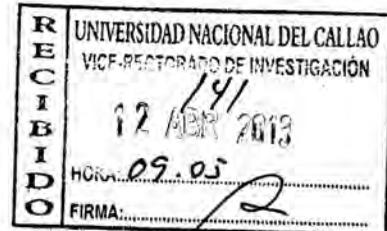


№ de Ingreso **IF**  
1244  
ABR 2013

**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL CALLAO**  
**VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN**  
**FACULTAD DE INGENIERÍA PESQUERA Y DE ALIMENTOS**



**INFORME FINAL**

**"EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE POR EL MÉTODO FRAP  
DE UN POSIBLE ALIMENTO FUNCIONAL"**

**Q.F NESTOR GOMERO OSTOS**

*CP*

( PERIODO: 01 Mayo 2012 – 30 Abril 2013 )  
(Resolución Rectoral Nº 391-2012-R de fecha 11 de mayo del 2012)

**2013**



## **INDICE**

### **RESUMEN**

#### **I. INTRODUCCIÓN**

- 1,1 Descripción y análisis del tema.** 3
- 1,2 Importancia y justificación de la investigación.** 2
- 1,3 Objetivos y alcance de la investigación** 8
  - 1.3.1 Objetivo general** 8
  - 1.3.2 Objetivos específicos** 8
  - 1.3.3 Alcances de la investigación.** 9

#### **II. MARCO TEORICO**

- 2,1 Alimentos, definición:** 11
- 2,2 Clasificación de los alimentos naturales:** 13
  - 2.2.1 Por su composición general:** 13
  - 2.2.2 Por su naturaleza** 13
  - 2.2.3 Por su composición química:** 13
  - 2.2.4 Por la función principal que cumplen en el organismo:** 14
  - 2.2.5 Por su procedencia:** 14
  - 2.2.6 Por sus posibilidades de conservación:** 15
- 2,3 Nutrientes** 15
  - 2.3.1 Definición** 15
  - 2.3.2 Nutrientes esenciales** 17

*Handwritten mark*

2.3.2.1	Macro-Nutrientes:	17
2.3.2.2	Micro-Nutrientes:	18
2.3.3	Funciones:	19
2.3.3.1	Función calórica o energética:	19
2.3.3.2	Función plástica o estructural	19
2.3.3.3	Función reguladora	19
2.4	Fitonutrientes:	20
2.4.1	Tipos de fitonutrientes, su pigmentación, sus propiedades sobre el organismo y dónde encontrarlos:	22
2.4.1.1	Lycopeno – Rojo –	22
2.4.1.2	Flavonoides – Rojo/Morado-	22
2.4.1.3	Alfacaroteno y betacaroteno – Naranja-	22
2.4.1.4	Criptoxantina y terpenos – Naranja/amarillo-	22
2.4.1.5	Luteína, zeaxantina y carotenoides – Amarillo/verde-	22
2.4.1.6	Sulfurafanos – Verde-	23
2.4.1.7	Organosulfidos – Blanco-	23
2.4.1.8	Antocianinas – Azul/morado-	23
2.4.2	Posible actividad de los fitonutrientes en nuestro organismo	23
2.4.2.1	Actuando como antioxidantes	23
2.4.2.2	Aumentando la respuesta del sistema inmunológico	24
2.4.2.3	Mejorando la comunicación entre las células –	24
2.4.2.4	Alterando el metabolismo del estrógeno –	24
2.4.2.5	Convirtiéndose en vitamina A	24

2.4.2.6	Haciendo que las células cancerosas mueran.	24
2.4.2.7	Reparando daños al ADN de las células causado por el fumar y otras sustancias tóxicas.	24
<b>2,5</b>	<b>Alimentos Funcionales:</b>	<b>27</b>
2.5.1	¿Qué son los alimentos funcionales?	27
2.5.2	¿Por qué necesitamos los alimentos funcionales?	28
2.5.3	¿Cómo están reguladas las alegaciones de salud?	29
2.5.4	Marco jurídico europeo de los alimentos funcionales y las alegaciones de salud.	33
2.5.4.1	La acción concentrada FUFOSSE	33
2.5.4.2	Validación de alegaciones y aspectos sobre seguridad	37
2.5.5	Compuestos fenólicos	40
2.5.5.1	Estructura y clasificación de los fenoles	40
2.5.5.2	Ácidos fenólicos	41
2.5.5.3	Flavonoides	43
2.5.5.4	Taninos	44
2.5.6	Actividad antioxidante de los compuestos fenólicos	44
2.5.6.1	Como antiradicalarios	44
2.5.6.2	Como quelantes de metales	45
<b>2,6</b>	<b><i>Brassica oleracea</i> L. var. <i>italica</i> Plenck "Brócoli"</b>	<b>46</b>
2.6.1	Características generales del Brócoli:	46
2.6.2	Cómo Seleccionar y Almacenar el Brócoli	47
2.6.3	Brócoli y los Radicales Libres:	48
2.6.4	Brócoli y la Salud de la Mujer:	48

27

2.6.5	Brócoli y Cáncer de Próstata:	50
2.6.6	Brócoli y Cáncer de Vejiga:	51
2.6.7	Brócoli y la Bacteria Helicobacter pylori:	51
2.7	Capacidad antioxidante:	52
2.8	Determinación de la capacidad antioxidante:	54
2.8.1	Método ABTS:	54
2.8.2	Método FRAP:	55
2.9	Determinación de los polifenoles totales	55
2.9.1	Método Folin-Ciocalteu	55
2.10	Elaboración de karamanduka	57
2.10.1	Ingredientes	57
2.10.2	Preparación:	58
III.	MATERIALES Y MÉTODOS /	59
3.1	Materiales:	59
3.2	Equipos:	60
3.3	Reactivos:	60
3.4	Muestras:	60
3.5	Métodos:	60
3.5.1	Determinación de polifenoles totales:	60
3.5.2	Determinación de la capacidad antioxidante:	61

*Handwritten mark*

<b>3,6</b>	<b>Procesamiento de la muestra:</b>	<b>62</b>		
	<b>3.6.1</b>	<b>Obtención de extractos</b>	<b>64</b>	
		<b>3.6.1.1</b>	<b>Muestra 01:</b>	<b>65</b>
		<b>3.6.1.2</b>	<b>Muestra 02:</b>	<b>65</b>
		<b>3.6.1.3</b>	<b>Muestra 03:</b>	<b>65</b>
		<b>3.6.1.4</b>	<b>Muestra 04:</b>	<b>65</b>
	<b>3.6.2</b>	<b>Lectura de las diluciones:</b>	<b>66</b>	
<b>IV.</b>	<b>RESULTADOS</b> ✓	<b>67</b>		
<b>V.</b>	<b>DISCUSION:</b> ✓	<b>69</b>		
	<b>CONCLUSIONES</b> ✓	<b>70</b>		
<b>VI.</b>	<b>REFERENCIALES</b> ✓	<b>71</b>		
<b>VII.</b>	<b>APENDICES</b> ✓	<b>74</b>		
	<b>Apéndice 01:</b>	<b>74</b>		
	<b>Apéndice 02:</b>	<b>74</b>		
	<b>Apéndice 03:</b>	<b>75</b>		
	<b>Apéndice 04:</b>	<b>75</b>		
	<b>Apéndice 05:</b>	<b>76</b>		
	<b>Apéndice 06:</b>	<b>76</b>		
<b>VIII.</b>	<b>ANEXOS</b> ✓	<b>77</b>		
	<b>Anexo 01:</b>	<b>77</b>		
	<b>Anexo 02:</b>	<b>78</b>		

*CV*

## RESUMEN

El presente trabajo tiene como objetivo determinar si la incorporación de brócoli deshidratado en la formulación de un producto de panificación, le permite mostrar a este último capacidad antioxidante de tal manera que le pueda considerar como un alimento funcional.

Existen evidencias epidemiológicas de una asociación inversa entre **consumo de brócoli**, otras crucíferas (col, coliflor y col de Bruselas) y **riesgo de cáncer**; las propiedades anticancerígenas de estos vegetales se han atribuido a sus altos contenidos de **glucosinolatos**, en nuestro cuerpo es degradado luego por una enzima a otros compuestos llamados **indoles**, **isotiocianatos**, **sulforafano**, entre otros quienes tienen propiedades quimiopreventivas del cáncer, particularmente el de mama; demostrando ser inductor de un tipo particular de enzima desactivante de la fase II de la carcinogénesis, también se sabe que los brotes tiernos del brócoli contienen mayores niveles de **glucosinolatos**.

Por referencias que datan en un trabajo anterior decidimos deshidratar el brócoli por 24 horas a 60 °C, trituramos el producto y así se incorporó en la formulación de la karamanduca. Luego se prepararon extractos metanólicos de karamanducas con brócoli y karamanduca sin brócoli que diluidos apropiadamente se leen en un espectrofotómetro modelo Spectroquant pharo 300 M resultando una capacidad antioxidante equivalente a 0.213 mM Fe<sup>+2</sup> en cada karamanduca con brócoli y no un valor mayor como se esperaba debido a la destrucción térmica en la superficie del producto durante el horneado, pero muy superior a 0.079 mM Fe<sup>+2</sup> que ofrece la karamanduca sola.

## I. INTRODUCCIÓN

La principal función de la dieta es aportar los nutrientes necesarios para satisfacer las necesidades nutricionales de las personas. Existen cada vez más pruebas científicas que apoyan la hipótesis de que ciertos alimentos, así como algunos de sus componentes tienen efectos físicos y psicológicos beneficiosos, gracias al aporte de los nutrientes básicos. Hoy en día, la ciencia de la nutrición ha evolucionado a partir de conceptos clásicos, como evitar las deficiencias de nutrientes y la suficiencia nutricional básica, a los conceptos de nutrición "positiva" u "óptima". Las investigaciones han pasado a centrarse más en la identificación de componentes biológicamente activos en los alimentos, que ofrezcan la posibilidad de mejorar las condiciones físicas y mentales, así como de reducir el riesgo a contraer enfermedades. Se ha descubierto que muchos productos alimenticios tradicionales, como las frutas, las verduras, la soja, los granos enteros y la leche contienen componentes que pueden resultar beneficiosos para la salud. Además de éstos, se están desarrollando nuevos alimentos que añaden o amplían estos componentes beneficiosos, por las ventajas que suponen para la salud y sus convenientes efectos psicológicos.

**El brócoli**, quien ofrece diferentes bondades terapéuticas, pero de todas ellas una en especial, la capacidad antioxidante es el motivo del presente trabajo pero atendiendo a un detalle en particular, si bien es cierto deshidratado adecuadamente mantiene esta capacidad antioxidante, buscamos saber cuánto de esta capacidad persiste cuando se le incluye como parte de un producto de panificación.

## 1.1 Descripción y análisis del tema.

Consciente de que la salud es el patrimonio máspreciado que posee el ser humano, Hipócrates lanza el conocido aforismo que prescribe:

**"Que tu alimento sea tu medicina, y que tu medicina sea tu alimento".**

El avance de la ciencia y sus métodos de investigación, permiten en la actualidad conocer plenamente la composición química de los alimentos y no solo eso sino también las propiedades nutritivas y/o terapéuticas que tiene cada uno de estos componentes. Se tiene, por tanto, disponible mucha información sobre alimentos que ayudan a las funciones del hígado, riñones, piel, sistema circulatorio y otros, actuando para tal efecto como inhibidores de muchas reacciones químicas oxidativas que provocarían degeneración celular e histológica que afectarían importantes órganos y expondría nuestra salud a tal punto de poner en riesgo nuestra vida.

Se escucha con frecuencia que **"somos lo que comemos"**, y es que es una afirmación totalmente cierta, puesto que los alimentos determinarán muchos aspectos de nuestra salud. Por tanto mantener una alimentación equilibrada entre frutas y verduras, huevos y pescados, nos ayudará a dotar al organismo de nutrientes como **las vitaminas, los minerales, antioxidantes y demás sustancias que el cuerpo necesita para poder realizar**

**correctamente sus funciones habituales** entre las que se considera el buen estado de la mente.

Lastimosamente, para algunas personas existe poco agrado por el consumo de verduras, crudas ó cocidas, alterando el equilibrio antes mencionado. El brócoli, representa casualmente uno de estos productos que si lo deshidratamos presenta capacidad antioxidante con la ventaja de la eliminación de olor y/o sabor desagradable, pero no es común su consumo así y por ello buscamos incluir el deshidratado en alguna formulación de consumo masivo.

Por esta razón, buscamos en el presente trabajo conocer si el brócoli deshidratado, que ensayamos incorporando en la formulación de las karamanducas, mantiene su capacidad antioxidante sin que la cantidad agregada afecte de manera significativa los caracteres organolépticos del producto de panificación mencionado.

