676.1828	-0.72836	Típico
751.6737	-0.05476	Típico
734.4662	-0.2083	Típico
974.2494	1.931285	Típico
744.8916	-0.11527	Típico

$$\bar{X} = 757.81 \quad \sigma = 112.07$$

Infusión de Menta

Tabla 13. Tratamiento estadístico para detección de datos atípicos utilizando el valor Z. Resultados de Capacidad antioxidante (FRAP) para la muestra Infusión de Menta. Si el valor absoluto de la Z calculada es mayor a 3, entonces es un dato atípico

Capacidad antioxidante ($\mu\text{mol/g}$ muestra)	Valor Z	Tipo de dato
485.2941	1.971515	Típico
399.9324	0.016538	Típico
385.5646	-0.31252	Típico
366.0012	-0.76056	Típico
375.0756	-0.55274	Típico
383.3938	-0.36223	Típico

$$\bar{X} = 399.21 \quad \sigma = 43.66$$

Tabla 14. Tratamiento estadístico para detección de datos atípicos utilizando el valor Z. Resultados de Polifenoles Totales (Folin-Ciocalteu) para la muestra Infusión de Menta. Si el valor absoluto de la Z calculada es mayor a 3, entonces es un dato atípico

Polifenoles totales (mg ácido gálico/g muestra)	Valor Z	Tipo de dato
233.0934	0.57735	Típico
233.0934	0.57735	Típico
221.2365	-1.1547	Típico

$\bar{X} = 229.14$ $\sigma = 6.84$

Vino tinto LA Cetto Cabernet Sauvignon

Tabla 15. Tratamiento estadístico para detección de datos atípicos utilizando el valor Z. Resultados de Capacidad antioxidante (FRAP) para la muestra Vino Tinto LA Cetto Cabernet Sauvignon. Si el valor absoluto de la Z calculada es mayor a 3, entonces es un dato atípico

Capacidad antioxidante ($\mu\text{mol/g}$ muestra)	Valor Z	Tipo de dato
35.47748	-0.44023	Típico
35.38739	-0.70436	Típico
36.01802	1.144586	Típico

$\bar{X} = 35.63$ $\sigma = 0.34$

Bebida: Fuze Tea

Tabla 16. Tratamiento estadístico para detección de datos atípicos utilizando el valor Z. Resultados de Capacidad antioxidante (FRAP) para la muestra Fuze Tea. Si el valor absoluto de la Z calculada es mayor a 3, entonces es un dato atípico

Capacidad antioxidante ($\mu\text{mol/g}$ muestra)	Valor Z	Tipo de dato
3.009009	0.704361	Típico
2.996139	0.440225	Típico
2.918919	-1.14459	Típico

$\bar{X} = 297$ $\sigma = 0.05$

Bebida: Jumex Único Fresco Arándano

Tabla 17. Tratamiento estadístico para detección de datos atípicos utilizando el valor Z. Resultados de Capacidad antioxidante (FRAP) para la muestra Jumex Único Fresco Arándano. Si el valor absoluto de la Z calculada es mayor a 3, entonces es un dato atípico

Capacidad antioxidante ($\mu\text{mol/g}$ muestra)	Valor Z	Tipo de dato
11.3668	-1.1209	Típico
11.98456	0.800641	Típico
11.83012	0.320256	Típico

$$\bar{X} = 11.75 \quad \sigma = 0.32$$

13 ANEXO D

13.1 Revista Tequio “Antioxidantes y estrés oxidativo” Vol. 5 Núm. 15. Contenido de polifenoles totales y la capacidad antioxidante en alimentos y bebidas pág: 53-65.

Tequio 5(15), 2022: 53–65
ISSN: 2594-0546

Contenido de polifenoles totales y la capacidad antioxidante en alimentos y bebidas

Total polyphenol content and antioxidant capacity in foods and beverages

Argelia Sánchez-Chinchillas, Anyhram Navarro-Monroy, Tania Gómez-Sierra^{1*}

Fecha de recepción: 28 de enero de 2022
Fecha de aceptación: 5 de abril de 2022

Resumen - Los polifenoles son compuestos biológicamente activos con propiedades antioxidantes presentes en alimentos como el té negro, café, vino tinto y cacao; su contenido depende de las condiciones atmosféricas, de cultivo, procesamiento y almacenamiento. El objetivo de este trabajo fue determinar el contenido de polifenoles en alimentos y bebidas por dos métodos colorimétricos y establecer una correlación con la capacidad antioxidante. El contenido de polifenoles se determinó por los métodos Folin-Ciocalteu e ISO 9648-1988 en alimentos y bebidas y con ello se podría estimar el consumo de éstos en la dieta. La correlación lineal entre la capacidad antioxidante y los polifenoles (método Folin-Ciocalteu) es de muy fuerte a fuerte, mientras que con el método ISO 9648-1988 es de fuerte a moderada. Lo anterior indicaría que al ingerir alimentos y bebidas que tengan un mayor contenido de polifenoles presentarán una mayor capacidad antioxidante, favoreciendo la defensa antioxidante del organismo.

Palabras claves: Polifenoles, alimentos, antioxidantes.

Abstract - Polyphenols are biologically active compounds with antioxidant properties present in foods such as black tea, coffee, red wine and cocoa; its content depends on atmospheric conditions, cultivation, processing and storage. The objective of this work was to determine the content of polyphenols in foods and beverages by two colorimetric methods and to establish a correlation with the antioxidant capacity. The content of polyphenols was determined by the Folin-Ciocalteu and ISO 9648-1988 methods in foods and beverages and with this, their consumption in the diet could be estimated. The linear correlation between antioxidant capacity and polyphenols (Folin-Ciocalteu method) is from very strong to strong, while with the ISO 9648-1988 method it is from strong to moderate. The foregoing would indicate that by ingesting foods and beverages that have a higher content of polyphenols, they will present a greater antioxidant capacity, favoring the body's antioxidant defense.

Keywords: Polyphenols, foods, antioxidants.

¹ Departamento de Alimentos y Biotecnología, Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México. Circuito Escolar sin número, Ciudad Universitaria, Coyoacán, 04510, Ciudad de México, México. *Autora de correspondencia. Correo electrónico: taniags@quimica.unam.mx. ORCID: 0000-0001-8082-4330
Las autoras Tania Gómez-Sierra y Argelia Sánchez-Chinchillas contribuyeron de igual forma en este manuscrito.

1. INTRODUCCIÓN

Los polifenoles son un grupo de al menos 10,000 diferentes compuestos que contienen al menos dos grupos hidroxilos unidos a uno o más anillos aromáticos y también se consideran los compuestos fenólicos simples como el ácido fenólico, los cuales son precursores de los polifenoles. Con base en su estructura química, estos compuestos se clasifican en ácidos fenólicos, flavonoides, cumarinas, estilbenos y lignanos (Figura 1) (Güneş Bayir et al., 2019; Hano y Tungmunithum, 2020). Se consideran fuentes de los polifenoles a las uvas, cítricos, bayas, chabacanos, manzanas, ciruelas, cerezas, cebollas, espinacas, brócoli, coliflor, alcachofas, tomates, frijoles, soya, zanahorias, alcaparras, aceitunas, té verde, té negro, café, vino tinto, cacao, cerveza, apio, perejil, menta, orégano, romero, tomillo, eneldo y las nueces. Los polifenoles se sintetizan a partir del ácido shikímico y participan en la defensa contra la radiación ultravioleta, especies reactivas de oxígeno (ERO) y nitrógeno, patógenos, parásitos y depredadores de las plantas; en los alimentos contribuyen al sabor amargo, la astringencia, el color, el aroma y actúan como antioxidantes (Brglez Mojzer et al., 2016; Fraga et al., 2019; Hano y Tungmunithum, 2020; Pandey y Rizvi, 2009; Perron y Brumaghim, 2009). Además, son considerados compuestos biológicamente activos, es decir, su consumo puede generar efectos benéficos a la salud, lo cual ha sido ampliamente estudiado.

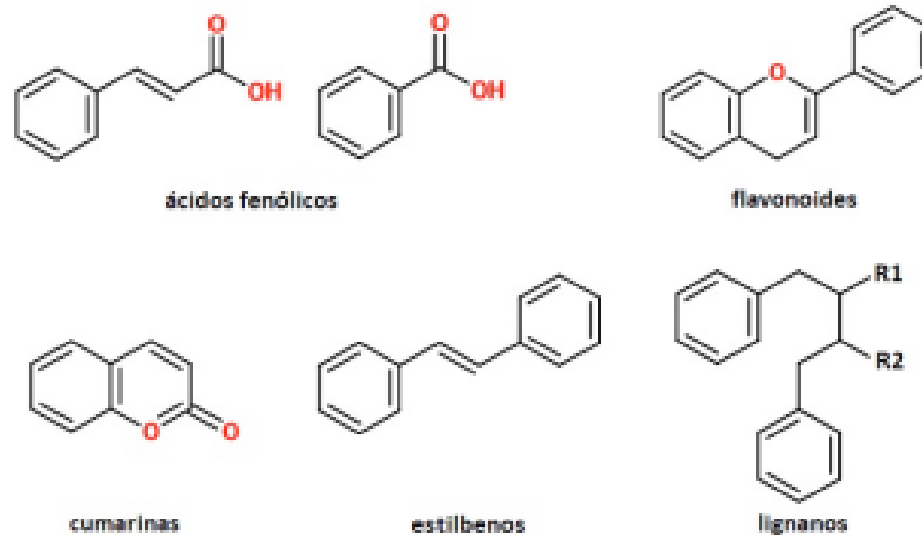


Figura 1. Estructura química de los principales grupos de los polifenoles.

La distribución de los polifenoles en los alimentos no es uniforme, depende de la solubilidad de éstos, así como del grado de madurez del alimento de origen vegetal en el momento de la cosecha, factores ambientales, procesamiento y almacenamiento (Pandey y Rizvi, 2009; Silva y Pogačnik, 2020). Los efectos benéficos de los polifenoles están asociados principalmente con su actividad antioxidante, sin embargo, también se ha demostrado que son antiinflamatorios, antimicrobianos y anticancerígenos (Cory et al., 2018; Fraga et al., 2019), por lo cual el consumo de alimentos que contienen polifenoles se ha asociado con un menor riesgo de enfermedades como las cardiovasculares, diabetes mellitus, síndrome metabólico y el cáncer (Güneş Bayir et al., 2019; Hano y Tungmunithum, 2020; Stratil et al., 2006).

En estas patologías, el estrés oxidante tiene un papel clave en el desarrollo y progresión de cada enfermedad, el exceso de la producción de ERO causa daños a biomoléculas como el ADN, lípidos y proteínas lo cual afecta la permeabilidad de la membrana y altera el ciclo celular (Phaniendra *et al*, 2015; Pizzino *et al*, 2017). Además, estas ERO disminuyen el sistema antioxidante y alteran vías de señalización que promueven la disfunción mitocondrial, estrés de retículo endoplásmico, desregulación de la autofagia, inflamación y la apoptosis (Forman y Zhang, 2021). Por lo cual, el consumo de antioxidantes como los polifenoles favorecen la homeostasis redox y con ello pueden disminuir o prevenir los efectos mencionados anteriormente.