Pero, también es preciso tener en consideración que entre los diferentes tipos de componentes químicos presentes en los alimentos vegetales se manifiestan reacciones que son catalizadas precisamente por el calor de la deshidratación. Las vitaminas, muchas de ellas termosensibles no soportan este tratamiento y por tanto se reduce o pierde su disponibilidad nutricional. Los diferentes tipos de fitonutrientes son afectados de tal manera que, algunas mejoran su disponibilidad en el alimento y otros la disminuyen.

Para hacer una evaluación más detallada de lo que sucede con la propiedad antioxidante del brócoli en el producto de panificación terminado es que mediremos la capacidad antioxidante que presenta la karamanduca sin agregar brócoli y la karamanduca con el agregado de brócoli.

## **1.2 Importancia y justificación de la investigación.**

El aumento de la prevalencia de las enfermedades crónicas no transmisibles (ECNT) relacionadas con la alimentación de la población ha conducido a un mayor interés por estudiar la relación alimentación y salud. En este sentido, estudios epidemiológicos han demostrado una menor incidencia de las mismas con patrones alimentarios que involucran un alto consumo de frutas y verduras. Esta situación ha motivado a investigar las propiedades químicas de estos alimentos que, además de su importancia nutricional, muestran un efecto protector de la salud, expresado por una disminución del riesgo de sufrir determinadas patologías.

Los frutos, en adición a los nutrientes esenciales y a una serie de micronutrientes tales como minerales, fibras y vitaminas, aportan diversos componentes metabolitos secundarios de naturaleza fenólica, denominados polifenoles. El consumo de frutas y verduras está asociado al bajo riesgo de incidencias y mortalidad de cáncer, y a menores índices de mortalidad por enfermedad coronaria, según se desprende de diversos estudios

epidemiológicos. Los fenoles, especialmente los flavonoides y los antocianos, muestran una gran capacidad para captar radicales libres causantes del estrés oxidativo, atribuyéndoseles a su vez un efecto beneficioso en la prevención de enfermedades tales como: cardiovasculares, circulatorias, cancerígenas y neurológicas. Poseen actividades anti-inflamatoria, antialérgica, antitrombótica, antimicrobiana y antineoplásica.

**Las verduras crucíferas han demostrado tener efectos preventivos contra el cáncer, la aterosclerosis y otras enfermedades degenerativas.**

El brócoli (*Brassica oleracea* var. *Itálica*) es una de las crucíferas más comúnmente consumida en la dieta humana debido a que es un vegetal con aspectos nutritivos favorables, como la presencia de vitaminas, particularmente las que actúan como antioxidantes (ácido ascórbico y betacaroteno) y fibra dietaria <sup>(12)</sup>.

El indol-3-carbinol (I-3-C) es un producto derivado de la glucobrasicina glucosinolato también conocido como indol-3-glucosinolato. Los glucosinolatos se encuentran principalmente en los vegetales crucíferos (brócoli, col, col de Bruselas, coliflor, col rizada, nabos, etc.).

El propio I-3-C no es activo. Cuando el I-3-C entra en contacto con el ácido gástrico se convierte en sus metabolitos activos, el diindolimetano y el indoilcarbazol. Por eso, el I-3-C administrado

parenteralmente no produce metabolitos activos. Este detalle es trascendental para asegurar que los productos alimenticios que presenten este compuesto nos beneficiarán con sus propiedades cuando los utilicemos como alimentos.

En la actualidad, se sabe que el I-3-C puede modular el metabolismo de los estrógenos. También puede tener efectos anti-aterogénicos, antioxidantes y anticancerígenos. El I-3-C puede estimular a las enzimas naturales desintoxicantes de nuestro cuerpo.

Se ha demostrado que los metabolitos estrogénicos 16-alfa-hidroxiestróna y 4-hidroxiestróna son cancerígenos y se cree que son responsables de los posibles efectos cancerígenos del estrógeno. Por otro lado, se ha descubierto que el metabolito estrogénico 2-hidroxiestróna es protectora contra varios tipos de cáncer, incluyendo el cáncer de mamá. Se ha demostrado que el I-3-C aumenta la relación de 2-hidroxiestróna a 16-alfa-hidroxiestróna y también inhibe la 4-hidroxilación del estradiol. <sup>(20)</sup>

Por lo tanto, considerando que la forma ideal de incrementar la actividad antioxidante en el organismo es mediante el consumo de los alimentos que lo contienen, se deben tener en cuenta diferentes factores que limitarían el consumo de los mismos (propuesto en la parte del planteamiento del problema) y una alternativa que podría subsanar lo anterior podría ser la inclusión de estos en productos de consumo masivo y sobre todo de

consumo frecuente tal como lo representan los productos de panificación pero teniendo la seguridad de que ofrezcan similar capacidad antioxidante y que es precisamente lo que queremos determinar en el presente trabajo.

Ante la problemática expuesta, surge la alternativa de la presente investigación:

**¿ Podrá mostrar capacidad antioxidante un producto alimenticio que contiene brócoli deshidratado que ha sido sometido al proceso de panificación, y comportarse como un alimento funcional ?**

### **1.3 Objetivos y alcance de la investigación**

#### **1.3.1 Objetivo general**

Elaborar un producto de panificación (karamanduka) que contiene brócoli deshidratado y evaluar la capacidad antioxidante de una muestra de este producto.

#### **1.3.2 Objetivos específicos**

- Evaluar la capacidad antioxidante del extracto de brócoli deshidratado a 60 °C. por el método FRAP.
- Elaborar un producto alimenticio agregándole en su masa cantidad medida de brócoli deshidratado para luego someter al proceso de panificación.

- Evaluar la capacidad antioxidante del extracto de una muestra del producto de panificación con cantidad definida de brócoli deshidratado.
- Relacionar la capacidad antioxidante de una cantidad definida del brócoli deshidratado con la capacidad antioxidante de una muestra del producto de panificación que contenga igual cantidad del brócoli deshidratado.

### **1.3.3 Alcances de la investigación**

El presente trabajo se proyecta no solo al conocimiento en el ámbito académico, también a:

- Poder establecer una relación, desde el punto de vista de su capacidad antioxidante, entre la cantidad de brócoli deshidratado que se incorpora y la capacidad antioxidante que resulta en el producto de panificación después de su cocción, de tal manera que se pueda recomendar consumir una cantidad apropiada de este producto como un alimento funcional.
- Poder utilizar los resultados del presente trabajo como una referencia para tener el criterio apropiado en la posibilidad de confeccionar un producto alimenticio a

base del producto deshidratado e inclusive a base de un extracto acuoso o hidroalcohólico concentrado de dicho producto deshidratado, de tal manera que se simplifique la forma de consumo debido a que los productos de panificación son de consumo masivo y casi siempre muy frecuentes.

- Proyectar a la comunidad el carácter antioxidante que presenta el brócoli y los preparados alimenticios que lo puedan contener y así aprovechar todas sus bondades preventivas y/o curativas como cuando se le consume fresco, deshidratado o bajo la forma de extracto concentrado.

## II. MARCO TEORICO

### 2.1 Alimentos, definición:

De acuerdo con la evolución de la alimentación y con una concepción integral de la misma, el concepto de **Alimento** ha ido experimentando modificaciones e incorporando en su definición aspectos más amplios que los estrictamente biológicos. <sup>(3)</sup>

Inicialmente, desde una simple concepción biológica se definía **Alimento** como:

***“Toda sustancia que incorporada al organismo, cumpla una función de nutrición.”***

Más adelante, teniendo en cuenta las connotaciones psicológicas y socioculturales que rodean a la selección y el consumo de los alimentos, se llegó a una definición más amplia que trasciende el aspecto meramente biológico.

Es así que actualmente la concepción integral define al **Alimento** como:

***“Toda sustancia natural, de origen animal, vegetal o mineral, que contenga en su composición aportes energéticos y nutritivos para el organismo, y con cualidades sensoriales (color, aroma, sabor, etc.) que exciten nuestros sentidos. Y que además de nutrir satisfaga el apetito, constituyendo un***

***estímulo psico-físico, con significado emocional y que actúe como factor de integración social.”<sup>(3)</sup>***

Los adelantos tecnológicos logrados en los últimos años en todos los rubros de la industria alimentaria han posibilitado el desarrollo de una gran variedad de derivados a partir de la manipulación de los alimentos naturales.

En el marco de la concepción bromatológica se define **Alimento** como:

***“Toda sustancia o mezcla de sustancias, naturales o elaboradas, que ingeridas aporten al organismo los materiales y/o la energía necesarios para el desarrollo de los procesos biológicos.***

***Esta definición incluye a las sustancias o mezclas de sustancias, que se ingieren por hábito, costumbres o como coadyuvantes, tengan o no valor nutritivo.”<sup>(14)</sup>***

Esto supone que la legislación bromatológica incluye entre los alimentos, además de aquellos que tienen funciones nutritivas conocidas, a sustancias que, sin tener estas funciones, sirven para mejorar su sabor, presentación, conservación, etc. y por lo tanto cumplen un rol importante en el consumo de los alimentos.

Entre ellas están los *aditivos alimentarios* como edulcorantes artificiales, colorantes, conservantes, antioxidantes de grasas, etc.

## **2.2 Clasificación de los alimentos naturales:**

Se han propuesto numerosas formas de clasificar a los alimentos naturales, entre ellas podemos citar:<sup>(3)</sup>

### **2.2.1 Por su composición general:**

a) Simples: formados por un solo tipo de nutriente. Ejemplo: agua, sal.

b) Compuestos: están constituidos por varios tipos de nutrientes. Son la inmensa mayoría. Por ejemplo: las frutas proporcionan principalmente vitaminas y sales minerales que son reguladoras, pero también son ricas en glúcidos que aportan energía.

### **2.2.2 Por su naturaleza:**

a) Vegetales

b) Animales

c) Minerales

### **2.2.3 Por su composición química: (según el nutriente que más abunda)**

a) Hidrocarbonados

b) Proteicos

- c) Grasos
- d) Vitamínicos
- e) Con fibras

**2.2.4 Por la función principal que cumplen en el organismo:**

- a) Energéticos
- b) Plásticos
- c) Reguladores

**2.2.5 Por su procedencia:**

- a) Cráneos
- b) Lácteos
- c) Huevos
- d) Cereales, Pastas y Legumbres
- e) Hortalizas y Frutas
- f) Aceites y grasas
- g) Azúcares y dulces
- h) Infusiones y Bebidas



## 2.2.6 Por sus posibilidades de conservación:

- a) Perecederos
- b) Semi-Perecederos
- c) No Perecederos

En el manejo dietético-nutricional habitual, se utiliza como base la clasificación por procedencia, y dentro de esta se combinan las clasificaciones por composición química y funciones.

Dentro de cada sub-categoría existe una amplia variedad de alimentos naturales, y un sinnúmero de derivados y subproductos que se obtienen a partir de la manufactura y el procesamiento industrial de los mismos.<sup>(3)</sup>

## 2.3 Nutrientes

### 2.3.1 Definición:

Todo alimento posee una composición química que le es dada por una combinación de **nutrientes**, también llamados *Principios Alimenticios*, a los que se define como:<sup>(3)</sup>

***"Toda sustancia integrante normal de los alimentos, cada uno de ellos con características químicas específicas."***

Los alimentos podrían representarse como el "Continente" y los nutrientes como el "Contenido".

En los alimentos los nutrientes rara vez se encuentran en forma aislada sino formando combinaciones más o menos variadas según el alimento del que se trate.

Luego de ser ingeridos y recién cuando se ha completado el proceso digestivo, los nutrientes quedan libres, instancia imprescindible para que puedan ser absorbidos y llegar a la unidad final donde van a ser utilizados: las células de los diferentes tejidos.

Allí es donde se define su destino final: pueden ser incorporados a la estructura celular, o ser utilizados como fuente de energía, o bien participar como intermediarios en los innumerables procesos metabólicos. <sup>(14)</sup>

**Cuando estas funciones han sido aseguradas los nutrientes "sobrantes" pueden:**

- a) Ser transformados en grasas de almacenamiento, o
- b) Ser almacenados en depósitos específicos para cada uno de ellos, o bien
- c) Ser vehiculizados hasta los diversos órganos excretores para su eliminación

### 2.3.2 Nutrientes Esenciales:

Hay sustancias imprescindibles que el organismo no puede sintetizar, o lo hace en forma insuficiente, y para las cuales posee escasa o nula capacidad de reserva. Estos son los denominados **Nutrientes Esenciales** también llamados *Principios Nutritivos*, definidos como:

***“Toda sustancia integrante del organismo, cuya ausencia en la alimentación o su disminución por debajo de un límite mínimo, ocasiona después de un tiempo variable, una enfermedad por carencia.”***

Tomando como parámetro la *cantidad en que se encuentran presentes en los alimentos* los diferentes principios nutritivos, pueden dividirse en 2 grupos principales:

**2.3.2.1 Macro-Nutrientes:** Son los elementos **predominantes en cantidad** en los alimentos, suele llamárselos *principios inmediatos*:

- a) Hidratos de carbono o Glúcidos
- b) Proteínas o Prótidos
- c) Grasas o Lípidos

La mayoría de los alimentos están compuestos por una mezcla de 2 o hasta los 3 tipos de estos **Macro-Nutrientes** en diferentes proporciones, y a pesar de que en general predomina 1 de ellos, hay casos en los que 1 solo tipo de nutriente forma parte del alimento, como sucede con el azúcar (puro carbohidrato) o la clara de huevo (pura proteína), por citar unos ejemplos.