La capacidad antioxidante de un alimento puede utilizarse como un indicador indirecto de la actividad *in vivo*, la cual dependerá de la concentración de los compuestos biológicamente activos como los polifenoles y de las interacciones de éstos con los diferentes componentes de la matriz alimentaria (Mercado-Mercado *et al*, 2013). La evaluación de la capacidad antioxidante por lo general requiere de ensayos de punto final, y se determina en función del número de radicales libres atrapados por un compuesto antioxidante en el equilibrio de la reacción (Gülçin, 2012; Xiao *et al.*, 2020).

El objetivo de este trabajo es determinar el contenido de polifenoles por los métodos de Folin-Ciocalteu e ISO 9648-1988 para establecer una correlación entre éstas y la capacidad antioxidante *in vitro* de alimentos y bebidas.

2. METODOLOGÍA

2.1 PREPARACIÓN DE LOS EXTRACTOS

2.1.1 MUESTRAS SÓLIDAS

Las muestras de alimentos se molieron hasta obtener una harina homogénea. Para la determinación de polifenoles totales por el método Folin-Ciocalteu y de la capacidad antioxidante, la extracción se realizó con una mezcla de etanol-agua (1:1) en agitación continua a temperatura ambiente durante 45 min y para el método ISO 9648-1988, la extracción se realizó con una disolución de dimetilformamida al 75% en agitación continua a temperatura ambiente durante 1 h. Al finalizar los tiempos de extracción, las muestras se filtraron y se llevaron a un volumen de aforo de 25 mL con el respectivo disolvente utilizado. Finalmente, los extractos se almacenaron a 4 °C durante 24 h para su posterior análisis.

2.1.2 MUESTRAS LÍQUIDAS

Para las determinaciones del contenido de polifenoles por los métodos Folin-Ciocalteu e ISO 9648-1988 y la capacidad antioxidante, no se realizó ningún proceso de extracción, la muestra se tomó directamente de los envases de las bebidas comerciales.

2.2 POLIFENOLES TOTALES

2.2.1 MÉTODO FOLIN-CIOCALTEU

Se tomó una alícuota de los extractos preparados de las muestras sólidas y de las bebidas comerciales, se les adicionó el reactivo Folin-Ciocalteu (0.2 N) y se dejaron a temperatura ambiente durante 5 min.

Transcurrido el tiempo, se agregó la disolución de carbonato de sodio (75 g/L) y se dejaron a temperatura ambiente y en oscuridad durante 2 h (Singleton et al., 1999).

Finalmente, se determinó la absorbancia a una longitud de onda de 760 nm en un espectrofotómetro UV-VIS. Los resultados se expresaron como mg de ácido gálico/g (muestras sólidas) y en mg de ácido gálico/mL (muestras líquidas).

2.2.2 MÉTODO ISO 9648-1988

Se tomó una alícuota de los extractos preparados y de las bebidas comerciales, se les adicionó agua destilada, citrato férrico amoniacal (0.35 g/100 mL) y una disolución de amoníaco (0.8 g NH₃/100 mL) y se colocaron en un baño de agitación con temperatura controlada a 30 °C durante 10 min (Deshpande et al., 1986, ISO 9648-1988).

La absorbancia se determinó a una longitud de onda de 525 nm en un espectrofotómetro UV-VIS. Los resultados se expresaron como mg de ácido tánico/g (muestras sólidas) y en mg de ácido tánico/mL (muestras líquidas).

2.3 CAPACIDAD ANTIOXIDANTE

La determinación de la capacidad antioxidante de las muestras de alimentos se realizó por el método FRAP (del inglés, ferric reducing antioxidant power) a partir de los extractos elaborados para el método Folin-Ciocalteu. Se tomó una alícuota de los extractos preparados y de las bebidas comerciales, se les adicionó el reactivo FRAP (0.0125 g de 2,4,6-tripiridil-1,3,5-triazina, 4 mL HCl 40 mM, 40 mL amortiguador de acetatos, 4 mL FeCl₂•H₂O) y se dejaron a temperatura ambiente durante 15 min (Benzie y Strain, 1996; Xiao et al., 2020). La absorbancia se determinó en un espectrofotómetro UV-VIS a una longitud de onda de 593 nm. Los resultados se expresaron en $\mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{g}$ (muestras sólidas) y en $\mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{mL}$ (muestras líquidas).

2.4 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los resultados se expresaron como valor promedio \pm desviación estándar (DE). Las pruebas de normalidad y los análisis de correlación lineal de Pearson se realizaron con el software Prism 6.0 (GraphPad) con un valor de $p < 0.05$ y $p < 0.01$.

3. RESULTADOS

3.1 CONTENIDO DE POLIFENOLES POR EL MÉTODO FOLIN-CIOCALTEU Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE EN ALIMENTOS Y BEBIDAS

El contenido de polifenoles se determinó en distintas muestras de té, infusiones, café, cereales, especias, cacao, frutas, vinos tintos y bebidas comerciales por el método Folin-Ciocalteu. En la Tabla 1 se presenta el contenido de las muestras sólidas, además de su respectiva capacidad antioxidante por el método de FRAP.

En esta tabla se observa que el té negro tiene un mayor contenido de polifenoles, mientras que las frutas son las de menor contenido. Con respecto a la capacidad antioxidante se observa que el café soluble y el té negro tienen los valores más altos, mientras que las frutas analizadas tienen los valores más bajos.

Tabla 1. Contenido de polifenoles determinados por el método Folin-Ciocalteu y capacidad antioxidante en alimentos.

Muestra	Polifenoles totales (mg ácido gálico/g muestra)	Capacidad antioxidante ($\mu\text{mol Fe}^{2+}$/g muestra)
Tés e infusiones		
Té negro	757.81 \pm 112.07	862.45 \pm 11.44
Té verde	470.05 \pm 51.43	856.51 \pm 9.33
Infusión de menta	229.14 \pm 6.84	399.21 \pm 10.16
Infusión de naranja	98.01 \pm 2.13	153.97 \pm 2.84
Infusión de hierbabuena	13.06 \pm 1.27	446.5 \pm 13.46
Café		
Café soluble	505.73 \pm 3.63	1129.25 \pm 428.82
Café "Member's Mark"	28.24 \pm 0.41	179.640 \pm 1.51
Cereal		
Maíz rojo	20.14 \pm 0.37	16.30 \pm 14.95
Sorgo	10.11 \pm 0.08	52.65 \pm 39.65
Especias		
Pimienta negra	45.10 \pm 3.61	51.50 \pm 0.65
Pimienta blanca	151.90 \pm 7.02	18.95 \pm 1.19
Tomillo	400.58 \pm 1.77	567.78 \pm 2.83
Orégano	788.32 \pm 8.56	1008.58 \pm 138.26
Cacao		
Cacao con cascarilla	265.72 \pm 24.17	243.95 \pm 72.51
Cacao sin cascarilla	396.64 \pm 6.13	426.27 \pm 11.31
Frutas		
Cereza	1.08 \pm 0.01	9.76 \pm 0.35
Granada	0.70 \pm 0.006	8.70 \pm 0.06

Datos promedio \pm DE, n=3-10 datos por muestra.

En la Tabla 2 se presenta el contenido de polifenoles en las bebidas comerciales, además de su respectiva capacidad antioxidante por el método de FRAP.

Para el caso del vino tinto, los resultados obtenidos son congruentes con los datos de Scalbert y Williamson., 2000 (1.8 mg ácido gálico/mL). En esta tabla se observa que el contenido de polifenoles y la capacidad antioxidante es similar entre el mismo tipo de bebida.

Tabla 2. Contenido de polifenoles determinados por el método Folin-Ciocalteu y capacidad antioxidante en bebidas.

Muestra	Polifenoles totales (mg ácido gálico/mL muestra)	Capacidad antioxidante ($\mu\text{mol Fe}^{2+}$ /mL muestra)
Vino tinto (Cabernet Sauvignon)		
Valle Redondo California	1.49 \pm 0.02	28.24 \pm 0.66
LA Cetto	1.99 \pm 0.04	33.50 \pm 0.45
Santa Rita 120	1.88 \pm 0.01	35.62 \pm 0.34
Concha y Toro	1.75 \pm 0.06	34.15 \pm 0.51
Bebidas		
Bebida con jugo de arándano	0.89 \pm 0.01	9.69 \pm 0.38
Bebida con jugo de uva y arándano	0.77 \pm 0.02	9.89 \pm 0.55
Té negro sabor limón marca 1	0.23 \pm 0.005	2.57 \pm 0.15
Té negro sabor limón marca 2	0.22 \pm 0.003	2.85 \pm 0.19

Datos promedio \pm DE, n=3 datos por muestra.

3.2 CORRELACIÓN LINEAL ENTRE EL CONTENIDO DE POLIFENOLES POR EL MÉTODO DE FOLIN-CIOCALTEU Y LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE EN ALIMENTOS Y BEBIDAS

Para establecer una relación entre el contenido de polifenoles determinado por el método Folin-Ciocalteu y la capacidad antioxidante, se realizó un análisis de correlación lineal. En la Figura 2A se observa que la r^2 es de 0.8200 para las muestras sólidas y en la Figura 2B la r^2 es de 0.9658 para las muestras líquidas.

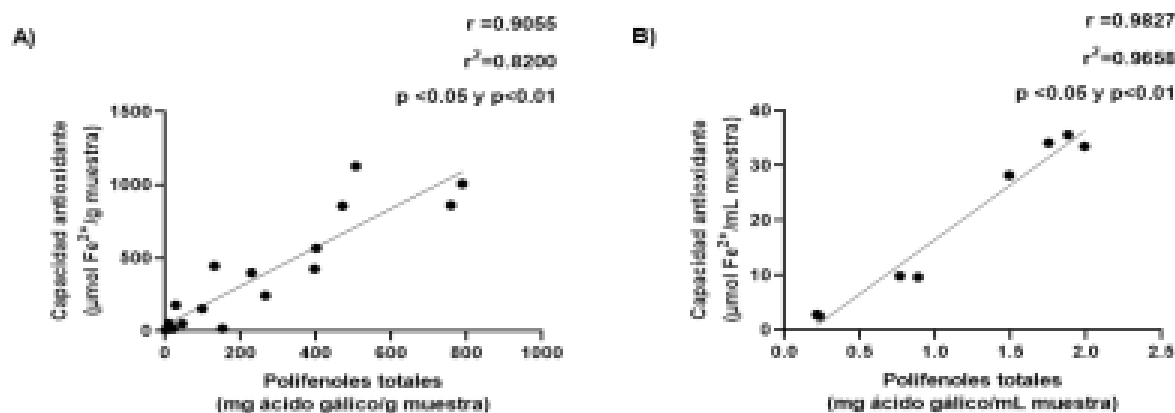


Figura 2. Correlación entre el contenido de polifenoles por el método Folin-Ciocalteu y la capacidad antioxidante. A) Alimentos, número de pares de datos = 17. B) Bebidas, número de pares de datos = 8. $p < 0.05$, $p < 0.01$.