**2.3.2.2 Micro-Nutrientes:** Son un sinnúmero de sustancias presentes en **cantidades pequeñas** en los alimentos:



- a) las Vitaminas
- b) los Minerales

Por fuera de estas 2 categorías, pero no por ello menos importantes, se encuentran 2 elementos que actualmente son considerados también como nutrientes en virtud de la importancia que reviste su presencia en la alimentación:

- a) Agua: abundante del organismo

b) Fibra, por los efectos favorables que brinda su inclusión en la dieta

En algunos casos el *alcohol* es considerado también como nutriente, en especial en individuos para los que forma parte importante de su alimentación.

### **2.3.3 Funciones:**

Desde el **punto de vista biológico** se reconocen 3 funciones específicas que, como ya citamos en la clasificación, están determinadas por la composición química, o sea de acuerdo al tipo de nutriente predominante en el alimento.

FD

#### **2.3.3.1 Función calórica o energética:**

Principalmente los carbohidratos, las grasas y en casos excepcionales las proteínas.

#### **2.3.3.2 Función plástica o estructural:**

La brindan fundamentalmente las proteínas y algunos tipos de grasas.

#### **2.3.3.3 Función reguladora:**

Es propia de las vitaminas, minerales, y por supuesto el agua.

Es casi común que estos principios nutritivos intercambien sus funciones, y también que se transformen unos en otros en las diversas vías metabólicas, de acuerdo a las necesidades biológicas del momento. <sup>(14)</sup>

Hay además, otras funciones relativas al **rol psico-social** de los alimentos, son llamadas *funciones paraespecíficas* que implican la satisfacción que provocan los alimentos al individuo y las relaciones sociales que se desenvuelven en torno a la comida.

#### **2.4 Fitonutrientes:**

Son compuestos propios de los vegetales que aportan distintos beneficios al organismo. De manera amplia, se puede decir que están relacionados con los pigmentos propios de los vegetales – los mismos que le dan su determinado color- los cuales, por ejemplo, pueden ayudar a combatir enfermedades degenerativas del cuerpo, entre otros efectos benéficos.

Hay que aclarar que esta clasificación de fitonutriente excluye a cualquier otro nutriente como las vitaminas y minerales, es decir, son de otra especie, y por eso no se los ha englobado en esta clasificación.

Estos compuestos químicos –por eso mismo, también se los conoce como fitoquímicos- son propios de las plantas que, además de otorgarles su color- las ayudan a protegerlas de todo agente externo dañino y superar toda inclemencia propia de su ambiente ya sea físico, químico o biológico.

Los fitonutrientes más conocidos son: los flavonoides, carotenoides, terpenos, luteína, sulfurafanos, entre otros. Otra de las diferencias que tienen con respecto a los macro y micronutrientes es que carecen de valor nutricional. Sin embargo, actúan como antioxidantes naturales: ayudan en la eliminación de toxinas, resguardan al ADN celular, inhiben ciertas sustancias cancerígenas, fortalecen al sistema inmunológico y, a su vez, ayudan en la prevención de enfermedades crónicas degenerativas como pueden ser las cataratas, artritis, diabetes, arterosclerosis, etc.

Además, vale detallar que cada uno de estos tipos de fitonutrientes, relacionados con un tipo en especial de pigmento, tienen distintas funciones dentro de las tareas de cuidado y prevención en el organismo: así por ejemplo, los pigmentos verde y rojo intenso del repollo, la lechuga, los tomates y las fresas, favorecen la absorción de los rayos ultravioletas del sol, y contrarrestan así su posible daño sobre la piel. <sup>(20)</sup>

**2.4.1 Tipos de fitonutrientes, su pigmentación, sus propiedades sobre el organismo y dónde encontrarlos:**

**2.4.1.1 Licopeno – Rojo** – Combaten las afecciones coronarias y protegen contra el cáncer de próstata: tomates, toronja rosada y guayaba.

**2.4.1.2 Flavonoides – Rojo/Morado-** Evitan afecciones cardíacas y coágulos en la sangre: uva, manzana, ciruelas, arándano, fresa y moras.

**2.4.1.3 Alfacaroteno y betacaroteno – Naranja-** Buenos como antioxidantes, protegen contra el cáncer y las enfermedades pulmonares graves: calabazas, zanahorias, mangos.

**2.4.1.4 Criptoxantina y terpenos – Naranja/amarillo-** Previenen úlceras y cierto tipo de cáncer: mandarinas, naranjas, durazno.

**2.4.1.5 Luteína, zeaxantina y carotenoides – Amarillo/verde-** Antioxidantes, protegen contra las cataratas y la degeneración macular: espinacas, arvejas, maíz, melón.

**2.4.1.6 Sulfurafanos – Verde-** Combaten el cáncer de pulmón: brócoli, coles.

**2.4.1.7 Organosulfidos – Blanco-** Reducen infecciones, previenen la formación de coágulos y combaten el cáncer: ajo, cebollas.

**2.4.1.8 Antocianinas – Azul/morado-** Combaten el cáncer, antioxidantes y ayudan al cerebro: moras, arándanos.

**2.4.2 Posible actividad de los fitonutrientes en nuestro organismo:** <sup>(12)</sup>

**2.4.2.1 Actuando como antioxidantes –** Cuando nuestras células utilizan el oxígeno se crean sustancias llamadas radicales libres que reaccionan con otras células causando daños en el material genético y otras partes de estas. Los antioxidantes neutralizan los radicales libres y nos protegen contra el daño causado por estos. Los antioxidantes también ayudan a prevenir los daños causados por los rayos ultravioletas del sol, el humo del tabaco y la contaminación ambiental.

- 2.4.2.2 Aumentando la respuesta del sistema inmunológico** – este es el sistema que nos protege contra virus, bacterias y células cancerígenas. Ciertos fitonutrientes como los carotenoides y los flavonoides ayudan a movilizar defensas que impiden que los gérmenes y diversos contaminantes penetren las células.
- 2.4.2.3 Mejorando la comunicación entre las células** –
- 2.4.2.4 Alterando el metabolismo del estrógeno** –
- 2.4.2.5 Convirtiéndose en vitamina A de acuerdo a la necesidad del organismo.**
- 2.4.2.6 Haciendo que las células cancerosas mueran.**
- 2.4.2.7 Reparando daños al ADN de las células causado por el fumar y otras sustancias tóxicas.**



Entre las diversas clases de fitoquímicos se incluyen los carotenoides, los flavonoides, los fenoles y los terpenos. Los terpenos son probablemente los más abundantes de todos los fitonutrientes. Se encuentran en casi todas las plantas y entre las propiedades que los hacen importantes para nuestra salud está la de ayudar a prevenir ciertos tipos de cáncer y enfermedades cardíacas. <sup>(20)</sup>

Los carotenoides son un tipo de terpeno. Los carotenoides son los que le dan el color rojo, naranja o amarillo a diversas frutas y vegetales. Entre los carotenoides se encuentra el alfa y el beta caroteno, la luteína y el licopeno. Algunos estudios parecen indicar que estos son algunos de los más beneficiosos compuestos para la salud humana presentes en el mundo vegetal. Las frutas y vegetales que contienen elevados niveles de carotenoides parecen tener la capacidad de protegernos contra algunos tipos de cáncer, enfermedades cardíacas y la degeneración macular. Algunos alimentos con altos niveles de carotenoides son las zanahorias, el brócoli, la batata, la calabaza y los vegetales amarillos y de hojas verdes en general. También las frutas cítricas, melocotones, albaricoques, la espinaca, la col rizada.

El licopeno en particular ayuda a prevenir varios tipos de cáncer, especialmente el de próstata. Se ha encontrado que la acción preventiva del licopeno aumenta cuando se combina con la vitamina E. La mejor forma de obtener licopeno es consumiendo productos hechos a base de tomate como la salsa y la pasta de tomate, el ketchup o la salsa de espaguetis. <sup>(10)</sup>

La luteína, por su parte ayuda a prevenir la degeneración macular que es la principal causa de pérdida de visión en personas de edad avanzada. Las espinacas, la col rizada y otros vegetales de hojas verdes oscuras contienen buenas cantidades de luteína, así

como la yema de huevo y el kiwi. Existe evidencia que indica que la luteína de la yema de huevo se absorbe mejor por cuerpo humano que la de otras fuentes.

Los polifenoles son otro tipo de fitonutriente que se encuentra en buenas cantidades en numerosos vegetales. Los polifenoles se clasifican en dos categorías: los flavonoides y los no flavonoides. Los polifenoles se encuentran en grandes cantidades en las fresas, los arándanos, las uvas rojas y el jugo de uva, el té verde, las habichuelas soya, la cebolla, la manzana, algunos tipos de nueces y la frambuesa. Estas sustancias parecen tener la capacidad de combatir alergias, toxinas hepáticas, radicales libres, úlceras, microbios, virus, la formación de coágulos causados por agregación de plaquetas, inflamación y tumores. Algunos flavonoides combaten la hipertensión, protegen el sistema vascular y fortalecen los capilares. <sup>(13)</sup>



En la mayoría de los casos los vegetales crudos contienen más vitaminas que los cocidos. Sin embargo, en cuanto a los fitonutrientes esto no siempre es así. Por ejemplo, el licopeno en el tomate crudo se encuentra en una forma que es muy difícil para ser utilizada por nuestro cuerpo. El licopeno presente en los productos hechos a base de tomate procesado como la pasta o la salsa de tomate es mucho mejor aprovechado por nuestro organismo. Por otra parte, al cocinar el brócoli se libera una sustancia llamada sulfurafano que combate varios tipos de

cáncer. Al moler o machacar el ajo se libera una enzima que produce un fitonutriente llamado alicina que ayuda a reducir el nivel de colesterol y a combatir las infecciones por hongos entre otras propiedades.<sup>(19)</sup>

## **2.5 Alimentos Funcionales:**

### **2.5.1 ¿Qué son los alimentos funcionales?**

El concepto de alimentos funcionales nació en Japón. En los años 80, las autoridades sanitarias japonesas se dieron cuenta que para controlar los gastos sanitarios, generados por la mayor esperanza de vida de la población anciana, había que garantizar también una mejor calidad de vida. Se introdujo un nuevo concepto de alimentos, que se desarrollaron específicamente para mejorar la salud y reducir el riesgo de contraer enfermedades.<sup>(1)</sup>

Los alimentos funcionales no han sido definidos hasta el momento por la legislación europea. Generalmente, se considera que son aquellos alimentos, que se consumen como parte de una dieta normal y contienen componentes biológicamente activos, que ofrecen beneficios para la salud y reducen el riesgo de sufrir enfermedades. Entre algunos ejemplos de alimentos funcionales, destacan los alimentos que contienen determinados minerales, vitaminas, ácidos grasos o fibra alimenticia, los alimentos a los que se han añadido sustancias biológicamente activas,

como los fitoquímicos u otros antioxidantes, y los probióticos, que tienen cultivos vivos de microorganismos beneficiosos (Anexo 01).

Como respuesta al creciente interés sobre este tipo de alimentos, han aparecido nuevos productos y ahora el interés se centra en la necesidad de establecer normas y directrices que regulen el desarrollo y la publicidad de dichos alimentos.