3.3 CONTENIDO DE POLIFENOLES POR EL MÉTODO ISO 9648-1988 EN ALIMENTOS Y BEBIDAS

El contenido de polifenoles se determinó por el método ISO 9648-1988 en té, café, especias, cacao, frutas y vegetales.

En la Tabla 3 se presenta el contenido de éstos y su respectiva capacidad antioxidante, mientras que en la Tabla 4 se muestran los resultados del contenido de polifenoles determinados por el método ISO 9648-1988 en vinos tinto.

Tabla 3. Contenido de polifenoles determinados por el método ISO 9648-1988 y capacidad antioxidante en alimentos.

Muestra	Polifenoles totales (mg ácido tánico/g muestra)	Capacidad antioxidante ($\mu\text{mol Fe}^{2+}$ /g muestra)
Tés		
Té negro	54.60 \pm 8.99	862.45 \pm 11.44
Té verde	52.41 \pm 12.56	856.51 \pm 9.33
Café		
Café soluble	31.72 \pm 6.12	1129.25 \pm 428.82
Especias		
Orégano	18.52 \pm 4.40	1008.58 \pm 138.26
Cacao		
Cacao con cascarilla	24.33 \pm 8.64	243.95 \pm 72.51
Cacao sin cascarilla	27.77 \pm 0.31	426.27 \pm 11.31
Frutas		
Cereza	0.25 \pm 0.03	9.76 \pm 0.35
Granada	0.40 \pm 0.07	8.70 \pm 0.06
Ciruela roja	10.36 \pm 0.24	19.99 \pm 5.87
Ciruela negra	0.99 \pm 0.10	23.46 \pm 3.98
Vegetales		
Col morada	0.39 \pm 0.04	17.59 \pm 1.00
Berenjena	1.09 \pm 0.02	29.57 \pm 0.46

Datos promedio \pm DE, n=3-10 datos por muestra.

Tabla 4. Contenido de polifenoles determinados por el método ISO 9648-1988 en vinos tinto.

Vino tinto	Polifenoles totales (mg ácido tánico/mL muestra)
Cabernet Sauvignon	
Valle Redondo California	0.97 ± 0.13
LA Cetto	0.63 ± 0.01
Santa Rita 120	0.12 ± 0.01
Concha y Toro	0.21 ± 0.03

Datos promedio ± DE, n=3 datos por muestra.

3.4 CORRELACIÓN LINEAL ENTRE EL CONTENIDO DE POLIFENOLES POR EL MÉTODO ISO 9648-1988 Y LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE EN ALIMENTOS Y BEBIDAS

Para establecer una relación entre el contenido de polifenoles determinados por el método ISO 9648-1988 y la capacidad antioxidante, se realizó un análisis de correlación lineal. En la Figura 3A se observa que la r^2 es de 0.4528 para las muestras sólidas y en la Figura 3B la r^2 es de 0.8535 para las muestras líquidas.

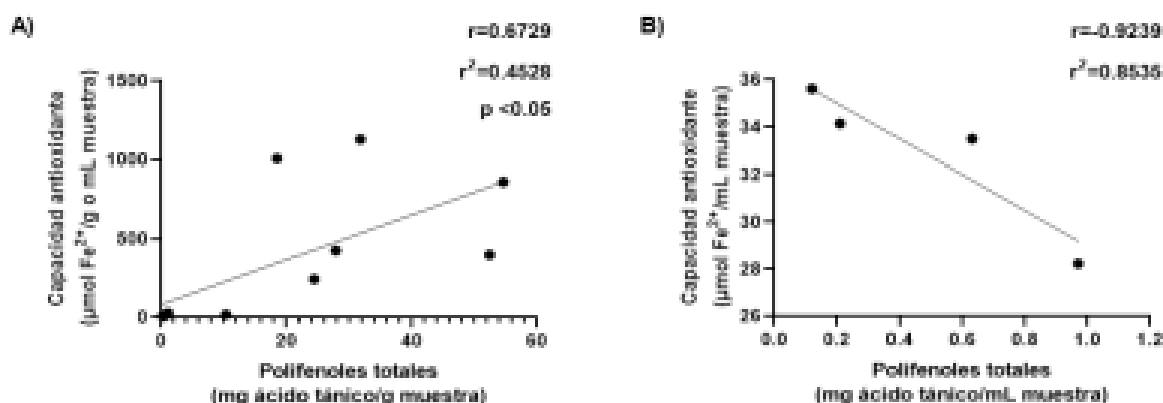


Figura 3. Correlación entre el contenido de polifenoles por el método ISO 9648-1988 y la capacidad antioxidante. A) Alimentos, número de pares de datos= 12. B) Bebidas, número de pares de datos=4. $p < 0.05$.

4. DISCUSIÓN

Los polifenoles son compuestos biológicamente activos con propiedades antiinflamatorias, antimicrobianas, anticancerígenas y antioxidantes (Cory et al., 2018; Fraga et al., 2019; Güneş Bayir et al., 2019). Se encuentran ampliamente distribuidos en los alimentos de origen vegetal, sin embargo, el contenido de los polifenoles en éstos no es uniforme, dependen de las condiciones de cultivo, condiciones atmosféricas, de procesamiento y almacenamiento (Pandey y Rizvi, 2009; Silva y Pogačnik, 2020).