### **2.5.2 ¿Por qué necesitamos los alimentos funcionales?**

En Europa, ha aumentado considerablemente el interés de los consumidores por conocer la relación que existe entre la dieta y la salud. Hoy en día, la gente reconoce en mayor medida, que llevar un estilo de vida sano, incluida la dieta, puede contribuir a reducir el riesgo de padecer enfermedades y dolencias, y a mantener el estado de salud y bienestar. El apoyo que se está dando a la importancia de alimentos como las frutas, las verduras y los cereales integrales en la prevención de enfermedades, así como las últimas investigaciones sobre los antioxidantes dietéticos y sobre la combinación de sustancias protectoras en plantas, está contribuyendo a impulsar el desarrollo del mercado de los alimentos funcionales en Europa.<sup>(7)</sup>

La necesidad de contar con alimentos que sean más beneficiosos para la salud, también se ve apoyada por los cambios socioeconómicos y demográficos que se están dando en la población. El aumento de la esperanza de vida, que tiene como consecuencia el incremento de la población anciana y el deseo de gozar de una mejor calidad de vida, así como el aumento de los costes sanitarios, han potenciado que los gobiernos, los investigadores, los profesionales de la salud y la industria alimenticia busquen la manera de controlar estos cambios de forma más eficaz. Ya existen una gran variedad de alimentos a disposición del consumidor, pero en estos momentos la prioridad es identificar qué alimentos funcionales pueden mejorar la salud y el bienestar y reducir el riesgo o retrasar la aparición de importantes enfermedades, como las enfermedades cardiovasculares, el cáncer y la osteoporosis. Si los alimentos funcionales se combinan con un estilo de vida sano, pueden contribuir de forma positiva a mejorar la salud y el bienestar.<sup>(6)</sup>

### **2.5.3 ¿Cómo están reguladas las alegaciones de salud?**

Muchos académicos, científicos y organismos reguladores están trabajando para encontrar maneras de establecer una base científica que apoye las alegaciones beneficiosas que se asocian a los componentes funcionales o los

alimentos que los contienen. Sería necesario que un marco regulador protegiera a los consumidores de las atribuciones de propiedades falsas o confusas, y que además pudiera responder a las necesidades de la industria en cuanto a innovación en el desarrollo de productos, su comercialización y su promoción. Para que los alimentos funcionales puedan aportar todos los beneficios posibles para la salud pública, los consumidores tienen que comprender bien y confiar en los criterios científicos utilizados para documentar sus efectos y atribuciones beneficiosas.<sup>(11)</sup>



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

En la Unión Europea no existe una legislación armonizada sobre las alegaciones de salud, y por lo tanto las cuestiones relativas a dichas alegaciones se resuelven a nivel nacional. El reto en los Estados Miembros de la UE es

conseguir, bajo el marco regulador existente, que los mensajes que se comunican no hagan ninguna referencia a que dichos alimentos puedan reducir el riesgo de padecer enfermedades, incluso aunque existan pruebas científicas que avalen dichas afirmaciones. La legislación europea relativa al etiquetado prohíbe atribuir a los alimentos propiedades preventivas, terapéuticas o curativas, y la referencia a dichas propiedades. En ausencia de una Directiva relativa a alegaciones de salud, los Estados Miembros de la UE han aplicado diferentes interpretaciones de la actual legislación sobre etiquetado. A su vez, la opinión generalizada es que las alegaciones de salud deben estar adecuadamente corroboradas para proteger al consumidor, fomentar el comercio justo y potenciar las investigaciones y la innovación en la industria alimentaria.

Durante la pasada década, se tomaron una serie de iniciativas, que se comenzaron en Suecia, para facilitar el uso de las alegaciones de salud, que incluyen la adopción de directrices y procedimientos prácticos en los diferentes Estados Miembros de la UE, como Suecia, Países Bajos y el Reino Unido, éste último mediante la Iniciativa Conjunta con respecto a Alegaciones de Salud (Joint Health Claims Initiative, JHCI). En la mayoría de estos países, los expertos en alimentación, las autoridades, los grupos de consumidores y los científicos se han unido para elaborar

normas que regulen la justificación científica, la publicidad y la presentación de alegaciones de salud.<sup>(15)</sup>

En Estados Unidos se permite desde 1993 que se aleguen propiedades "que reducen el riesgo de padecer enfermedades" en ciertos alimentos. Las "alegaciones de salud" están autorizadas por la Administración para Alimentos y Medicamentos (Food and Drug Administration, FDA), siempre que existan "evidencias científicas públicamente disponibles y haya suficiente consenso científico entre los expertos de que dichas alegaciones están respaldadas por pruebas". Aunque los fabricantes pueden utilizar alegaciones de salud para comercializar sus productos, la intención de la FDA es que el fin de dichas alegaciones sea el beneficio de los consumidores, y que se facilite información sobre hábitos alimenticios saludables, que pueden ayudar a reducir el riesgo de contraer enfermedades, como las afecciones cardíacas y el cáncer. Según la FDA, las alegaciones pueden basarse también en "declaraciones autorizadas" de Organismos Científicos Federales, como los Institutos Nacionales de la Salud (National Institutes of Health) y los Centros para la Prevención y el Control de Enfermedades (Centers for Disease Control and Prevention), así como de la Academia Nacional de las Ciencias (National Academy of Sciences)



¿Cuáles son los últimos desarrollos del CODEX con respecto al uso de alegaciones de salud en los alimentos?

El Codex Alimentarius es un programa conjunto de la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y La Alimentación (UN Organisation for Agricultura, FAO) y la Organización Mundial de la Salud (OMS), que se encarga de establecer normas alimentarias. Su autoridad es indiscutible debido a su importancia en el comercio internacional, y muchos de los países que están desarrollando nuevas legislaciones utilizan a menudo como base las normas del Codex. El debate en el Codex se encuentra en su etapa inicial y los principales temas en los que hay que trabajar más antes de llegar a un consenso son las alegaciones en cuanto a la reducción del riesgo de padecer enfermedades, la necesidad de verificación científica y el etiquetado.<sup>(8)</sup>

#### **2.5.4 Marco jurídico europeo de los alimentos funcionales y las alegaciones de salud.**

##### **2.5.4.1 La acción concentrada FUFOSÉ**

Debido al creciente interés en el concepto de los "Alimentos Funcionales" y en las "Alegaciones de Salud", la Unión Europea ha creado una Comisión Europea de Acción

Concertada sobre Bromatología Funcional en Europa (Functional Food Science in Europe, FUFOSE). El programa ha sido coordinado por el Instituto Internacional de Ciencias Biológicas (International Life Sciences Institute (ILSI) Europe ), y su objetivo es desarrollar y establecer un enfoque científico sobre las pruebas que se necesitan para respaldar el desarrollo de productos alimenticios que puedan tener un efecto beneficioso sobre una función fisiológica del cuerpo y mejorar el estado de salud y bienestar de un individuo y/o reducir el riesgo de que desarrolle enfermedades. El proyecto FUFOSE se centró en seis áreas de la ciencia y la salud: crecimiento, desarrollo y diferenciación, metabolismo, defensa contra especies oxidativas reactivas, alimentos funcionales y el sistema cardiovascular, fisiología y función gastrointestinal, y los efectos de los alimentos o comportamiento y efecto psicológico. El documento definitivo se publicó en la revista *British Journal of Nutrition*.<sup>(8)</sup>

La posición que defiende el informe es que los alimentos funcionales deberían presentarse

en forma de alimentos normales, y que se deben demostrar sus efectos en las cantidades que normalmente se consumirían en la dieta. Un alimento funcional puede ser un alimento natural, un alimento al que se ha añadido un componente, o un alimento al que se le ha quitado un componente mediante medios tecnológicos o biológicos. También puede tratarse de un alimento en el que se ha modificado la naturaleza de uno o más de sus componentes, o en el que se ha modificado la biodisponibilidad de uno o más de sus componentes, o cualquier combinación de estas posibilidades. Un alimento funcional puede estar destinado a toda la población o a grupos determinados, que se pueden definir, por ejemplo, según su edad o su constitución genética.



La Acción concertada de la UE apoya el desarrollo de los dos tipos de alegaciones de salud, que se indican a continuación, con respecto a los alimentos funcionales, que deben ser siempre válidas en el contexto de la dieta global y estar asociadas a los alimentos que se consumen normalmente:

**TIPO A:** Alegaciones de "funcionales de mejora" asociadas a determinadas funciones fisiológicas y psicológicas y a actividades biológicas que van más allá de su papel establecido en el crecimiento, el desarrollo, y otras funciones normales del cuerpo.

Este tipo de alegación no hace referencia a enfermedades o estados patológicos, por ejemplo algunos oligosacáridos no digestibles mejoran el crecimiento de la flora bacteriana intestinal; la cafeína puede mejorar el rendimiento cognitivo.

**TIPO B:** Alegaciones de "reducción de riesgo de enfermedades" , que se asocian al consumo de un alimento o de sus componentes para ayudar a reducir el riesgo de padecer una determinada enfermedad o afección, gracias a los nutrientes específicos que contenga o no contenga dicho alimento (p. Ej. El folato puede reducir el riesgo de que una mujer tenga un hijo con defectos del tubo neural, y una ingesta adecuada de calcio puede ayudar a reducir el riesgo posterior de osteoporosis).

#### **2.5.4.2 Validación de alegaciones y aspectos sobre seguridad**

Es necesario poner en práctica las conclusiones y principios del programa FUFOSÉ. Por ello, se creó un nuevo programa de Acción Concertada de la Comisión Europea, el Proceso para la Valoración de Soporte Científico de las Alegaciones con respecto a los Alimentos (Process for the Assessment of Scientific Support for Claims on Foods, PASSCLAIM), que tiene como objetivo resolver los temas relativos a validación y verificación científica de alegaciones y la información al consumidor.

El proyecto comenzó y se desarrollará a partir del principio, de que las alegaciones "funcionales de mejora" y las de "reducción de riesgo de enfermedades" deberían basarse en estudios bien planificados, mediante el uso de biomarcadores adecuadamente identificados, caracterizados y validados. El PASSCLAIM pretende establecer criterios comunes para evaluar la confirmación científica de las

alegaciones de salud y proporcionar la base para la preparación de informes científicos que respalden dichas alegaciones. El Documento de Consenso del PASSCLAIM servirá de ayuda a las personas que hacen alegaciones y a las que las regulan, y además contribuirá a mejorar la credibilidad que dichas alegaciones tienen para los consumidores. Esta estrategia integrada generará una mayor confianza por parte de los consumidores en las alegaciones científicas que se hacen sobre los alimentos y servirá para responder mejor a las preocupaciones de los consumidores.



Aunque no existe una legislación europea con respecto a la seguridad de los alimentos funcionales como tales, los aspectos sobre seguridad alimentaria ya están contemplados en las regulaciones actuales de la UE. No obstante, con respecto a los alimentos sobre los que se alegan atribuciones de salud, es necesario tener en cuenta factores como su importancia dietética global, la cantidad y frecuencia de consumo, las posibles interacciones con otros constituyentes dietéticos, el impacto en las vías metabólicas

y los posibles efectos adversos como la alergia y la intolerancia.

Los alimentos funcionales, consumidos como parte de una dieta equilibrada y acompañados de un estilo de vida saludable, ofrecen la posibilidad de mejorar la salud y/o prevenir ciertas enfermedades. El tema de las alegaciones de salud cada vez se considera más importante, y la opinión generalizada es que sería necesario un marco regulador dentro de la UE para proteger a los consumidores, fomentar el comercio justo y potenciar la innovación de productos dentro de la industria alimentaria. El mayor reto para los científicos actualmente y en el futuro será investigar las posibilidades en cuanto a nutrición y estudiar la relación existente entre un alimento o uno de sus componentes y la mejora del estado de salud y bienestar o la disminución de enfermedades. Es también vital comunicar a los consumidores los beneficios que suponen para su salud, de manera que estén bien informados para poder escoger mejor los alimentos que consumen.

## 2.5.5 Compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos constituyen una de las principales clases de metabolitos secundarios de las plantas, donde desempeñan diversas funciones fisiológicas. Entre otras, intervienen en el crecimiento y reproducción de las plantas y protegen frente a organismos patógenos, predadores e incluso radiación ultravioleta. También contribuyen a las características organolépticas de los alimentos de origen vegetal, al intervenir en gran medida, en el color natural y en el sabor que éstos poseen. [Martínez-Valverde et al., 2000; Balasundram et al., 2006].

A los compuestos fenólicos se les atribuyen actividades biológicas beneficiosas para la salud. Entre éstas destacan sus efectos vasodilatadores, antiinflamatorios, antialérgicos, antivirales, bactericidas, estimuladores de la respuesta inmune y antioxidantes [Balasundram et al., 2006].

### 2.5.5.1 Estructura y clasificación de los fenoles

Estructuralmente los compuestos fenólicos están constituidos por un anillo aromático, bencénico, con uno o más grupos hidróxilos incluyendo derivados funcionales. La naturaleza de los polifenoles varía desde moléculas simples, como los ácidos fenólicos,

hasta compuestos altamente polimerizados como los taninos [Martínez-Valverde et al.2000].

Tipos de compuestos fenólicos de las plantas:

C	Estructura
Fenoles simples,	C <sub>6</sub>
Ácidos hidroxibenzoicos	C <sub>6</sub> – C <sub>1</sub>
Acetofenonas, Ácidos	C <sub>6</sub> – C <sub>2</sub>
Ácidos hidroxicinámicos,	C <sub>6</sub> – C <sub>3</sub>
Naptoquinonas	C <sub>6</sub> – C <sub>4</sub>
Xantonas	C <sub>6</sub> – C <sub>1</sub> – C <sub>6</sub>
Antraquinonas	C <sub>6</sub> – C <sub>2</sub> – C <sub>6</sub>
Flavonoides,	C <sub>6</sub> – C <sub>3</sub> – C <sub>6</sub>
Lignanós, neolignanós	(C <sub>6</sub> – C <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>
Biflavonoides	(C <sub>6</sub> – C <sub>3</sub> – C <sub>6</sub> ) <sub>2</sub>

De los compuestos anteriores, los ácidos fenólicos (ácidos hidroxibenzoicos y ácidos hidroxicinámicos), los flavonoides y los taninos son considerados los compuestos fenólicos principales de la dieta. <sup>(20)</sup>

### 2.5.5.2 Ácidos fenólicos

Se pueden distinguir dos clases de ácidos fenólicos: los ácidos hidroxibenzoicos y los ácidos hidroxicinámicos.

Los ácidos benzoicos, o derivados del ácido hidroxibenzoico, incluyen los ácidos

gálico, protocatéuico, vanílico y siríngico. El contenido de ácidos hidroxibenzoicos de las plantas comestibles es generalmente muy bajo, a excepción de ciertas frutas rojas, el rábano y la cebolla. En los vegetales normalmente se presentan de forma conjugada en los vegetales, aunque pueden ser detectados en forma libre en algunas frutas o tras su liberación como consecuencia del procesado. <sup>(13)</sup>

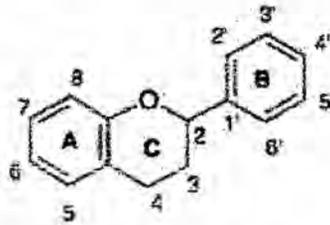
AP

Los ácidos cinámicos, o derivados del ácido hidroxicinámico, están ampliamente distribuidos como conjugados en materias vegetales, incluyendo muchos alimentos y bebidas. Salvo en el caso de alimentos procesados, raramente se encuentran como ácidos libres y de forma predominante aparecen esterificados con ácido quínico, tartárico o glucosa. Los más comunes son los ácidos caféico, ferúlico, sinápico y p- cumárico. Uno de los conjugados más frecuentes en frutas es el ácido clorogénico, que resulta de la esterificación de los ácidos caféico y quínico. Así, el ácido caféico, libre o

esterificado, constituye el ácido fenólico más abundante en muchas frutas. <sup>(13)</sup>

### 2.5.5.3 Flavonoides

Los flavonoides constituyen el grupo de compuestos fenólicos más diverso y ampliamente distribuido en las plantas. De bajo peso molecular, su estructura básica consta de dos grupos fenilo (A y B) unidos por un puente de tres carbonos que forma un anillo heterocíclico oxigenado (anillo C).



Las variaciones de sustituyentes presentes en el anillo C, dan lugar a la clasificación de flavonoides en diferentes grupos como las flavonas ("flavones"), isoflavonas ("isoflavones") y flavanonas ("flavanones") (los tres flavonoides no hidroxilados en posición 3), los flavonoles ("flavonols"), los flavanoles ("flavanols") y las antocianidinas ("anthocyanidins") (éstos últimos grupos 3-hidroxiflavonoides).

#### **2.5.5.4 Taninos**

Compuestos de peso molecular relativamente elevado, se dividen en tres subclases: los taninos hidrolizables, formados por ésteres del ácido gálico; los taninos condensados (o proantocianidinas), polímeros del monómero polihidroxi flavan-3-ol; y los polorotanos, presentes en varias especies de algas pero no significativos en la dieta humana. <sup>(13)</sup>

#### **2.5.6 Actividad antioxidante de los compuestos fenólicos**

La actividad antioxidante de los compuestos fenólicos viene determinada por su estructura química, por lo que existen grandes diferencias en la efectividad como antioxidantes entre los distintos grupos de compuestos. Los compuestos fenólicos pueden actuar como antioxidantes mediante dos mecanismos principales. <sup>(4)</sup>

##### **2.5.6.1 Como antiradicalarios**

Los compuestos fenólicos pueden actuar como donantes de átomos de hidrógeno o electrones en reacciones que rompen el ciclo de generación de nuevos radicales libres, anticipando las reacciones de terminación.

### 2.5.6.2 Como quelantes de metales

Esta acción requiere la presencia de grupos hidroxilos cercanos en el anillo aromático. De este modo, los *o*-dihidroxifenoles son secuestradores efectivos de iones metálicos e inhiben la generación de radicales libres por la reacción de Fenton.

Además de los citados, es importante considerar la protección frente a la oxidación de las grasas [Decker et al., 2005]. Los antioxidantes fenólicos (AH) se emplean para proporcionar bases de hidrógeno y de esta manera, inactivar el radical libre que inicia la reacción en cadena de autooxidación. Actúan típicamente como inhibidores de radicales peróxido ( $RO_2\cdot$ ), alcoxi ( $RO\cdot$ ) y alquilo ( $R\cdot$ ) debido a su acción reductor. Así, una molécula de antioxidante puede frenar dos reacciones de oxidación: primero cediendo el protón que contiene y una vez en forma de radical A $\cdot$ , se combina con radicales alcoxi o peroxi estabilizándolos e inactivándolos <sup>(5)</sup>

## 2.6 *Brassica oleracea* L. var. *italica* Plenck "Brócoli"

### 2.6.1 Características generales del Brócoli:

La palabra brócoli viene del italiano brocco, que significa rama de brazo. Brócoli es una palabra plural, y se refiere a los numerosos brotes que caracteriza a la inflorescencia en este vegetal.

El brócoli, también conocido como brécol o bróculi rizado, pertenece a la familia de las Crucíferas. En ella se incluyen más de 300 géneros y unas 3.000 especies propias de regiones templadas o frías del hemisferio norte. El término *Brassica*, género al que pertenece, es el nombre latino de las coles. Del mismo género es el bróculi romanesco, una variedad cuyo cogollo está repleto de inflorescencias que aparecen de una forma peculiar, unas al lado de otras en forma de cono.

Posee una forma similar a la coliflor pero con pedúnculos florales menos prietos o compactos, conformando un ramillete o cabeza irregular y abierta. Sus hojas permanecen erguidas, con peciolo desnudos, limbos cuyos bordes se ondulan, así como nervaduras marcadas, blancas. El cogollo del brócoli puede llegar a desarrollar 20 centímetros de diámetro, rondando los 2 Kg, distinguiéndose colores diferentes según variedades:

moradas, rojizas, blancas o amarillentas, siendo la más común la verde oscura en el tallo y verde azulado en el extremo de la flor. Su ingesta ofrece un sabor acre muy pronunciado.

El brócoli se desarrolla en diversas fases: un periodo de crecimiento en el que sólo se aprecian las hojas; la inducción floral tras bajas temperaturas en la que se inicia la formación de la flor; floración propiamente dicha, los tallos crecen longitudinalmente y se abren las flores; y por último la fructificación donde se forman los frutos y las semillas. Los climas templados mediterráneos resultan óptimos para su cultivo, llegando incluso a proporcionar dos cosechas anuales, recolectadas en octubre y mayo. <sup>(20)</sup>



## **2.6.2 Cómo Seleccionar y Almacenar el Brócoli**

Elija brócolis de racimos compactos sin señales de maltrato. El color debe ser uniforme y no amarillento, aunque el color es distinto de acuerdo con la variedad del brócoli. Tampoco deben tener flores amarillentas ya que esto es señal de sobre maduración. Los tallos deben ser firmes, sin manchas fangosas. Si tienen hojas, estas deben estar vibrantes y no marchitas. El brócoli es muy perecible y debe almacenarse sin lavar, en una bolsa plástica abierta,

en la parte baja del refrigerador, de esta forma dura hasta una semana.

### **2.6.3 Brócoli y los Radicales Libres:**

Desde hace ya más de veinte años se sabe que muchos fitonutrientes trabajan como antioxidantes y desarman a los radicales libres antes de que puedan hacer daño a nuestras células, pero lo que recientemente se ha descubierto es que los fitonutrientes que contienen los crucíferos, como el brócoli, o la col, actúan a niveles todavía más profundos, ya que hacen que nuestro genes aumenten la producción de enzimas que desintoxican el organismo, y que eliminan del mismo todos los compuestos que lo amenazan. <sup>(19)</sup>

### **2.6.4 Brócoli y la Salud de la Mujer:**

El brócoli, al igual que otros crucíferos, contiene los fitonutrientes llamados: indol y sulfurafanos, los mismos que cuentan con grandes efectos anticancerígenos. Las investigaciones sobre el indol-3-carbinol muestran que este compuesto ayuda a desactivar un potente metabolito del estrógeno (4-hydroxyestrone) que promueve el crecimiento de tumores, sobre todo en las células de los senos, las cuales son especialmente sensibles al estrógeno. Y, por otro lado incrementan el nivel 2-hydroxyestrone, una forma de estrógeno que protege contra el cáncer. El indol-3-

carbínol ha mostrado que suprime no solamente el crecimiento de los tumores de seno sino también la metástasis de las células cancerosas (el movimiento de las células cancerosas a otras partes del cuerpo).

Un estudio publicado en el Cancer Journal, Oncology Report demuestra que el sulfurafano promueve las enzimas fase 2 de desintoxicación del hígado y detiene el crecimiento de las células cancerosas vía apoptosis (la secuencia de auto destrucción de células anormales que el cuerpo utiliza), tanto en el caso de leucemia como de células melanomas. El sulfurafano se piensa que también ayuda a prevenir el cáncer de colon a las personas proclives a adquirirlo. <sup>(19)</sup>



El brócoli podría también prevenir el cáncer de ovarios. Además de ser rico en glucosinolatos es rico en flavonoides llamados Kaempferol. Un estudio efectuado en 66,940 mujeres entre 1984 y el 2002 revela que las mujeres que consumen mayor cantidad de kaempferol tienen 40% menos de probabilidades de adquirir cáncer de ovario. Otros alimentos ricos en kaempferol son: te (no de hierbas), cebollas, espinaca, arándanos (blueberries), col rizada (curly kale), puerros.

### 2.6.5 Brócoli y Cáncer de Próstata:

También se han efectuado investigaciones sobre el indol-3-carbinol (I3C) que contienen tanto el brócoli como los demás miembros de la misma familia (col, col de Bruselas, coliflor) y se ha encontrado que el I3C es un gran anticancerígeno que impide el desarrollo de ciertos tipos de tumores, como el cáncer de próstata. Actúa de dos maneras: bloquea varias fases del ciclo de las células cancerígenas y también inhibe la producción de una proteína específica de la próstata (PSA), cuyos niveles altos son un indicador de cáncer. <sup>(10)</sup>



Cuando el brócoli se come junto con tomate es más efectivo contra el cáncer de próstata, ambos vegetales por separado tienen propiedades anticancerígenas y cuando se combinan estas propiedades su efectividad se acrecienta. Los investigadores comprobaron que los fitonutrientes de los tomates se concentran mejor cuando los tomates se consumen como pasta o salsa y se les agrega un poquito de aceite, especialmente de oliva. Y, que por el contrario las propiedades del brócoli se reducen si se le sobre cocina. El brócoli es mejor cocerlo al vapor. <sup>(10)</sup>

### **2.6.6 Brócoli y Cáncer de Vejiga:**

De acuerdo con una reciente investigación, el brócoli podría prevenir el cáncer de vejiga debido a que contiene altos niveles de fitoquímicos llamados glucosinolatos, los mismos que al ser metabolizados por el cuerpo se convierten en isothiocyanatos. Los isothiocyanatos ofrecen gran protección al organismo, sobre todo a la vejiga, probablemente debido a que la mayoría de sus compuestos viajan a través de la vejiga para ser eliminados en la orina.

### **2.6.7 Brócoli y la Bacteria Helicobacter pylori:**

El brócoli tendría la habilidad de eliminar la bacteria helicobacter pylori (causa principal de las úlceras y la gastritis), de acuerdo con un estudio efectuado en animales, a los cuales se les infectó con esta bacteria. El brócoli eliminó por completo a la bacteria; los resultados de este experimento fueron tan contundentes que los investigadores están convencidos del gran efecto beneficio que el brócoli tiene para atender este problema en seres humanos. La razón sería que el brócoli cuenta con un muy alto contenido del fitonutriente llamado sulforafano.<sup>(19)</sup>

Este estudio ha sido confirmado en otras investigaciones efectuadas en distintos países del mundo. En Japón se experimentó con cuarenta personas infectadas con esta

bacteria. 20 personas comieron 100 gramos diarios de brotes de brócoli durante dos meses y, las otras 20 personas 100 gramos de brotes de alfalfa. Los brotes de brócoli y los brotes de alfalfa tienen constituyentes químicos prácticamente iguales, la diferencia es que los brotes de alfalfa no contienen sulforafano mientras que los de brócoli sí. Al final de los dos meses los pacientes que consumieron los 100 gramos de brotes de brócoli por dos meses mostraron una significativa disminución de la bacteria *H. pylori* y bastante menos pepsinogeno, que es un indicador de atrofia gástrica. Por otro lado, los pacientes que comieron los brotes de alfalfa no mostraron ninguna mejoría. <sup>(19)</sup>

Al aumentar la producción de sulforafano se estaría protegiendo también al organismo contra el cáncer gástrico.