Por lo que la evaluación de su contenido en los alimentos son aproximaciones, las cuales pueden variar dependiendo del tipo de extracción y del método que se utilice, así como del tipo de polifenol detectado; es importante considerar que los alimentos de origen vegetal tienen más de un tipo de polifenol, alguno de ellos presente en mayor o menor proporción, esta diversidad de compuestos dificulta su estimación en los alimentos (Scalbert y Williamson, 2000). La cuantificación de polifenoles en los alimentos permite realizar estimaciones sobre el consumo de éstos en la dieta de las personas, lo cual está relacionado con los antioxidantes exógenos y el sistema antioxidante del organismo (Benzie y Choi, 2014, p.33-34).

Los polifenoles pueden ser antioxidantes directos, indirectos o bifuncionales (Olszowy, 2019). Los antioxidantes directos participan en las reacciones de óxido-reducción eliminando las ERO; los antioxidantes indirectos inducen la expresión de enzimas citoprotectoras de fase II, éstas protegen a las células contra el daño generado por el estrés oxidante (Dinkova-Kostova y Talalay, 2008) y los antioxidantes bifuncionales son los que tienen actividad directa e indirecta. La evaluación de la capacidad antioxidante *in vitro* de los polifenoles indica la actividad antioxidante directa de éstos, la cual depende del número y disposición de los grupos hidroxilos, los cuales transfieren un electrón o un átomo de hidrógeno al radical libre para estabilizarlo. Además, los polifenoles regeneran antioxidantes primarios, quelan metales de transición como el Cu^{2+} y el Fe^{2+} y con ello disminuyen la producción del radical hidroxilo (Olszowy, 2019; Perron y Brumaghim, 2009; Shahidi y Ambigaipalan, 2015; Tsao, 2010).

Uno de los mejores antioxidantes directos derivados de los alimentos es la vitamina C, la cual tiene un valor de FRAP de $746.2 \pm 10.52 \text{ mmol Fe}^{2+}/\text{g muestra}$ (Ghasemzadeh *et al.*, 2012), en la Tabla 1 se observa que los alimentos como el té negro, té verde, café soluble, hierbabuena, menta, tomillo, orégano y cacao tienen valores cercanos al de la vitamina C, lo cual indicaría que tienen una alta actividad antioxidante directa. Sin embargo, el método FRAP únicamente detecta la capacidad de la transferencia de electrones y la reducción del Fe^{2+} y aunque sea un ensayo accesible que no requiere de equipo especializado, es necesario complementarlo con ensayos como el ORAC (del inglés, oxygen radical absorbance capacity) o algún otro basado en la transferencia de átomos de hidrógeno (Gülçin, 2012; Prior *et al.*, 2005).

La capacidad antioxidante de un alimento o bebida generalmente se puede asociar a los polifenoles presentes en éstos, sin embargo, algunos otros componentes pueden tener propiedades antioxidantes. Es por ello que se realizaron las correlaciones lineales con los dos métodos de detección de los polifenoles totales. En la Figura 2 se observa que existe una fuerte correlación lineal entre el contenido de polifenoles (método Folin-Ciocalteu) y la capacidad antioxidante, siendo más fuerte para las bebidas, debido a que tienen un mayor coeficiente de correlación lineal $r^2= 0.9658$, en comparación con las muestras sólidas ($r^2= 0.8200$), estas interpretaciones del coeficiente r^2 se realizaron con base a la tabla de Schober *et al.*, 2018. Lo anterior indicaría que al ingerir alimentos y bebidas que tengan un mayor contenido de polifenoles se podría favorecer la defensa antioxidante y con ello, se podría promover un envejecimiento saludable y un menor riesgo de enfermedades crónico degenerativas (Benzie y Choi, 2014, p. 33-34). Aunque, es necesario considerar que la actividad antioxidante de los polifenoles dependerá de su absorción, biotransformación y biodisponibilidad en el organismo, la cual está relacionada con la estructura química de estos compuestos (Scalbert y Williamson, 2000).

El contenido de polifenoles totales usualmente se cuantifica por los métodos espectrofotométricos del índice fenólico total y el de Folin-Ciocalteu (Aleixandre-Tudo y du Toit, 2019, p. 8-9).

Sin embargo, existen diferentes métodos para cuantificarlos, uno de ellos es el ISO 9648-1988, éste es un método empleado para la determinación de taninos en sorgo, en el cual se extraen los polifenoles con dimetilformamida y forman complejos con el hierro, una de las principales ventajas del ensayo es la reducción de tiempo de análisis y que no requiere de equipo especializado. El método ISO 9648-1988 considera que el ácido tánico forma un complejo con el hierro, el cual es detectado a 525 nm, sin embargo, como se mencionó anteriormente los polifenoles reaccionan con el hierro (Perron et al., 2010; Perron y Brumaghim, 2009), por lo cual podría ser un método adecuado para la cuantificación de polifenoles en diferentes matrices alimentarias y bebidas. Una de las principales desventajas del método ISO 9648-1988 es la toxicidad de la dimetilformamida, por lo cual es necesario sustituirlo con un disolvente con menor toxicidad, sin embargo en un estudio, realizaron los extractos de sorgo con etanol, metanol o acetona y observaron que la extracción no fue eficiente debido a que el contenido de taninos es menor con estos disolventes en comparación con los extractos preparados con la dimetilformamida (Wang et al., 2020), por lo cual aún se tienen que optimizar las condiciones de extracción para cada matriz alimentaria.