## **2.7 Capacidad antioxidante:**

La respiración en presencia de oxígeno resulta esencial en la vida celular de nuestro organismo, pero como consecuencia de la misma se producen unas moléculas, los radicales libres, que ocasionan a lo largo de la vida efectos negativos para la salud por su capacidad de alterar el ADN (los genes), las proteínas y los lípidos o grasas. <sup>(5)</sup>

En nuestro cuerpo hay células que se renuevan continuamente (de la piel, del intestino?) y otras que no (células del hígado, neuronas?). Con los años, los radicales libres pueden producir una alteración genética sobre las primeras, aumentando así el riesgo de padecer cáncer, y reducir la funcionalidad de las segundas (las células que no se renuevan), lo que es característico del envejecimiento.

Hábitos tan comunes como practicar ejercicio físico intenso, el tabaquismo, el consumo de dietas ricas en grasas y la sobreexposición a las radiaciones solares, así como la contaminación ambiental, aumentan la producción de radicales libres.

Los antioxidantes son vitaminas, minerales, colorantes naturales y otros compuestos de origen vegetal y enzimas (sustancias propias de nuestro organismo que intervienen en múltiples procesos metabólicos), que bloquean el efecto perjudicial de los denominados radicales libres. La mayoría de los antioxidantes se encuentra en alimentos vegetales, lo que explica que incluir frutas, legumbres, verduras y hortalizas o cereales integrales en nuestra dieta sea tan beneficioso. <sup>(5)</sup>

El desequilibrio entre especies oxidantes (radicales libres) y antioxidantes se conoce como **estrés oxidativo**, el cual está

asociado a numerosas enfermedades y al proceso normal de envejecimiento. La dieta juega un papel importante en la prevención de enfermedades relacionadas con el estrés oxidativo (Alzheimer, Parkinson, aterosclerosis, cáncer,...) fundamentalmente a través del aporte de compuestos bioactivos de origen vegetal. Entre ellos, las vitaminas hidrosolubles y liposolubles, carotenoides y una gran variedad de compuestos fenólicos, cuya actividad antioxidante y potenciales efectos beneficiosos están siendo ampliamente investigados en los últimos años <sup>(5)</sup>

## **2.8 Determinación de la capacidad antioxidante:**

La actividad antioxidante puede ser determinada por diferentes métodos, entre los que se encuentra el método ABTS (llamado así por el reactivo 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfónico)) y el FRAP (Poder Antioxidante de Reducción Férrica).

Dentro de los métodos más rápidos, simples operacionalmente y más reproducibles se encuentran los métodos antes mencionados.

### **2.8.1 Método ABTS:**

Consiste en la generación del radical  $ABTS^+$ , por la reacción entre el ABTS y el persulfato de potasio para

producir un cromóforo azul verdoso con absorciones máximas a longitudes de onda de 415, 645, 734 y 815 nm. En presencia de antioxidantes se produce una disminución de la absorbancia del radical ABTS<sup>•+</sup>; los resultados suelen ser expresados como  $\mu\text{mol Trolox/g}$  material analizado. Este método puede ser utilizado en un amplio rango de pH y se aplica para sistemas tanto acuosos como orgánicos.

### 2.8.2 Método FRAP:

Consiste en la formación de un complejo férrico con el reactivo TPTZ, el cual en presencia de antioxidantes forma un complejo azul de máxima absorción a 593 nm; los resultados se pueden expresar como  $\mu\text{mol Trolox/g}$  o como  $\mu\text{mol Fe(II)/g}$ . Adicionalmente, para estimar la cantidad de fenoles se utiliza el método de Folin Ciocalteu; este método consiste en la reacción entre el reactivo de Folin Ciocalteu de color amarillo y los grupos fenólicos, lo cual produce un complejo de color azul con máxima absorción a 725 nm; los resultados usualmente se expresan como mg ácido gálico/100 g. Se ha encontrado que el método de FRAP y el método de Folin-Ciocalteu muestran alta correlación. <sup>(4)</sup>

## 2.9 Determinación de los polifenoles totales

### 2.9.1 Método Folin-Ciocalteu

El método Folin-Ciocalteu usado actualmente fue propuesto por Singleton y Rossi en el año 1965. Este ensayo es una modificación de un método desarrollado en 1927 por Folin y Ciocalteu empleado para la determinación de tirosina, el cual se basaba en la oxidación de los fenoles por un reactivo de molibdeno y wolframio (tungsteno). La mejora introducida por Singleton y Rossi fue el uso de un heteropolianión fosfórico de molibdeno y wolframio que oxida los fenoles con mayor especificidad ( $3\text{H}_2\text{O}-\text{P}_2\text{O}_5-13\text{WO}_3-5\text{MoO}_3-10\text{H}_2\text{O}$  y  $3\text{H}_2\text{O}-\text{P}_2\text{O}_5-14\text{WO}_3-4\text{MoO}_3-10\text{H}_2\text{O}$ ). La oxidación de los fenoles presentes en la muestra causa la aparición de un compuesto con coloración azul que presenta un máximo de absorción a 765 nm y que se cuantifica por espectrofotometría en base a una recta patrón de ácido gálico.

Aunque se trata de un método simple, preciso y sensible, es un procedimiento criticado ya que existen diversas sustancias de naturaleza no fenólica que interfieren en las determinaciones y que pueden dar lugar a concentraciones de compuestos fenólicos aparentemente elevadas, por lo que deben hacerse

correcciones para estas sustancias. Entre ellas destacan las proteínas, el ácido ascórbico ( $C_6H_8O_6$ ), el ácido úrico ( $C_5H_4N_4O_3$ ), algunos aminoácidos y nucleótidos, azúcares, aminas aromáticas y algunas sales inorgánicas.

No obstante, a pesar de estos inconvenientes, el ensayo de los fenoles totales se emplea con frecuencia en el estudio de las propiedades antioxidantes de alimentos vegetales al tratarse de un parámetro que generalmente muestra una estrecha correlación con diferentes métodos de medida de la actividad antioxidante. Así, cuando se evalúan las propiedades antioxidantes de estos alimentos, el análisis de fenoles totales constituye un método complementario al análisis cromatográfico de los principales grupos de compuestos fenólicos que caracterizan a cada variedad de fruta o verdura, a la vez que proporciona información valiosa a la hora de seleccionar variedades con mayor potencial antioxidante.

## **2.10 Elaboración de karamanduka**

### **2.10.1 Ingredientes**

- harina panadera 2,500 kg
- azúcar 500 g.

- sal 15 g.
- levadura instantánea 3 g.
- leche en polvo 60 g.
- huevos 125 g.
- manteca 400 g.
- margarina sin sal 400 g.
- agua 600 ml
- esencia de anís 5 mL.
- esencia de vainilla 5 mL.
- colorante al gusto
- anís tostado y molido al gusto

Otros:

- aceite para engrasar.
- huevos para engrasar.
- ajonjolí para decorar.

47

### **2.10.2 Preparación:**

- Pesar y medir los ingredientes.
- En un tazón colocar la manteca y la margarina y luego suavizar.
- Disolver en agua el azúcar, colorante, sal y esencias.
- Tamizar, harina, leche en polvo, luego agregar anís tostado y molido y la levadura instantánea.
- Unir la mezcla con la disolución.

- Amasar hasta obtener una masa homogénea durante 3-4 minutos.
- Pesar 0.75 kg y luego llevar a la divisora, cortar utilizando aceite lo necesario.
- Colocar en la mesa de trabajo y proceder a dar forma con el palote.
- Poner en bandejas engrasadas.
- Cortar con la tijera en forma exagonal.
- Fermentar durante 1 hora.
- Barnizar con huevo y salpicar con ajonjolí.
- Hornear en 140 °C durante 18 minutos.



### III. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1 Materiales:

- Beaker de 50, 250, 500 y 1000 mL.
- Pipeta de 1, 5 y 10 mL.
- Tubos de centrifuga.
- Tubos de ensayo
- Gradilla para tubos de ensayo
- Papel filtro
- Matraz erlenmeyer 125 y 250 mL
- Fiola de 10 mL
- Micropipeta regulable para 50, 75, 150, 500 y 980  $\mu$ L
- Papel aluminio
- Espátula
- Probeta 25 y 100 mL
- Lunas de reloj
- Placas petri

#### 3.2 Equipos:

- Balanzas analítica y de precisión
- Espectrofotómetro UV / Vis. Modelo Génesys 10
- Baño María
- Centrifuga
- Rotavapor modelo IKA RV 10 Control
- Estufa

#### 3.3 Reactivos:

- Agua destilada

- Metanol
- Sal férrica
- Folín Ciocalteu
- 2,4,6-tripiridil-1,3,5-triazina  $5 \times 10^{-3}$  M

### 3.4 Muestras:

- Karamanduka preparado con la formulación que se dá en el anexo 02, pero con agregado de brócoli (*Brassica oleraceae*) deshidratado. Se trabajará como control una muestra de karamanduka sin agregado del brócoli deshidratado.

### 3.5 Métodos:

#### 3.5.1 Determinación de polifenoles totales:

Por reducción del reactivo de Folín-Ciocalteu utilizando espectrofotómetro UV-Vis Genesys 10 a 765 nm (Singleton y Rossi, 1965). Los resultados fueron expresados como equivalente de ácido gálico (GAE).

	BLANCO	X
FOLIN		
CIOCALTEU	1 mL	1 mL
MUESTRA	-	50 $\mu$ L
H <sub>2</sub> O	0,1 mL	50 $\mu$ L
REPOSO POR 5 MINUTOS		
CO <sub>3</sub> <sup>=</sup> 7,5 %	1 mL	1mL
BAÑO MARIA A 45 °C POR 15 MINUTOS		

### 3.5.2 Determinación de la capacidad antioxidante:

Método "Ferric reducing/antioxidant power" (FRAP): consiste en la reducción de un compuesto o mezcla de compuestos sobre el Fe<sup>+3</sup> presente en el complejo orgánico Tripyridyltriazine (TPTZ). Cuando el hierro del complejo es reducido a la forma ferrosa toma un color azul que presenta un máximo de absorción a 593 nm y cuya intensidad de color es proporcional a la capacidad reductora de los compuestos ensayados. (Benzie y col., 1996).

CB

	BLANCO	X
TPTZ	1 mL	1 mL
H <sub>2</sub> O	1 mL	950 µL
MUESTRA	-	50 µL
BAÑO MARIA A 37 °C POR 10 MINUTOS		

### 3.6 Procesamiento de la muestra:

Para el desarrollo del presente trabajo se consideró apropiado la compra de 2.5 Kg de brócoli (*Brassica oleraceae*) entero en un centro de abastos de confianza. El producto se presentó en óptimas condiciones para su consumo y se procedió a separar el tallo de las inflorescencias resultando las siguientes cantidades:

Peso de tallos:	1770.2 gramos
Peso de inflorescencias:	727.8 gramos
Total:	2498.0 gramos

Para establecer una cantidad apropiada de brócoli deshidratado en la formulación del producto de panificación y que represente una porción bastante generosa del producto fresco se hizo la anotación siguiente:

Peso de brócoli con tallo	52.0 gramos
Peso de la inflorescencia separada	29.4 gramos



Los 727.8 gramos de inflorescencia se llevó a una estufa de aire circulante de marca venticell por espacio de tiempo de 24 horas a 60 °C. Después del tiempo indicado se retiró de la estufa resultando un peso de 115.9 gramos de la muestra deshidratada.

Al observar este producto deshidratado notamos que aún quedaba restos de pedúnculos florales caracterizados por ser muy rígidos y que no sería aceptado por quien consume el producto que los contiene, por tal razón procedimos a descartar estas partes rígidas mediante un cernido o tamizado quedando después de esta operación exactamente 100 gramos de muestra deshidratada sin pedúnculo floral.

Los 100 gramos de muestra deshidratada sin pedúnculo floral mostraban todavía algo de humedad y para asegurar una total

deshidratación se sometió a 60 °C por espacio de una hora en la misma estufa donde se efectuó la primera deshidratación, quedando al final un peso total de 92.7 gramos de muestra.

De la información obtenida:

Peso de brócoli con tallo	52.0 gramos
Peso de la inflorescencia separada	29.4 gramos

Y, considerando que 727.8 g. de inflorescencia a las condiciones de deshidratación ya descritas genera 92.7 g. de brócoli deshidratado, los 29.4 g. de inflorescencia genera 3.74 g. de brócoli deshidratado.

Siendo el peso de una karamanduka aproximadamente 20 g. decidí incluir en su formulación 1 g. de brócoli deshidratado, lo que me representaría 13.9 g. de brócoli con tallo en cada karamanduka.

### **3.6.1 Obtención de extractos:**

Para determinar la existencia de polifenoles totales y capacidad antioxidante en el producto de panificación (karamanduka) se tomaron tres muestras del pan que tenía adicionado el brócoli deshidratado, se trituraron independientemente y se sometió a extracción por maceración utilizando 100 mL de metanol grado análisis como solvente (representan las muestras 01, 02 y 03). Como cuarta muestra (muestra 04) se trituró una karamanduka a quien no se le adicionó brócoli

deshidratado y también se sometió a maceración utilizando la misma cantidad del mismo solvente que las demás muestras. Toda maceración se efectuó por cuatro días y con las mismas veces de agitación para cada muestra.

Obtenido los extractos se procedió a su concentración utilizando inicialmente rotavapor modelo IKA RV 10 Control y luego estufa venticell a 40 °C. Los extractos concentrados fueron preparados para su lectura de la siguiente manera:



**3.6.1.1** Muestra 01: 0.1135 gramos de extracto en metanol csp 5 mL de dilución.

**3.6.1.2** Muestra 02: 0.1039 gramos de extracto en metanol csp 5 mL de dilución.

**3.6.1.3** Muestra 03: 0.1137 gramos de extracto en metanol csp 5 mL de dilución.

**3.6.1.4** Muestra 04: 0.1090 gramos de extracto en metanol csp 5 mL de dilución.

Cada una de las diluciones se centrifuga por 5 minutos a 3000 rpm antes de destinarse a lectura espectrofotométrica.

### 3.6.2 Lectura de las diluciones:

La lectura se efectuó utilizando un espectrofotómetro modelo Spectroquant pharo 300 M y previo a esto se efectuó una lectura preliminar para determinar la cantidad de dilución sensible a las concentraciones de los reactivos resultando ser que para determinar la concentración de polifenoles totales es apropiado 100 microlitros de la dilución mientras que para la determinación de la capacidad antioxidante resultó ser solo 25 microlitros.

CP

#### IV. RESULTADOS

##### PESOS (g.) DE MUESTRA UTILIZADA Y EXTRACTOS OBTENIDOS

	MUESTRA 01	MUESTRA 02	MUESTRA 03	MUESTRA 04
MUESTRA	16.14	17.21	18.39	16.72
EXTRACTO	1.7032	1.7809	1.6224	1.4971

##### LECTURAS PARA DETERMINACION DE POLIFENOLES TOTALES

	LECTURA 01	LECTURA 02	LECTURA 03	PROMEDIO
MUESTRA 01	0.694	0.717	0.667	<b>0.693</b>
MUESTRA 02	0.826	0.813	0.776	<b>0.805</b>
MUESTRA 03	0.932	0.929	0.884	<b>0.915</b>
MUESTRA 04	0.399	0.404	0.371	<b>0.391</b>

*Handwritten signature*

##### CONVERSION DE LECTURA A mg EQUIVALENTE DE ÁCIDO GÁLICO

	TABLA	DILUCIÓN	EXTRACTO	mg AGE
MUESTRA 01	0.0135 mg AG	0.1135g/5mL	1.7032	<b>10.128</b>
MUESTRA 02	0.0165 mg AG	0.1039g/5mL	1.7809	<b>14.141</b>
MUESTRA 03	0.0185 mg AG	0.1137g/5mL	1.6224	<b>13.199</b>
MUESTRA 04	0.0075 mg AG	0.1090g/5mL	1.4971	<b>5.151</b>

## LECTURAS PARA DETERMINAR LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE

	LECTURA 01	LECTURA 02	LECTURA 03	PROMEDIO
MUESTRA 01	0.535	0.600	0.596	<b>0.577</b>
MUESTRA 02	0.587	0.664	0.671	<b>0.641</b>
MUESTRA 03	0.814	0.796	0.781	<b>0.797</b>
MUESTRA 04	0.330	0.338	0.259	<b>0.309</b>

## CONVERSION DE LECTURA A mM DE Fe<sup>2+</sup>

	TABLA	DILUCIÓN	EXTRACTO	mM Fe <sup>2+</sup>
MUESTRA 01	56.37 nmol Fe <sup>+2</sup>	0.1135g/5mL	1.7032	0.169
MUESTRA 02	61.28 nmol Fe <sup>+2</sup>	0.1039g/5mL	1.7809	0.210
MUESTRA 03	75.98 nmol Fe <sup>+2</sup>	0.1137g/5mL	1.6224	0.216
MUESTRA 04	29.11 nmol Fe <sup>+2</sup>	0.1090g/5mL	1.4971	0.079

CP

Para efectos de relaciones de los resultados consideramos los mM Fe<sup>+2</sup> de las muestras 02 y 03 (valor promedio 0.213)

## V. DISCUSION:

Se observa en los resultados que en la muestra correspondiente a karamanduca a quien no se le agregó el brócoli deshidratado (muestra 04), también se detecta la presencia de polifenoles totales y de igual forma la manifestación de capacidad antioxidante pero en cantidad menor a los que presentan las muestras de karamanduca que tienen agregado el brócoli deshidratado.

Las isoflavonas de la soja, el sesamol del ajonjolí y el aceite esencial de anís, se encuentran entre los responsables de la presencia y detección de polifenoles totales en la muestra de karamanduca y en la manifestación de la capacidad antioxidante.

Se podría preguntar entonces por qué es necesario agregar brócoli si para elevar el contenido de polifenoles o la capacidad antioxidante tan solo debemos incrementar las cantidades de estos ingredientes, pero teniendo en cuenta la opinión de un jurado (Dr. Emilio Guija, Ing. Oscar Reátegui y Nutric. Carla Segura) que degustaron el producto elaborado opinando a favor del mismo por cuanto no se intensifica un olor o sabor ya existente y es más tiende a enmascarar la intensidad de alguno de sus ingredientes.

## CONCLUSIONES

5.1 La karamanduca, que en el caso particular de este trabajo se le añade a cada unidad 1 g. de inflorescencia de brócoli deshidratado, presenta polifenoles totales y capacidad antioxidante en cantidad mayor al que presenta dicho producto de panificación sin el agregado de brócoli en consecuencia podemos afirmar en base a los resultados que la incorporación de brócoli deshidratado en la formulación de la karamanduca genera **UN ALIMENTO FUNCIONAL**.

5.2 Si consideramos los resultados que presentamos en un trabajo de investigación anterior " EVALUACIÓN DE EQUIVALENCIA DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE POR EL MÉTODO FRAP DEL BRÓCOLI (*Brassica oleraceae*) FRESCO Y DESHIDRATADO ", concluimos que 50 g. de brócoli fresco que es deshidratado a 60 °C durante 24 horas ofrece una capacidad antioxidante equivalente a 1.533 mM Fe<sup>+2</sup> por lo tanto 13.9 g. de brócoli fresco (equivalente de 1 g. de brócoli deshidratado agregado a cada karamanduca) que es deshidratado a 60 °C durante 24 horas debería ofrecer una capacidad antioxidante equivalente a 0.426 mM Fe<sup>+2</sup> pero lo que se aprecia en el presente trabajo es que solo se detecta 0.213 mM Fe<sup>+2</sup> debido a la destrucción térmica en la superficie del producto durante el horneado. No obstante es un valor muy superior a 0.079 mM Fe<sup>+2</sup> que ofrece la karamanduca sola.

## VI. REFERENCIALES

1. Ashwell, M. (2001). Functional Foods: a simple scheme for establishing the scientific basis for all claims. *Public Health Nutrition*, 4:859-863.
2. Barbosa G, Vega H. *Deshidratación de Alimentos*. Editorial ACRIBIA, S.A. Zaragoza (España), 2000.
3. Bello J. *Ciencia bromatológica – Principios generales de los alimentos*. Ediciones Diaz de Santos. Madrid.– España. 2000.
4. Benzie I, Strain J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay. *Anal Biochem*;239:70-76. 1996.
5. Bover L. Estudio y cuantificación de la actividad antioxidante de flores comestibles. Master thesis (pre-Bologna period). Universitat Politècnica de Catalunya. 2011.
6. Committee of experts on Nutrition Food Safety and Consumer's Health (1999). Ad hoc Group on Functional Food, Council of Europe.
7. Diplock A, Aggett P, Ashwell M, et al. “Scientific Concepts of Functional Foods in Europe: Consensus Document.” *British Journal of Nutrition* 81(No 4): S1-S27. (1999).
8. European Commission Community Research (2000) Project Report: Functional food science in Europe, Volume 1; Functional food science in Europe, Volume 2; Scientific concepts of Functional Foods in Europe, Volume 3. EUR-18591, Office for Official Publications of the European Communities, L-2985, Luxembourg.

9. Functional Food Science in Europe. (1998). British Journal of Nutrition, 80(1):S1-S193.
10. Giovannucci E, Ascheiro A, Rimm E, Stampfer M, Colditz G, Willett W. A Prospective Study of Tomato Products, Lycopene, and Prostate Cancer Risk. Journal of the National Cancer Institute, Vol. 94, No. 5, March 6, 2002
11. ILSI Europe Concise Monograph: Concepts of Functional Foods. To be published August 2002.
12. Maldonado R, Pacheco-Delahaye E. Dehydration curves in broccoli (*Brassica oleraceae* L var. *Italica* Plenck) and cauliflower (*Brassica oleraceae* L var. *Botrytis* L). Rev. Fac. Agron. (LUZ). 2003, 20: 306-319.
13. Martinez-Valverde et al., 2000. The phenolic compounds are natural antioxidants (Zheng and Wang, 2001).
14. Montes L. Bromatología. Editorial Universitaria. Segunda edición 1981.
15. Réka Szöllösi\*, Ilona Szöllösi Varga. Total antioxidant power in some species of Labiatae (Adaptation of FRAP method). Acta Biologica Szegediensis. Vol. 46(3-4):125-127, 2002.
16. Scientific Concepts of Functional Foods in Europe: Consensus Document. (1999). British Journal of Nutrition, 81(1):S1-S27.
17. Toledo R.T. Dehydration. Fundamentals of Food Process Engineering. 2nd Edition. Editorial Chapman & Hall, New York-London, 1994, p 456-506

18. Vega A, Lemus R. Modelado de la cinética de secado de la papaya chilena (*Vasconcellea pubescens*), Rev Información Tecnol 2006; 27(3): 23-31.
19. Yanaka A, Fahey J, Fukumoto A, Nakayama M, Inoue S, Zhang S, Tauchi M, Suzuki H, Hyodo I, Yamamoto M. Dietary Sulforaphane-Rich Broccoli Sprouts Reduce Colonization and Attenuate Gastritis in *Helicobacter pylori*-Infected Mice and Humans. American Association for Cancer Research. 2:353-360. 2009.
20. Referencias de internet:

<http://www.canaldinamic.es/medici>

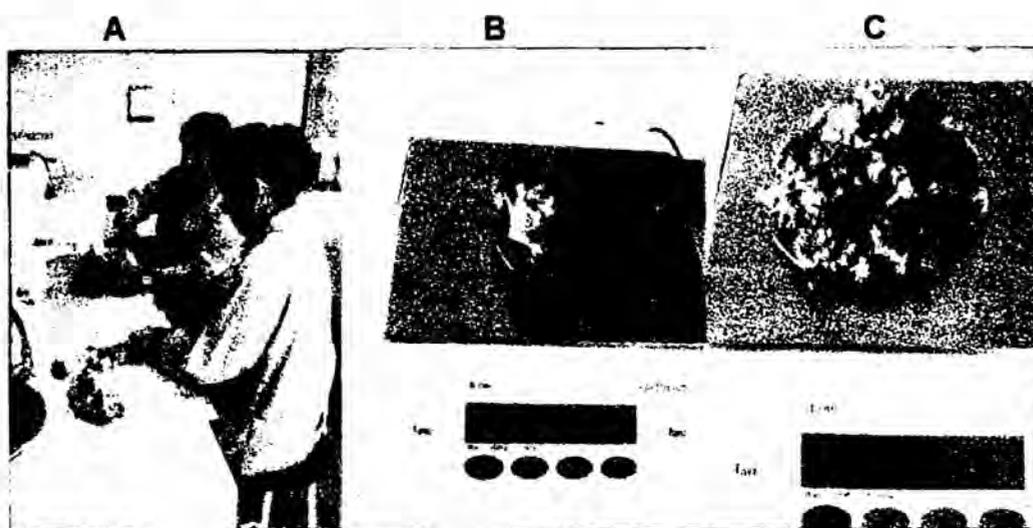
<http://www.medes-salud.com.ar/alimentos.htm>