El método ISO 9648-1988 se utilizó en té, café, cacao, frutos, vegetales y vinos tinto y aunque no hay valores en la literatura para realizar una comparación, en la Tablas 3 y 4 se observa que éstos son congruentes con los valores obtenidos con el método de Folin-Ciocalteu, ya que las muestras con mayor contenido son el té negro, té verde, café y las de menor contenido son la cereza y la granada, evidentemente el estándar utilizado en cada metodología es diferente, sin embargo los alimentos y bebidas pueden tener más de un tipo de polifenol y éstas son aproximaciones.

Al realizarse el análisis de correlación entre el contenido de polifenoles por el método ISO 9648-1988 y la capacidad antioxidante, los coeficientes $r^2=0.8535$ y $r^2=0.4528$ indican que existe una fuerte y moderada correlación lineal para las muestras líquidas y sólidas, respectivamente, lo anterior se interpretó con base en la tabla de Schober et al., 2018. Se esperaba encontrar correlaciones similares a las obtenidas con el método Folin-Ciocalteu, sin embargo, aún se tiene que realizar la validación del método ISO 9648-1988 para otras matrices alimentarias, determinando la linealidad, precisión, exactitud y sensibilidad (Matić et al., 2017); así como la proporción de los disolventes utilizados para la extracción de los polifenoles. La validación de diferentes métodos espectrofotométricos proporcionará alternativas para la determinación del contenido de polifenoles en los alimentos, que se puedan ajustar a los recursos e infraestructura de cada laboratorio. Los métodos presentados en este trabajo son complementarios entre sí y es indispensable que se evalúe el contenido de polifenoles y la capacidad antioxidante en los alimentos y bebidas, sin embargo, es posible que en los laboratorios no se tengan los reactivos o la infraestructura necesaria para la determinación de alguno de estos parámetros y con ello hacer inferencias, obtener conclusiones parciales que tendrán que ser verificadas. Finalmente, es indispensable realizar una base de datos con los productos elaborados en el país, para tener la referencia del consumo de polifenoles en la dieta y con ello del posible efecto benéfico a la salud.

5. CONCLUSIONES

El contenido de polifenoles en alimentos y bebidas determinados por el método de Folin-Ciocalteu tiene una muy fuerte correlación lineal con la capacidad antioxidante de éstos, mientras que la correlación entre el contenido de polifenoles en alimentos y vinos tinto determinados por el método ISO 9648-1988 y la capacidad antioxidante es de fuerte a moderada. Lo anterior indicaría que al ingerir alimentos y bebidas que tengan un mayor contenido

de polifenoles tienen una mayor capacidad antioxidante, favoreciendo la defensa antioxidante del organismo. Los métodos descritos en este trabajo proporcionan información específica, sin embargo, son complementarios entre ellos. Los métodos de análisis se tienen que validar y adaptarse a la infraestructura de cada laboratorio.

REFERENCIAS

1. Aleixandre-Tudo, J., & du Toit, W. (2019). The Role of UV-Visible Spectroscopy for Phenolic Compounds Quantification in Winemaking. En R. L. Solís-Oviedo & Á. de la Cruz Pech-Canul (Eds.), *Frontiers and New Trends in the Science of Fermented Food and Beverages*. (pp. 8-9) IntechOpen. Recuperado de <https://www.intechopen.com/chapters/62738> DOI: <https://doi.org/10.5772/intechopen.79550>
2. Benzie, I. F. F., & Choi, S.-W. (2014). Antioxidants in Food: Content, measurement, significance, action, cautions, caveats, and research needs. En H. Jeyakumar (Ed). *Advances in Food and Nutrition Research* (Vol. 71, pp. 1-53). San Diego. Elsevier. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800270-4.00001-8>
3. Benzie, I. F. F., & Strain, J. J. (1996). The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of "Antioxidant Power": The FRAP Assay. *Analytical Biochemistry*, 239(1), 70-76. DOI: <https://doi.org/10.1006/abio.1996.0292>
4. Brglez Mojzer, E., Knez Hrnčič, M., Škerget, M., Knez, Ž., & Bren, U. (2016). Polyphenols: Extraction Methods, Antioxidative Action, Bioavailability and Anticarcinogenic Effects. *Molecules*, 21(7), 901. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules21070901>
5. Cory, H., Passarelli, S., Szeto, J., Tamez, M., & Mattei, J. (2018). The Role of Polyphenols in Human Health and Food Systems: A Mini-Review. *Frontiers in Nutrition*, 5, 87. DOI: <https://doi.org/10.3389/fnut.2018.00087>
6. Deshpande, S. S., Cheryan, M., Salunkhe, D. K., & Luh, B. S. (1986). Tannin analysis of food products. *CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 24(4), 401-449. DOI: <https://doi.org/10.1080/10408398609527441>
7. Dinkova-Kostova, A. T., & Talalay, P. (2008). Direct and indirect antioxidant properties of inducers of cytoprotective proteins. *Molecular Nutrition & Food Research*. DOI: <https://doi.org/10.1002/mnfr.200700195>
8. Forman, H. J., & Zhang, H. (2021). Targeting oxidative stress in disease: Promise and limitations of antioxidant therapy. *Nature Reviews Drug Discovery*, 20(9), 689-709. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41573-021-00233-1>
9. Fraga, C. G., Croft, K. D., Kennedy, D. O., & Tomás-Barberán, F. A. (2019). The effects of polyphenols and other bioactives on human health. *Food & Function*, 10(2), 514-528. DOI: <https://doi.org/10.1039/C8FO01997E>
10. Gülçin, İ. (2012). Antioxidant activity of food constituents: An overview. *Archives of Toxicology*, 86(3), 345-391. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00204-011-0774-2>
11. Güneş Bayir, A., Aksoy, A. N., & Koçyiğit, A. (2019). The Importance of Polyphenols as Functional Food in Health. *Bezmialem Science*, 7(2), 157-163. DOI: <https://doi.org/10.14235/bas.galenos.2018.2486>
12. Hano, C., & Tungmunnithum, D. (2020). Plant Polyphenols, More than Just Simple Natural Antioxidants: Oxidative Stress, Aging and Age-Related Diseases. *Medicines*, 7(5), 26. DOI: <https://doi.org/10.3390/medicines7050026>