<http://www.saludparati.com/alimentosysalud1.htm>

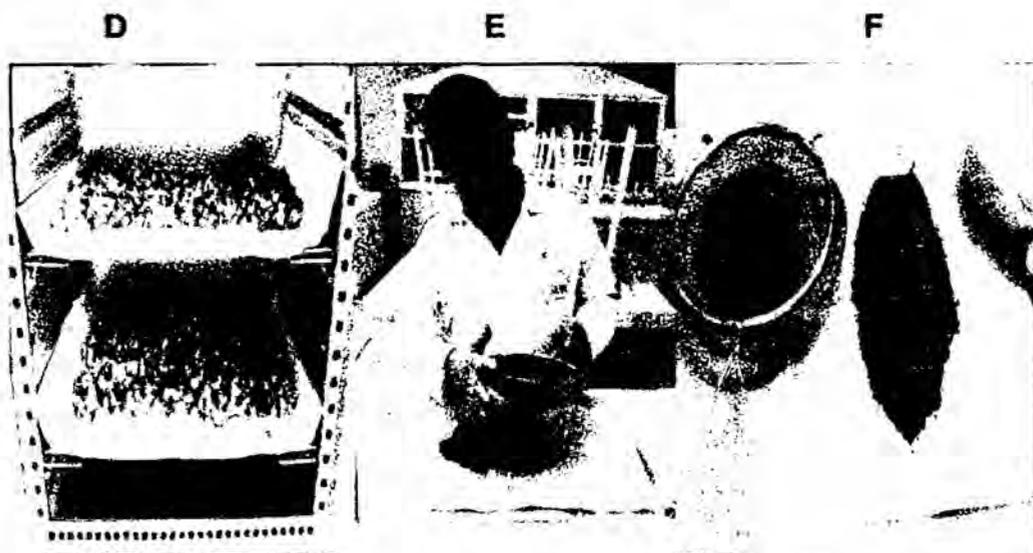
CP

## VII. APENDICES

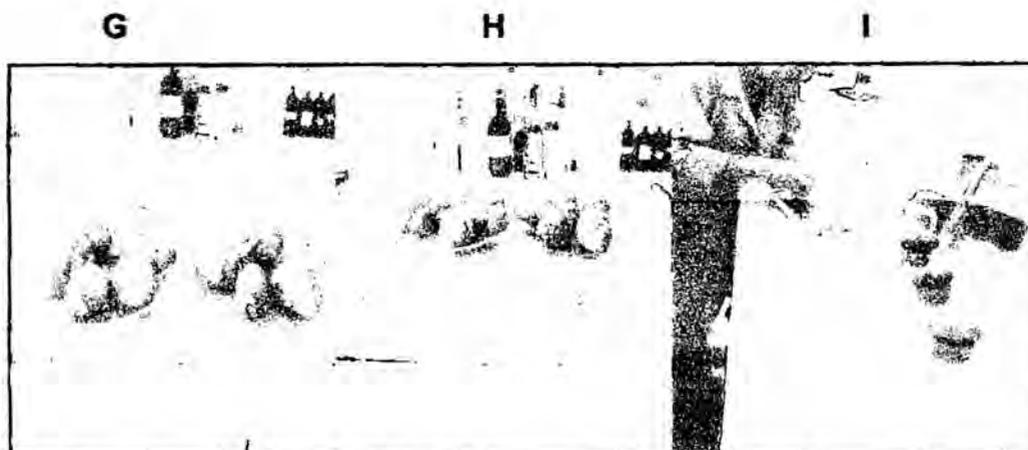
**Apéndice 01:** (A) con el apoyo del personal técnico del laboratorio de investigación UCSUR se separaron las inflorescencias del tallo. (B) el peso de una ración por demás generosa del brócoli y (C) el peso de dicha ración retirándole gran parte del tallo. En la parte de procesamiento de la muestra (3.6) se describen las cantidades obtenidas.



**Apéndice 02:** (D) Deshidratación de inflorescencias separadas, (E) Tamizado del producto deshidratado para la eliminación de los pedúnculos de las inflorescencias y (F) Cantidad de pedúnculo retenido en el tamiz

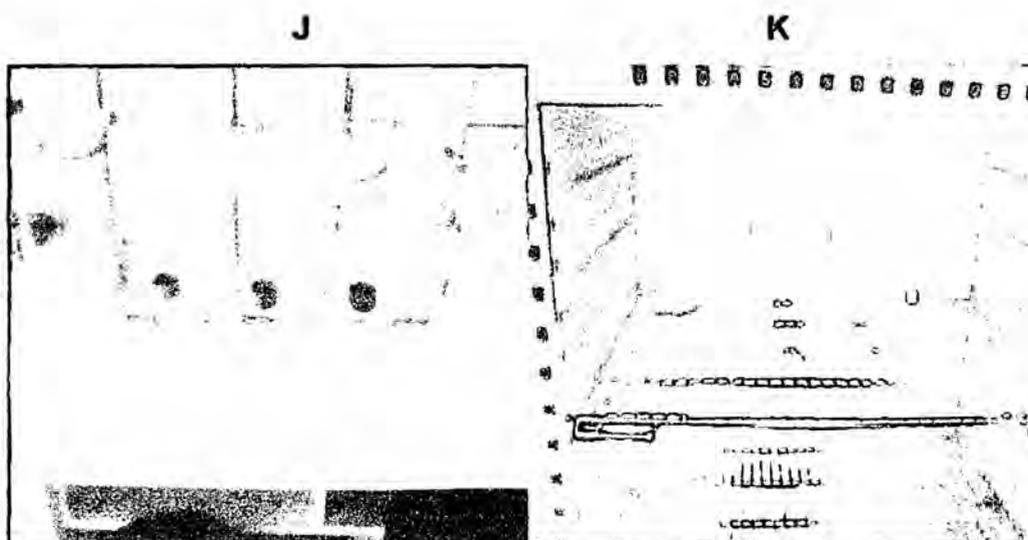


**Apéndice 03:** (G) Karamanduca con agregado de brócoli (derecha) se aprecia rasgos oscuros del agregado que quedó en la superficie y soportó la mayor temperatura, (H) Corte longitudinal que permite apreciar el interior un tanto mas oscuro que aquel que no tiene agregado brócolis (izquierda) e (I) triturado de las muestras de karamanduka para efectuar el trabajo de extracción.

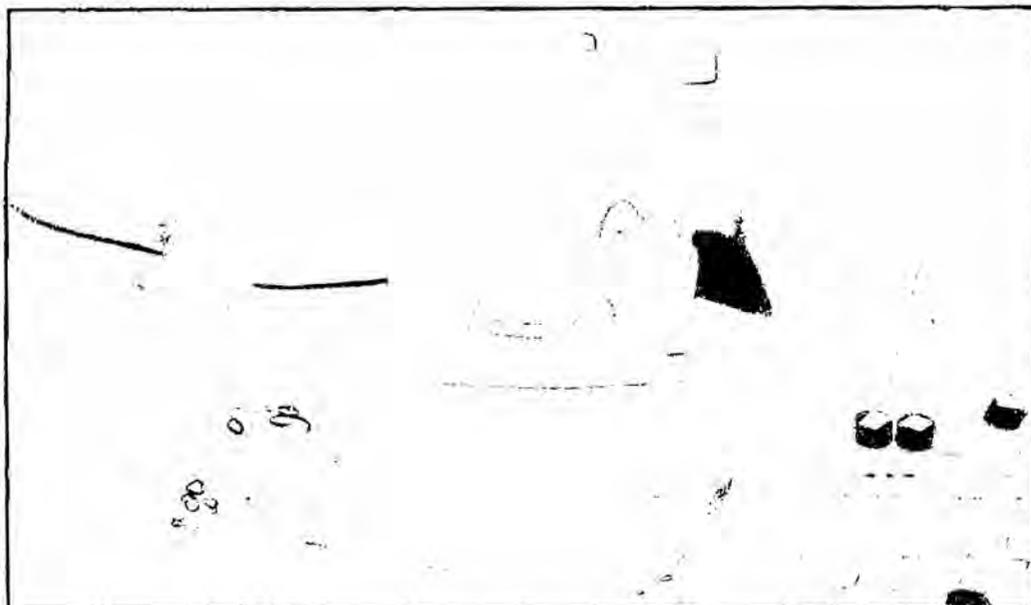


ap

**Apéndice 04:** (J) Maceración en metanol de cada una de las muestras trituradas durante 72 horas y su respectiva filtración, (K) Concentración del extracto mediante eliminación del solvente en estufa a 40 °C.

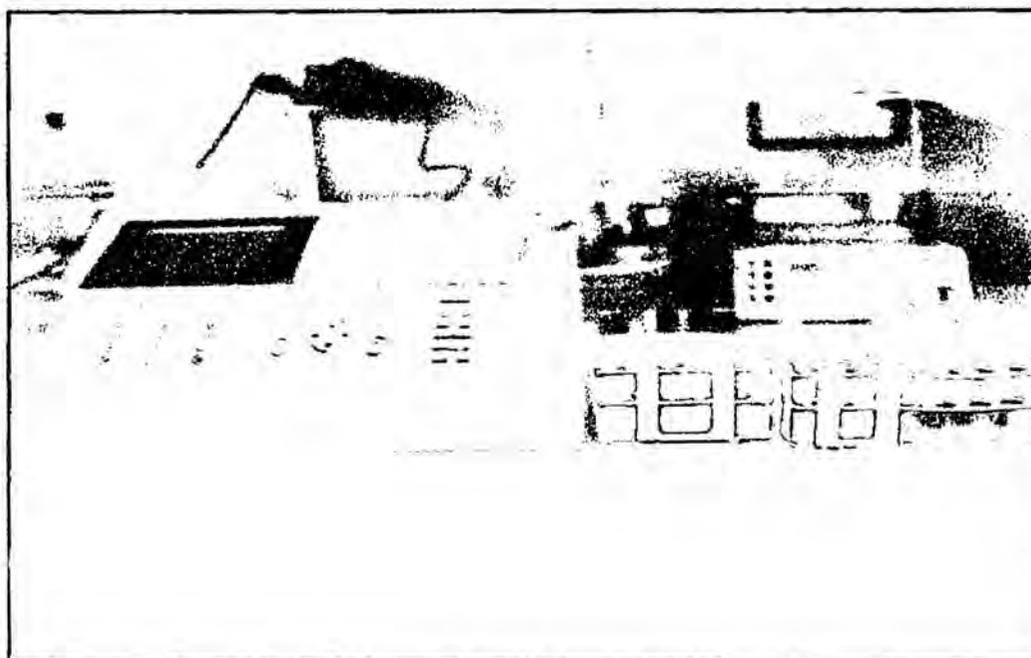


**Apéndice 05:** Preparación de las diluciones de concentración aprox. 0.1 g / 5 mL de solución metanólica.



*Handwritten signature or initials.*

**Apéndice 06:** Desarrollo de las reacciones de Folin-Ciocalteu (polifenoles totales) y FRAP (capacidad antioxidante) y lectura de las densidades ópticas en espectrofotómetro modelo Spectroquant pharo 300 M.



## VIII. ANEXOS

### Anexo 01: Ejemplos de alimentos funcionales

ALIMENTO FUNCIONAL	COMPONENTE ACTIVO	PROPIEDAD FUNCIONAL
Yogures, azúcar	<p><u>Probióticos:</u> Alimentos con cultivos vivos beneficiosos, como resultado de la fermentación, o que se han añadido para mejorar el equilibrio microbiano intestinal, como el <i>Lactobacillus</i> sp. <i>Bifidobacteria</i> sp</p> <p><u>Prebióticos:</u> Componente no digerible que tienen efectos beneficiosos, debido a que estimula el crecimiento de la flora intestinal, como la inulina y la oligofructosa.</p>	Mejora de funcionamiento intestinal y equilibrio microbiano intestinal
Margarinas	Esteres de esteroides y estanoles de origen vegetal añadidos	Reducen niveles de colesterol LDL (malo) Disminuyen el riesgo de padecer afecciones cardíacas
Huevos ricos en ácidos grasos esenciales omega-3	Ácidos grasos omega-3	Control de hipertensión, metabolismo de lípidos

CP

## Anexo 02: Preparación de karamanduka

### KARAMANDUKA / ROSQUITAS

#### INGREDIENTES

- 1 kg. de harina panadera.
- 14 gr de polvo de hornear.
- 300 gr de azúcar granulada blanca.
- 120 ml de leche de soya.
- 150 gr de margarina.
- 150 gr de manteca.
- 1 gr de colorante amarillo.
- 1 huevo para barnizar.
- 2 huevos para la masa.
- 8 gr de sal.
- 10 gr de anís (decoración)
- 10 gr de ajonjolí (decoración)

#### PREPARACION

- 1) Pesar y medir los ingredientes de la formulación
- 2) Mezclar los ingredientes secos: harina y polvo de hornear.
- 3) Unir a los ingredientes secos la margarina y conseguimos la pasta quebrada.
- 4) Disolver en la leche de soya: sal, azúcar y vainilla y unir a la pasta quebrada.
- 5) Toda la mezcla durante 3 minutos.
- 6) A la preparación incorporarle anís y ajonjolí de preferencia ya tostado
- 7) Dividir la masa en 2 partes iguales: Karamanduka y rosquitas.
- 8) Darle forma a la masa según la preparación.
- 9) Colocar en latas engrasadas. Para las Karamandukas llevar a fermentación durante 15 a 20 minutos.
- 10) Barnizar con huevos. Espolvorear como decoración ajonjolí.
- 11) Llevar al horno a 170 °C por espacio de 12 min.