13. Matic, P., Sabljic, M., & Jakobek, L. (2017). Validation of Spectrophotometric Methods for the Determination of Total Polyphenol and Total Flavonoid Content. *Journal of AOAC INTERNATIONAL*, 100(6), 1795-1803. **DOI:** <https://doi.org/10.5740/jaoacint.17-0066>
14. Mercado-Mercado, G., de la Rosa Carrillo L., Wall-Medrano, A., López-Díaz, J.A., Álvarez-Padilla, E. (2013). Compuestos polifenólicos y capacidad antioxidante de especias típicas. *Nutrición Hospitalaria*, 1, 36-46. **DOI:** <https://doi.org/10.3305/nh.2013.28.1.6298>
15. Olszowy, M. (2019). What is responsible for antioxidant properties of polyphenolic compounds from plants? *Plant Physiology and Biochemistry*, 144, 135-143. **DOI:** <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2019.09.039>
16. Pandey, K. B., & Rizvi, S. I. (2009). Plant Polyphenols as Dietary Antioxidants in Human Health and Disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2(5), 270-278. **DOI:** <https://doi.org/10.4161/oxim.2.5.9498>
17. Perron, N. R., & Brumaghim, J. L. (2009). A Review of the Antioxidant Mechanisms of Polyphenol Compounds Related to Iron Binding. *Cell Biochemistry and Biophysics*, 53(2), 75-100. **DOI:** <https://doi.org/10.1007/s12013-009-9043-x>
18. Perron, N. R., Wang, H. C., DeGuire, S. N., Jenkins, M., Lawson, M., & Brumaghim, J. L. (2010). Kinetics of iron oxidation upon polyphenol binding. *Dalton Transactions*, 39(41), 9982. **DOI:** <https://doi.org/10.1039/c0dt00752h>
19. Phaniendra, A., Jestadi, D. B., & Periyasamy, L. (2015). Free Radicals: Properties, Sources, Targets, and Their Implication in Various Diseases. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 30(1), 11-26. **DOI:** <https://doi.org/10.1007/s12291-014-0446-0>
20. Pizzino, G., Irrera, N., Cucinotta, M., Pallio, G., Mannino, F., Arcoraci, V., Squadrito, F., Altavilla, D., & Bitto, A. (2017). Oxidative Stress: Harms and Benefits for Human Health. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2017, 1-13. **DOI:** <https://doi.org/10.1155/2017/8416763>
21. Prior, R. L., Wu, X., & Schaich, K. (2005). Standardized Methods for the Determination of Antioxidant Capacity and Phenolics in Foods and Dietary Supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(10), 4290-4302. **DOI:** <https://doi.org/10.1021/jf0502698>
22. Scalbert, A., & Williamson, G. (2000). Dietary Intake and Bioavailability of Polyphenols. *The Journal of Nutrition*, 130(8), 2073S-2085S. **DOI:** <https://doi.org/10.1093/jn/130.8.2073S>
23. Schober, P., Boer, C., & Schwarte, L. A. (2018). Correlation Coefficients: Appropriate Use and Interpretation. *Anesthesia & Analgesia*, 128(5), 1763-1768. **DOI:** <https://doi.org/10.1213/ANE.0000000000002864>
24. Shahidi, F., & Ambigaipalan, P. (2015). Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects - A review. *Journal of Functional Foods*, 18, 820-897. **DOI:** <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.06.018>
25. Silva, R. F. M., & Pogažnik, L. (2020). Polyphenols from Food and Natural Products: Neuroprotection and Safety. *Antioxidants*, 9(1), 61. **DOI:** <https://doi.org/10.3390/antiox9010061>
26. Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventós, R. M. (1999). [14] Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. En *Methods in Enzymology* (Vol.

- 299, pp. 152-178). Elsevier. **DOI:** [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(99\)99017-1](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99017-1)
27. Stratil, P., Klejdus, B., & Kubáň, V. (2006). Determination of Total Content of Phenolic Compounds and Their Antioxidant Activity in Vegetables Evaluation of Spectrophotometric Methods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(3), 607-616. **DOI:** <https://doi.org/10.1021/jf1052334j>
28. Tsao, R. (2010). Chemistry and Biochemistry of Dietary Polyphenols. *Nutrients*, 2(12), 1231-1246. **DOI:** <https://doi.org/10.3390/nu2121231>
29. Wang, X., Han, X., Li, L., & Zheng, X. (2020). Optimization for quantification of sorghum tannins by Ferric ammonium citrate assay. *Grain & Oil Science and Technology*, 3(4), 146-153. **DOI:** <https://doi.org/10.1016/j.gaost.2020.07.001>
30. Xiao, F., Xu, T., Lu, B., & Liu, R. (2020). Guidelines for antioxidant assays for food components. *Food Frontiers*, 1(1), 60-69. **DOI:** <https://doi.org/10.1002/fft2.10>



Titulo: S/T [lata modelo]
Artista: Nelson Medina
Técnica: Óleo sobre tela
Medidas: 150 x 150 cm
Año: 2016